

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCION DE POSGRADO



ESTUDIO DE RESPUESTA DE DEFENSA EN PLANTAS DE TOMATE BAJO
ESTRÉS BIÓTICO Y ABIÓTICO CON EL USO DE ELICITORES.

Tesis

Que presenta EMA LAURA GARCÍA ENCISO

como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS EN AGRIULTURA PROTEGIDA

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2017

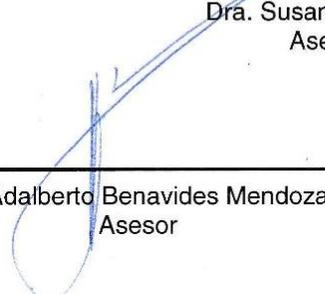
ESTUDIO DE RESPUESTA DE DEFENSA EN PLANTAS DE TOMATE BAJO
ESTRÉS BIÓTICO Y ABIÓTICO CON EL USO DE ELICITORES.

Tesis

Elaborada por EMA LAURA GARCÍA ENCISO como requisito parcial para
obtener el grado de Doctor en Ciencias en Agricultura Protegida con la
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



Dra. Susana González Morales
Asesor Principal



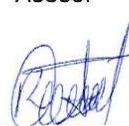
Dr. Adalberto Benavides Mendoza
Asesor



Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar
Asesor



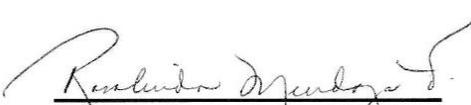
Dr. Humberto Reyes Valdés
Asesor



Dr. Armando Robledo Olivo
Asesor



Dra. Susana Solís Gaona
Asesor



Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal
Subdirector de Posgrado
UAAAN

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCION DE POSGRADO



Estudio de respuesta de defensa en plantas de tomate bajo estrés biótico y
abiótico con el uso de elicitores.

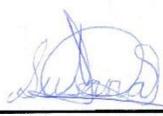
Tesis

Que presenta EMA LAURA GARCÍA ENCISO

como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS EN AGRIULTURA PROTEGIDA



Dra. Susana González Morales
Nombre Director (UAAAN)



Dra Susana Solís Gaona
Nombre Director Externo

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2017

AGRADECIMIENTOS

Al **CONACYT**, por la beca otorgada para la realización de mis estudios de posgrado.

A la **UAAAN**, por cobijarme durante estos años y darme la oportunidad de continuar mi formación profesional.

A la **Dra. Susana González Morales**, gracias por confiar en mí para la realización de este proyecto, por la paciencia y todas las enseñanzas, me quedó con el ejemplo de trabajo constante, dedicación y perseverancia.

Al **Dr. Adalberto Benavides, Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar, Dr. Humberto Reyes Valdés, Dr. Armando Robledo Olivo y Dra. Susana Solís Gaona**, por formar parte de este comité de asesoría, por el tiempo y las enseñanzas para formarme profesionalmente y por las palabras dedicadas para continuar y alcanzar esta meta.

A mis compañeras del Laboratorio de Fisiología Vegetal, **Erika, Julia, Paola e Irma**, en ustedes encontré una nueva forma de realizar investigación.

A mis compañeros y amigos **Hipólito y Juan Mayo** quienes han sido un apoyo incondicional.

A mi pequeña familia, **William, Alex, Elena, Fátima y Hugo**, gracias por acompañarme y cuidarme, por las palabras de aliento, las manos extras y el todo el cariño recibido.

DEDICATORIA

A mis padres, **Francisco García Ramírez y Paula Enciso Rodríguez**, por construir esta hermosa familia, gracias por acompañarme, apoyarme y no dejarme caer.

A mis hermanos **Gabriel, Gloria, Brenda y Elena**, por el apoyo incondicional, cada palabra de aliento y el cariño a pesar de la distancia.

A mis sobrinos **Ely, Michelle y Mateo** por ser mi sol brillante, verlos y escucharlos es mi mayor regalo.

A **William Alfredo Narváez Ortiz**, gracias por toda tu paciencia, cariño y apoyo incondicional.

Al **Dr. Manuel De La Rosa Ibarra**, por permitirme ser parte de su familia y continuar siendo mi maestro aun fuera del aula.

CARTA DE ACEPTACIÓN DE LOS ARTÍCULOS



Texcoco, Estado de México, 26 de octubre de 2017

M.C Ema Laura García Enciso
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Presente.

Por medio de la presente se hace constar que el manuscrito titulado: **“Efecto de elicitors de origen natural sobre plantas de tomate sometidas a estrés biótico”**, del cual son autores (as): **Ema Laura García Enciso, Armando Robledo Olivo, Adalberto Benavides Mendoza, Susana Solís Gaona, Susana González Morales**, fue aceptado para ser publicado en el Vol. Esp. **20, 2018** en la Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

Atentamente

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Dora Ma. Sangerman-Jarquín", is written over a light-colored background.

DRA. DORA MA. SANGERMAN-JARQUÍN
EDITORA EN JEFA DE LA REVISTA
MEXICANA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

c.c.p. * Archivo
DMSJ/dmhs

Carretera Los Reyes-Texcoco, km 13.5. Coatlinchán, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56250
E-mail: revista_atm@yahoo.com.mx. Tel. 01 800 088 2222 Ext. 85353



Emilia García <emlaugaren@gmail.com>

[BIOTECNIA] Acuse de recibo de envío

1 mensaje

Dr. Francisco Rodríguez Félix <biotecnia@ciencias.uson.mx> 3 de diciembre de 2017, 23:36
Para: emlaugaren@gmail.com

hola Emilia Laura García Enciso:

Gracias por enviar el manuscrito, "Efecto de la aplicación de un bioestimulante en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico" a Biotecnia. Con nuestro sistema de gestión de revistas en línea, podrá iniciar sesión en el sitio web de la revista y hacer un seguimiento de su progreso a través del proceso editorial:

URL del manuscrito:

<https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/author/submission/474>

Nombre de usuario/a: emlau

En caso de dudas, contacte conmigo. Gracias por elegir esta revista para publicar su trabajo.

Dr. Francisco Rodríguez Félix
Biotecnia

INTRODUCCIÓN

Las plantas, durante su crecimiento y desarrollo se encuentran continuamente sometidas a diversas condiciones de estrés en su entorno natural. Estas condiciones pueden ser definidas como condiciones no óptimas, que ejercen una influencia perjudicial sobre las plantas; estas condiciones no óptimas puede ser provocadas por factores bióticos o abióticos (1,2).

El estrés biótico es causado por una amplia gama de organismo como plagas y patógenos que incluyen hongos, bacterias, virus, nematodos e insectos herbívoros. Uno de los fitopatógenos de mayor importancia debido a su amplia distribución y las grandes pérdidas que provoca en los cultivos es *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, causante de la marchitez vascular (3).

Por otro lado las condiciones de estrés abiótico como la salinización, temperatura, radiación y sequía causan grandes pérdidas a la producción agrícola en todo el mundo (4). Siendo la falta de recurso hídrico uno de los factores ambientales que limita la distribución de la vegetación, el crecimiento, el rendimiento, la expansión foliar y el aumento del crecimiento radicular de las plantas cultivadas más que cualquier otro factor ambiental (5–7).

Las plantas están adaptadas para responder a diversas condiciones de estrés ambiental, activando cambios moleculares, morfológicos y fisiológicos específicos para minimizar el daño (8). Una de las principales respuestas al estrés, 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 (4,9). Estos cambios moleculares y celulares comienzan posterior al inicio del estrés, mediante los cuales pueden incrementar su tolerancia (10).

En la actualidad se busca potencializar estos mecanismos de defensa por medio de la aplicación de productos alternativos como lo son los bioestimulantes, o mediante moléculas inductoras también llamadas elicitores. La activación de la inmunidad de la planta frente a diversos factores ambientales por el uso de

elicitores es a través de la señalización de eventos intracelulares que activan cascadas de transducción y vías hormonales, tales como el ácido abscísico (ABA) inducido en respuesta al estrés abiótico; o el ácido jasmonico, ácido salicílico y etileno responsable de la señalización por estrés biótico (11–13) dando respuesta al estímulo condicionante (14).

El estudio de algunas moléculas provenientes de extractos de *Lippia graveolens*, *Cymbopogon citratus* y *Heliopsis longipes*, así como el uso de compuestos bioactivos de algas han demostrado su efectividad para estimular los mecanismos de defensa y favorecer parámetros como el incremento en la altura, longitud de raíz, rendimiento y biomasa total de algunos cultivos (15–17).

Por lo tanto el objetivo de esta investigación fue evaluar la respuesta de plantas de tomate sometidas a estrés biótico y abiótico con la aplicación de elicitores.

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia económica del tomate

México ocupa el décimo lugar a nivel mundial en superficie sembrada y en nuestro país constituye una de las hortalizas más importantes debido a la cantidad de empleos directos e indirectos que genera el cultivo y al número de divisas que ingresan al país por concepto de su comercialización (18).

En 2016, el 56.3 % de la producción nacional de tomate se concentró en cinco entidades: Sinaloa (27.6 %), San Luis Potosí (9.2 %), Michoacán (7 %), Baja California (6.7 %), y Zacatecas (5.7 %)(19).

Gracias a la variedad de climas que posee el país, el cultivo del tomate en México se encuentra ampliamente distribuido, lo que permite adoptar entre sistemas de producción tradicionales, semi-tecnificados y altamente tecnificados (20). Sin embargo independientemente del sistema que sea utilizado para su producción siempre existen factores que disminuyen el potencial productivo del cultivo.

Factores limitantes en la producción

El crecimiento y la productividad de las plantas se ven afectados negativamente por el entorno en el que se desarrollan, por la influencia de diversos factores de estrés bióticos y abióticos (21).

Los problemas fitosanitarios se encuentran dentro de los factores que limitan el crecimiento y afectan los rendimientos y calidad de las cosechas de los cultivos (22). Mientras que, factores ambientales como sequía, salinidad, temperaturas extremas, toxicidad química y estrés oxidativo son amenazas graves para la agricultura (23).

Estrés por déficit hídrico

La sequía es el principal factor abiótico limitante en la producción de los cultivos en el mundo (24). En la actualidad muchas regiones del mundo se han visto afectadas por prolongados períodos de sequía, debido a la disminución de las precipitaciones provocadas por la variabilidad del cambio climático, y esto ha provocado importantes reducciones en los rendimientos de los diversos cultivos (25). 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. El déficit hídrico no sólo ocurre cuando hay poca agua en el ambiente, sino también por bajas temperaturas y por una elevada salinidad del suelo. Estas condiciones, capaces de inducir una disminución del agua disponible del citoplasma de las células, también se conocen como estrés osmótico (26). De esta manera, el agua constituye el principal factor limitante del crecimiento de las plantas en la tierra (27). Ya que es la molécula esencial para la vida; en las plantas constituye típicamente del 80 al 95% de la masa de los tejidos en crecimiento y desempeña varias funciones únicas otorgando estructura y la estabilidad de moléculas tales como proteínas, polisacáridos, etc (28). Teniendo en cuenta la gran importancia del agua en las plantas, se puede considerar que una cantidad limitada o excesiva de agua para éstas constituye un factor inductor de situaciones adversas o estresantes.

El estrés por deficiencia de agua induce una amplia gama de alteraciones fisiológicas y bioquímicas en las plantas; la detención del crecimiento celular y la fotosíntesis (29). También cesa el crecimiento de los tallos, la expansión foliar y del sistema radical; además dependiendo de la intensidad del estrés se puede presentar marchitez de la hoja, disminución de la asimilación neta de CO₂, de la conductividad radical y de la conductancia estomática (30)(2). Este último mecanismo de resistencia a nivel fisiológico es el responsables del control de pérdida de agua en las plantas (31,32)(33). Esta respuesta está mediada por la hormona ácido abscísico (ABA) (34,35)(36).

La optimización de los recursos de energía celular durante el estrés es esencial para la aclimatación de las plantas; los procesos energéticamente caros se

detienen parcialmente, como las actividades reproductivas, la traducción y algunas vías biosintéticas. Por ejemplo, la asimilación de nitrógeno y carbono, la síntesis de aminoácidos libres, clorofila y proteína también se ven afectados (37)(3).

Estrés por *Fusarium oxysporum* (FOL)

Desde hace millones de años, las plantas han interactuado con microorganismos, sin embargo para que estos sean patogénicos deben poseer factores de virulencia, metabolitos secundarios y exoenzimas que le permitan acceder al interior de la planta, para establecer una interacción de compatibilidad con el huésped (38)(39).

Fusarium es un patógeno que afecta una amplia variedad de especies y es el causante de la enfermedad denominada como marchitez vascular (40–42)(43). La especie *Fusarium oxysporum*, ocasiona grandes pérdidas a cultivos de hortalizas tanto en campo abierto como en invernadero (44)(45). En el cultivo de tomate las pérdidas en el rendimiento llegan a ser de hasta 60%, además de afectar la calidad del producto (46)(47).

FOL puede producir tres tipos de esporas asexuales, (i) microconidios (ii) macroconidios y (iii) clamidosporas. Mientras que la fase sexual o teleomórfica es desconocida (48)(49). El hongo puede sobrevivir en el suelo como micelio o como esporas aun sin la presencia de su hospedero (50)(51).

La presencia de clamidosporas (estructuras de resistencia) permite que este patógeno se mantenga viable y además se disperse rápidamente con el movimiento del agua, el suelo o el aire (52)(53).

Sin embargo, para que el desarrollo de la enfermedad se lleve a cabo es necesario que FOL avance a través de una serie de transiciones, que se inician con la germinación de esporas, el ingreso y colonización de la raíz y termina con el establecimiento de una infección sistémica en la planta (54)(55).

La infección se logra cuando se establece la interacción entre patógeno-planta donde se movilizan diferentes conjuntos de genes tanto para FOL, como para la planta, empezando con la adhesión del hongo a la superficie, seguida de la

descomposición enzimática de barreras físicas por parte del hongo, luego de la liberación de compuestos antifúngicos por parte de la planta, los cuales terminan inactivos y finalmente la muerte de las células huésped por micotoxinas segregadas por el hongo (56)(57).

La infección de FOL así como el desarrollo de la marchitez vascular tiene como resultados el desprendimiento de vena y epinastía foliar, seguido del retraso del crecimiento de las hojas inferiores, el marchitamiento progresivo, la defoliación e inevitablemente la muerte (58)(59,60)

Señalización del estrés en plantas.

Las plantas han adquirido la capacidad para desarrollar diversas estrategias de defensa contra condiciones de estrés biótico y abiótico, estas respuestas les permiten realizar una mejor distribución de sus recursos para crecer, reproducirse y defenderse (61)(2).

Una reacción apropiada al estrés requiere de un mecanismo donde las señales externas e internas sean detectadas y ocasione una cascada de redes moleculares donde las moléculas de señalización son de gran importancia (62)(63). Por lo que el estudio de las respuestas de las plantas al estrés es un aspecto fundamental de la fisiología ambiental o ecofisiología, la cual se propone conocer cómo las plantas funcionan en sus ambientes naturales y cuáles son los patrones que determinan su distribución, supervivencia y crecimiento (29,64)(65). La percepción de las señales ambientales así como su transducción para activar las respuestas adaptativas al estrés es de vital importancia para la sobrevivencia de la planta. La ruta de transducción de señales se inicia con la percepción de la señal, en seguida ocurre la generación de segundos mensajeros. Los segundos mensajeros iniciando una cascada de señalización que se dirige a las proteínas involucradas en la protección celular o factores de transcripción que controlan conjuntos específicos de genes regulados por el estrés (66)(67,68).

Las fitohormonas como el ácido salicílico (SA), ácido jasmónico (JA), etileno (ET) y ácido abscísico (ABA) son moléculas endógenas de bajo peso molecular que regulan principalmente las respuestas protectoras de las plantas contra los

factores bióticos y abióticos. estrés a través de acciones sinérgicas y antagonistas (69)(70).

El SA juega un papel esencial en la señalización para la defensa de la planta, durante la infección de FOL, una vez que la planta reconoce los derivados del patógeno, se inicia la acumulación de esta fitohormona, con el consiguiente establecimiento de resistencia local en la región infectada (56)(71). Mientras que JA y ET cooperan para inducir sinérgicamente genes de defensa, se ha sugerido que ABA afecta la resistencia a las enfermedades mediante relaciones antagónicas con JA y ET, sin embargo, se ha informado que ABA está involucrado en la producción de callosa para contrarrestar el patógeno (72)

La señalización para la respuesta a estrés por déficit hídrico puede ser dependiente o independiente de ABA, ya que induce la expresión de varios genes que intervienen en la tolerancia a la deshidratación en plantas(74)(30). Por otro lado, se ha reportado un papel importante para JA en la respuesta de la planta al déficit hídrico pues induce la expresión de varios genes (2)(31,32).

Respuesta de defensa al estrés

La respuesta a los factores ambientales bióticos y abióticos son resultado de cambios fisiológicos, bioquímicos y genómicos que permiten la tolerancia a estas condiciones (33)(34,35).

Las respuestas de defensa que son activadas por el ataque de FOL implican el aumento de enzimas de defensa como la fenilalanina amonio liasa, clave en la síntesis de metabolitos relacionados a la defensa y la peroxidasa (36)(37). Además de la síntesis y acumulación de proteínas relacionadas con la patogénesis, como las quitinasas y las b 1-3 glucanasas que actúan sinérgicamente para inhibir el crecimiento del hongo (3)(38).

Ocurre un incremento en las especies reactivas de oxígeno que poseen actividad antimicrobiana directa contra los patógenos de igual manera se lleva a cabo el refuerzo de la pared celular en el sitio de interacción con el patógeno, a través de la catálisis de la reticulación de los componentes de la pared celular, incluidas las glicoproteínas, la lignina y la suberina (39)(40–42). De igual manera ocurre la

síntesis de la α -tomatina que tiene acción fungicida y participa en la muerte celular programada al igual que la explosión oxidativa (43)(44).

Aunque las respuestas al estrés hídrico son diferentes entre especies vegetales, todas cuentan con la información genética suficiente para percibir estas condiciones de estrés y responder moderadamente ante ellas (45)(46). Uno de los mecanismos fundamentales en tolerancia al estrés por déficit hídrico es el cierre de estomas, así como la modificación en el crecimiento radicular (47)(48). El ajuste osmótico es otra de las respuestas a la falta de agua y se produce en las plantas a través de la biosíntesis de osmolitos y por la acumulación de iones, fundamentalmente K^+ y NO_3^- (49)(50). Mientras que dentro de los mecanismos bioquímicos se encuentra la defensa enzimática por la actividad de peroxidasa, ascorbato peroxidasa, superóxido dismutasa y catalasa (51). De igual manera se ocurre la expresión de proteínas como las de choque término, las proteínas transportadoras de iones y acuaporinas que permiten el transporte selectivo de agua (12,52).

Aplicación de elicitores en la agricultura

Los mecanismos defensivos de las plantas pueden ser inducidos por la aplicación exógena de diversos compuestos. Estos productos bioestimulantes pueden optimar el uso de nutrientes de la planta y mejorar la tolerancia a diversos tipos de estrés (53), gracias a que permiten elicitar o estimular diversos mecanismos de defensa (54) potencializando la capacidad de las plantas a adaptarse a diversas condiciones ambientales adversas, por medio de respuestas específicas ante el factor condicionante (55).

Se ha encontrado una gran diversidad de estructuras químicas de diversa naturaleza con capacidad estimulante o elicitora (56). En la inducción de resistencia a FOL, se ha reportado que la aspersión foliar de aislado de *Pseudobryonia aphilis* a razón de 10^8 esporas/ mL en plantas de tomate provocó una resistencia inducida, observándose una reducción en la incidencia y severidad de los síntomas de la enfermedad, así como la activación de genes de defensa como PR1a, PR5, quitinasa 3 y 9 y glucanasa A y B. Mientras que la

aspersión foliar de Acibenzolar a plantas de tomate a una concentración de 0.2mg/mL provoca una reducción del índice de gravedad de la enfermedad, así como un incremento de la actividad de las enzimas peroxidasa (POX), quitinasas y glutatión peroxidasa (58)

En plantas de pepino, la aplicación de extracto de algas marinas (*Ascophyllum nodosum*), reducción significativamente en la incidencia de la enfermedad de *Alternaria cucumerinum*, *Didymella applanata*, *Fusarium oxysporum*, y *Botrytis cinérea*, también activo la respuesta de defensa relacionada a enzimas como la quitinasa, β -1,3-glucanasa, peroxidasa, polifenol oxidasa, fenilalanina amoniasa y lipoxigenasa (59,60).

Por otro lado el uso de elicitores en plantas crecidas bajo condiciones de déficit hídrico también ha sido evaluada, encontrándose que en plantas de calabacita (*Cucurbita pepo* L.) la aplicación exógena de extracto de Moringa (*Moringa oleífera*) fue efectivo para mitigar los daños provocados por el estrés por sequía (61).

Los resultados de estudios con extracto de algas marinas (*Ascophyllum nodosum*) y *Brassica oleracea* var. *Itálica* muestran un efecto significativo tanto en el intercambio de gas y las tasas de transpiración, antes de la aplicación de estrés, bajo las condiciones de estrés por sequía y después de volver a regar, sin embargo se debe considerar el cultivar (2). Mientras que en arboles de naranjo, el extracto de algas marinas promovió el crecimiento en arboles estresados por sequía, resultado del efecto significativo del bioestimulante sobre las relaciones hídricas de las plantas (62).

Por lo que la activación de los mecanismos de defensa de las plantas a través del uso de elicitores o bioestimulantes se presenta como una nueva alternativa para la reducción de los efectos negativos del estrés, permitiendo el desarrollo de una agricultura con menor impacto sobre el medio ambiente.

ARTÍCULO

**EFFECTO DE ELICITORES NATURALES SOBRE PLANTAS DE TOMATE
SOMETIDAS A ESTRÉS BIÓTICO**

1 EFECTO DE ELICITORES NATURALES SOBRE PLANTAS DE TOMATE

2 SOMETIDAS A ESTRÉS BIÓTICO

3 Ema Laura García Enciso¹, Armando Robledo Olivo², Adalberto Benavides Mendoza¹, Susana
4 Solís Gaona³, Susana González Morales^{4*}.

5 ¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Horticultura, ²Departamento de
6 Alimentos. Calzada Antonio Narro #1923, Saltillo, Coahuila, México. C.P. 25315 Tel.: +52 (844)
7 4110200 ext. 2303 (emlaugaren@gmail.com), (abenmen@gmail.com),
8 (armando.robledo@outlook), ³Arysta LifeScience de México, Boulevard Jesús Valdés Sánchez #
9 2369, Fracc. Europa, Saltillo, Coahuila, México. C.P. 25290 Tel.: + 52 (844) 438 0500 ext. 6703,
10 (susana.solis@arysta.com) ⁴CONACYT-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada
11 Antonio Narro #1923, Saltillo, Coahuila, México. C.P. 25315 Tel.: +52 (844) 4110200 ext. 2303
12 (qfb_sgm@hotmail.com). *Autor para correspondencia: qfb_sgm@hotmail.com.

14 Resúmen

15 El objetivo de esta investigación fue conocer el efecto de la aplicación de dos elicitors naturales
16 provenientes de extractos vegetales sobre el vigor de plantas y la calidad de frutos de tomate en
17 condiciones de estrés biótico causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL). Los
18 elicitors naturales (E1 y E2) se aplicaron a los 7, 15 y 56 ddt (días después del trasplante) y la
19 inducción del estrés por FOL se realizó a los 19 ddt, por medio de la inoculación del patógeno en
20 una concentración de 1×10^6 esporas ml^{-1} . La evaluación de las variables de vigor en las plantas
21 consistió en la medición de la incidencia y severidad de la enfermedad, unidades SPAD,
22 conductancia estomática, altura, peso seco de planta y rendimiento durante el desarrollo de las
23 plantas, así mismo se consideró la medición de algunos parámetros de calidad de fruto. La
24 aplicación de los elicitors disminuyó la severidad de los síntomas de la enfermedad, además el
25 elicitor E2 tuvo un efecto positivo sobre la altura de las plantas tratadas, la acumulación de

1 biomasa y evitó la reducción en el rendimiento, también influyó sobre la calidad del fruto de
2 tomate al modificar el contenido de °Brix, así como disminuyendo la pérdida de la firmeza. Por
3 lo que se concluye que la aplicación de los elicitores naturales tiene un efecto positivo sobre el
4 vigor en plantas inoculadas con FOL, modificando algunos parámetros de calidad de fruto.

5

6 **Palabras clave:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, resistencia sistémica en plantas, calidad
7 de fruto.

8

9 **Introducción**

10 Las plantas son organismos que han logrado evolucionar para crecer y desarrollarse en ambientes
11 donde existen diferentes factores de estrés, esto gracias al desarrollo de mecanismos específicos
12 que les permiten detectar cambios en el ambiente y responder a ellos, minimizando los posibles
13 daños y a su vez conservando recursos que le permitan continuar con su desarrollo (Atkinson y
14 Urwin, 2012). El estrés biótico es causado por el ataque de una amplia gama de plagas y patógenos
15 que incluyen hongos, bacterias, virus, nematodos e insectos herbívoros (Hammond-Kosack y
16 Jones, 2015). Uno de los hongos fitopatógenos que destacan por su distribución y sus efectos
17 devastadores es *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, causante de la marchitez vascular,
18 reconocida como la principal enfermedad que causa problemas en el cultivo de tomate, y que es
19 responsable por la disminución de casi un 60% en el rendimiento, además de afectar la calidad del
20 producto (Ascencio *et al.*, 2008).

21 Las estrategias seguidas para el control de esta enfermedad en los cultivos ha consistido en el uso
22 de productos fungicidas y el desarrollo de variedades resistentes, sin embargo han resultado
23 ineficaces por la aparición de nuevas razas del patógeno (Mandal *et al.*, 2009), bajo estas
24 circunstancias se ha dado la creciente demanda de productos alternativos como los biopesticidas,
25 o el uso de las moléculas inductoras o también llamadas elicitores, los cuales son capaces de

1 desencadenar respuestas de defensa en las plantas (Nasir *et al.*, 2014). Esta opción se perfila como
2 una alternativa muy prometedora debido a la amplia variedad de compuestos presentes en las
3 plantas que se generan como parte de su desarrollo y que pudieran actuar como elicitores (da Cruz
4 *et al.*, 2013), sin embargo, se debe considerar que tanto la magnitud y el alcance de la respuesta
5 inducida dependerá del tipo de molécula, de la señal y su movilidad, o capacidad para inducir una
6 señalización secundaria dentro del tejido (Eder y Cosio, 1994).

7 Por esta razón, se propone estudiar el efecto de la aplicación de dos elicitores provenientes de
8 extractos vegetales sobre el vigor de la planta y la calidad de los frutos de tomate producidos bajo
9 condiciones de estrés biótico.

10

11 **Materiales y métodos**

12 **Material vegetal**

13 El presente estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Departamento de Horticultura de la
14 Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en la ciudad de Saltillo, Coahuila, México. Se
15 utilizaron plántulas de tomate de la variedad Río Grande, las cuales fueron sembradas en charolas
16 de poliestireno con una mezcla de perlita y peat mos (1:1 v/v), se dejaron en cámara bioclimática
17 para su germinación y 25 días después fueron trasladadas al invernadero para su
18 acondicionamiento y posterior trasplante a bolsas de polietileno de 10 L con mezcla de peat mos-
19 perlita (1:1 v/v), las necesidades nutricionales fueron satisfechas con solución Steiner de acuerdo
20 a la etapa fenológica.

21 **Descripción de los tratamientos**

22 En este estudio se evaluaron cuatro tratamientos, designados de la siguiente manera, un
23 tratamiento testigo (TA) con plantas sin inocular, dos tratamientos que constaban de la inoculación
24 de FOL y la aplicación de los elicitores (E1) y (E2) los cuales provienen de extractos naturales y
25 un tratamiento testigo de la incidencia de FOL (FOL).

1 La aplicación de los elicitores se realizó a los 7, 14 y 56 ddt, para lo cual dichos elicitores se
2 prepararon en solución acuosa y fueron asperjados a las hojas de las plantas, se consideró una
3 dosis de 3.75 mL L⁻¹ para E1 y de 1.5 mL L⁻¹ para E2. Cabe señalar que los elicitores E1 y E2 son
4 formulaciones prototipo de la empresa Arysta LifeScience.

5 **Inoculación de FOL**

6 La cepa de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, fue aislada de raíces de plantas de tomate con síntomas
7 de marchitez vascular. Para la obtención del inoculo se llevó a cabo la reproducción del patógeno
8 en cultivo sumergido, la concentración se estandarizó en 1x10⁶ esporas mL⁻¹, la inoculación se
9 realizó a los 19 ddt, haciendo heridas en las raíces de las plantas y agregando 50 mL del inoculo
10 por planta.

11 **Evaluación de parámetros**

12 La evaluación de las variables de interés se realizó en diferentes fechas del desarrollo de las plantas
13 (Figura 1). La incidencia y severidad de la enfermedad causada por FOL se evaluó de acuerdo a
14 la escala propuesta por Diener y Ausubel (2005), que se describe de la siguiente manera: 0 Planta
15 muerta (100%); 1 hojas viejas muertas y hojas jóvenes con crecimiento detenido (80%); 2 hojas
16 viejas cloróticas y hojas jóvenes con crecimiento detenido (60%); 3 hojas viejas con clorosis
17 vascular y hojas jóvenes con crecimiento detenido (40%); 4 peciolo de hojas con crecimiento
18 detenido (20%); 5 sin síntomas visibles (0%).

19 La evaluación de las unidades SPAD y la conductancia estomática se requirió el uso de un SPAD
20 marca Minolta y un porómetro marca Decagon Devis, los datos se obtuvieron de la medición de
21 la tercera hoja fisiológicamente madura.

22 La altura de las plantas se midió con una cinta métrica, considerando desde la base del tallo hasta
23 el ápice de la misma, la obtención del peso seco total se realizó por medio de un muestreo
24 destructivo de las plantas, posteriormente se colocaron en bolsas de papel y se mantuvieron en un
25 horno de secado marca Lindberg Blue por 72 hrs a 80°C, y posteriormente se determinó el peso

1 de las muestras. Para la obtención del rendimiento por planta se cosecharon y pesaron los frutos
2 producidos hasta el segundo racimo.

3 La evaluación de parámetros de calidad de frutos, se realizó en los frutos del primer racimo y
4 consistió en la obtención de la firmeza de los frutos por medio de un penetrómetro marca Wagner
5 Instruments, usando el puntal de 8 mm, mientras que los valores de pH y sólidos solubles totales
6 se determinaron en un macerado de fruto con la ayuda de un potenciómetro marca Daigger y un
7 refractómetro digital marca Mettler Toledo, la cuantificación del contenido de vitamina C se llevó
8 a cabo de acuerdo a la técnica de AOC (1990), para lo cual se pesaron 10 g de muestra fresca, se
9 trituró en un mortero añadiendo 10 ml de ácido clorhídrico al 2 %, la mezcla se filtró y aforó a
10 100 ml con agua destilada, después se tomó una alícuota de 10 ml y se colocó en matraz, la muestra
11 se tituló con solución de 2,6 diclorofenolindofenol, hasta que apareció el primer tono rosa que
12 persistió por 30 segundos, con los datos obtenidos de las titulaciones de las muestras y el blanco
13 se procedió a calcular el contenido de vitamina C, sustituyendo los valores en la siguiente
14 fórmula:

15

$$16 \quad \text{Vitamina C (mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{)} = \frac{(Vm - Vb)(M)(FC)(100)}{\frac{w}{V(a)}}$$

17 Dónde:

18 V_m = Volumen gastado en la muestra

19 V_b = Volumen gastado en el blanco

20 M = Molaridad del 2,6 diclorofenolindofenol (0.001 N)

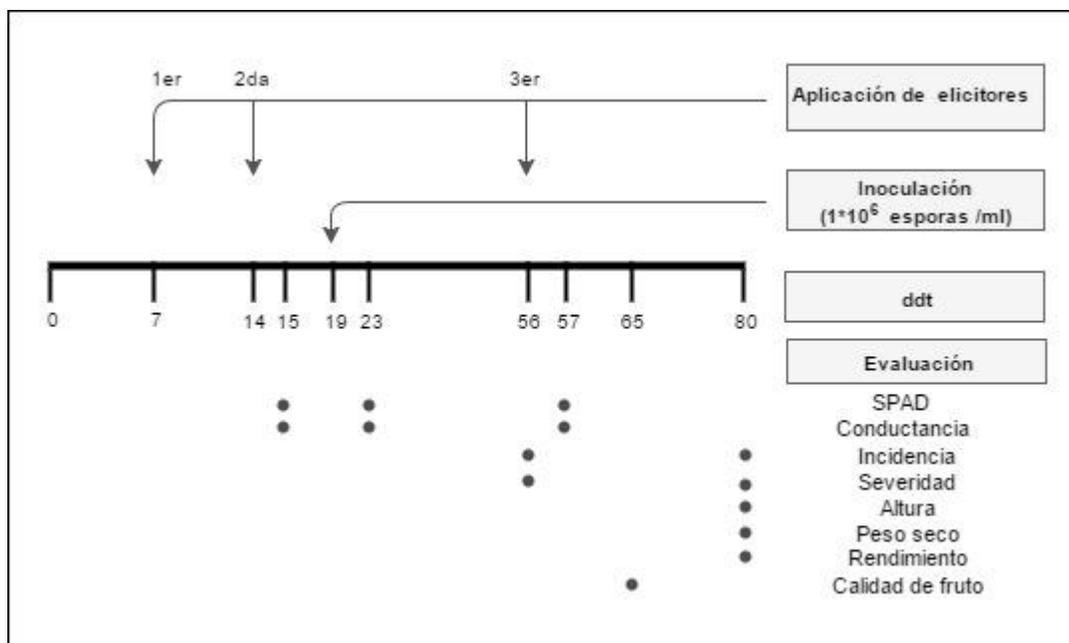
21 FC = Factor de conversión de 1 ml de 2,6 diclorofenolindofenol a 0.088 mg de Vitamina C

22 W = Peso de muestra en mg

23 V = Volumen total

24 a = Alícuota

25



1

2 **Figura 1. Cronograma de aplicaciones de los elicitores y evaluación de variables.**

3

4 **Análisis Estadístico**

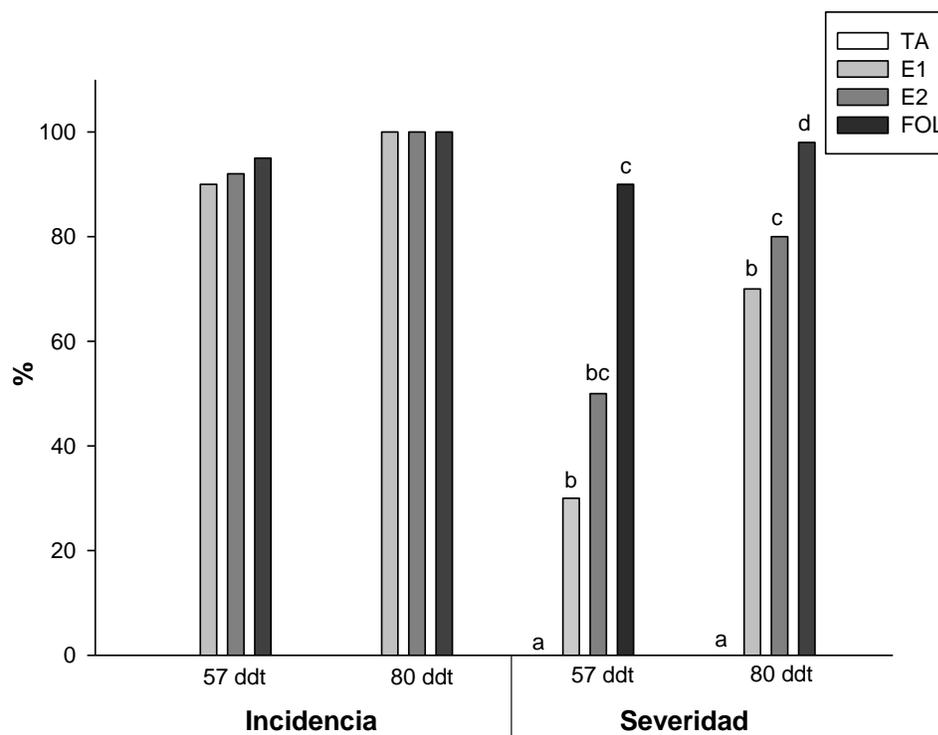
5 El análisis de los datos se realizó por medio del análisis de varianza y pruebas de comparación de
 6 medias mediante Tukey ($p < 0.5$), se usó un diseño experimental completamente al azar,
 7 considerando 4 tratamientos con 5 repeticiones y una planta como unidad experimental.

8

9 **Resultados y discusión**

10 Variables agronómicas. La incidencia y la severidad de la enfermedad causada por FOL (Figura
 11 2) se vio afectada por la aplicación de los elicitores naturales en la evaluación realizada a los 57
 12 ddt, se presentó un decremento del 5% para la incidencia de la enfermedad y de 66% para la
 13 severidad de los síntomas mostrados para el tratamiento de E1, mientras que para E2, se observó
 14 un decremento del 3% en la incidencia y de 44% de la severidad de la enfermedad.

1 En el muestreo realizado a los 80 ddt, la incidencia entre los tratamientos inoculados con el
 2 patógeno mostraron los mismos valores para la enfermedad, si bien, la severidad de los síntomas
 3 aumentó a través del tiempo, durante este muestreo la severidad presentada por los tratamientos
 4 con la aplicación de los elicitores fue menor en un 28% para E1 y 18% para E2.



5

6 **Figura 2. Incidencia y severidad de plantas de tomate sometidas a estrés biótico y tratadas**
 7 **con elicitores naturales.**

8

9 La aplicación de extractos vegetales provenientes de diversas fuentes promueven la inducción de
 10 resistencia en las plantas tratadas, asimismo tienen un efecto sobre el crecimiento y desarrollo del
 11 patógeno (Arzoo *et al.*, 2012), como se observó en este estudio, donde la incidencia de la
 12 enfermedad causada por FOL y la severidad de sus síntomas durante la primera evaluación fueron
 13 reducidas por la aplicación de los elicitores naturales, esto pudiera deberse a que los compuestos
 14 aplicados, activaron algún mecanismo relacionado a la defensa de la planta, para hacer frente a

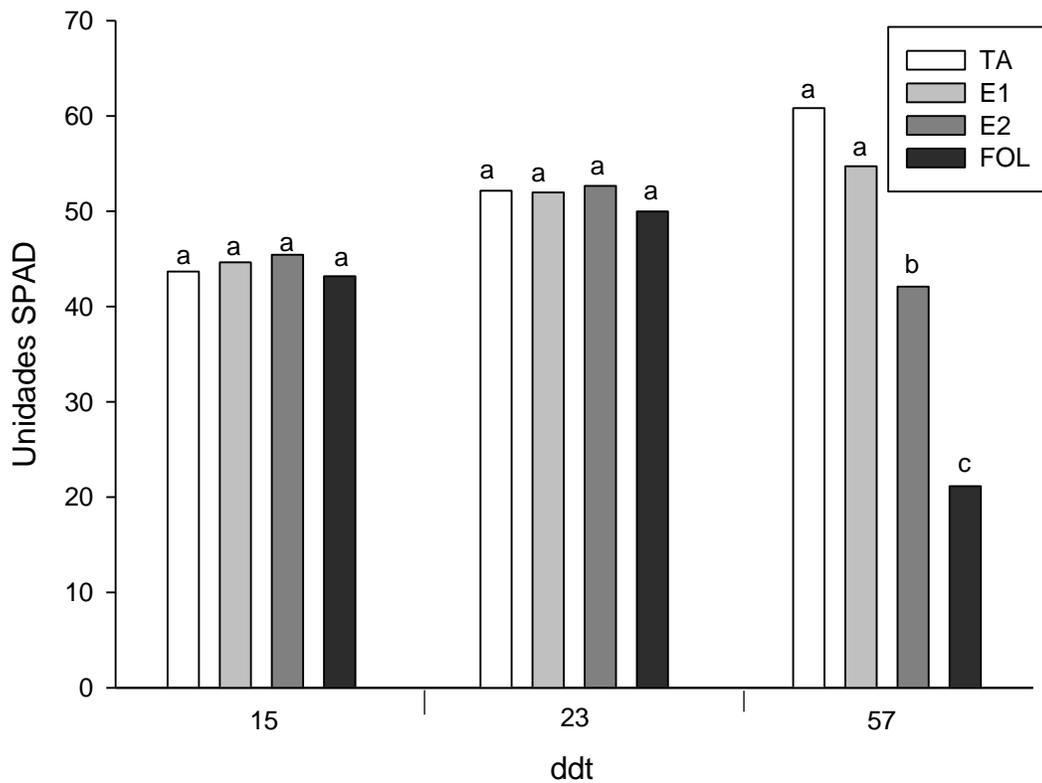
1 condiciones de estrés biótico, dicha repuesta puede ser desde la inducción de algunas barreras
2 físicas o reacciones bioquímicas que alerten del peligro a las células no infectadas (Glazebrook,
3 2005), si bien la severidad continuó siendo menor en los tratamientos donde se aplicaron los
4 elicitors, la incidencia al termino del experimento fue igual para los todos los tratamientos
5 inoculados con FOL. Lo cual podría estar condicionado al número de aplicaciones realizadas, así
6 como a la regularidad de las mismas, pues se ha reportado que el uso semanal del extracto de *C.*
7 *paradisi*, permitió un mejor control de la enfermedad provocada por *Fusarium*, que cuando se
8 aplicó en una sola ocasión (Rodríguez y Montilla, 2002).

9

10 La evaluación de las unidades SPAD (Figura 3) mostró incremento durante el desarrollo de las
11 plantas de tomate, las lecturas obtenidas a los 15 ddt, que corresponde a la segunda aplicación de
12 los elicitors, no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados,
13 encontrándose valores para esta variable entre 43 y 45 unidades SPAD, a los 23 ddt se observaron
14 valores entre 49 y 52 unidades SPAD, aunque no se encontró diferencia significativa entre los
15 tratamientos, caso contrario para las lecturas tomadas a los 57 ddt, donde se encontraron
16 diferencias altamente significativas entre los tratamientos, observándose que los tratamientos que
17 fueron inoculados con el patógeno, presentaron una disminución para este parámetro, las unidades
18 SPAD para este muestreo fueron similares entre las plantas del tratamiento testigo y el tratamiento
19 E1, mientras que los tratamientos E2 y FOL mostraron una disminución en esta variable del 31%
20 y 65% respectivamente en comparación con el testigo.

21 Por otro lado, la conductancia estomática (Figura 4) presentó una tendencia de decremento a
22 través del desarrollo de las plantas, para la medición realizada a los 15 ddt no se observaron
23 diferencias estadísticas entre los tratamientos, mientras que los datos obtenidos a los 23 ddt,
24 mostraron un incremento en esta variable para los tratamientos que fueron inoculados por el
25 patógeno, siendo las plantas correspondientes al tratamiento con la aplicación de E2 quienes

1 mostraron los valores más altos, con un aumento del 22% , mientras que el tratamiento E1 y FOL
 2 presentaron un incremento del 11% con respecto al testigo. Las lecturas de conductancia a los 57
 3 ddt, mostraron valores similares entre el testigo absoluto y el tratamiento con la aplicación de E1,
 4 los tratamientos E2 y FOL presentaron una disminución del 28% y 65% respectivamente en
 5 comparación con el testigo.



6

7

8 **Figura 3. Efecto de elicitores naturales sobre las unidades SPAD en plantas de tomate**

9 **sometidas a estrés biótico. Medias con la misma letra difieren estadísticamente (Tukey, $p >$**

10 **0.05).**

11

1 El decremento de las unidades SPAD y la conductancia estomática en las plantas inoculadas con
2 el patógeno, se encuentra directamente relacionado con el desarrollo de la enfermedad, pues se ha
3 descrito que uno de los síntomas causados por esta enfermedad es el amarillamiento de las hojas
4 seguido por su desprendimiento de la planta (González *et al.*, 2012), también ocurre un
5 marchitamiento del follaje como consecuencia de la invasión de la raíz por el patógeno con la
6 posterior colonización de los vasos del xilema comprometiendo de forma severa el proceso de
7 transporte de agua que termina en una completa marchitez del individuo (Michielse y Rep, 2009),
8 esto concuerda con los resultados obtenidos por Dong *et al.*, (2015), quienes indican que en plantas
9 de banano inoculadas con *F. oxysporum* se encontró una disminución significativa para este par
10 de variables en las últimas fechas evaluadas por el avance de la enfermedad.

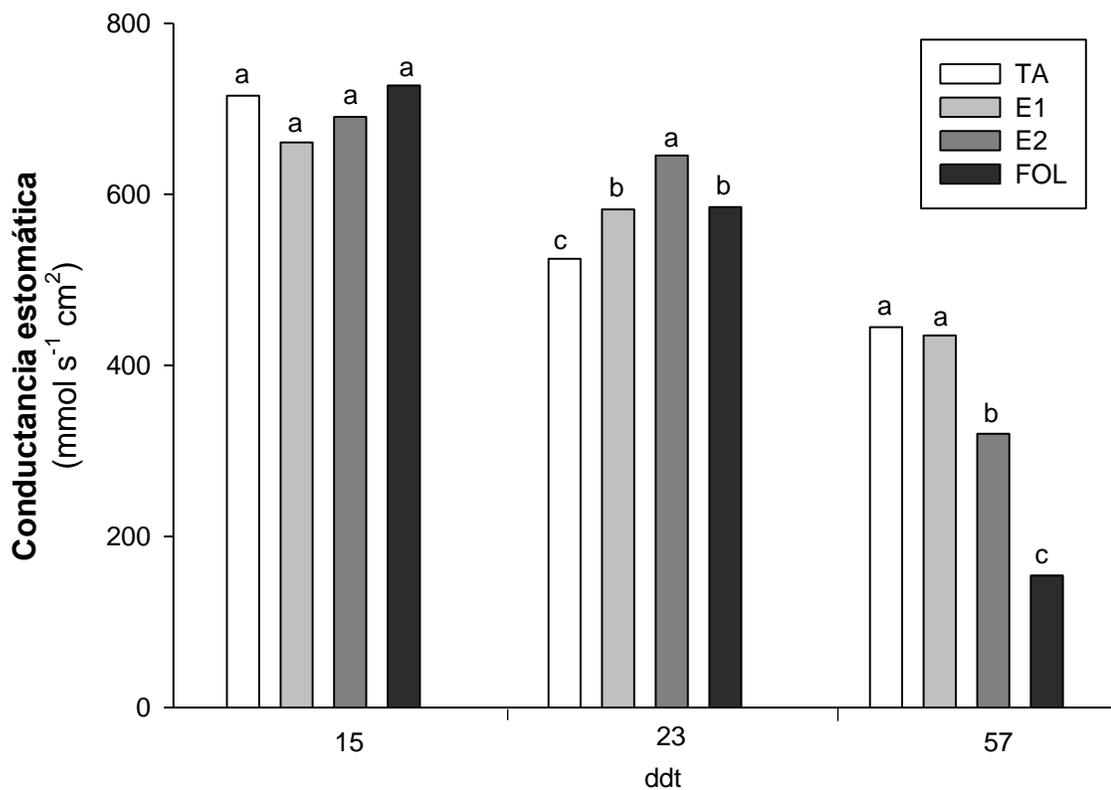
11 Las plantas inoculadas con el patógeno y tratadas con el elicitor E2 naturales mostraron valores
12 similares en la acumulación del peso seco total con aproximadamente 166 g (Figura 5), mientras
13 que las plantas inoculadas y tratadas con E1 mostraron un 3% menos que las plantas testigo y el
14 tratamiento sometido al estrés biótico presentó una marcada disminución de esta variable en un
15 39% con respecto al testigo absoluto.

16 La aplicación de los elicitores naturales en las plantas inoculadas por FOL promovió el incremento
17 de la altura de la planta (Figura 6) observándose un aumento del 6% para las plantas tratadas con
18 E1 y de 13% para las plantas tratadas con E2, en comparación con la altura de las plantas usadas
19 como testigo, cuya altura fue de 89.4 cm, caso contrario ocurrió para el tratamiento FOL, donde
20 se presentó una disminución del 6% en la altura de las plantas.

21 El efecto positivo de la aplicación de los elicitores naturales no solo se observó en la disminución
22 de los síntomas de la enfermedad, también se encontró que su aplicación promovió la
23 acumulación de biomasa seca total, el incremento de la altura y una menor pérdida del rendimiento
24 por planta en comparación con las plantas inoculadas que no fueron tratadas, esto se debe a que
25 algunas plantas tienen la capacidad de sintetizar y acumular en sus órganos metabolitos

1 secundarios, que intervienen en interacciones complejas entre organismos vivos, y que además
 2 pueden tener efectos estimulantes sobre el crecimiento de otras plantas (Rodríguez y Hechevarría
 3 2004). El efecto estimulante de crecimiento de los extractos vegetales ha sido reportado en varias
 4 especies vegetales, tal es el caso del incremento en la acumulación de plantas de maíz bajo
 5 condiciones de salinidad con el uso de un bioestimulante derivado de plantas de alfalfa
 6 (Ertani *et al.*, 2013), por otro lado, la aplicación de extractos de *H. longipes* en plántulas de tomate
 7 incrementó la altura y la acumulación de biomasa, y cuando fueron sometidas a condiciones de
 8 estrés biótico la disminución de estas variables fue considerablemente menor que en las plantas
 9 no tratadas (González *et al.*, 2015).

10

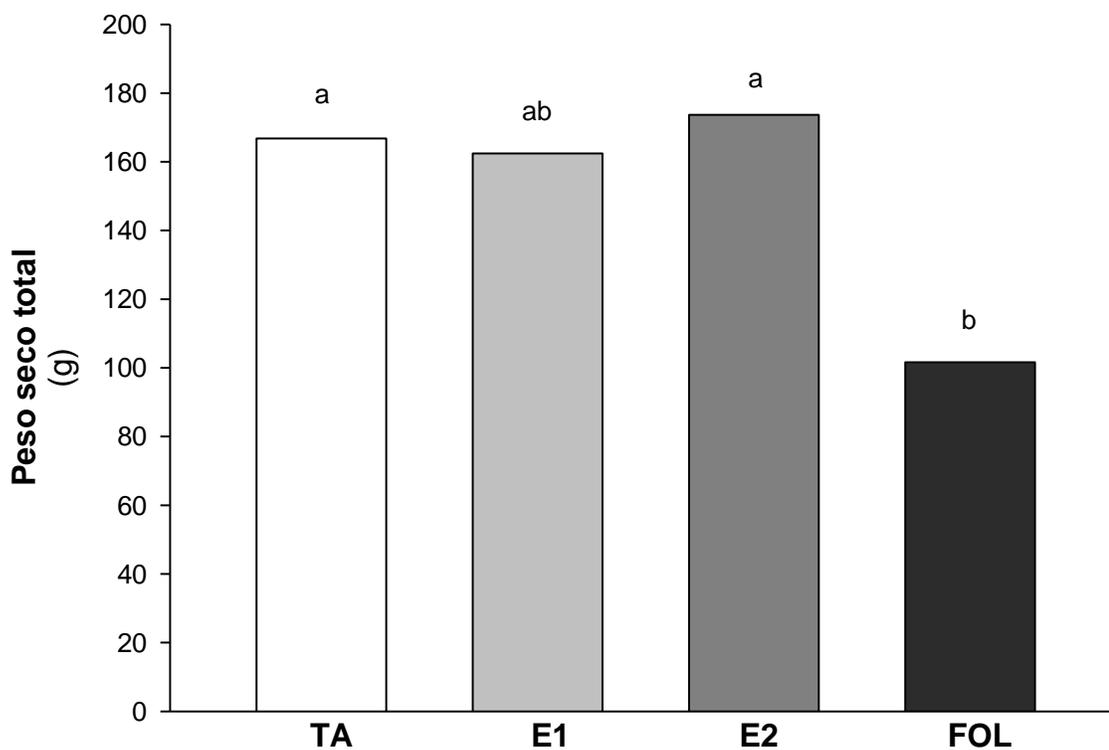


11

12

1 **Figura 4. Efecto de elicitors naturales sobre la conductancia estomática en plantas de**
2 **tomate sometidas a estrés biótico. Medias con la misma letra difieren estadísticamente**
3 **(Tukey, $p > 0.05$).**

4



5

6

7 **Figura 5. Efecto de elicitors naturales sobre el peso seco total en plantas de tomate**
8 **sometidas a estrés biótico. Medias con la misma letra difieren estadísticamente (Tukey, $p >$**
9 **0.05).**

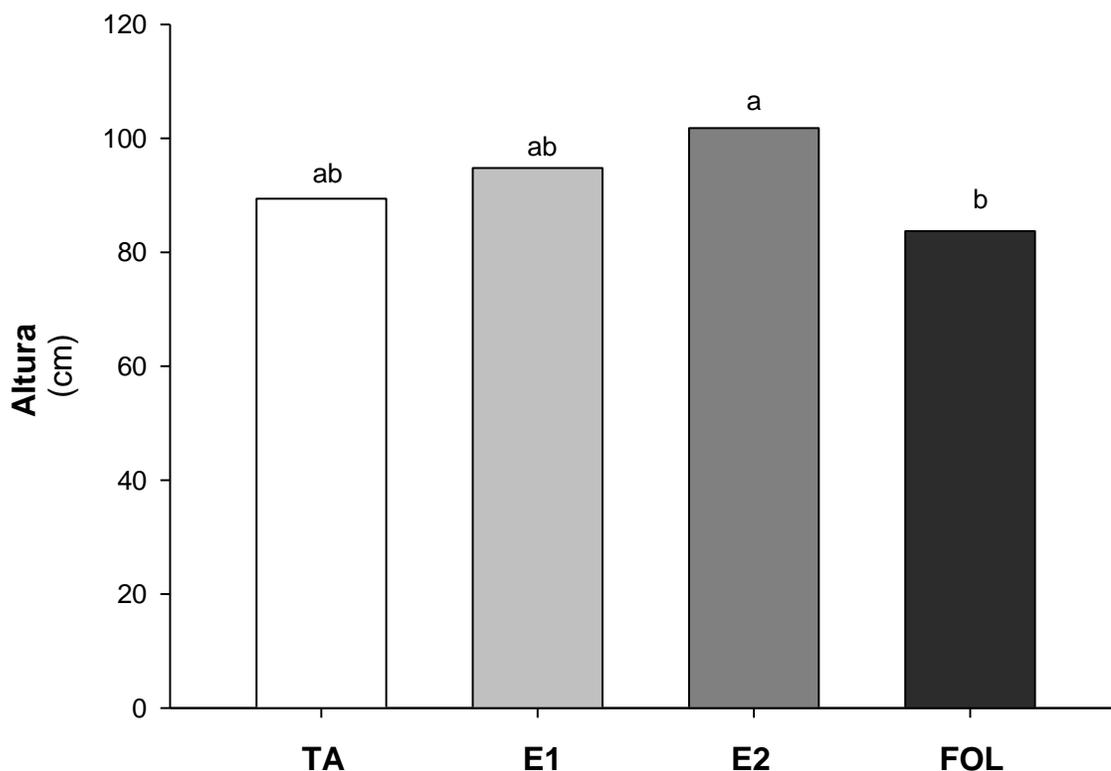
10

11 La aplicación de los elicitors tuvo un efecto positivo sobre el rendimiento (Figura 7) de las
12 plantas de tomate inoculadas con el patógeno y tratadas con E2, pues se apreciaron rendimientos

1 similares a los obtenidos por las plantas testigo, caso contrario se observó para las plantas tratadas
2 con el elicitor E1, ya la pérdida de rendimiento fue de 22%, el cual fue ligeramente menor al
3 observado en las plantas del tratamiento testigo de la enfermedad, para el cual fue la pérdida fue
4 de 27% con respecto a las plantas sin inocular cuyo rendimiento de 814 g planta⁻¹ en los dos
5 racimos evaluados.

6 La enfermedad causada por *F. oxysporum* se reconoce como una de las causantes de grandes
7 pérdidas en los cultivos (Agrios, 2005), esto se pudo constatar con la reducción del 27% en el
8 rendimiento de las plantas inoculadas con el patógeno y que no recibieron control, en cuanto al
9 efecto causado de los elicitores sobre el rendimiento con la aplicación de elicitores los resultados
10 concuerdan con los obtenidos por Rodríguez y Montilla (2002) quienes indican que existe una
11 relación directa entre la disminución de la marchitez en las plantas con su producción, ya que al
12 disminuir la severidad de los síntomas de la enfermedad se observó una menor pérdida del
13 rendimiento.

14



1

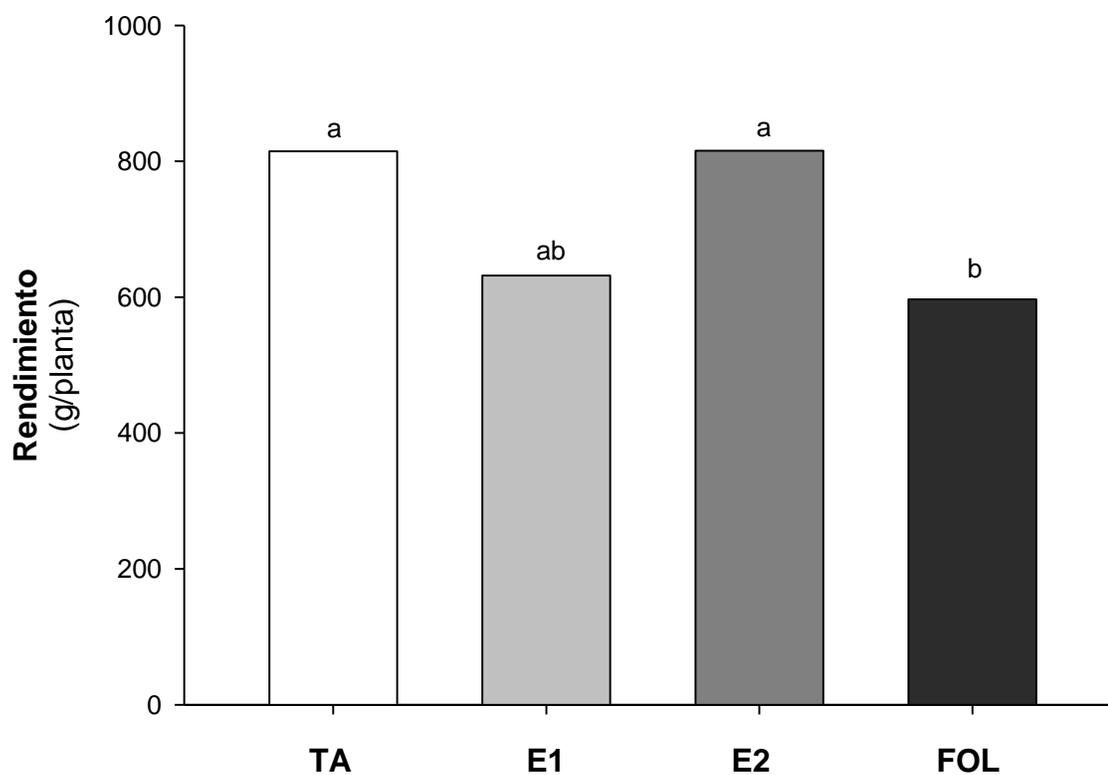
2

3 **Figura 6. Efecto de elicitores naturales sobre la altura en plantas de tomate sometidas a**
4 **estrés biótico. Medias con la misma letra difieren estadísticamente (Tukey, $p > 0.05$).**

5

6 Variables de calidad el fruto. La presencia del patógeno y la aplicación de los elicitores indujeron
7 cambios en los parámetros de calidad de fruto evaluados (Cuadro 1), lo valores de pH obtenidos,
8 no mostraron cambios para ninguno de los tratamientos, mientras que el contenido de sólidos
9 solubles totales se vio modificado en los frutos pertenecientes a los tratamientos con la presencia
10 del patógeno y la aplicación de los elicitores, de igual forma, la firmeza se vio afectada por la
11 presencia de la enfermedad, aunque se observó una menor pérdida de la firmeza de los frutos
12 provenientes de las plantas a las que se les aplicó los elicitores, no se encontraron diferencias
13 significativas en el contenido de vitamina C para los frutos de los diferentes tratamientos.

1



2

3

4 **Figura 7. Efecto de elicitors naturales sobre el rendimiento de plantas de tomate sometidas**
5 **a estrés biótico. Medias con la misma letra difieren estadísticamente (Tukey, $p > 0.05$).**

6

7 Los resultados obtenidos en este estudio para el pH (4.3-4.4) y para sólidos solubles totales (5-
8 6.7) concuerdan con los reportados por García *et al.*, (2014) para frutos de tomate producidos en
9 invernadero. Los atributos que confieren la calidad al fruto como el color, sólidos solubles totales,
10 índices de acidez, pH y firmeza resultan afectados por las variaciones genotípica, las condiciones
11 de crecimiento, la irradiancia, estación de cultivo, nutrición, riego, temperatura, enfermedades y
12 condiciones postcosecha (Turhan y Seniz, 2009; Fischer *et al.*, 2016).

1 La pérdida de la firmeza en los frutos cosechados de las plantas inoculadas con el patógeno podría
 2 estar influenciada por la falta de agua generalizada en la planta como consecuencia de la infección
 3 del patógeno, así mismo afectaría el transporte de fotoasimilados en el fruto observándose la
 4 disminución de los sólidos solubles totales.

5 **Cuadro 1. Efecto de la aplicación de elicitores naturales sobre parámetros de calidad en**
 6 **frutos de tomate sometidos a estrés biótico.**

Tratamiento	pH	Sólidos solubles totales ° Brix	Firmeza (kg cm ²)	Vitamina C (mg/100 g)
TA	4.3 a*	6.3 a	1.80 a	30.26 a
E1	4.4 a	5.4 b	1.36 bc	29.14 a
E2	4.4 a	5.0 b	1.62 ab	28.98 a
FOL	4.4 a	5.7 ab	1.34 c	29.30 a

7 *Medias con la misma letra difieren estadísticamente (Tukey, $p > 0.05$).

8

9 **Conclusión**

10 La aplicación de elicitores naturales provenientes de extractos de plantas tuvo un efecto positivo
 11 sobre el vigor de las plantas de tomate inoculadas con FOL, además de que se modificaron
 12 algunos parámetros de calidad del fruto.

13

14 **Literatura citada**

15 Agrios, G.N. 2005. Control of plant disease. In: Plant Pathology. fifth ed. Elsevier Academic
 16 Press. New York. 293-353 pp.

- 1 AOAC. (1990) Official Methods of Analysis of AOAC (Association of Official Analytical
2 Chemist). 1 15th edition. Vol. II. Association of Official Analytical Chemist. Washington,
3 D.C. USA. pp: 829-830.
- 4 Arzoo, K., Biswas, S. K., and Rajik, M. 2012. Biochemical evidences of defence response in
5 tomato against *Fusarium* wilt induced by plant extracts. Plant Pathology Journal. 11(2):
6 42.
- 7 Ascencio-Álvarez, A., López-Benítez, A., Borrego-Escalante, F., Rodríguez-Herrera, S. A.,
8 Flores-Olivas, A., Jiménez-Díaz, F., & Gámez-Vázquez, A. J. 2008. Marchitez vascular
9 del tomate: I. Presencia de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder
10 y *Hansen* en Culiacán, Sinaloa, México. Revista mexicana de fitopatología. 26 (2): 114-
11 120.
- 12 Atkinson, N. J. and Urwin, P. E. 2012. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from
13 genes to the field. Journal of experimental botany. 63(10):3523-3543.
- 14 da Cruz Cabral, L., Pinto, V. F., and Patriarca, A. 2013. Application of plant derived compounds
15 to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. International journal of
16 food microbiology. 166(1):1-14.
- 17 Diener, A. C. and Ausubel, F. M. 2005. Resistance to *Fusarium oxysporum* 1, a dominant
18 arabidopsis disease-resistance gene, is not race specific. Genetics. 171(1):305–321
- 19 Dong, X., Wang, M., Ling, N., Shen, Q., and Guo, S. 2016. Potential role of photosynthesis-related
20 factors in banana metabolism and defense against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.
21 Environmental and Experimental Botany. 129: 4-12
- 22 Eder, J. and Cosio, E. G. 1994. Elicitors of plant defense responses. International review of
23 cytology. 148: 1-36.

- 1 Ertani, A., Schiavon, M., Muscolo, A., and Nardi, S. 2013. Alfalfa plant-derived biostimulant
2 stimulate short-term growth of salt stressed *Zea mays* L. plants. *Plant and soil*, 364(1-2):
3 145-158.
- 4 Fischer, G., Parra-Coronado, A., y Miranda, D. 2016. La calidad poscosecha de los frutos en
5 respuesta a los factores climáticos en el cultivo. *Agron. Colomb.* 1:S1415-S1418.
- 6 García-Enciso, E. L., La Rosa-Ibarra, D., Mendoza-Villarreal, R., Quezada-Martin, M. R., y
7 Arellano-García, M. 2014. Efecto de una película plástica modificada en algunos aspectos
8 bioquímicos de un cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Ecosistemas y recursos*
9 *agropecuarios*, 1(2), 151-162.
- 10 Glazebrook, J. 2005. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic
11 pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43:205–227.
- 12 González, I., Yailén, A. y Peteira, B. 2012. Aspectos generales de la interacción *Fusarium*
13 *oxysporum f. sp. lycopersici*-tomate. *Revista de Protección Vegetal.* 27(1):1-7.
- 14 González-Morales, S., Benavides-Mendoza, A., García-Enciso, E. L., Rodríguez-Campos, E. M.
15 y Flores-Olivas, A. 2015. Efecto de las alcalmidas como inductores de tolerancia al estrés
16 biótico en tomate. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.* 12: 2371-2382.
- 17 Hammond-Kosack, K.E., Jones .J D.G., Buchannan, B., Gruissem, W. and Jones R. 2015.
18 Response to plant pathogens. In: *Biochemistry and molecular biology of plants.* Buchanan
19 B. B., Gruisem, W. and Russell, L. J. (eds). Second edition. Jhon Wiley & Sons. Oxford,
20 UK. 984-1050 pp.
- 21 Mandal, S., Mallick, N.,and Mitra, A. 2009. Salicylic acid-induced resistance to *Fusarium*
22 *oxysporum f. sp. lycopersici* in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry.* 47(7):642-
23 649.

- 1 Michielse, C. B., and Rep, M. 2009. Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. Molecular
2 plant pathology. 10(3): 311-324.
- 3 Nasir, M. N., Polo Lozano, D., Luzuriaga Loaiza, W., Deleu, M.; Lins, L., Ongena, M., and
4 Fauconnier, M. L. 2014. New alternatives to chemical pesticides: deciphering the action
5 mechanisms of lipid based plant elicitors via complementary biophysical and biological
6 approaches. In: 19th National Symposium on Applied Biological Sciences. Gembloux,
7 Bélgica.
- 8 Rodríguez, D. A. y Montilla, J. O. 2002. Disminución de la marchitez causada por *Fusarium* en
9 tomate con extracto de *Citrus paradisi*. Manejo integrado de plagas. 6: 46 - 50.
- 10 Rodríguez-González, H., y Hechevarría Sosa, I. 2004. Efectos estimulantes del crecimiento de
11 extractos acuosos de plantas medicinales y gel de *Aloe vera* (L.) NL Burm. Revista
12 Cubana de Plantas Medicinales, 9(2):0-0.
- 13 Turhan, A., and V. Seniz. 2009. Estimation of certain chemical constituents of fruits of selected
14 tomato genotypes grown in Turkey. Afr. J. Agric. Res. 4:1086-1092.

ARTÍCULO

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE UN BIOESTIMULANTE EN PLANTAS DE
TOMATE SOMETIDAS A ESTRÉS HÍDRICO**

1 **Efecto de la aplicación de un bioestimulante en plantas de tomate sometidas a**
2 **estrés hídrico**

3 **Effect of the application of a biostimulant in tomato plants subjected to drought**

4 García-Enciso Ema Laura¹, Reyes-Valdés M. Humberto², Robledo- Olivo Armando³,
5 Benavides-Mendoza Adalberto¹, Solís-Gaona Susana⁴, Valdez-Aguilar Luis Alonso ¹,
6 González-Morales Susana^{5*}.

7 ¹Departamento de Horticultura, ²Departamento de Fitomejoramiento, ³Departamento de
8 Alimentos, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro
9 #1923, Saltillo, Coahuila, México.

10 ⁴Arysta LifeScience de México, Boulevard Jesús Valdés Sánchez # 2369, Fracc. Europa,
11 Saltillo, Coahuila, México. C.P. 25290.

12 ⁵CONACYT-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro
13 #1923, Saltillo, Coahuila, México. C.P. 25315. *Autor para correspondencia:
14 qfb_sgm@hotmail.com.

15

16 **RESUMEN**

17 Con el objetivo de evaluar la inducción de tolerancia al estrés por déficit hídrico se evaluó
18 en plantas de tomate la aplicación de un bioestimulante a una concentración de 2.5 ml L⁻¹.
19 El experimento se realizó en los años 2015 y 2016 en Saltillo, Coahuila, México y
20 consto de tres tratamientos: (1) testigo absoluto (TA), (2) condición de déficit hídrico más
21 la aplicación del bioestimulante (DHB) y (3) tratamiento bajo condiciones de déficit
22 hídrico (DH). Se realizaron dos aplicaciones foliares del bioestimulante antes de la

23 condición de estrés y una tercera cuando se alcanzó una tensión en el sustrato de 35 kPa.
24 Se determinó la altura de planta, biomasa seca aérea y radicular, rendimiento, número de
25 frutos y peso promedio de fruto. En frutos se evaluó la firmeza, sólidos solubles totales
26 (SST), pH, contenido de vitamina C y licopeno. Los resultados mostraron que la
27 aplicación del bioestimulante promovió una respuesta positiva sobre la altura,
28 rendimiento, número de fruto y peso promedio de fruto. La biomasa radicular disminuyó
29 en un 43.8% en el tratamiento DH, mientras para DHB el decremento fue de 24.6% con
30 respecto al TA. Para los SST, se observó un incremento en el tratamiento DH y una
31 disminución en DHB. El peso seco en tallos y hojas, así como la vitamina C, pH, firmeza
32 y contenido de licopeno no mostró efectos negativos asociados a la aplicación del
33 bioestimulante. La aplicación del bioestimulante permitió reducir los efectos adversos de
34 la condición de estrés por déficit hídrico.

35 **Palabras clave:** *Déficit hídrico, bioestimulante, calidad de fruto.*

36 **ABSTRAC**

37 The aim of this study was to evaluate the effect the induction of stress tolerance due to
38 water deficit, for this the application of a biostimulant at a concentration of 2.5 ml L⁻¹ in
39 tomato plants was evaluated. The experiment was carried out in the years 2015 and 2016
40 in Saltillo, Coahuila, Mexico and consisted of three treatment: (1) absolute control (AT),
41 (2) condition of drought plus the application of the biostimulant (DB) and (3) treatment
42 under conditions of drought (DD). Two foliar applications of the biostimulant were made
43 before the stress condition and a third application when a tension in the substrate of 35
44 kPa was reached. The plant height, dry aerial and root biomass, yield, number of fruits
45 and average fruit weight were determined. In fruit, firmness, total soluble solids (TSS),

46 pH, vitamin C content and lycopene were evaluated. The results showed that the
47 application of the biostimulant promoted a positive response on height, yield, number of
48 fruit and average fruit weight. The root biomass decreased by 43.8% in the DD treatment,
49 while DB the decrease was 24.6% with respect to the AT. The TSS, increased in the DD
50 treatment and decreased in DB. The dry weight in stems and leaves, as well as vitamin C,
51 pH, firmness and lycopene content did not show negative effects associated with the
52 application of the biostimulant. The application of the biostimulant reduced the adverse
53 effects of the stress condition due to drought.

54 **Keywords:** Drought, biostimulant, fruit quality.

55

56

INTRODUCCIÓN

57 Durante su crecimiento, las plantas se encuentran expuestas a diversas condiciones de
58 estrés como: sequía, baja temperatura, salinidad, inundaciones, calor, estrés oxidativo y
59 toxicidad por metales pesados (9). La salinización, así como la falta del recurso hídrico
60 por efecto de la transpiración o evaporación (40), se consideran los principales factores
61 limitantes en la disponibilidad del agua en el suelo (40), afectando el crecimiento,
62 desarrollo y la productividad de las plantas, por lo que el déficit hídrico ya sea temporal o
63 permanente, limita la distribución de la vegetación, el crecimiento y el rendimiento de las
64 plantas cultivadas más que cualquier otro factor ambiental (1). El estrés por déficit hídrico
65 afecta las relaciones del agua en la planta, provocando una reducción en el uso eficiente
66 del agua y como consecuencia un descenso en el número de hojas, tamaño y longevidad,
67 así como la disminución de la extensión del tallo y la proliferación de las raíces (40).

68 Las plantas sobreviven a episodios de falta de agua gracias a que activan diversos
69 mecanismos que les permiten la conservación del agua en el tejido (41). Dichos
70 mecanismos incluyen el ajuste osmótico, cambios en la elasticidad de la membrana
71 celular, la acumulación de solutos, la regulación a través de fitohormonas como el ácido
72 absícico, activación del sistema antioxidante y mecanismos moleculares que permiten
73 cambios en la expresión de acuaporinas y proteínas específicas como las dehidrinas
74 (40,42,43).

75 Desde el punto de vista agrícola las medidas para el manejo del estrés por déficit hídrico
76 han sido a través de estrategias como la selección de genotipos con características
77 relacionadas a la tolerancia, la selección asistida por medio de marcadores, el uso de la
78 ingeniería genética para la producción de variedades resistentes y la aplicación exógena
79 de hormonas y osmoprotectores (41). El uso de estos productos bioestimulantes puede
80 mejorar la eficiencia del uso de nutrientes de la planta y mejorar la tolerancia a diversos
81 tipos de estrés (32), gracias a que permiten elicitar o estimular diversos mecanismos de
82 defensa (33) al potencializar la capacidad de las plantas a adaptarse a diversas condiciones
83 ambientales adversas, por medio de respuestas específicas ante el factor condicionante
84 (34).

85 Los cambios de adaptación resultantes ante el estrés hídrico incluye modificaciones en la
86 tasa de crecimiento, cambios en la estructura de las plantas, el potencial osmótico del
87 tejido y la activación de la defensa antioxidante (44). Por lo que el objetivo de este estudio
88 fue evaluar la respuesta morfológica de plantas y cambios en características de calidad del
89 fruto de tomate sometidos a estrés hídrico con la aplicación de un bioestimulante.

90

91

METODOLOGÍA

92 **Sitio experimental**

93 El presente estudio se realizó en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria
94 Antonio Narro situada en la ciudad de Saltillo, Coahuila, México, bajo condiciones de
95 invernadero. El estudio se realizó por duplicado, para el año 2015 de mayo a septiembre,
96 mientras que para el año 2016 se inició en marzo y termino en junio.

97 **Material biológico**

98 Como material biológico se utilizaron plántulas de la variedad Río Grande, que fueron
99 trasplantadas a bolsas negras de polietileno de 10 L, que contenían una mezcla de peat-
100 moss y perlita (1:1, v/v). Los nutrientes fueron provistos a través de una solución nutritiva
101 Steiner (45) por medio de un sistema de riego localizado.

102 **Descripción de tratamientos**

103 Se evaluaron tres tratamientos, que consistieron: (1) testigo absoluto (TA), sin aplicación
104 del bioestimulante y ausencia de estrés hídrico, (2) tratamiento con la inducción de estrés
105 hídrico y la aplicación de un bioestimulante (DHB) y (3) tratamiento con la inducción del
106 estrés hídrico y sin aplicación del bioestimulante (DH).

107 La inducción del estrés hídrico en las plantas se realizó mediante la suspensión del riego.
108 Esta condición se mantuvo por un lapso de ~10 días que fue lo que tardó en marcar el
109 tensiómetro una tensión de 35 kPa, que indica peligro por marchitamiento permanente. La
110 tensión hídrica del sustrato se monitoreó con un tensiómetro (marca Irrometer).

111 El bioestimulante utilizado contiene una mezcla sinérgica de folcisteína, aminoácidos,
112 ácidos fúlvicos y potasio. Para su aplicación se preparó en solución acuosa a una
113 concentración de 2.5 ml L⁻¹ de acuerdo a la dosis recomendada por la casa comercial
114 Arysta LifeScience.

115 Se realizaron tres aplicaciones del bioestimulante de forma foliar a las plantas de tomate.
116 La primera aplicación se realizó a los 7 días después del trasplante (ddt). La segunda
117 aplicación se efectuó a los 14 ddt, posterior a su aplicación se suspendió el riego. La
118 tercera aplicación se llevó a cabo 24 hrs después de llegar a la tensión de 35 kPa, para el
119 estudio realizado en el año 2015 la aplicación del bioestimulante fue a los 26 ddt y para el
120 año 2016 fue a los 28 ddt (Figura 1).

121 **Variables agronómicas**

122 Las variables agronómicas estudiadas se determinaron a los 104 ddt para el estudio
123 realizado en el año 2015 y a los 108 ddt para el año 2016. La altura (ALT) se midió con
124 un flexómetro, considerando desde la base del tallo hasta el ápice caulinar de la planta. El
125 peso seco de la raíz (PSR), tallo (PST) y hoja (PSH) se obtuvo por muestreo destructivo,
126 realizándose la segmentación del individuo en sus diferentes órganos, posteriormente se
127 colocaron en bolsas de papel y se colocaron en estufa de secado por 72 hrs a 80°C, una
128 vez deshidratados, fueron pesados en una balanza (marca Ohaus). Para la evaluación del
129 rendimiento (REND) por planta, número (NF) y peso promedio de frutos (NPP) se
130 consideró la producción de frutos hasta el segundo racimo, los frutos fueron cosechados,
131 contabilizados y pesados. Para estas variables se consideraron cinco repeticiones por
132 tratamiento y una planta como unidad experimental.

133 **Variables de calidad de fruto**

134 Las variables de calidad de fruto fueron determinadas en los frutos cosechados, cuando
135 presentaron el 90% de la superficie de color rojo, denominada como etapa de maduración
136 seis (46). La firmeza de los frutos se obtuvo usando un penetrómetro (marca Wagner
137 Instruments modelo FDK, con puntal de 8 mm). La determinación de los sólidos solubles
138 (SST) y el pH se midió en un macerado del fruto, para los SST se usó un refractómetro
139 digital (marca Atago modelo Pal1) y la medición del pH se realizó con un potenciómetro
140 (marca Daigger modelo 550). El contenido de vitamina C, se determinó por el método
141 volumétrico del 2,6-dicloroindofenol, el cual se basa en la reducción del colorante 2,6-
142 diclorofenolindofenol por solución de ácido ascórbico (47). La extracción de licopeno se
143 realizó de acuerdo a la técnica propuesta por (48) y la cuantificación de este carotenoide
144 fue realizado por técnica espectrofotométrica (49). Para estas determinaciones se
145 consideraron cinco repeticiones por tratamiento, tomando dos frutos por planta como
146 repetición.

147 La temperatura se registró con un sensor de temperatura externo (WatchDog 3667-20,
148 Spectrum Technologies, Inc., Plainfield, IL, USA) conectado a un registrador de datos
149 (WatchDog 1650 Data Logger, Spectrum Technologies, Inc., Plainfield, IL, USA). La
150 temperatura ambiente promedio en el sitio experimental (Figura 2) varió de 16.37°C a
151 25.73°C y de 7.6°C a 28°C para el año 2015 y 2016 respectivamente.

152 **Análisis estadístico**

153 El análisis de los datos obtenidos se realizó mediante un análisis de varianza usando un
154 diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial A x B, donde el factor A,

155 fueron los tratamientos evaluados y el factor B los años en que se realizó el experimento.
156 De igual manera se llevó acabo el análisis de comparación de medias usando la prueba de
157 Tuckey, ($p < 0.05$) y un análisis estadístico no supervisado de componentes principales
158 (ACP) con valores estandarizados. Los análisis fueron realizados con el lenguaje y
159 ambiente de cómputo estadístico R versión 3.1.3.

160

161 **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

162 **Variables agronómicas**

163 El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre tratamientos para las
164 diversas variables evaluadas, a excepción del PST y PSH (Cuadro 1). Durante los años
165 evaluados se observó diferencias significativas para las variables: ALT, PSR, PSH, REND
166 y PPF, mientras el PST y NF por planta fueron no significativos.

167 Los tratamientos TA y DHB mostraron valores similares para ALT, REND, NF y PPF. Se
168 ha demostrado que el uso de bioestimulantes en plantas sometidas a estrés hídrico, ayudan
169 a compensar la influencia negativa del estrés (50). El tratamiento DH presento una
170 reducción del 22% en la ALT, 49 % en el REND, 26 % en NF y 30 % en PPF, en
171 comparación con los valores obtenidos para el tratamiento testigo. Para el PSR los
172 tratamientos sometidos a estrés hídrico (DHB y DH) indujeron un decremento de esta
173 variable de 26.4 % y 43.8 % respectivamente (Cuadro 2).

174 Como se observó en este estudio la falta del recurso hídrico en las plantas tiene un efecto
175 adverso directo sobre parámetros de crecimiento y consecuentemente sobre los
176 componentes del rendimiento. Estos resultados son consistentes con los reportados en

177 plántulas de chícharo y trigo sometidos a estrés hídrico, presentándose una reducción en
178 la altura, biomasa y área de la hoja (51); mientras que en plantas de calabaza se encontró
179 que la disminución en la cantidad de agua aplicada induce un decremento en el peso seco
180 de la parte aérea así como un menor número de frutos y pérdidas en el rendimiento, sin
181 embargo la aplicación de extracto de moringa (*Moringa oleífera*) como bioestimulante,
182 mostró resultados positivos sobre el rendimiento y características de crecimiento en
183 condiciones de estrés hídrico (37).

184 **ACP para las variables agronómicas**

185 Con la finalidad de observar el comportamiento conjunto de las variables estudiadas se
186 realizó un análisis estadístico multivariado no supervisado llamado componentes
187 principales (ACP). En el cuadro 3, se muestran los vectores de carga de cada una de las
188 variables considerando los dos primeros componentes principales que explican el 86% de
189 la varianza acumulada.

190 El primer componente principal contuvo el 47% de varianza, este componente se
191 encuentra relacionado con las variables de productividad de la planta donde se encuentran
192 influyendo de forma negativa las variables REND, NF y PPF.

193 El segundo componente principal explica el 39% de la varianza y se puede denominar
194 como un componente que representa las características morfológicas de la planta, donde
195 las variables ALT, PSR y PST influyeron de forma negativa, mientras el PSH influyo de
196 forma positiva.

197 La distribución de las variables en la Figura 3, mostró un patrón, agrupándolas en tres
198 conjuntos: 1) REND, NF y PPF; 2) ALT, PSR y PST y 3) PSH.

199 En la figura 3, se muestra el ACP para el comportamiento de las variables agronómicas
200 en plantas de tomate sometidas a estrés por déficit hídrico en años diferentes. Donde se
201 encontró un agrupamiento por año de estudio, se ha reportado que las condiciones
202 ambientales que se presentan durante el desarrollo de las plantas tienen un efecto
203 significativo sobre las características morfológicas y de rendimiento (37). Durante las
204 fechas que en que establecieron los estudios, se presentaron variaciones en la temperatura
205 al interior del invernadero (figura 2), dando como resultado cambios en la morfología de
206 la planta durante los años de estudio.

207 Al observar el comportamiento de los tratamientos para el año 2015 y 2016 se encontró
208 que los tratamientos TA y DHB se agruparon mostrando un comportamiento similar entre
209 ellos, mientras que el tratamiento DH fue diferente. Lo que demuestra que el uso del
210 bioestimulante ayuda a mitigar los efectos adversos del estrés hídrico, aun en condiciones
211 ambientales diferentes.

212 Los tratamientos TA y DHB mostraron efectos similares para el REND, NF y PSH para
213 el 2015; mientras en el año 2016 mismo efecto se observó para la altura, PSR y PST. Al
214 comparar el factor años, se observó que para el año 2015 los valores de REND, NF y PPF
215 incrementaron con relación al año 2016, siendo el tratamiento testigo el que mostro
216 valores superiores seguido del tratamiento DHB y por último DH.

217 El efecto positivo en las plantas tratadas con el bioestimulante, también ha sido observado
218 en árboles de naranjo dulce, tratados con extracto de algas marinas y estresados por sequía,
219 encontrándose un crecimiento total, significativamente mayor que los árboles con estrés
220 por sequía (Spann y Little, 2011).

221 Variables de calidad de fruto

222 Los resultados del análisis de varianza mostraron la existencia de diferencia significativa
223 entre los tratamientos, únicamente para la variable de SST (Cuadro 4). Para los años
224 evaluados se observó significancia para la firmeza, pH, contenido de vitamina C y
225 licopeno.

226 Los frutos provenientes del tratamiento DH presentaron los valores más altos para los
227 SST, seguido por el tratamiento TA y DHB (cuadro 5). La firmeza del fruto, el pH, el
228 contenido de vitamina C y licopeno no mostraron diferencias significativas por efecto de
229 los tratamientos evaluados.

230 Se ha reportado que en frutos de tomate provenientes de cuatro cultivares diferentes
231 sometidos a sequía, los atributos de calidad no disminuyeron por la condición de estrés,
232 como se observó en este estudio; sin embargo, los compuestos antioxidantes mostraron
233 resultados positivos ante este tratamiento (Klunklin y Savage, 2017), situación no
234 encontrada en la presente investigación en los antioxidantes no enzimáticos evaluados
235 (Vitamina C y Licopeno) (Cuadro 5). Por otro lado se han registrado efectos contrarios al
236 evaluar tres bioestimulantes comerciales donde se encontró que su aplicación afectó
237 positivamente al licopeno, pero afectó negativamente al contenido de b-caroteno y
238 vitamina C, por lo que la influencia sobre la actividad antioxidante total no fue
239 significativamente diferente entre los tratamientos (54).

240

241

242

243 **ACP para las variables de calidad de fruto**

244 En el cuadro 6, se muestran los vectores de carga estandarizados obtenidos para cada una
245 de las variables de calidad de fruto estudiadas. Considerando los dos primeros
246 componentes principales que explican el 88% de la varianza acumulada.

247 El primer componente principal explica el 62% de la varianza y se encuentra influenciado
248 de forma negativa por el contenido de vitamina C, la firmeza y el pH. El segundo
249 componente principal explica el 16 % de la varianza, para este componente el contenido
250 de SST y licopeno influyen de forma negativa.

251 En la figura 4, se muestra el ACP para el comportamiento de las variables de calidad de
252 frutos procedentes de plantas de tomate sometidas a estrés por déficit hídrico en años
253 diferentes.

254 Al observar la distribución de las variables se observó el agrupamiento de algunas de ellas,
255 dividiéndose en dos grupos: 1) firmeza, pH y contenido de vitamina C y 2) SST y
256 contenido de licopeno.

257 Se puede observar que los tratamientos se agruparon por año de estudio, mientras que, el
258 comportamiento de los tratamientos por cada año de estudio, mostró que para el año 2015
259 los tratamientos DHB y DH tuvieron un comportamiento similar, mientras que el TA fue
260 diferente a ellos. En la evaluación realizada en el año 2016 se observó un comportamiento
261 similar entre los tratamientos TA y DHB, siendo DH diferente.

262 Al observar la figura del ACP se aprecia un comportamiento similar para las variables
263 firmeza, pH y contenido de vitamina C, presentándose un decremento de estas variables
264 para todos los tratamientos evaluados durante el año 2015, mientras que, para el año 2016

265 se aprecia un incremento de estas variables. Para el año 2015 el tratamiento TA mostro
266 los niveles más altos de mencionadas variables, seguido del DHB y por ultimo DH. Para
267 el año 2016 este patrón no se repite, siendo el tratamiento DH el que mostro los niveles
268 más altos de firmeza, pH y contenido de vitamina C, seguido del TA y DHB.

269 Para los SST y el contenido de licopeno, se observaron valores superiores para el año 2016
270 en comparación con el año 2015, a excepción del tratamiento TA donde su
271 comportamiento fue contrario. En el año 2015 los valores de SST y el contenido de
272 licopeno decrecieron por efecto del DH y DHB con respecto al tratamiento TA. Situación
273 contraria a lo encontrado para el año 2016 donde el tratamiento DH y DHB superaron al
274 tratamiento TA.

275 Estos cambios en las características del fruto pueden estar influenciadas por las
276 condiciones ambientales que se presentaron durante los estudios, como fue la variación
277 de temperatura registrada durante la etapa de maduración del fruto para los años evaluados
278 (figura 2). Se reconoce la importancia de las condiciones ambientales sobre el proceso de
279 maduración de frutos de tomate, así como de su influencia sobre características de calidad,
280 como el contenido de vitamina C y licopeno (Dumas *et al.*, 2003; Lee y Kader, 2000).

281 Por lo tanto nuestros resultados sugieren la posibilidad de la aplicación de bioestimulantes
282 en la producción de plantas hortícolas, como una herramienta para mitigar o disminuir los
283 efectos adversos asociados a condiciones de estrés por sequía. Ofreciendo una alternativa
284 para superar escenarios temporales de estrés.

285

286

287

288

CONCLUSIÓN

289 La aplicación del bioestimulante sobre plantas sometidas a estrés hídrico permitió reducir
290 los efectos adversos de la condición de estrés sobre las características morfológicas de la
291 planta como lo fue la altura, rendimiento, número de fruto, peso promedio de fruto y peso
292 seco de raíz.

293 Los pesos secos en hoja y tallos, así como el pH, firmeza, sólidos solubles totales, vitamina
294 C y contenido de licopeno en frutos de tomate no se vieron modificados de forma negativa
295 por efectos del bioestimulante.

296

297

298

299

300

301

302

303

304

305

306

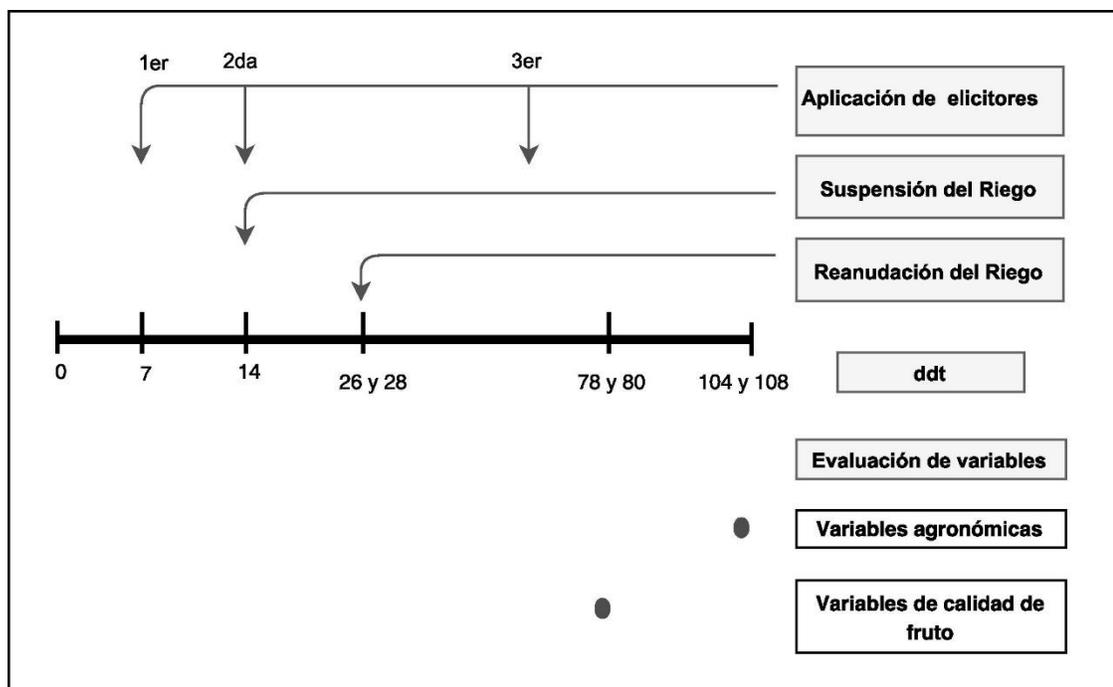
307

REFERENCIAS

- 308 Abd El-Mageed, T.A., Semida, W.M., Rady, M.M. 2017. Moringa leaf extract as
309 biostimulant improves water use efficiency, physio-biochemical attributes of
310 squash plants under deficit irrigation. *Agric. Water Manag.* 193: 46–54.
- 311 Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., Karanov, E. 2001. The effect of drought and
312 ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell*
313 *Environ.* 24: 1337–1344.
- 314 Angelova, Z., Georgiev, S., Roos, W. 2006. Elicitation of Plants. *Biotechnol.*
315 *Biotechnol. Equip.* 20, 72–83.
- 316 Anjum, S.A., Xie, X., Wang, L., Saleem, M.F., Man, C., Lei, W. 2011. Morphological,
317 physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African J.*
318 *Agric. Res.* 6, 2026–2032.
- 319 AOAC. 1980. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical
320 Chemists. 13 th ed. Washington, D.C. USA.
- 321 Bulgari, R., Cocetta, G., Trivellini, A., Vernieri, P., Ferrante, A. 2015. Biostimulants and
322 crop responses. A review. *Biol. Agric. Hortic.* 31, 1–17.
- 323 Davis, A.R., Fish, W.W., Perkins-Veazie, P. 2003. A rapid spectrophotometric method
324 for analyzing lycopene content in tomato and tomato products. *Postharvest Biol.*
325 *Technol.* 28: 425–430.
- 326 Duan, B., Yang, Y., Lu, Y., Korpelainen, H., Berninger, F., Li, C. 2007. Interactions
327 between water deficit, ABA, and provenances in *Picea asperata*. *J. Exp. Bot.* 58:

- 328 3025–3036.
- 329 Dumas, Y., Dadomo, M., Di Lucca, G., Grolier, P. 2003. Effects of environmental
330 factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *J. Sci. Food*
331 *Agric.* 83: 369–382.
- 332 Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A. 2009. Plant drought
333 stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Dev.* 29: 185–212.
- 334 Fish, W.W., Perkins-Veazie, P., Collins, J.K. 2002. A Quantitative Assay for Lycopene
335 That Utilizes Reduced Volumes of Organic Solvents. *J. Food Compos. Anal.* 15:
336 309–317.
- 337 Grabowska, A., Kunicki, K., Słękara, A., Kalisz, A., Jezdinsky, A., Gintro-Wicz, K.
338 2015. The effect of biostimulants on the quality parameters of tomato grown for the
339 processing industry. *Agrochimica.* 59: 203–217.
- 340 Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, J., Somasundaram, R.,
341 Panneerselvam, R. 2009. Drought Stress in Plants: A Review on Morphological
342 Characteristics and Pigments Composition. *Int. J. Agric. Biol.* 11: 1560–8530.
- 343 Klunklin, W., Savage, G. 2017. Effect on Quality Characteristics of Tomatoes Grown
344 Under Well-Watered and Drought Stress Conditions. *Foods.* 6: 56.
- 345 Lee, S.K., Kader, A.A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C
346 content of horticultural crops. *Postharvest Biol. Technol.* 20: 207–220.
- 347 Mittler, R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends*
348 *Plant Sci.* 11: 15–19.

- 349 Oancea, F., Velea, S., Mincea, C., Ilie, L. 2013. Micro-Algae Based Plant Biostimulant
350 and Its Effect on Water. *Rom. J. Plant Prot.* VI: 104–117.
- 351 Shao, H.B., Chu, L.Y., Jaleel, C.A., Manivannan, P., Panneerselvam, R., Shao, M.A.
352 2009. Understanding water deficit stress-induced changes in the basic metabolism
353 of higher plants – biotechnologically and sustainably improving agriculture and the
354 ecoenvironment in arid regions of the globe. *Crit. Rev. Biotechnol.* 29: 131–151.
- 355 Spann, T.M., Little, H.A. 2011. Applications of a commercial extract of the brown
356 seaweed *Ascophyllum nodosum* increases drought tolerance in container-grown
357 ‘hamlin’ sweet orange nursery trees. *HortScience.* 46: 577–582.
- 358 Steiner, A.A., 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain
359 desired composition. *Plant Soil.* 15: 134–154.
- 360 Turner, N.C., Wright, G.C., Siddique, K.H.M. 2001. Adaptation of grain legumes
361 (pulses) to water-limited environments. *Adv. Agron.* 71: 193–231.
- 362 USDA. 1997. United States Standards for Grades of Fresh Tomatoes. United States
363 Standards for Grades of Fresh Tomatoes.
- 364 Yordanov, I., Velikova, V., Tsonev, T. 2000, Plant Responses to Drought, Acclimation,
365 and Stress Tolerance. *Photosynthetica.* 38: 171–186.
- 366
- 367

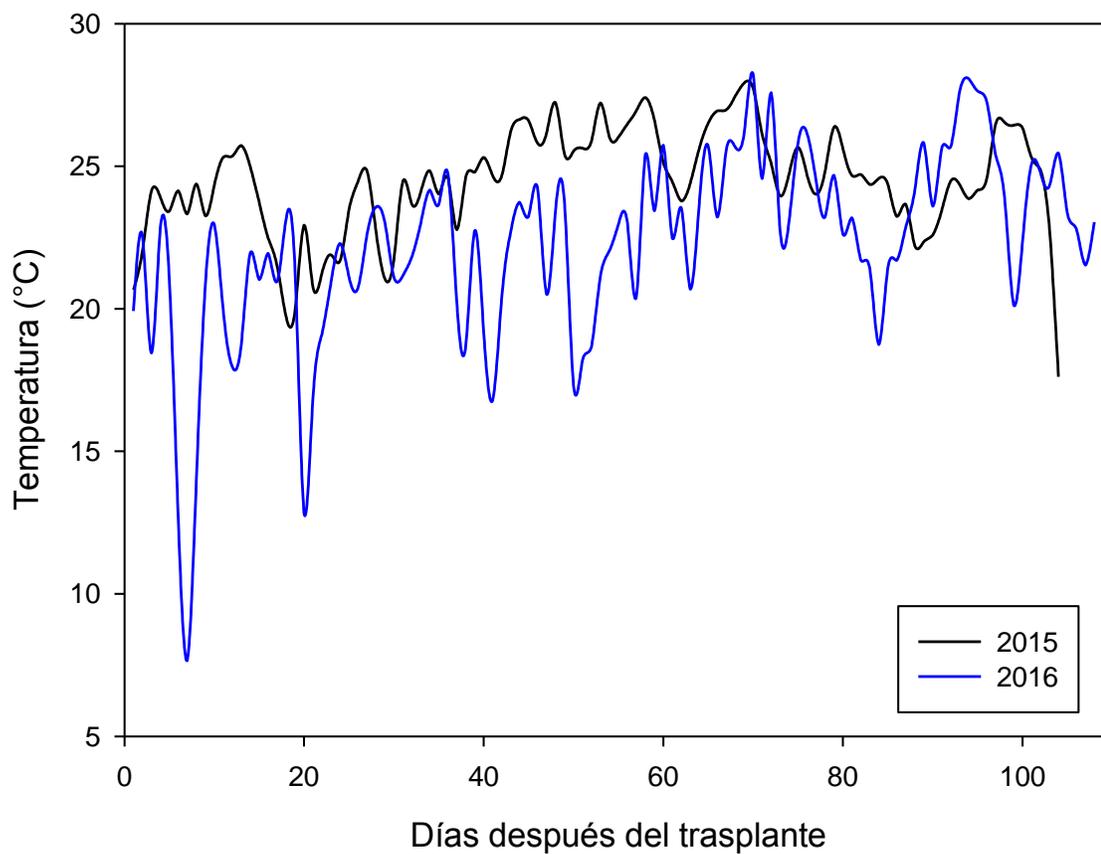


368

369 **Figura 1.** Cronograma de aplicaciones del bioestimulante y evaluación de variables.

370 **Figure 1.** Schedule of biostimulant applications and evaluation of variables.

371



372

373 **Figura 2.** Temperaturas promedio por día, observadas durante el desarrollo del
374 experimento en los años 2015 y 2016.

375 **Figure 2.** Average temperatures per day, observed during the development of the study
376 2015 and 2016

377

378

379

380

381 **Cuadro 1.** Valores de p obtenidos del análisis de varianza para las variables agronómicas
 382 para los años 2015 y 2016.

383 **Table 1.** Values of p obtained from the analysis of variance for the agronomic variables
 384 for the years 2015 and 2016.

Variable	Tratamiento	Año
ALT	3.83×10^{-6} ***	1.26×10^{-5} ***
PSR	8.85×10^{-8} ***	5.47×10^{-8} ***
PST	0.928	0.113
PSH	0.146	5.28×10^{-7} ***
REND	4.260×10^{-6} ***	0.0004 ***
NF	0.0226 *	0.8628
PPF	0.0050 **	0.0019 **

385 ***p< 0.001; ** p< 0.01; * p< 0.05. ALT= altura; PSR= peso seco raíz; PST= peso seco
 386 tallo; PSH= peso seco hoja; REND= rendimiento; NF= número de frutos; PPF= peso
 387 promedio de fruto.

388

389

390

391

392

393 **Cuadro 2.** Comparación de medias de variables agronómicas en plantas sometidas a estrés
 394 hídrico para los años 2015 y 2016.

395 **Table 2.** Comparison of means of agronomic variables in plants. Subjected to drought for
 396 the years 2015 and 2016.

Tratamiento	ALT[Ⓜ] (cm)	PSR (g)	PST (g)	PSH (g)	REND (g/planta)	NF	PPF (g)
TA	129.1 a	23.3 a	58.8 a	120.6 a	1104 a	19.2 a	58.5 a
DHB	132.4 a	17.1 b	57.2 a	107.2 a	940.7 a	16.5 ab	57.1 a
DH	100.3 b	13.0 c	56.6 a	100.7 a	561.5 b	14.2 b	40.9 b

397 [Ⓜ] Letras iguales indican ausencia de diferencia significativa (Tukey, p<0.05).TA=
 398 tratamiento testigo; DHB= déficit hídrico y aplicación del bioestimulante; DH= déficit
 399 hídrico. ALT= altura; PSR= peso seco raíz; PST= peso seco tallo; PSH= peso seco hoja;
 400 REND= rendimiento; NF= número de frutos; PPF= peso promedio de fruto.

401

402

403

404

405

406

407

408 **Cuadro 3.** Vectores de carga estandarizados de las variables agronómicas para las dos
 409 primeras componentes principales.

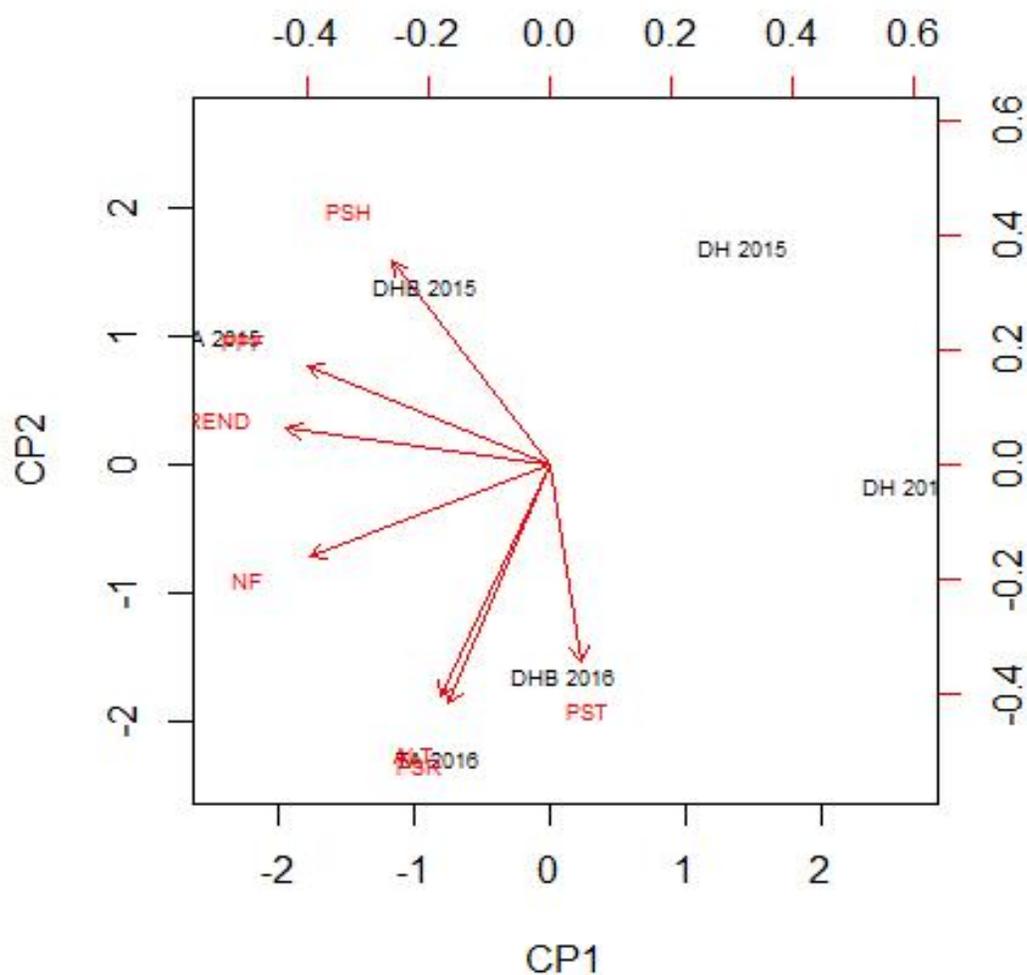
410 **Table 3.** Standardized load vectors of the agronomic variables for the first two principal
 411 components.

Variable	Componente principal	
	CP 1	CP2
ALT	-0.2253	-0.5043
PSR	-0.2107	-0.5217
PST	0.0638	0.4284
PSH	-0.3263	0.4434
REND	-0.5440	0.0787
NF	-0.4965	-0.2008
PPF	-0.5017	-0.2160

412 ALT= altura; PSR= peso seco raíz; PST= peso seco tallo; PSH= peso seco hoja; REND=
 413 rendimiento; NF= número de frutos; PPF= peso promedio de fruto.

414

415



416

417 **Figura 3.** Distribución de las variables agronómicas en los dos primeros
 418 componentes principales. ALT= altura; PSR= peso seco raíz; PST= peso seco
 419 tallo; PSH= peso seco hoja; REND= rendimiento; NF= número de frutos; PPF=
 420 peso promedio de fruto.

421 **Figure 3.** Distribution of the agronomic variables in the first two main
 422 components. ALT = height; PSR = root dry weight; PST = dry weight stem; PSH

423 = leaf dry weight; REND = yield; NF = number of fruits; PPF = average fruit
 424 weight.

425

426

427 **Cuadro 4.** Valores de p obtenidos del análisis de varianza para las variables de calidad
 428 de fruto para los años 2015-2016.

429 **Table 4.** Values of obtained from the analysis of variance for fruit quality
 430 variables for the years 2015 and 2016.

Variable	Tratamiento	Año
Firmeza	0.1692	0.0187 *
SST	0.0260 *	0.1350
pH	0.3080	$<2 \times 10^{-16}$ ***
Vitamina C	0.1107	0.0004 ***
Licopeno	0.3390	9.5×10^{-5} ***

431 ***p< 0.001; ** p< 0.01; * p< 0.05. SST= sólidos solubles totales

432

433

434

435

436

437 **Cuadro 5.** Comparación de medias de variables de calidad de fruto en plantas de tomate
 438 sometidas a estrés hídrico para los años 2015 y 2016.

439 **Table 5.** Comparison of means of fruit quality variables in tomato plants subjected to
 440 drought for the years 2015 and 2016.

Tratamiento	Firmeza ^α (k cm²)	SST (°Brix)	pH	Vitamina C (mg/100g)	Licopeno (ug mL⁻¹)
TA	3.9 a	6.0 ab	3.6 a	19.2 a	21.1 a
DHB	3.4 a	5.7 b	3.7 a	16.2 a	21.2 a
DH	3.7 a	6.2 a	3.7 a	18.0 a	23.1 a

441 ^α Letras iguales indican ausencia de diferencia significativa (Tukey, p<0.05).TA=
 442 tratamiento testigo; DHB= déficit hídrico y aplicación del bioestimulante; DH= déficit
 443 hídrico. SST= sólidos solubles totales.

444

445

446

447

448

449

450

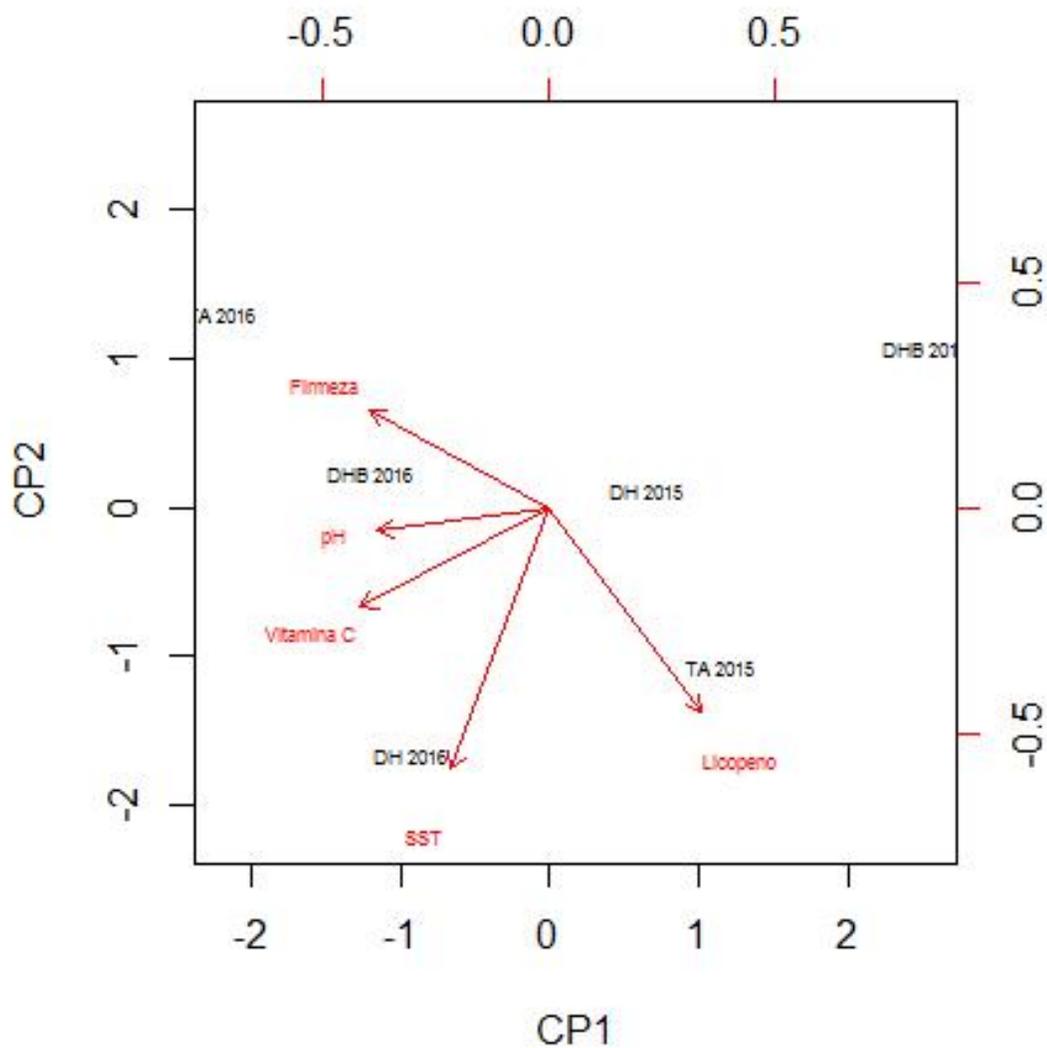
451

452 **Cuadro 6.** Vectores de carga estandarizados de las variables de calidad de fruto para las
 453 dos primeras componentes principales.

454 **Table 6.** Standardized load vectors of the variable quality fruit for the first two main
 455 components.

Variable	Componente principal	
	CP 1	CP2
SST	-0.2733018	-0.72518634
Firmeza	-0.4984119	0.27054563
pH	-0.4751377	-0.06256818
Vitamina C	-0.5235566	-0.2770022
Licopeno	0.4207426	-0.56591946

456 SST=sólidos solubles totales



457

458 **Figura 4.** Distribución de las variables de calidad de fruto en los dos primeros
 459 componentes principales. SST=sólidos solubles totales.

460 **Figure 4.** Distribution of variable quality in the first principal components. SST = total
 461 soluble solids

CONCLUSIÓN GENERAL

La aplicación de elicitors sobre plantas sometidas a estrés biótico y abiótico permitió reducir los efectos adversos de la condición de estrés sobre las características de la planta como lo fue la altura y el rendimiento.

En plantas inoculadas con *F. oxysporum*, se observó una reducción de la incidencia y severidad de las plantas, así como la modificación de la conductancia estomática, por efecto de los elicitors.

En plantas de tomate bajo condiciones de estrés hídrico, el uso del elicitor o biostimulante permitió reducir los efectos adversos de la condición de estrés sobre las características morfológicas de la planta como lo fue la altura, rendimiento, número de fruto, peso promedio de fruto y peso seco de raíz. La calidad del fruto no se vio modificada de forma negativa por efecto de los elicitors.

REFERENCIAS

1. Smith AM (Alison M. Plant biology. Garland Science; 2010. 664 p.
2. Taiz L, Zeiger E, Universitat Jaume I. Publicacions. Fisiología vegetal. Universitat Jaume I; 2006.
3. Ascencio-Alvarez A, López-Benítez A, Borrego-Escalante F, Rodríguez-Herrera SA, Flores-Olivas A, Jiménez-Díaz F, et al. Marchitez Vascular del Tomate: I. Presencia de Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en Culiacán, Sinaloa, México. Rev Mex Fitopatol. Sociedad Mexicana de Fitopatología; 2008;26(2):114–20.
4. Bray EA. Plant responses to water deficit. Trends Plant Sci. ; 1997;2(2):48–54.
5. Shao H-B, Chu L-Y, Jaleel CA, Manivannan P, Panneerselvam R, Shao M-A. Understanding water deficit stress-induced changes in the basic metabolism of higher plants – biotechnologically and sustainably improving agriculture and the ecoenvironment in arid regions of the globe. Crit Rev Biotechnol; 2009 Jun 17;29(2):131–51.
6. Potters G, Pasternak TP, Guisez Y, Palme KJ, Jansen MAK. Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? Trends Plant Science. 2007;12(3):98–105.
7. Shao H-B, Chu L-Y, Jaleel CA, Zhao C-X. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. C R Biol.; 2008;331(3):215–25.
8. Atkinson NJ, Dew TP, Orfila C, Urwin PE. Influence of Combined Biotic and Abiotic Stress on Nutritional Quality Parameters in Tomato (*Solanum lycopersicum*). J Agric Food Chem. 2011;59(17):9673–82.
9. Zhu JK, Liu J, Xiong L. Genetic analysis of salt tolerance in arabidopsis. Evidence for a critical role of potassium nutrition. Plant Cell. 1998;10(7):1181–91.
10. Knight H, Knight MR. Abiotic stress signalling pathways: specificity and cross-talk. Trends Plant Sci. 2001;6(6):262–7.
11. Ton J, Flors V, Mauch-Mani B. The multifaceted role of ABA in disease resistance. Trends Plant Sci. 2009;14(10):310–7.
12. Anderson J, Badruzaufari E. Antagonistic interaction between abscisic acid and jasmonate-ethylene signaling pathways modulates defense gene expression and disease resistance in. Plant Cell. 2004 :3460–79.
13. Yasuda M, Ishikawa A, Jikumaru Y, Seki M, Umezawa T, Asami T, et al. Antagonistic Interaction between Systemic Acquired Resistance and the Abscisic Acid–Mediated Abiotic Stress Response in Arabidopsis. American Society of Plant Biologists; 2008;20:1678–1692.

14. Mejía-Teniente L, Torres-Pacheco I, González-Chavira M, Ocampo-Velazquez R, Herrera-Ruiz G, Chapa-Oliver A, et al. African journal of biotechnology. Vol. 9, African Journal of Biotechnology. Academic Journals; 2002. 9155-9162.
15. Ghazanfar UM, Wakil W, Talib Sahi S. Induction of resistance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) against *Ascochyta rabiei* by applying chemicals and plant extracts. Chil J Agric Res . 2011 ;71(1):52–62.
16. Gonzalez-Morales S, Benavides-Mendoza A, García-Enciso EL, Rodríguez-Campos EM, Flores-Olivas A. Effect of alkamides as tolerance inductors to biotic stress in tomato. Rev Mex Ciencias Agrícolas. 2015;(12):2371–82.
17. Mancuso S, Azzarello E, Mugnai S, Briand X. Marine bioactive substances (IPA extract) improve foliar ion uptake and water stress tolerance in potted *Vitis vinifera* plants. Adv Hortic Sci. 2006;20(2):156–61.
18. SNICS. Tomate Rojo [Internet]. 2015. Available from: http://www.sinarefi.org.mx/redes/red_jitomate.html
19. FIRA. Panorama Agroalimentario: Tomate Rojo. 2016. p. 35. Available from: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200635/Panorama_Agroalimentario_Tomate_Rojo_2016.pdf
20. Schwentesius Rindermann R, Centro de Investigaciones Economicas, Sociales y Tecnologicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial C (Mexico), spa, Gomez Cruz MA, Williams GW, spa UAC (Mexico). TLC y agricultura: funciona el experimento?. Mexico City (Mexico) Juan Pablos Editor; 1998.
21. Jaleel CA, Manivannan P, Wahid A, Farooq M, Al-Juburi J, Somasundaram R, et al. Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition. Int J Agric Biol. 2009;11:1560–8530.
22. Gómez L, Rodríguez MG, Enrique R, Miranda I, González E. Factores limitantes de los rendimientos y calidad de las cosechas en la producción protegida de hortalizas en cuba. Rev Protección Veg. 2009;24(2):117–22.
23. Wang W, Vinocur B, Altman A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. Planta. 2003;218:1–14.
24. Claessens L, Antle JM, Stoorvogel JJ, Valdivia RO, Thornton PK, Herrero M. A method for evaluating climate change adaptation strategies for small-scale farmers using survey, experimental and modeled data. Agric Syst. 2012;111:85–95.
25. González-Robaina F, Cisneros-Zayas E, Montilla E. Respuesta al déficit

- hídrico del cafeto (*Coffea arabica* L.) en diferentes fases de desarrollo. *Rev Ciencias Técnicas Agropecu.* 2017;23(3):4–11.
26. Levitt J. Responses of Plants to Environmental Stress, 2nd Edition, Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses. Responses Plants to Environ Stress 2nd Ed Vol 1 Chill Free High Temp Stress. Academic Press.; 1980.
 27. Hanson AD, Hitz WD. Metabolic Responses of Mesophytes to Plant Water Deficits. *Annu Rev Plant Physiol*; 1982; 33(1):163–203.
 28. Kirkham MB. Principles of soil and plant water relations. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Academic Press; 2005.
 29. Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J Exp Bot.* 2006;58(2):221–7.
 30. Davies FS, Albrigo LG. Citrus. Wallingford: CAB INTERNATIONAL; 1994. 254 p.
 31. Leung J, Giraudat J. Abscisic acid signal transduction. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol. Annual Reviews* 4139 E;49(1):199–222.
 32. Zhang SQ, Outlaw WH. Abscisic acid introduced into the transpiration stream accumulates in the guard-cell apoplast and causes stomatal closure. *Plant, Cell Environ.* 2001. 24(10):1045–54.
 33. Holcik M, Sonenberg N. Translational control in stress and apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2005. 6(4):318–27.
 34. Chisholm ST, Coaker G, Day B, Staskawicz BJ. Host-Microbe Interactions: Shaping the Evolution of the Plant Immune Response. *Cell.* 2006;124(4):803–14.
 35. Schulz B, Boyle C. The endophytic continuum. *Mycol Res.* 2005;109(6):661–86.
 36. de Sain M, Rep M. The Role of Pathogen-Secreted Proteins in Fungal Vascular Wilt Diseases. *Int J Mol Sci.* 2015;16(10):23970–93.
 37. McGovern RJ. Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. *Crop Prot.* 2015;73:78–92.
 38. Akhter A, Hage-Ahmed K, Soja G, Steinkellner S. Potential of *Fusarium* wilt-inducing chlamydospores, in vitro behaviour in root exudates and physiology of tomato in biochar and compost amended soil. *Plant Soil.* 2016;406(1–2):425–40.
 39. Ma L-J, Geiser DM, Proctor RH, Rooney AP, O'Donnell K, Trail F, et al. *Fusarium* Pathogenomics. *Annu Rev Microbiol.* 2013. 67(1):399–416.
 40. PARK D. Some Aspects of the Biology of *Fusarium oxysporum* Schl. in Soil. *Ann Bot.* 1959;23(1):35–49.

41. Nelson PE, Toussoun TA, Cook RJ. *Fusarium*: diseases, biology, and taxonomy. Pennsylvania State University Press; 1981. 457 p.
42. McKeen CD, Wensley RN. Longevity of *Fusarium oxysporum* in Soil Tube Culture. *Science*. 1961;134(3489):1528–9.
43. Gordon TR. *Fusarium oxysporum* and the Fusarium Wilt Syndrome. *Annu Rev Phytopathol*. 2017;55(1):23–39.
44. Agrios G. *Plant Pathology*. 5th ed. New York, USA: Elsevier Academic Press.; 2005. 922 p.
45. Michielse C, Rep M. Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Mol Plant Pathol*. 2009;10(3):311–24.
46. Vivanco JM, Cosio E, Loyola-Vargas VM, Flores HE. Mecanismos químicos de defensa en las plantas. *Investig Cienc*. 2005;68–75. Available from:
47. Lodish H, Sterin de Speziale NB, Vidal NA. *Biología celular y molecular*. Editorial Médica Panamericana; 2005.
48. Ackerly D, Knight C, Weiss S, Barton K, Starmer K. Leaf size, specific leaf area and microhabitat distribution of chaparral woody plants: contrasting patterns in species level and community level analyses. *Oecologia*. 2002 ; 130(3):449–57.
49. Xiong L, Liu J, Zhu JK. Genetic analysis of salt tolerance in arabidopsis. Evidence for a critical role of potassium nutrition. *Plant Cell*, 2002;10(7):1181–91.
50. Fujita M, Fujita Y, Noutoshi Y, Takahashi F, Narusaka Y, Yamaguchi-Shinozaki K, et al. Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. *Curr Opin Plant Biol*. 2006;9:436–4
51. Tsuda K, Sato M, Glazebrook J, Cohen JD, Katagiri F. Interplay between MAMP-triggered and SA-mediated defense responses. *Plant J*. 2008;53(5):763–75.
52. Lorenzo O, Piqueras R, Sánchez-Serrano JJ, Solano R. Ethylene response factor1 Integrates Signals from Ethylene and Jasmonate Pathways in Plant Defense. *Plant Cell*. 2003;15(1):165–178.
53. Florido B, Bao FL. Tolerancia a estrés por déficit hídrico en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Cultiv Trop*. 2014;35(3):70–88
54. Creelman R a, Mullet JE. Jasmonic acid distribution and action in plants: regulation during development and response to biotic and abiotic stress. *Proc Natl* 92(10):4114–9.
55. Molinier J, Ries G, Zipfel C, Hohn B. Transgeneration memory of stress in plants. *Nature*; 2006;442(7106):1046–9.

56. Mandal S, Mallick N, Mitra A. Salicylic acid-induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici in tomato. *Plant Physiol Biochem.* 2009;47(7):642–9.
57. Sinha M, Singh R, Kushwaha G, Iqbal N. Current overview of allergens of plant pathogenesis related protein families. *Sci World.* 2014.
58. Almagro L, Gó Mez Ros L V, Belchi-Navarro S, Bru R, Barceló AR, Pedreñ O MA. Class III peroxidases in plant defence reactions. *J Exp Bot.* 2009;60(2):377–90.
59. Ito S, Ihara T, Tamura H, Tanaka S, Ikeda T. α -Tomatine, the major saponin in tomato, induces programmed cell death mediated by reactive oxygen species in the fungal pathogen *Fusarium oxysporum*. 2007;581(17):3217–22.
60. Bae H, Kim MS, Sicher RC, Bae H-J, Bailey BA. Necrosis- and Ethylene-Inducing Peptide from *Fusarium oxysporum* Induces a Complex Cascade of Transcripts Associated with Signal Transduction and Cell Death in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 2006;141(3):1056–1067.
61. Bohnert HJ, Sheveleva E. Plant stress adaptations — making metabolism move. *Curr Opin Plant Biol.* 1998;1(3):267–74.
62. Krasensky J, Jonak C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *J Exp Bot;* 2012;63(4):1593–608.
63. Miller G, Suzujy N, Ciftci.Yilmaz S, Mittler R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant Cell Environ.* 2010;33(4):453–67.
64. Zhao C-X, Shao H-B, Chu L-Y. Aquaporin structure–function relationships: Water flow through plant living cells. *Colloids Surfaces B Biointerfaces;* 2008 ;62(2):163–72.
65. Bulgari R, Cocetta G, Trivellini A, Vernieri P, Ferrante A. Biostimulants and crop responses: A review. *Biol Agric Hortic.* 2015;31(1):1–17.
66. Angelova Z, Georgiev S, Roos W. Elicitation of Plants. *Biotechnol Biotechnol Equip;* 2006;20(2):72–83.
67. Mittler R. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends Plant Sci.* 2006;11(1):15–9.
68. Rodríguez-Pedroso AT, Ramírez-Arrebato MÁC-T, Falcón-Rodríguez, Cárdenas-Travieso RM, Falcón-Rodríguez A, Bautista-Baños S. Efecto de la Quitosana en la Inducción de la Actividad de Enzimas Relacionadas con la Defensa y Protección de Plántulas de Arroz (*Oryza sativa* L.) contra *Pyricularia grisea* Sacc. *Rev Mex Fitopatol;* 2006;24(1).

69. García MR, Pérez LR. FITOALEXINAS: MECANISMO DE DEFENSA DE LAS PLANTAS. Rev Chapingo Ser Ciencias For y del Ambient; 2003;9(1):5–10.
70. Barda O, Shalev O, Alster S, Buxdorf K, Gafni A, Levy M. *Pseudozyma aphidis* Induces Salicylic-Acid-Independent Resistance to *Clavibacter michiganensis* in Tomato Plants. Plant Disease; 2015;99(5):621–6.
71. Jayaraman J, Norrie J, Punja ZK. Commercial extract from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* reduces fungal diseases in greenhouse cucumber. J Appl Phycol. 2010;23(3):353–61.
72. Abd El-Mageed TA, Semida WM, Rady MM. Moringa leaf extract as biostimulant improves water use efficiency, physio-biochemical attributes of squash plants under deficit irrigation. Agric Water Manag; 2017;193:46–54.
73. Kałużewicz A, Krzesiński W, Spizewski T, Zaworska A. Effect of Biostimulants on Several Physiological Characteristics and Chlorophyll Content in Broccoli under Drought Stress and Re-watering. Not Bot Horti Agrobot Cluj-Napoca. 2017;45(1):197.
74. Spann TM, Little HA. Effect of Stimplex® Crop Biostimulant on Drought Tolerance of “ Hamlin ” Sweet Orange. Proc Fla State Hort Soc. 2010;123:100–4.