

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
QUERÉTARO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EFECTO DEL ÁCIDO SALICÍLICO Y ESTRÉS HÍDRICO EN
LA CALIDAD DE LECHUGAS (*Lactuca sativa* L.)
PRODUCIDAS EN INVERNADERO”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO AGRÍCOLA

PRESENTA

ALONDRA XARENY VEGA ORTIZ

DIRIGIDA POR

Dr. Ramón Gerardo Guevara González.

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2013



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
QUERÉTARO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EFECTO DEL ÁCIDO SALICÍLICO Y ESTRÉS HIDRICO
EN LA CALIDAD DE LECHUGAS (*Lactuca sativa* L.)
PRODUCIDAS EN INVERNADERO”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO AGRÍCOLA

PRESENTA

ALONDRA XARENY VEGA ORTIZ

DIRIGIDA POR

Dr. RAMÓN GERARDO GUEVARA GONZÁLEZ

SINODALES

Dr. RAMÓN GERARDO GUEVARA GONZÁLEZ

DIRECTORA

Dr. ANDRÉS CRUZ HERNÁNDEZ

SINODAL

ING. ALEJANDRO CAMACHO MORALES

SINODAL

M. en C. ADÁN MERCADO LUNA

SINODAL

ÍNDICE GENERAL

| Contenido | Página |
|--------------------------------------------------------------------------------|--------|
| ÍNDICE GENERAL. | i |
| ÍNDICE DE CUADROS. | iv |
| ÍNDICE DE FIGURAS | v |
| RESUMEN. | |
| 1. ANTECEDENTES. | 1 |
| 1.1. Características generales de la lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.). | 1 |
| 1.1.1. Origen e historia de la lechuga. | 1 |
| 1.1.2. Tipos de lechuga. | 1 |
| 1.1.3. Morfología y taxonomía. | 2 |
| 1.1.4. Condiciones edafoclimáticas. | 2 |
| 1.1.5. Riego. | 3 |
| 1.1.6. Desarrollo de la planta. | 3 |
| 1.1.7. Valor nutricional. | 5 |
| 1.1.8. Producción. | 5 |
| 1.1.9. Plagas y enfermedades. | 6 |
| 1.1.9.1. Plagas. | 6 |
| 1.1.9.2. Enfermedades en la lechuga. | 7 |
| 1.2. Efecto de la temperatura en el manejo poscosecha. | 7 |
| 1.3. Déficit hídrico en plantas. | 8 |
| 1.4. Estrés por déficit hídrico. | 9 |
| 1.5. Respuesta a estrés. | 10 |
| 1.6. Acido salicílico en las plantas. | 11 |
| 1.7. Metabolitos secundarios (MS). | 12 |
| 1.8. Nitratos. | 13 |
| 1.9. Niveles de clorofila (lecturas SPAD: Soil Plant Analysis Development). | 15 |
| 1.10. Compuestos fenólicos. | 16 |
| 1.11. Antioxidantes. | 16 |

| | |
|----------------------------------------------------|----|
| 1.12. Capacidad antioxidante. | 17 |
| 1.13. Estrés oxidativo. | 18 |
| 1.14. Prolina. | 19 |
| 1.15. Atributos de Calidad: Color y Textura. | 20 |
| 2. HIPÓTESIS. | 21 |
| 3. OBJETIVOS. | 22 |
| 3.1. General. | 22 |
| 3.2. Específicos. | 22 |
| 4. METODOLOGÍA. | 23 |
| 4.1. Materiales. | 23 |
| 4.1.1. Material vegetal. | 23 |
| 4.1.2. Invernadero. | 23 |
| 4.1.3. Sustrato. | 24 |
| 4.2. Método. | 24 |
| 4.2.1. Preparación del invernadero. | 24 |
| 4.2.2. Producción de plántula. | 25 |
| 4.2.3. Trasplante | 25 |
| 4.2.4. Riego. | 26 |
| 4.2.5. Nutrición. | 26 |
| 4.2.6. Control de sanidad. | 27 |
| 4.2.7. Condiciones ambientales. | 28 |
| 4.2.8. Tratamientos con ácido salicílico (SA). | 28 |
| 4.2.9. Niveles de clorofila (lecturas SPAD). | 29 |
| 4.2.10. Contenido de nitratos (NO_3^-). | 30 |
| 4.2.11. Color. | 30 |
| 4.2.12. Textura. | 31 |
| 4.2.13. Cuantificación de fenoles totales (FT). | 31 |
| 4.2.14. Cuantificación de flavonoides (FL). | 32 |
| 4.2.15. Capacidad antioxidante (CA). | 33 |
| 4.2.16. Cuantificación de prolina. | 34 |

| | |
|-----------------------------------------------------|----|
| 4.3. Diseño experimental. | 35 |
| 5. RESULTADOS. | 36 |
| 5.1. Color. | 37 |
| 5.2. Textura. | 38 |
| 5.3. Clorofila. | 39 |
| 5.4. Nitratos. | 40 |
| 5.5. Fenoles totales. | 41 |
| 5.6. Flavonoides. | 42 |
| 5.7. Capacidad antioxidante (% de inhibición DPPH). | 43 |
| 5.8. Prolina. | 44 |
| 6. DISCUSIÓN. | 45 |
| 7. CONCLUSIONES. | 47 |
| 8. REFERENCIAS. | 48 |

| Cuadro | Página |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1 Clasificación taxonómica de la lechuga. | 2 |
| 2 Fases de desarrollo de la lechuga. | 4 |
| 3 Valor nutricional de lechuga en 100g de tejido. | 5 |
| 4 Contenidos máximo de nitratos en lechuga regulados por la Unión Europea. | 15 |
| 5 Clasificación de antioxidantes. | 17 |
| 6 Consumo diario de agua del cultivo de lechuga. | 26 |
| 7 Solución hidropónica La Molina. | 27 |
| 8 Resultados de los parámetros de color L*, a* y b*. | 37 |
| 9 Resultados de textura obtenidos de los diferentes tratamientos. | 38 |
| 10 Niveles de clorofila obtenidos durante el ciclo de cultivo. | 39 |
| 11 Resultados de nitratos (ppm) obtenidos de los diferentes tratamientos. | 40 |
| 12 Resultados obtenidos de la cuantificación de fenoles totales. | 41 |
| 13 Resultados obtenidos de la cuantificación de flavonoides. | 42 |
| 14 Resultados obtenidos de la determinación de la capacidad antioxidante de los diferentes tratamientos. | 43 |
| 15 Resultados obtenidos de la cuantificación de prolina libre en muestras de lechuga. | 44 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | Página |
|----------------------------------------------------------------|--------|
| 1 Invernadero utilizado. | 23 |
| 2 Sustrato del cultivo de lechuga orejona. | 24 |
| 3 Desarrollo del cultivo de lechuga | 25 |
| 4 Aplicación del ácido salicílico. | 28 |
| 5 Medición no destructiva de clorofila. | 29 |
| 6 Medición de color en lechugas. | 30 |
| 7 Determinación de la fuerza de corte en muestras de lechugas. | 31 |
| 8 Cuantificación de prolina. | 35 |

RESUMEN

En la actualidad las tendencias mundiales para la producción de alimentos involucran el incremento en la calidad nutracéutica de los mismos. Es decir, los aspectos básicos de la química agrícola en el mundo de hoy tratan de generar insumos para la producción agrícola a cielo abierto o en ambiente protegido, que incluyan estrategias para incrementar la cantidad y calidad de compuestos con actividad nutracéutica. Dentro de estos compuestos, podemos encontrar ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas, aminoácidos, oligosacáridos, entre otros. Como mecanismo de defensa inicial ante estrés ambiental, las plantas producen precisamente varios de los tipos de moléculas mencionados. Actualmente se conocen estrategias que involucran el manejo de la respuesta a estrés en plantas; dentro de las cuales se encuentran el empleo de los estímulos denominados Factores Inductores de Metabolitos (FIM's). Un FIM, mimetiza el estímulo que un estrés ambiental le ocasiona a las plantas, de tal forma que el manejo de estos puede incrementar la producción de metabolitos de interés. En este trabajo se estudiaron 2 FIM's (déficit hídrico y aplicación foliar de ácido salicílico) en un sistema de producción de lechuga en ambiente protegido. Se evaluó el efecto de estos FIM's en el contenido de compuestos bioactivos y su relación con algunas características de vida de anaquel en plantas de lechuga. Nuestros resultados sugirieron que los FIM's evaluados en términos generales incrementaron los niveles compuestos bioactivos relacionados con calidad nutracéutica y vida de anaquel.

1. ANTECEDENTES

1.1. Características generales de la lechuga (*Lactuca sativa* L.).

1.1.1. Origen e historia de la lechuga

La lechuga como cultivo se originó probablemente en la cuenca mediterránea, una prueba evidente es la existencia de una forma primitiva de lechuga, casi silvestre *Lactuca serviola* L. (Martínez, 2008). Las primeras indicaciones ciertas de la existencia de lechuga datan de aproximadamente 4.500 años a.C. en grabados de tumbas egipcias, en que se representan lechugas similares a las hoy conocidas como tipo espárrago. Igualmente fue conocida y utilizada por los antiguos persas, griegos y romanos. El nombre latino de la lechuga (*Lactuca sativa* L.), se deriva de la raíz *lac*, que significa “leche” y *sativa* “cultivada” (Salinas, 2010).

1.1.2. Tipos de lechuga

La forma de crecer de la lechuga permite que se le clasifique en tres tipos principales dentro de los cuales se puede colocar todas las variedades comerciales: de cabeza, de hoja suelta y cos. Las lechugas que forman una cabeza, llamadas también “lechugas arrepolladas” son las que figuran con más frecuencia en el comercio. Las lechugas de hoja suelta no forman cabezas. Las lechugas llamadas cos o también lechuga orejona, forma una cabeza ovalada que es intermedia entre la lechuga de cabeza y la de hoja suelta (López, 2001).

En Estados Unidos, los cuatro tipos principales de lechuga son: a) crisphead (acogollada con hojas crujientes), b) romana, c) Leaf (sin acogollar) y d) butterhead (acogollada con hojas mantecosas) (Davis y col., 2002).

1.1.3. Morfología y taxonomía

La lechuga es una planta herbácea anual, autógama, de hojas basales lisas, sésiles, con ápice redondo o rizado, su color va del verde amarillo hasta el morado claro dependiendo de la variedad y cultivar. Su tallo es cilíndrico y su raíz que no sobrepasa los 25 cm es pivotante con ramificaciones. La inflorescencia presenta capítulos florales en racimos o corimbos. Los frutos son aquenios blancos crema, de 4-2 mm de largo (Velásquez, 2007).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la lechuga (Salinas, 2010)

| | |
|---------------|--------------------------|
| Reino | <i>Plantae</i> |
| Subreino | <i>Tracheobionta</i> |
| Superdivisión | <i>Spermatophyta</i> |
| División | <i>Magnoliophyta</i> |
| Clase | <i>Magnoliopsida</i> |
| Subclase | <i>Asteridae</i> |
| Orden | <i>Asterales</i> |
| Familia | <i>Asteraceae</i> |
| Genero | <i>Lactuca</i> L. |
| Especie | <i>Lactuca sativa</i> L. |
| Variedad | px05516006 |
| Nombre común | Lechuga orejona |

1.1.4. Condiciones edafoclimáticas

La lechuga se desarrolla a una altitud de 1-2200 msnm, son plantas que se adaptan a climas templados principalmente, aunque también prosperan en climas cálidos y fríos. La temperatura media óptima para el crecimiento oscila entre 15 y 18 °C con

máximas de 21 °C y mínimas de 7 °C. Las temperaturas nocturnas necesarias para el desarrollo de cabezas firmes y sólidas son entre 7.2-10 °C, combinadas con temperaturas en días soleados de 12.8-26.7 °C (Salinas, 2010).

El sistema radicular de la lechuga es muy reducido en comparación con la parte aérea, por lo que es muy sensible a la falta de humedad y soporta mal un periodo de sequía, aunque éste sea muy breve. La humedad relativa conveniente para el cultivo de la lechuga es de 60 a 80 %. La humedad ambiental excesiva favorece el desarrollo de enfermedades (Martínez, 2008).

En general el cultivo de lechuga se desarrolla adecuadamente en un amplio rango de tipos de suelo. Debido a que el sistema radicular no es muy extenso requieren suelos con una alta capacidad de retención de humedad (Velásquez, 2007). Se recomiendan suelos arcillo-arenosos, de alta fertilidad y un pH entre 5.8 y 6.8 (Salinas, 2010).

1.1.5. Riego

La frecuencia y cantidad de riegos depende del tipo de suelo, del tamaño de la planta y del clima. La lechuga requiere de 300 a 600 mm de agua durante todo su ciclo, para su normal desarrollo (Martínez, 2008).

1.1.6. Desarrollo de la planta

Las plantas de lechuga pasan por tres fases de crecimiento: desarrollo de la plántula, periodo de roseta y formación de cogollo. El desarrollo de la plántula dura desde la germinación hasta el aclareo o trasplante. El trasplante se realiza generalmente en la fase de tres a cuatro hojas, que aproximadamente tiene lugar 3 a 4 semanas después de realizada la siembra.

Cuadro 2. Fases de desarrollo de la lechuga (Salinas, 2010)

| Fase | Observaciones |
|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Germinación | La radícula emerge de la semilla. |
| Cotiledón | Los cotiledones emergen y se expanden. |
| Aumento de las hojas verdaderas | Las hojas emergen y se expanden. |
| Roseta | Hojas con estructura aplanada a erguida. |
| Formación del cogollo | Comienza cuando emerge una hoja curvada y se expande. Hojas sucesivas más curvadas hasta que son completamente envueltas por las hojas exteriores. |
| Madurez | Se desarrolla un número suficiente de hojas en el interior, de modo que se forma un cogollo esférico firme. Requiere de 60-120 días, dependiendo de la estación. |
| Sobremadurez | Las hojas del cogollo continúan expandiéndose hasta que se forman grietas por la presión. |
| Formación del tallo de la semilla | El punto de crecimiento se alarga y emerge a través de la parte superior del cogollo. |
| Floración | Se inicia con la formación de la yema terminal y la apertura de la flor. Las flores se forman diariamente durante 50-70 días |
| Producción de semilla | Empieza con la flor terminal, el involucro se seca y abre en 12-14 días |

1.1.7. Valor nutricional

Cada variedad de lechuga presenta valores nutritivos distintos; pero en general, las lechugas son ricas en fibra, además de ser una fuente importante de vitaminas y minerales, tales como: calcio, hierro, vitamina A y C, entre otros (Salinas, 2010).

Cuadro 3. Valor nutricional de lechuga en 100 g de tejido (Salinas, 2010)

| Compuesto | Cantidad |
|---------------|----------|
| Calorías | 18 Kcal |
| Agua | 94.0 g |
| Proteínas | 1.30 g |
| Grasas | 0.30 g |
| Cenizas | 0.90 g |
| Carbohidratos | 3.50 g |
| Fibra | 1.90 g |
| Calcio | 68 mg |
| Hierro | 1.4 mg |
| Fosforo | 25 mg |
| Vitamina C | 18 mg |

1.1.8. Producción

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) se considera como la hortaliza de hoja por excelencia y se ubica dentro de los siete productos principales del comercio internacional (INEGI, 2010), es ampliamente conocida y se cultiva en casi todos los países del mundo.

La importancia del cultivo de la lechuga ha ido incrementando en los últimos años, principalmente por la diversificación de tipos varietales. Respecto a lo anterior,

China, Estados Unidos y España, ocupan el primer, segundo y tercer lugar respectivamente en la producción de lechuga a nivel mundial, mientras que México ocupa el 10°, siendo los principales estados productores Aguascalientes, Baja California, Guanajuato, Jalisco, México, Michoacán, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora y Zacatecas con el 77.8 % del total de la producción nacional (SAGARPA-SIAP, 2010).

1.1.9. Plagas y enfermedades

La resistencia de o susceptibilidad a las enfermedades y/o plagas depende de cada cultivar de lechuga, así como del manejo. Las enfermedades son un importante factor limitante para la producción de lechugas cuando no se dispone de cultivares resistentes. La naturaleza y frecuencia de estas enfermedades depende de las condiciones locales (Salinas, 2010).

1.1.9.1. Plagas

Las plagas más comunes en los cultivares de lechuga que se establecen en el estado de Querétaro se enuncian a continuación. En el control fitosanitario agrícola la clave importante es la prevención (Salinas, 2010).

- Pulgones
- Gusano falso medidor
- Gusano soldado
- Mosca blanca
- Trips
- Diabrotica
- Chinche arlequin

1.1.9.2. Enfermedades en la lechuga

Las enfermedades infecciosas pueden ser causadas por agentes como bacterias, virus, fitoplasmas, hongos y nematodos (Martinez, 2008).

Las principales enfermedades son:

- Antracnosis (*Marssonina panattoniana*)
- Botritis (*Botrytis cinerea*)
- Mildiu veloso (*Bremia lactucae*)
- Esclerotinia (*Sclerotinia sclerotiorum*)
- Septoriosis (*Septoria lactucae*)
- Virus del mosaico de la lechuga (LMV)

1.2. Efecto de la temperatura en el manejo poscosecha

Las frutas y hortalizas frescas son productos perecederos porque se deterioran fácilmente luego de la cosecha, uno de los factores más importantes que influyen en la vida poscosecha de los productos hortícolas es la temperatura. La práctica más aconsejable para prolongar la vida útil lo máximo posible es comenzar con la reducción de la temperatura de fruto o planta inmediatamente posterior a su cosecha siendo diferente para cada fruta y hortaliza, variando incluso entre variedades de la misma especie, debido a que las bajas temperaturas disminuyen la actividad enzimática y microorganismos responsables del deterioro, reducen el ritmo respiratorio, conservan las reservas consumidas en este proceso, retardan la madurez y reducen el déficit de presión de vapor entre el producto y el medio ambiente, disminuyendo la pérdida de agua por transpiración (López, 1992; González, 2004; Chiesa, 2010).

Las variables de mayor importancia que se ven directamente afectadas por la temperatura son la respiración, la transpiración y la producción de etileno. Las tres

están vinculadas a procesos que implican el deterioro y la pérdida de atributos de calidad del producto vegetal y se ven reducidas con la disminución de la temperatura de almacenamiento, de manera particular la respiración (González, 2004).

Una temperatura de 0 °C y una humedad relativa de 95 % conservan la lechuga de 21-28 días. A 5 °C se logra una vida útil de 14 días, siempre y cuando no haya etileno en el ambiente (Salinas, 2010).

1.3. Déficit hídrico en plantas

La disponibilidad de agua es considerada como uno de los factores fundamentales en la limitación de la supervivencia, crecimiento y distribución geográfica de las plantas (Olivares, 2005). El déficit hídrico no solo ocurre cuando hay poca agua en el ambiente, sino también por temperaturas extremas bajas o altas y por una elevada salinidad del suelo debido a que estas condiciones, inducen una disminución del agua disponible del citoplasma de las células (Moreno, 2009).

Cuando el déficit hídrico se desarrolla lentamente, las plantas pueden presentar respuestas de aclimatación que tienen efectos sobre el crecimiento celular, siendo este uno de los procesos fisiológicos más sensibles al déficit de agua, de manera que la sequía reduce la expansión y el área foliar, dándose un aumento del crecimiento radicular. Otras manifestaciones fisiológicas y bioquímicas en la planta, causadas por el déficit hídrico son, aumento en la concentración de solutos compatibles (azúcares solubles, aminoácidos totales, prolina libre o glicina betaína), cambios en la concentración y conformación de lípidos y proteínas de membrana, disminución del contenido hídrico celular, manifestado en una disminución del contenido relativo de agua en las hojas y por ende de la turgencia celular (Olivares, 2005; Moreno, 2009).

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) tiene un ciclo de 70 a 130 días. Los consumos de agua van entre 52 mm y 125 mm dependiendo de la época del año en que se produzca. Las necesidades de agua se incrementan progresivamente conforme al desarrollo del cultivo. Es un cultivo sensible al déficit hídrico por su sistema radicular poco profundo, efecto que se hace evidente sobre la producción de materia verde, exigiendo niveles hídricos en el suelo cercanos a capacidad de campo. Esto lleva al productor a la aplicación continua de agua que, en la mayoría de los casos, resulta superior a sus necesidades (Salinas, 2010).

1.4. Estrés por déficit hídrico

El estrés por déficit hídrico o por sequía se produce en las plantas en respuesta a un ambiente escaso en agua, en donde la tasa de transpiración excede a la toma de agua. Cualquier cambio de las condiciones ambientales que resulte en una respuesta de la planta que sea menor a la óptima puede considerarse como estresante (Moreno, 2009).

A causa de su papel esencial en el metabolismo de las plantas, el déficit de agua afecta rápidamente los procesos que van desde la fotosíntesis hasta la respiración. El efecto del estrés por sequía generalmente es reflejado en una disminución de la producción y del crecimiento total; esto con respecto al grado de reducción de factores, como la etapa de crecimiento y el agotamiento de agua, así como el tiempo de duración de las condiciones de sequía (Basurto y col., 2008).

Las plantas a lo largo de su desarrollo experimentan algún grado de estrés por déficit hídrico. En los sistemas naturales, un déficit de agua puede ser el resultado de bajas precipitaciones, baja capacidad de retención de agua del suelo, excesiva salinidad, temperaturas extremas frías o calientes, baja presión de vapor atmosférica o una combinación de estos factores (Olivares, 2005; Moreno, 2009).

Una de las principales respuestas al estrés hídrico es la modificación de la expresión génica, relacionada con la producción de enzimas clave en la vía de síntesis de osmolitos, proteínas con función protectora, enzimas antioxidantes, factores de transcripción y otras proteínas involucradas en las respuestas al estrés hídrico (Moreno, 2009).

1.5. Respuesta a estrés

Las respuestas de la planta dependen del genotipo y del estado de desarrollo de la misma en el momento del estrés, de la duración y la severidad del mismo y de los factores que lo provoquen. En estrés abiótico, una vez activadas estas respuestas, el crecimiento propiamente dicho, se verá limitado por el aporte de nutrientes, elementos minerales y carbohidratos. La planta es capaz de, si las condiciones ambientales se vuelven desfavorables, reprimir las respuestas de crecimiento y desencadenar mecanismos de protección y defensa que abortan el desarrollo y aseguran la supervivencia de la planta bajo condiciones ambientales adversas. En ataque por patógenos, los mecanismos de defensa constitutivos actúan deteniendo la entrada de éstos en los tejidos de la planta; funcionan de forma constante, utilizando estrategias químicas o estructurales. Las primeras consisten en la producción por parte de la planta de gran diversidad de sustancias tóxicas para los organismos patógenos. Ejemplos de éstas son alcaloides, fenoles y polifenoles, aceites esenciales y terpenos en general. Si a pesar de estas defensas el patógeno entra en la planta, ésta puede activar mecanismos de defensa con el fin de detener la infección, son los llamados mecanismos de defensa inducidos por patógeno (Montoliu, 2010).

La respuesta al estrés puede ser de muchos tipos, algunos de ellos específicos de un cierto estrés, mientras que otros son más generales (Azcón y Talón, 2008):

- Los cambios en la actividad hormonal. Además de participar en la percepción de la señal, la modificación de los niveles hormonales puede incrementar la resistencia al estrés.

- Las alteraciones en el desarrollo de las plantas. Normalmente se aprecia un menor desarrollo vegetativo, así como una reducción del número de estructuras reproductivas que aceleran su desarrollo para asegurar la siguiente generación.
- La muerte celular y la abscisión de los tejidos dañados que elimina el foco de infección en estrés biótico, disminuye la superficie de transpiración y permite reciclar nutrientes.
- La síntesis de nuevas proteínas, como la ubiquitina y las proteasa implicadas en la degradación de las dañadas, y las proteínas de choque térmico, inducidas no sólo frente a temperaturas extremas, que actúan como chaperonas, plegando proteínas desnaturalizadas por el estrés y previniendo la formación de agregados proteicos irreversibles.
- El aumento o la disminución en la actividad de rutas alternativas de disipación y obtención de energía, como la fermentativa.
- La síntesis y acumulación de compuestos osmoprotectores que actúan restaurando el potencial hídrico o bien como protectores de la estructura de membranas y macromoléculas.
- La síntesis de metabolitos secundarios protectores.

El ácido salicílico (SA), el ácido jasmónico, el etileno y el ácido abscísico (ABA) son moléculas tradicionalmente caracterizadas como reguladoras en procesos de estrés. El SA está implicado en la activación de defensas locales, en la resistencia sistémica adquirida (SAR) y resistencia sistémica inducible (RSI), así como en la irradiación de las plantas con luz UV-C y la exposición a ozono (Salinas, 2010).

1.6. Ácido salicílico en las plantas

El ácido salicílico (SA por sus siglas en inglés) se encuentra en los tejidos de las plantas en forma libre o conjugada; se produce en hojas jóvenes, meristemas florales y vegetativos y es transportado vía floema. En forma conjugada se

encuentra en conjugados de azúcares, como son ésteres de glucosa y glucósidos, como la salicina, que por acción enzimática o mediante ácidos, se hidroliza en glucosa y saligenina, esta última por oxidación general del SA (Villanueva y col., 2009).

Es un regulador de crecimiento de naturaleza fenólica que participa en diferentes procesos en las plantas, como la germinación de semillas, crecimiento celular, respiración, cierre de estomas, expresión de genes asociados a senescencia, repuesta a estrés abiótico y de forma esencial en la termogénesis, así como en la resistencia a enfermedades (Rangel y col., 2010; Salinas, 2010). Se han llevado a cabo estudios que han reportado el papel del ácido salicílico en la inducción de la tolerancia al estrés en plantas al frío (Benavides y col., 2004), salinidad (Palma, 2009) y sequía (Gómez y Cepeda, 2010), por lo que se sabe que participa activamente en las respuestas de adaptación en ambientes extremos incrementando su concentración cuando las plantas son sometidas a condiciones de estrés y que en ocasiones incrementa la síntesis de metabolitos específicos (López y col., 1998; Arias y col., 2009; Salinas, 2010).

1.7. Metabolitos secundarios (MS)

Los metabolitos secundarios son compuestos de bajo peso molecular que no solamente tienen una gran importancia ecológica porque participan en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente, como es el establecimiento de la simbiosis con otros organismos y en la atracción de insectos polinizadores y dispersores de las semillas y frutos, sino que también, una síntesis activa de MS se induce cuando las plantas son expuestas a condiciones adversas tales como: a) el consumo por herbívoros (artrópodos y vertebrados), b) el ataque por microorganismos: virus, bacterias y hongos, c) la competencia por el espacio de suelo, la luz y los nutrientes entre las diferentes especies de plantas y d) la exposición a la luz solar u otros tipos de estrés abiótico (Sepúlveda y col., 2003).

Se estima que más de 100 000 estructuras de MS son producidos por las plantas y en la actualidad, se conocen aproximadamente 20,000 estructuras. Los compuestos secundarios de plantas de interés comercial, han sido incluidos en tres principales categorías según sus rutas biosintéticas: terpenos, compuestos fenólicos y compuestos nitrogenados. Entre los compuestos fenólicos se incluyen los ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides y taninos. Las aplicaciones farmacéuticas de estos compuestos son considerables, se refieren sus efectos como analgésicos, antibacterianos, antihepatotóxicos, antioxidantes, antitumorales, inmuno-estimulantes, entre otras (Sepúlveda y col., 2003; Pérez y Jiménez, 2011).

La síntesis de MS depende de la etapa de desarrollo de la planta y sus niveles constitutivos sólo se incrementan como parte de la respuesta al estrés abiótico o biótico. Este aumento en los niveles de MS, es importante para la supervivencia de las plantas, ya que su síntesis se deriva del metabolismo primario y porque algunos compuestos son tóxicos para la misma planta. En este sentido, también es relevante hacer notar que la biosíntesis y el almacenamiento de MS o de sus precursores, ocurren en diferentes lugares de la célula vegetal (Sepúlveda y col., 2003).

1.8. Nitratos (NO_3^-)

El nitrógeno (N) es el elemento de mayor influencia en el crecimiento de cualquier cultivo, siendo una molécula esencial en la composición de proteínas, ácidos nucleicos y otros componentes celulares (Mayz, 2004).

Los NO_3^- son una sal química derivada del nitrógeno, que en concentraciones bajas se encuentra de forma natural en el agua y suelo (Salinas, 2010). El NO_3^- es la principal fuente de N para los cultivos, pues usualmente se encuentra en mayor cantidad que el NH_4^+ (amonio), en la mayoría de los suelos agrícolas y es una forma preferida para la absorción, ya que es fácilmente accesible para las plantas, por su movilidad en la solución del suelo y porque se acumula en los tejidos antes

de ser asimilados, pues contrario al NH_4^+ , es poco tóxico; además, cumple otros papeles fisiológicos dentro de la planta como sustancia osmótica que ayuda a conservar el agua de los tejidos (Villalobos, 2001).

La absorción de NO_3^- , ocurre usualmente en aquellos tejidos más diferenciados de la raíz. En plantas bajo condiciones de alta radiación solar se incrementa la absorción de NO_3^- y la actividad de la nitrato reductasa (NR) en plantas limitadas en carbono. De esta manera, la actividad es mayor de día que de noche, mayor en las hojas iluminadas que en las hojas sombreadas. Una vez absorbido el NO_3^- , se acumula en las vacuolas de la raíz, hojas y tallo, aquí el NO_3^- no es metabólicamente activo; el activo, o sea el que activa a la NR es el que pasa al citosol de las células, lo cual depende de la radiación solar; en la oscuridad no se induce la NR y en condiciones de estrés hídrico como de temperatura alta disminuyen la actividad de la NR (Villalobos, 2001).

La asimilación del NO_3^- ocurre con la intervención de dos enzimas: la nitrato reductasa (NR), una metaloproteína con Fe y Mo, que transforma el NO_3^- a NO_2^- (nitrito) y la reductasa del nitrito (Rni) que transforma el NO_3^- a NH_4^+ . Estas enzimas se encuentran tanto en las raíces como en las hojas (Villalobos, 2001). La distribución relativa de la reducción de NO_3^- entre las raíces y la parte aérea varía con la especie; sin embargo, en términos generales, la reducción en las hojas ocurre, generalmente, en condiciones de alta luminosidad (Villalobos, 2001).

En hortalizas como la lechuga, concentraciones altas de NO_3^- no son deseables, puesto que al consumirla, la reducción intestinal a NO_2^- puede reaccionar, en medio ácido del estómago, con las aminas, sustancias obtenidas por el metabolismo de los alimentos originando nitrosaminas, que son sustancias cancerígenas en humanos (Salinas, 2010; Villalobos, 2001). Además también el NO_2^- producto de la reducción del NO_3^- puede reaccionar con la hemoglobina, produciendo productos oxidativos y metahemoglobina que conduce a la disminución del suministro de oxígeno en el cuerpo, produciendo problemas respiratorios (Salinas, 2010).

El grado de acumulación de nitrato no sólo depende del tipo y variedad genética, sino también de la temperatura, el contenido y el tipo de nitrógeno disponible (Salinas, 2010), por lo anterior, la Unión Europea (UE) ha establecido contenidos máximos de nitratos permitidos para lechuga cultivada en invernadero y al aire libre en diferentes épocas del año (Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 2002).

Cuadro 4. Contenidos máximo de Nitratos en lechuga regulados por la Unión Europea (Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 2002)

| Tipo de cultivo | Periodo de cosecha | Partes por millón (ppm) |
|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <i>Lactuca sativa</i> L. | 1 octubre – 31 marzo | 4 500 |
| | Invernadero | 4 000 |
| | Campo abierto | |
| | 1 abril – 30 septiembre | 3 500 |
| | Invernadero | 2 500 |
| | Campo abierto | |

1.9. Niveles de clorofila (lecturas SPAD: Soil Plant Analysis Development)

Los valores SPAD se basan en el principio de que parte de la luz que llega a la hoja es absorbida por la clorofila y el resto que se refleja entra en contacto con la celda detectora del SPAD-502 y es convertida en una señal eléctrica. La cantidad de luz captada por la celda es inversamente proporcional a la cantidad de luz utilizada por la clorofila, la señal es procesada y la absorbancia es cuantificada en valores dimensionales que van de 0 a 199, por lo que las unidades SPAD serán siempre las mismas de acuerdo con el tono verde de las hojas (Rodríguez y col., 1998).

La relación directa entre el contenido de nitrógeno y las lecturas SPAD en las plantas, indican una adecuada fertilización con nitrógeno, presentando un color

más verde en sus hojas, lo cual puede considerarse como una herramienta alternativa para estimar el estatus de nitrógeno en la planta (Salinas, 2010).

1.10. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas, y como agentes protectores frente a la acción de patógenos y factores adversos del ambiente, entre otros, siendo secretados como mecanismo de defensa, englobando más de 8 000 compuestos distintos, los cuales poseen un anillo fenol como estructura común, siendo los flavonoides polifenoles que poseen al menos 2 subunidades fenólicas (Silva, 2007). Están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, variando considerablemente de acuerdo al tipo de compuesto químico que se trate, situándose en el interior de las células o en la pared celular, siendo también su concentración variable a lo largo del ciclo vegetativo (Salinas 2010). Están asociados al color, las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), las características nutritivas y las propiedades antioxidantes de los alimentos de origen vegetal (Paladino, 2008).

Los compuestos fenólicos se consideran sustancias bioactivas, con capacidad antioxidante a través de su actividad secuestradora de radicales libres; esta actividad está relacionada directamente con la estructura química de los polifenoles, siendo su potencial antioxidante dependiente del número y de la posición de los grupos hidroxilos y su conjugación, así como de la presencia de electrones donadores en el anillo estructural (anillo B) (Salinas, 2010).

1.12. Antioxidantes

Existen cinco tipos de antioxidantes principales de acuerdo a la función que desempeñan. En los antioxidantes primarios se encuentran los compuestos fenólicos que están presentes en plantas; su función en las plantas es variada:

defendiendo contra insectos y patógenos, absorbiendo la luz, promoviendo la polinización, reduciendo el crecimiento de plantas competitivas (Salinas, 2010).

Cuadro 5. Clasificación de antioxidantes (Salinas, 2010)

| Tipos de antioxidantes | |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Primarios | Sustancias fenólicas que acaban con las cadenas de radicales libres en oxidación de lípidos y funcionan donando electrones. Ejemplo: Tocoferoles, BHT, TBC, entre otros. |
| Secuestradores de oxígeno | Reaccionan con el oxígeno removiéndolo. Ejemplo: Ácido ascórbico, palmitato de ascorbilo, entre otros |
| Secundarios | Funcionan descomponiendo los hidroperóxidos lipídicos en productos finales estables. |
| Enzimáticos | Enzimas que tienen por función la remoción de oxígeno disuelto o remoción de especies altamente oxidativas. |
| Agentes quelantes | Mejoran la acción de los antioxidantes fenólicos. La mayoría tiene poca a ninguna actividad antioxidante. Ejemplo: Ácido cítrico, aminoácidos y fosfolípidos como cefalina. |

1.11. Capacidad Antioxidante

Recientemente se ha incrementado el interés por los compuestos fenólicos como antioxidantes, debido al interés de conocer la capacidad antioxidante de los constituyentes bioactivos que se consumen en los alimentos (Salinas, 2010), esto es porque desde el punto de vista nutricional, la actividad antioxidante, se asocia como protector en las enfermedades crónico degenerativas (Silva, 2007).

La capacidad antioxidante y secuestradora de radicales libres es una propiedad común de la gran mayoría de los compuestos bioactivos (Salinas, 2010), esta propiedad se asocia a su capacidad de capturar radicales libres, que hace que presenten un efecto positivo frente a distintas perturbaciones de la calidad de los alimentos y de la salud (Martínez, 2007). Las frutas, los vegetales y las leguminosas proporcionan una amplia variedad de antioxidantes; siendo los antioxidantes compuestos que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas mediante la inhibición de la propagación de reacciones de oxidación (Silva, 2007).

1.13. Estrés Oxidativo

El estrés oxidativo se define como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) (Venereo, 2002). Es un estrés de tipo bioquímico, derivado de la propia acción del metabolismo. Cualquier alteración de las condiciones óptimas de un cultivo incide de forma negativa en la fisiología de la planta, se altera la cadena de transporte electrónico y se genera un estrés oxidativo (Montoliu, 2010).

Por lo tanto, el incremento en la capacidad de eliminación de estas ROS por parte de la planta se considera como síntoma de tolerancia, mientras que la ausencia de respuesta o una disminución respecto a los valores control se considera síntoma de sensibilidad; siendo las ROS radicales libres (RL) o precursores de radicales (Montoliu, 2010).

El equilibrio entre radicales libres y antioxidantes se pierde debido a una mala alimentación, algunas enfermedades, hábitos, entre otros factores. Éste desequilibrio entre la velocidad de formación de radicales libres y la velocidad de su destrucción provoca una elevada producción celular de los radicales libres, los

cuales reaccionan químicamente con lípidos, proteínas, carbohidratos y DNA al interior de las células, y con componentes de la matriz celular, desencadenando daños irreversibles que incluso pueden conducir a la destrucción de los sistemas celulares (Montoliu, 2010).

1.14. Prolina

La prolina es un aminoácido que se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas, cuando éstas crecen en condiciones óptimas. En condiciones de estrés, se ha encontrado que el contenido de prolina aumenta en respuesta a estrés hídrico (Parra y col., 1999; Rodríguez y col., 2003) y salinidad (García, 2003; Chaman, 2007) para actuar como un agente osmótico, protegiendo a la planta de la deshidratación. La síntesis de la prolina se realiza a partir del ácido glutámico, tanto en condiciones normales como bajo estrés hídrico. Actualmente se reconocen dos vías metabólicas, glutamato y ornitina. El incremento de la prolina se relaciona con la disminución del potencial hídrico en hojas y el contenido relativo de agua (de la O y col., 2011).

El ajuste osmótico (incremento neto en la cantidad de solutos osmóticamente activos en los tejidos) se alcanza mediante la acumulación de iones inorgánicos, o a través de la síntesis de solutos orgánicos, entre los cuales la prolina es uno de los osmolitos más ampliamente distribuidos en plantas superiores. (García, 2003).

Se ha planteado que la respuesta de las plantas ante situaciones de estrés, se puede encontrar definida por una serie de respuestas, lo cual desencadena procesos fisiológicos en la misma donde destaca el metabolismo intermedio de los vegetales, como es la acumulación de sustancias (solutos osmoprotectores), las cuales son constituyentes normales de las células, toda una serie de metabolitos secundarios, pero particularmente aminoácidos libres como prolina actuando como un mediador del ajuste osmótico (Chaman, 2007).

1.15. Atributos de Calidad: Color y Textura

Durante el crecimiento, maduración y envejecimiento, las plantas y frutas, continuamente están sujetas a la acción de enzimas. Durante el período previo a la cosecha la expresión de estas modificaciones se refleja en cambios en la firmeza de las frutas, en la composición química y en el color (Zapata y col., 2007).

Los factores relacionados con la apariencia son los atributos de calidad más juzgados por los consumidores a la hora de comprar productos frescos, como es el tamaño, color, forma y textura o firmeza, estos últimos constituyen normalmente las bases de aceptación o rechazo por parte de los consumidores. Un color y olor característico es deseable pues indica madurez y refleja calidad de consumo así como también la textura, debido a que los cambios texturales están asociados con el ablandamiento y la pérdida de firmeza, y la firmeza está relacionada con la resistencia al estrés mecánico durante el transporte (Zapata y col., 2007; Flores, 2009).

La determinación de la calidad en frutas y hortalizas ha ido evolucionando según las exigencias del mercado; las mediciones instrumentales se han preferido sobre las evaluaciones sensoriales tanto por los investigadores como por la propia industria, ya que dichas mediciones reducen la variabilidad entre los individuos, son más precisas y pueden proporcionar un lenguaje común entre los investigadores, la industria y los consumidores. La apariencia es detectada por instrumentos de medición electromagnética (generalmente ópticos), las propiedades texturales por mediciones mecánicas (Flores, 2009).

2. HIPÓTESIS

Aplicaciones controladas de ácido salicílico y de estrés hídrico durante el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en invernadero, incrementarán la presencia de compuestos bioactivos que están relacionados con la calidad nutracéutica y vida de anaquel.

3. OBJETIVOS

3.1. General

Evaluar el efecto de dos factores inductores de metabolitos (ácido salicílico y estrés hídrico) en la calidad nutracéutica y características relacionadas con vida de anaquel en lechugas (*Lactuca sativa* L. var. px06516006) cultivadas en invernadero.

3.2. Específicos

- Determinar niveles de compuestos bioactivos presentes en muestras de lechuga en los tratamientos con ácido salicílico y déficit hídrico.
- Evaluar las características fisicoquímicas en los diferentes tratamientos aplicados de los FIM's (ácido salicílico y déficit hídrico) relacionadas con vida de anaquel en lechuga (textura y color).

4. METODOLOGÍA

4.1. Materiales

4.1.1. Material vegetal

Lechuga orejona variedad px05516006

4.1.2. Invernadero

El experimento se desarrolló en un invernadero del campus Amazcala de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro, localizado en el estado de Querétaro, en la comunidad de Amazcala, sobre la carretera Querétaro-Chichimequillas. El invernadero tenía una extensión de 108 m² (9x12) con una altura de 5 m, estructura tipo capilla a doble capa, con cubierta plástica de polietileno de 800 galgas en espesor; de estructura de PTR de 2", orientación de Norte a Sur, con ventilación lateral y cenital cubierta por malla antiáfidos, y dos accesos de puertas corredizas en cada uno de sus extremos.



Figura 1. Invernadero utilizado. Invernadero tipo capilla a doble capa con cubierta plástica de polietileno, de 108 m² de extensión.

4.1.3. Sustrato

El cultivo de lechuga se desarrolló en sustrato de material poroso (piedra pómez) de características físicas de granulometría entre 6-8 mm y un diámetro medio de partícula (D_{50}) de 5 mm, el cual se colocó en bolsas negras con una capacidad de 10 L.

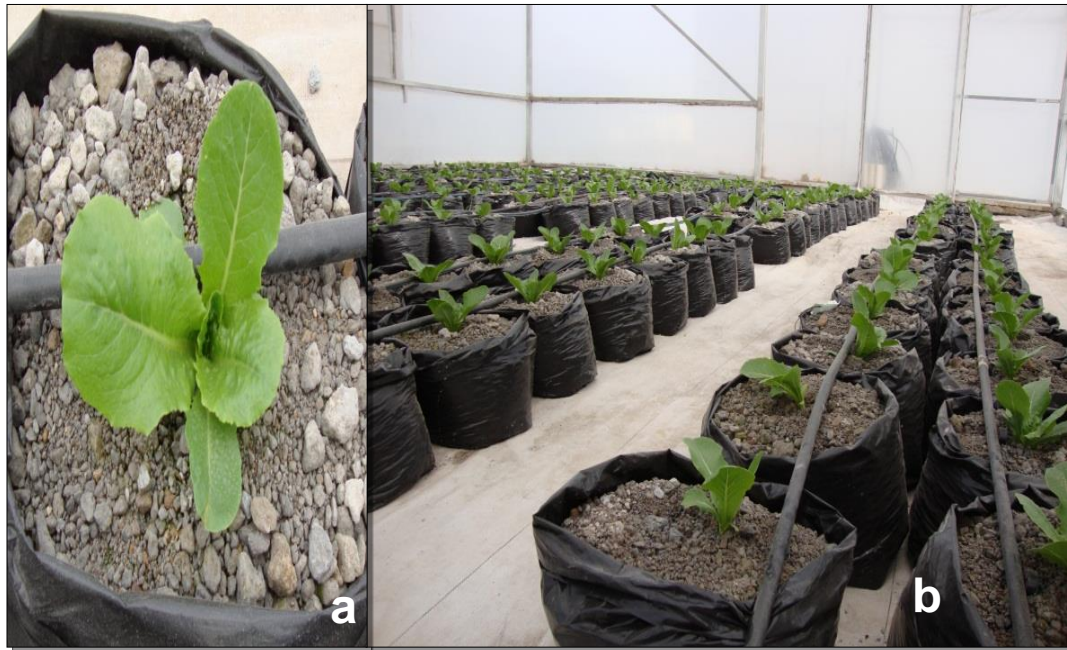


Figura 2. Sustrato del cultivo de lechuga orejona. a) Piedra pómez y b) contenedores para el cultivo.

4.2. Método

4.2.1 Preparación del invernadero

Las instalaciones del invernadero se desinfectaron con una solución comercial de Full Gro concentración de 2 mL/L de agua, aplicando de manera uniforme sobre la superficie del invernadero. El arreglo de los tratamientos dentro del invernadero fue de 6 líneas dobles de 0.7 m de ancho por 8.2 m de largo cada una, con una

distancia de 0.6 m entre líneas. En cada línea hubo un arreglo de 3 bloques de 0.7 cm de ancho por 2.4 m de largo con una distancia de 0.5 m entre bloques.

4.2.2. Producción de plántula

Se realizó la siembra de semillas de lechuga orejona en almácigos desinfectados con Full Gro (1 mL/L agua) utilizando una mezcla de peat moss y vermiculita como sustrato, cubriéndose con plástico de color negro para que la semilla adquiriera humedad y temperatura suficientes para promover la germinación. Las charolas en inicio de germinación se colocaron en el invernadero para alcanzar un máximo porcentaje de germinación y se mantuvieron en estas condiciones hasta la generación de cuatro hojas verdaderas.

4.2.3. Trasplante

El trasplante se llevó a cabo 40 días después de la siembra (DDS), cuando la plántula desarrolló cuatro hojas verdaderas, haciendo un hoyo en el sustrato de tal manera que el cepellón quedó cubierto.

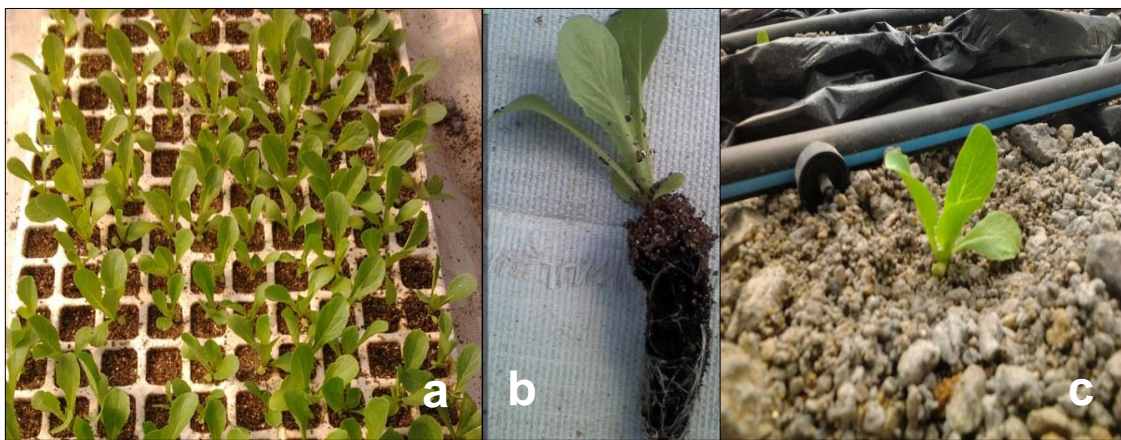


Figura 3. Desarrollo del cultivo de lechuga. a) Plántula con 40 DDS con cuatro hojas verdaderas para el trasplante, b) cepellón bien desarrollado de plántula de lechuga y c) trasplante de plántula de lechuga orejona.

4.2.4. Riego

El consumo de agua de lechuga fue variable a lo largo del experimento de acuerdo a la etapa fenológica y la influencia de la temperatura. De acuerdo al estudio llevado a cabo por Salinas (2010), en el que manejó dos aportes de agua al cultivo de la lechuga correspondiendo a un 50 % y 100 %, se establecieron los tratamientos de riego. Conociendo que la lechuga es muy sensible al déficit hídrico se aplicaron riegos del 100 % (riego normal) y 50 % (déficit hídrico), tomando en consideración como el riego al 100 % el que Salinas (2010) en su estudio manejó como su 50 % (40 mL/planta durante los primeros 19 días después de trasplante); con aportes de agua diferentes de acuerdo a la demanda hídrica y estado fenológico de la lechuga (Cuadro 6).

Cuadro 6. Consumo diario de agua del cultivo lechuga, de acuerdo al nivel de riego aplicado y desarrollo de la planta.

| Nivel de riego | Cantidad de agua (mL/planta) | Días después de trasplante |
|-----------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| Normal (100 %) | 40 | 19 |
| | 125 | 40 |
| Estrés hídrico (50 %) | 20 | 19 |
| | 65 | 40 |

4.2.5. Nutrición

La nutrición durante el cultivo de lechuga se mantuvo en conjunto con el sistema de riego con la aplicación de la solución hidropónica “La Molina” de acuerdo a lo establecido por Salinas (2010). La solución nutritiva se preparó con agua de pozo a

una concentración del 50 % y se mantuvo con monitoreo constante de pH entre 5.0 y 6.0 y una conductividad eléctrica (CE) de 2.5 mS/cm, con un multifuncional CONDUCTRONIC PC18.

Cuadro 7. Solución nutritiva hidropónica La Molina*

| Fuente | Composición Química | Partes por millón (ppm) |
|----------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------|
| Nitrato de calcio | $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ | N=152 |
| Nitrato de potasio | $\text{KNO}_3 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ | Ca= 146.35 |
| Fosfato monopotásico | KH_2PO_4 | K= 250.6 |
| Fosfato monoamónico | $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ | P= 36.04 |
| Sulfato de potasio | K_2SO_4 | S= 159 |
| Sulfato de magnesio | $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ | Mg= 34.2 |
| Ácido bórico | H_3BO_3 | Bo= 0.45 |
| Quelato de hierro | Fe EDTA | Fe= 0.91 |
| Quelato de manganeso | Mn EDTA | Mn= 0.32 |
| Quelato de zinc | Zn EDTA | Zn= 0.154 |
| Quelato de cobre | Cu EDTA | Cu= 0.105 |

*Fertilización química para 1000 L de agua. pH= 5.0-6.0 y CE= 2.5 mS/cm

4.2.6. Control de sanidad

El control de plagas y enfermedades se llevó a cabo en forma preventiva colocando una trampa amarilla (para mosquita blanca principalmente) y una azul (para Trips). El ingreso al invernadero se controló con un tapete sanitario de cal en la antesala del invernadero.

4.2.7. Condiciones ambientales

La humedad relativa (HR %), temperatura (T °C) dentro del invernadero se monitoreó con un data logger Watchdog, modelo 450 (Spectrum Technologies Inc. IL, USA), donde los datos se almacenaron cada 5 min. durante el ciclo de cultivo. Las condiciones ambientales promedio fueron, temperatura 26.83 °C y humedad relativa 38.11 %.

4.2.8. Tratamientos con ácido salicílico (SA)

El ácido salicílico se preparó con agua destilada a una concentración de 10 mM y 1mM que se mantuvo a temperatura ambiente a lo largo del estudio durante las diferentes aplicaciones. Las aplicaciones de SA que se llevaron a cabo por aspersión foliar hasta punto de goteo con un atomizador manual en la zona foliar de las plantas fueron de concentraciones de 10 mM y 1 mM y su respectivo testigo (agua destilada). La elección de las concentraciones empleadas está basada en el reporte de Salinas (2010), quien trabajo con la misma variedad de lechuga. Las aplicaciones se llevaron a cabo a partir de los 15 días después del trasplante semanalmente hasta concluir el ciclo del cultivo.



Figura 4. Aplicación del ácido salicílico. Aspersión foliar hasta punto de goteo.

4.2.9. Niveles de clorofila (lecturas SPAD).

La absorbancia es cuantificada en valores dimensionales que van de 0 a 199, por lo que las unidades SPAD (**S**oil **P**lant **A**nalysis **D**evelopment) fueron siempre las mismas de acuerdo con el tono verde de las hojas, por lo que a partir de unidades SPAD se pueden estimar los contenidos de clorofila y nitrógeno total de las planta. Las lecturas del nivel de clorofila se efectuaron de manera no destructiva con el equipo SPAD 502 Chlorophyll Meter (Minolta, Osaka, Japan), que mide la concentración relativa de clorofila por medio de la absorbancia de la luz a través de la hoja en 650 (longitud de onda fotosintéticamente activa) y 940 nm. Se seleccionó una hoja externa, una hoja media y una hoja interna (fotosintéticamente activas) de cada repetición de las plantas del cultivo, donde, a cada muestra se tomaron tres lecturas en la parte derecha de la hoja a partir de la nervadura central. Esta medición se llevó a cabo cada semana a partir del décimo día después de trasplante hasta el término del ciclo del cultivo.



Figura 5. Medición no destructiva de clorofila con el equipo Minolta SPAD 502 Chlorophyll meter.

4.2.10. Contenido de nitratos (NO_3^-)

La determinación del contenido de nitratos (NO_3^-) se llevó a cabo por la mañana de una hoja basal de cada uno de los tratamientos. La muestra obtenida se trituró en un mortero de cerámica para obtener una cantidad suficiente de savia para llevar a cabo la lectura del contenido de NO_3^- con el equipo Compact Ion Meter Cardi Ion Modelo C-141 (Horiba Ltd, USA). Las lecturas se llevaron a cabo por la mañana el día de la cosecha.

4.2.11. Color

A la cosecha, las plantas provenientes de cada tratamiento fueron recolectadas descartándose las hojas externas dañadas, se almacenaron a 5 °C en bolsas individuales de plástico perforadas para permitir la aireación durante 15 días simulando condiciones óptimas de almacenamiento del producto. Cada 8 días durante el almacenamiento, se extrajeron muestras para evaluar el color de las hojas de lechuga utilizando un colorímetro Konica Minolta CM-2002 (Minolta, Osaka, Japan) obteniendo los parámetros de color en el espacio CIELAB cuyos valores oscilan entre $L^* = 0$ (negro) y $L^* = 100$ (blanco), $-a^* =$ verde y $+a^* =$ rojo, $-b^* =$ azul y $+b^* =$ amarillo.



Figura 6. Medición de color en lechugas. a) Colorímetro Minolta y b) medición de los parámetros de color L^* , a^* y b^* en hojas de lechuga.

4.2.12. Textura

Se determinó la fuerza necesaria en Newton (N) para realizar un corte a muestras almacenadas a 5 °C a los 1, 8 y 15 días mediante un texturómetro TA-HD Texture Analyser (Stable Micro Systems Ltd), tomando un fragmento de la tercer hoja (del exterior al centro) de 1 x 3 cm, posteriormente éste se colocó en el texturómetro, sujetándolo de los extremos, realizando el corte con una sonda de bisel de 4.40 mm con caída de 2 mm/s.

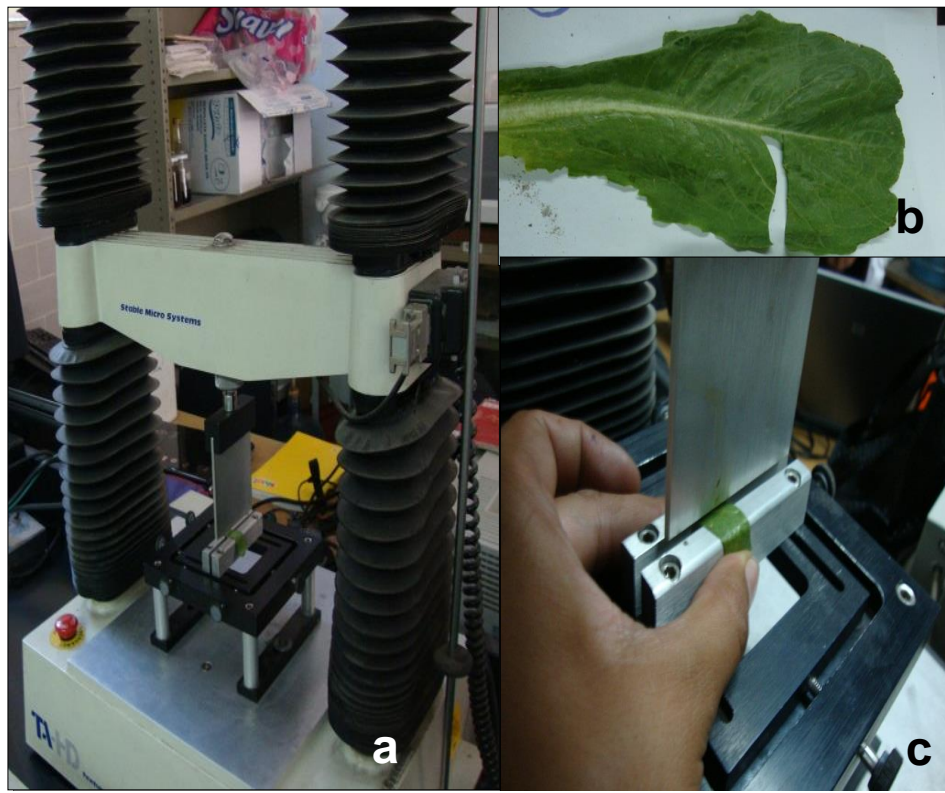


Figura 7. Determinación de la fuerza de corte en muestras de lechuga. a) Texturómetro Texture Analyser TA-HD, b) corte de 1 x 3 cm realizado en hojas de lechuga para uso en la determinación y c) determinación de la fuerza de corte en fragmento de hoja de lechuga con el texturómetro.

4.2.13. Cuantificación de fenoles totales (FT)

La extracción de los compuestos fenólicos se obtuvo con metanol, las muestras de lechuga fueron congeladas en nitrógeno líquido, se trituraron y pulverizaron nuevamente con nitrógeno líquido, en un mortero de cerámica. Se pesaron 500 mg de muestra y se disolvieron con 10 mL de metanol, se homogeneizaron a temperatura ambiente durante 2 horas tapando las muestras con papel aluminio; posteriormente se filtró la muestra colocando el filtrado en tubos previamente cubiertos con papel aluminio, para la posterior determinación de fenoles totales.

La cuantificación de fenoles totales se determinó usando el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. Para la curva de calibración se utilizó una solución estándar de ácido gálico (0.1 mg/mL) de la cual se tomaron volúmenes de 0 μ L a 160 μ L en intervalos de 20 μ L y se completó el volumen de cada uno a 500 μ L con agua destilada, se le adicionó 250 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu 1 N (50:50 v/v), se agitó y finalmente se le adicionaron 1250 μ L de Na_2CO_3 (20 %); se dejó reposar en oscuridad por 2 h a temperatura ambiente.

Para las muestras se tomaron 40 μ L de extracto, adicionando 460 μ L de agua destilada, 250 μ L del reactivo Folin-Ciocalteu 1 N y 1250 μ L de Na_2CO_3 (20 %); se dejó reposar en oscuridad por 2 h a temperatura ambiente.

La absorbancia se midió a 760 nm. El valor obtenido se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (AG) por gramo de muestra (mg Eq AG/g muestra).

4.2.14. Cuantificación de flavonoides (FL)

La cuantificación de flavonoides totales se determinó usando el método espectrofotométrico Robertson y Hall (1989). Para la curva de calibración se utilizó una solución stock de Rutina de 0.025 g de rutina en 10 mL de metanol, de la cual

se tomó una muestra haciendo diluciones para obtener las siguientes concentraciones: 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2.5 µg/mL y 1.0 µg/mL. De cada solución se tomaron 400 µL por triplicado, adicionando 1440 µL de metanol y 160 µL de solución 2-aminoetildifenil borato al 1 % para un volumen final de 2000 µL. El blanco se preparó con 1840 µL de metanol y 160 µL de solución 2-aminoetildifenil borato al 1 %. La absorbancia se midió a 404 nm.

En la determinación de flavonoides totales para las muestras se tomaron 400 µL de extracto metanólico, y se adicionaron 1440 µL de metanol y 160 µL de la solución 2-aminoetildifenil borato al 1 % para un volumen final de 2000 µL. La absorbancia se midió a 404 nm, usando como blanco de cada muestra 400 µL del extracto metanólico más 1600 µL de metanol. Se comparó el valor obtenido con la curva de calibración y se expresó como mg equivalentes de rutina por gramo de muestra (mg Eq R/g muestra).

El extracto metanólico se obtuvo colocando 200 mg de muestra fresca con 10 mL de metanol, cubriéndose con papel aluminio y dejando agitar por 24 h, se centrifugó a 5000 rpm por 10 min, del sobrenadante se tomaron los 400 µL de cada muestra para el análisis.

4.2.15. Capacidad antioxidante (CA)

La capacidad antioxidante se determinó por el método del DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), el cual se basa en la reducción del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (Salinas, 2010).

La determinación se realizó una vez que se obtuvieron los diferentes extractos orgánicos provenientes de las muestras de estudio, los cuales se obtuvieron colocando 200 mg de muestra molida con nitrógeno líquido y agregando 10 mL de metanol, cubriendo con papel aluminio y dejando agitar por 24 h. Posteriormente se tomaron 20 µL de cada muestra para el análisis.

Para la curva de calibración se utilizó trolox (0.25 mg/mL) como sustancia antioxidante control a concentraciones de 50 a 800 μ M con intervalos de 100 μ M. De cada estándar se tomarán 20 μ L y se colocaron en una placa de microtitulación de 96 pozos y se adicionaron 200 μ L del radical DPPH previamente preparado (1.5 mg de DPPH con 20.5 mL de metanol y 4.5 mL de agua destilada). Para la determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH en las muestras, se tomaron 20 μ L del extracto metanólico, y se adicionaron 200 μ L del radical DPPH, para el blanco se tomarán 20 μ L de metanol, y se adicionarán 200 μ L del radical DPPH. La absorbancia se midió a 520 nm en un fotómetro de microplacas Multiskan Ascent (Thermo Electron Co., Finland), durante 90 minutos, en lapsos de 10 minutos hasta completar 90.

Se determinó el porcentaje de captación de radicales libres DPPH, mediante la siguiente expresión:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{A \text{ control} - A \text{ muestra}}{A \text{ control}} * 100$$

Dónde: A control es la absorbancia al tiempo cero; y A muestra es la absorbancia de la muestra luego de 30 minutos.

4.2.16. Cuantificación de prolina

La prolina fue cuantificada mediante la técnica descrita por Bates (1973). 1 g de tejido foliar por muestra se congeló en nitrógeno líquido y homogenizó con 10 mL de ácido sulfosalicílico al 3 %. Posteriormente se filtró con papel filtro Whatman # 2. Del filtrado se tomaron 1 mL y se hizo reaccionar con 1 mL ninhidrina ácida y 1 mL de ácido acético glacial a 100 °C por una hora. La reacción se detuvo en baño con hielo. El cromóforo conteniendo la prolina fue extraído con 2 mL de tolueno agitándolo vigorosamente durante 15-20 segundos. Después se separó la fase orgánica conteniendo la prolina, posteriormente se cuantificó en un espectrofotómetro Helios- γ (Spectronic Unicam, England) a 520 nm usando tolueno

como blanco y L-prolina para la curva de calibración en concentraciones de 0, 12.5, 50, 100, y 200 μM , realizando el mismo procedimiento que la muestra.

Para determinar los μmoles de prolina por gramo de peso fresco de material, se usó la siguiente expresión:

$$\frac{[(\mu\text{g prolina/mL} * \text{mL}) / (115\mu\text{g}/\mu\text{mol})]}{[(\text{g muestra}) / 5]} = \mu\text{moles de prolina / g de tejido fresco}$$

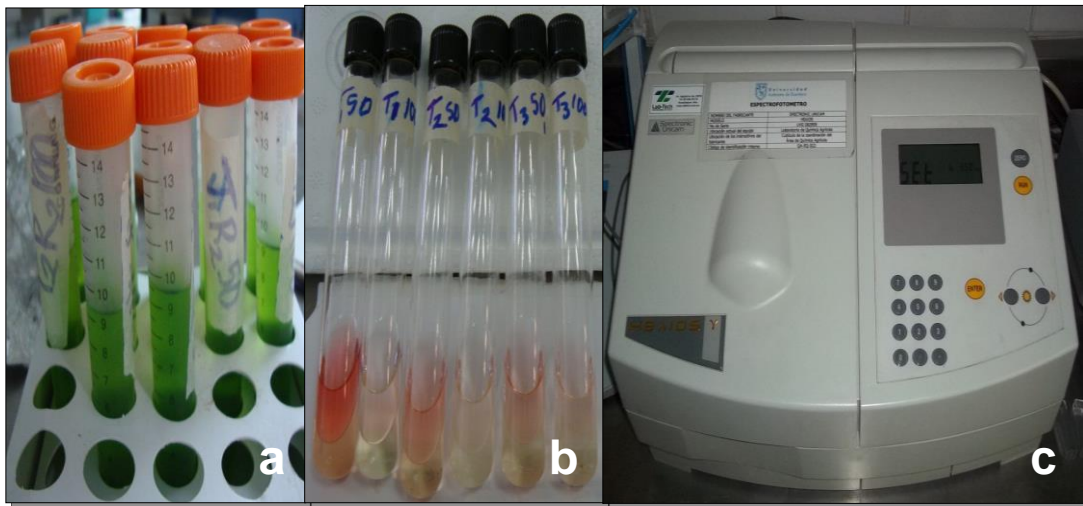


Figura 8. Cuantificación de prolina. a) Extractos metanólicos de las muestras de lechuga orejona, b) cromóforos conteniendo la prolina de cada muestra y c) espectrofotómetro Spectronic Unicam Helios- γ

4.3. Diseño experimental.

El diseño experimental fue completamente al azar con 3 repeticiones. Las unidades experimentales fueron de 20 plantas. Los tratamientos consistieron en 3 distintos niveles de aporte de agua y 2 concentraciones de ácido salicílico. Los resultados de análisis de varianza obtenidos de cada variable de respuesta y comparación múltiple de medias por la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$), se realizaron con el paquete JMP 5.0 (SAS Institute, 1990).

5. RESULTADOS.

Se analizaron las siguientes variables de respuesta: características relacionadas con vida de anaquel (color y textura), clorofila (SPAD), nitratos (NO_3^-), fenoles totales (FT), flavonoides (FL), capacidad antioxidante (CA) y prolina (PR), siendo consideradas estas variables las que le atribuyen calidad a la lechuga en cuanto al estado nutricional de la planta, propiedades para la salud y valor nutracéutico.

5.1. Color

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros a^* y b^* analizados entre tratamientos en el día 7 y 15, no encontrándose diferencias al día 1.

Cuadro 8. Resultados de los parámetros de color L^* , a^* y b^* .

| Tratamiento | Color | | |
|-------------------------------|---------|----------|----------|
| | L^* | a^* | b^* |
| Día 7 | | | |
| 0 mM SA riego 100 % (TESTIGO) | 32,06 a | -7,37 b | 16,67 a |
| 0 mM SA riego 50 % | 34,97 a | -7,46 a | 15,04 ab |
| 1 mM SA riego 100 % | 37,43 a | -7,78 b | 17,21 a |
| 1 mM SA riego 50 % | 31,80 a | -6,45 ab | 11,90 bc |
| 10 mM SA riego 100 % | 32,07 a | -7,72 b | 18,08 a |
| 10 mM SA riego 50 % | 32,18 a | -5,74 a | 11,14 c |
| Día 15 | | | |
| 0 mM SA riego 100 % (TESTIGO) | 33,56 a | -7,17 b | 16,01 a |
| 0 mM SA riego 50 % | 33,91 a | -6,90 b | 13,84 ab |
| 1 mM SA riego 100 % | 33,51 a | -7,12 b | 15,32 ab |
| 1 mM SA riego 50 % | 33,17 a | -5,76 a | 13,32 ab |
| 10 mM SA riego 100 % | 34,06 a | -7,09 b | 14,85 ab |
| 10 mM SA riego 50 % | 33,24 a | -6,10 ab | 12,58 b |

Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos según prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$).

No se presentaron diferencias estadísticamente significativas en los valores de L^* (luminosidad) entre tratamientos al día 7 así como también al día 15. En lo que corresponde a los valores de los parámetros de a^* y b^* los tratamientos

presentaron diferencias, siendo los tratamientos de concentración de 1 y 10 mM de ácido salicílico con déficit hídrico los que presentaron mayores diferencias en comparación con el testigo al día 7 y 15, teniendo una pérdida mayor de coloración.

5.2. Textura

En los valores obtenidos de la determinación textura no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en los días 1 y 7. Los resultados de los tratamientos al día 15 mostraron diferencias significativas, los resultados se muestran en el siguiente cuadro:

Cuadro 9. Resultados de textura obtenidos de los diferentes tratamientos.

| Tratamiento | Textura (N) | | |
|-------------------------------|-------------|--------|---------|
| | día 1 | día 7 | día 15 |
| 0 mM SA riego 100 % (TESTIGO) | 3,50 a | 1,91 a | 1,78 b |
| 0 mM SA riego 50 % | 3,38 a | 2,73 a | 2,37 ab |
| 1 mM SA riego 100 % | 2,35 a | 1,89 a | 2,06 ab |
| 1 mM SA riego 50 % | 2,86 a | 2,73 a | 2,39 ab |
| 10 mM SA riego 100 % | 2,19 a | 1,50 a | 2,00 ab |
| 10 mM SA riego 50 % | 2,64 a | 2,68 a | 3,55 a |

Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos según prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$).

El tratamiento de concentración de 10 mM de SA con déficit hídrico mostró una diferencia significativa con el testigo (0 mM SA riego al 100 %), teniendo un mejor comportamiento el testigo, al mostrar un valor menor de fuerza necesaria de corte, presentando así una mayor turgencia y por lo tanto un mayor tiempo de vida útil en comparación con los tratamientos.

5.3. Clorofila

Los resultados obtenidos no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las semanas 1, 2 y 3 (cuadro 10), esto concuerda con los datos obtenidos de Salinas (2010), quien indicó que el SA no afectó al riego normal ni favoreció el estrés hídrico; los resultados de los tratamientos a la semana 4 mostraron diferencias significativas, los resultados se muestran en el siguiente cuadro:

Cuadro 10. Niveles de clorofila obtenidos durante el ciclo del cultivo.

| Tratamiento | Clorofila (SPAD) | | | |
|-------------------------------|------------------|-------------|-------------|-------------|
| | semana 1 | semana 2 | semana 3 | semana 4 |
| 0 mM SA riego 100 % (TESTIGO) | 40,10 a | 46,12 a | 46,12 a | 47,33 ab |
| 0 mM SA riego 50 % | 40,17 a | 45,12 a | 45,19 a | 49,66 ab |
| 1 mM SA riego 100 % | 41,96 a | 46,22 a | 46,22 a | 48,01 ab |
| 1 mM SA riego 50 % | 40,37 a | 46,22 a | 46,22 a | 49,98 a |
| 10 mM SA riego 100 % | 40,87 a | 47,62 a | 47,62 a | 46,38 b |
| 10 mM SA riego 50 % | 40,01 a | 44,94 a | 44,94 a | 50,44 a |

Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos según prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$)

Los tratamientos con déficit hídrico (riego al 50 %) presentaron mayores niveles de clorofila (SPAD), sin embargo no se encontraron diferencias significativas con el testigo. Los tratamientos de concentración de SA 1 mM y 10 mM riego al 50 % mostraron diferencias con el tratamiento 10 mM SA con riego al 100 %, el cual a la semana 4 presentó el menor nivel de clorofila.

5.4. Nitratos

El contenido de nitratos más bajo que se registró fue el del testigo (0 mM SA riego 100 %). Los resultados se muestran en la tabla siguiente:

Cuadro 11. Resultados de nitratos (ppm) obtenidos de los diferentes tratamientos.

| Tratamiento | Nitratos (ppm) |
|-------------------------------|-----------------------|
| 0 mM SA riego 100 % (TESTIGO) | 1100 d |
| 0 mM SA riego 50 % | 3600 a |
| 1 mM SA riego 100 % | 2500 bc |
| 1 mM SA riego 50 % | 2813 b |
| 10 mM SA riego 100 % | 1513 d |
| 10 mM SA riego 50 % | 2233 c |

Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos según prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$)

Los resultados del contenido de nitratos de los tratamientos a excepción del tratamiento sin ácido salicílico con déficit hídrico (0 mM SA riego 50 %) estuvieron dentro del rango estipulado por la UE para este sistema de producción en invernadero en el periodo de cosecha abril-septiembre.

5.5. Fenoles totales

En el cuadro 12, se observa que el tratamiento de 10 mM con déficit hídrico presentó un notable incremento de fenoles totales en comparación con el testigo, presentando diferencias significativas; sin embargo el testigo no presentó diferencias significativas con los demás tratamientos de déficit hídrico

Cuadro 12. Resultados obtenidos de la cuantificación de fenoles totales.

| Tratamiento | Fenoles totales (mg Eq AG/g muestra) |
|-------------------------------|---------------------------------------------|
| 0 mM SA riego 100 % (TESTIGO) | 0,534 b |
| 0 mM SA riego 50 % | 0,589 ab |
| 1 mM SA riego 100 % | 0,419 b |
| 1 mM SA riego 50 % | 0,615 ab |
| 10 mM SA riego 100 % | 0,542 ab |
| 10 mM SA riego 50 % | 0,754 a |

Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos según prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$).

Los datos concuerdan con los obtenidos por Tierranegra y col. (2011) quienes observaron que la aplicación de ácido salicílico induce el incremento de fenoles totales en muestras de lechuga.

5.6. Flavonoides

Los resultados de contenido de flavonoides (mg equivalentes de Rutina/mL) presentaron un comportamiento similar a los resultados obtenidos por Tierranegra y col. (2011), quienes obtuvieron un incremento de flavonoides en muestras de lechugas con aplicación de ácido salicílico.

Cuadro 13. Resultados obtenidos de la cuantificación de flavonoides.

| Tratamiento | Flavonoides (mg eq Rutina/mL) |
|-------------------------------|--------------------------------------|
| 0 mM SA riego 100 % (TESTIGO) | 15,760 ab |
| 0 mM SA riego 50 % | 12,322 bc |
| 1 mM SA riego 100 % | 3,781 c |
| 1 mM SA riego 50 % | 17,218 ab |
| 10 mM SA riego 100 % | 13,677 b |
| 10 mM SA riego 50 % | 22,427 a |

Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos según prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$).

El contenido flavonoides (mg equivalentes de Rutina/mL) más bajo lo presentó el tratamiento de 1 mM SA con riego al 100 %, presentando diferencias estadísticamente significativas con el testigo; no presentando el testigo diferencias significativas entre los demás tratamientos.

5.7. Capacidad antioxidante (% de inhibición DPPH)

Se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, siendo el tratamiento de concentración de SA de 10 mM con déficit hídrico el que presentó mayor porcentaje inhibición de la propagación de reacciones de oxidación. Los resultados obtenidos se muestran en el cuadro siguiente:

Cuadro 14. Resultados obtenidos de la determinación de la capacidad antioxidante de los diferentes tratamientos.

| Tratamiento | % inhibición DPPH |
|-------------------------------|--------------------------|
| 0 mM SA riego 100 % (TESTIGO) | 6,54 bc |
| 0 mM SA riego 50 % | 6,97 c |
| 1 mM SA riego 100 % | 4,62 c |
| 1 mM SA riego 50 % | 8,61 ab |
| 10 mM SA riego 100 % | 4,95 c |
| 10 mM SA riego 50 % | 10,39 a |

Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos según prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$).

5.8. Prolina

En el cuadro 15, se observa que los tratamientos con déficit hídrico y ácido salicílico presentaron los valores más altos de prolina libre, mostrando diferencias altamente significativas con el testigo. Los tratamientos que tuvieron una aplicación de ácido salicílico y un aporte de agua al 100 % disminuyeron el contenido de prolina en comparación con el testigo.

Cuadro 15. Resultados obtenidos de la cuantificación de prolina libre en muestras de lechuga.

| Tratamiento | Prolina (μmoles de prolina/ g de tejido fresco) | |
|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----|
| 0 mM SA riego 100% (TESTIGO) | 4,13 | cd |
| 0 mM SA riego 50% | 4,93 | c |
| 1 mM SA riego 100% | 1,64 | e |
| 1 mM SA riego 50% | 18,08 | a |
| 10 mM SA riego 100% | 2,71 | de |
| 10 mM SA riego 50% | 8,51 | b |

Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos según prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$).

6. DISCUSIÓN.

En los resultados de las secciones 5.1 y 5.2 de las características relacionadas con vida de anaquel estudiadas (color y textura), los tratamientos presentaron una disminución en los valores de los parámetros de L^* , a^* y b^* conforme avanzó el tiempo, esto concuerda con la pérdida de la pigmentación durante el almacenamiento como señala León y col. (2007) quienes midieron la evolución del color en lechuga mantecosa. Los diferentes tratamientos aplicados a excepción del tratamiento de 10 mM de SA y déficit hídrico, presentaron un comportamiento similar al testigo al día 15 no presentando diferencias significativas. Se observa una relación entre las variables de color y textura; cuando se tiene una pérdida de turgencia en las hojas, la coloración verde disminuye.

En los resultados de los niveles de clorofila (SPAD) se observa que en las primeras semanas estudiadas no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, sin embargo en la semana 4 se tiene un cambio en el comportamiento de las plantas, incrementando los niveles de clorofila de las plantas sometidas a déficit hídrico, lo cual se atribuye a la maduración acelerada de éstas, al ser sometidas a estrés por sequía.

Como se menciona en los antecedentes de este trabajo, concentraciones altas de nitratos no son deseables, por lo cual la Unión Europea (UE) estableció contenidos máximos de nitratos permitidos en lechuga cultivada en invernadero. Los tratamientos aplicados en el cultivo de lechuga incrementaron el contenido de nitratos en comparación con el testigo, sin embargo se mantuvieron dentro del rango permitido por la UE, a excepción del tratamiento de déficit hídrico sin aplicación de SA, observándose en este trabajo que la aplicación de SA en plantas sometidas a déficit hídrico mantiene la cantidad de nitratos dentro de los límites establecidos por la UE. Los datos obtenidos se determinaron similares a los registrados por Salinas (2010), quien estableció que el contenido de nitratos en plantas de lechuga en un sistema de producción hidropónico en invernadero por la mañana no sobrepasa los límites tolerables por la UE en cultivo de invernadero.

En los resultados de las secciones 5.5, 5.6 y 5.7 se observa que la aplicación de ácido salicílico 10 mM en conjunto con déficit hídrico favorece el incremento de los compuestos bioactivos estudiados, presentando una cantidad mayor de éstos en comparación con el testigo, mostrando un comportamiento similar a los resultados del trabajo desarrollado por Tierrranegra y col. (2011), quienes obtuvieron un incremento de fenoles totales y flavonoides en muestras de lechugas con aplicación de ácido salicílico.

Los resultados de la cuantificación de prolina libre que se observan en el Cuadro 15, muestran el incremento de ésta en plantas sometidas a estrés hídrico combinado con la aplicación de SA, en comparación con el testigo. Asimismo se puede observar que las plantas que fueron sometidas a estrés hídrico sin aplicación de SA, no presentaron diferencias significativas con el testigo, no observándose el comportamiento que señala González (2005) quien obtuvo una respuesta en el aumento de la concentración de prolina en muestras de plántulas y tallos de especies del desierto chihuahuense sometidas a sequía.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el tratamiento de ácido salicílico 10 mM y déficit hídrico aplicado a plantas de lechuga incrementa los compuestos bioactivos, y mantiene la cantidad de nitratos dentro del rango estipulado por la UE favoreciendo la calidad nutracéutica del producto, sin embargo no favorece las características relacionadas con vida de anaquel estudiadas.

7. CONCLUSIONES.

Los FIM's evaluados, solos o combinados, incrementaron los niveles de compuestos bioactivos en general, siendo el tratamiento de aplicación de ácido salicílico 10 mM con riego al 50 % el que presentó un mayor incremento de éstos en plantas de lechuga cultivadas en invernadero.

Los FIM's aplicados no provocaron cambios significativos en los parámetros de color y textura en el día 15, con excepción del tratamiento de déficit hídrico con aplicación de ácido salicílico 10 mM.

8. REFERENCIAS

Arias M, Angarita MJ, Aguirre AM, Restrepo JM, Montoya C. Estrategias para incrementar la producción de metabolitos secundarios en cultivos de células vegetales. Rev Fac Nal Agr Medellín [serie en internet] **2009** [consultado 2011 agosto 10]; 62(1): 4881-4895. Disponible en: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article>.

Azcón J, Talón M. Fundamentos de fisiología Vegetal. 2da. edición. Madrid: Editorial Interamericana, **2008**; 577-597.

Barrera IC. Cultivo de células de *Jacaratia mexicana* en un biorreactor airlift: efecto de un inductor y un elicitor en la producción de enzimas proteolíticas. Instituto Politécnico Nacional. Tesis de Maestría. México, **2007**; 1-28.

Basurto M, Núñez A, Pérez R, Hernández OA. Fisiología del estrés ambiental en plantas. Revista Synthesis. **2008**; 48: 1-5.

Bates LS, Waldren RP, Teare ID. Plant and Soil. Vol. **1973** 39: 205-207.

Benavides A, Salazar AM, Ramírez F, Robledo V, Ramírez H, Maiti R. Tratamiento de semilla de chile con ácidos salicílico y sulfosalicílico y respuesta de las plántulas al frío. TERRA latinoamericana. **2004**; 22: 41-47.

Carrión J, León K, Santiago J. Actividad antioxidante de tres ecotipos de Maca (*lepidium meyenii walp*) tratada con radiación gamma. Revista Peruana de Química e Ingeniería Química. **2009**; 12: 72-77.

Chaman ME. Variaciones en el contenido relativo de agua y la concentración de prolina en *Capsicum annum* L. inducido por NaCl. Arnaldoa. **2007**; 14: 251-258.

De la O GA, Ojeda DL, Hernández OA, Sánchez E, Martínez J. Biomasa, prolina y parámetros nitrogenados en plántulas de nogal bajo estrés hídrico y fertilización nitrogenada. Revista Chapingo. **2011**; 7: 13-18.

Flores KU. Determinación no destructiva de parámetros de calidad de frutas y hortalizas mediante espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano. Universidad de Córdoba. Tesis Doctoral. España, **2009**; 17-43.

- Gómez BL, Cepeda MA.** Ácido salicílico: inductor de resistencia a sequía en canola de riego bajo labranza reducida. Folleto técnico SAGARPA. INIFAP- CIRPAC. **2010.** Vol. 2: 3-30.
- González C.** Respuestas fisiológicas y morfológicas a sequía en plántulas de distintos grupos funcionales del desierto chihuahuense. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C. Tesis de Maestría. San Luis Potosí. **2005;** 25-40.
- González RE.** Efecto de la aplicación de dos antioxidantes naturales sobre el pardeamiento enzimático en poscosecha de lechugas cv. Crispa. Quillota, Chile. Universidad Católica de Valparaíso. Tesis de licenciatura. Chile. **2004;** 9-11.
- López R, Camacho V, Gutiérrez MA.** Aplicación de ácido salicílico para incrementar el rendimiento agronómico en tres variedades de trigo. Revista Terra. **1998;** 16: 43-48.
- Martínez JB.** Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de *Helicopsis terebinthinaceus*. Universidad Tecnológica de la Mixteca. Tesis de licenciatura. Huajuapán de León, Oaxaca. **2007;** 2-12.
- Martínez ZA.** Algunos aspectos epidemiológicos del moho blanco de la lechuga (*Lactuca sativa*) en dos municipios productores de Cundinamarca. Pontificia Universidad Javeriana. Tesis de licenciatura. Bogotá, D.C. **2008;** 19-24.
- Mayz J.** Fijación biológica del Nitrógeno. Revista UDO Agrícola. **2004;** 4: 1-20.
- Montoliu A.** Respuestas fisiológicas de los cítricos sometidos a condiciones de estrés biótico y abiótico. Aspectos comunes y específicos. Universitat Jaume I de Castellón. Tesis doctoral. Castellón de la Plana, España. **2010;** 9-47.
- Moreno LP.** Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Revista Agronomía Colombiana. **2009;** 27: 179-191.
- Olivares EO.** Efecto de la sequía sobre la eficiencia fotoquímica del PSII en *N. dombeyi* (Mirb.) Oerst. Universidad Austral de Chile. Tesis de licenciatura. Chile. **2005;** 3-14.
- Paladino SC.** Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinifera* L.). Universidad Nacional de Cuyo. Tesis de Maestría. Argentina. **2008;** 12-28.

- Palma FC.** Respuestas inducidas por ácido abscísico y ácido salicílico en las simbiosis de judía y alfalfa en estrés salino. Universidad de Granada. Tesis Doctoral. Granada, España. **2009**; 16-45, 109-120.
- Parra RA, Rodríguez JL, González VA.** Transpiración, potencial hídrico y prolina en zarzamora bajo déficit hídrico. Revista Terra. **1999**; 17: 125-130.
- Pérez A, Jiménez E.** Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo *in vitro*. Biotecnología Vegetal [serie en internet] **2011** [consultado 2012 enero 25]; 11(4): 195-211. Disponible en: <http://revista.ibp.co.cu/2011/vol-11-no-4-2011/455-produccion-de-metabolitos-secundarios-de-plantas-mediante-el-cultivo-in-vitro.html>
- Rangel G, Castro E, Beltran E, Reyes H, García E.** El ácido salicílico y su participación en la resistencia a patógenos en plantas. Revista Biológicas. **2010**; 12(4): 90-95.
- Rodríguez MN, Alcántar G, Aguilar A, Etchevers JD, Santizó JA.** Estimación de la concentración de Nitrógeno y Clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. Revista Terra. **1998**; 16(2): 135-141.
- Salinas P.** Efecto del ácido salicílico sobre la tolerancia a estrés hídrico en lechuga (*Lactuca sativa* L.) bajo condiciones de invernadero. Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis de Especialidad. Querétaro, México. **2010**; 1-51.
- Sepúlveda G, Porta H, Rocha M.** La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. Revista Mexicana de Fitopatología. **2003**; 21(3): 355-363.
- Silva L.** Estudio de la digestibilidad de carbohidratos y capacidad antioxidante de leguminosas de mayor consumo en México. Instituto Politécnico Nacional. Tesis de Maestría. México. **2007**; 3-43.
- Tierranegra N, Salinas P, Torres I, Ocampo RV, Rico E, Mendoza SO, et al.** Effect of foliar salicylic acid and methyl jasmonate applications on protection against pill-bugs in lettuce plants (*Lactuca sativa*). Phytoparasitica. **2011**; 39: 137-144.
- Velasquéz SE.** Estudio de tecnologías de manejo poscosecha de lechugas (*Lactuca sativa*) de hoja producidas por cultivo orgánico. Escuela Politécnica Nacional. Tesis de licenciatura. Quito, Chile. **2007**; 1-6.

Venereo JR. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidante. Revista Cubana de medicina militar. **2002**; 31(2): 126-133.

Villalobos, E. Fisiología de la producción de los cultivos tropicales. 1a. edición. Costa Rica: Editorial Universidad de Costa Rica, **2001**; 212-215.

Villanueva E, Alcántar G, Sánchez P, Soria M, Larque A. **2009**. Efecto del ácido salicílico y dimetilsulfóxido en la floración de *Chrysanthemum morifolium* en Yucatán. Revista Chapingo. **2009**; 15(2): 25-31.

Zapata L, Gerard L, Davies C, Oliva L, Schvab M. Correlación matemática de índices de color del tomate con parámetros texturales y concentración de carotenoides. Ciencia, Docencia y Tecnología. **2007**; 34: 207-226.