

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



EFFECTO DE ESTIMULANTES SOBRE EL CONTENIDO DE OMEGA-3 EN  
FRUTOS DE FRAMBUESA (*Rubus idaeus L.*)

Tesis

Que presenta NAYELLI AZUCENA SIGALA AGUILAR  
como requisito parcial para obtener el Grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

EFFECTO DE ESTIMULANTES SOBRE EL CONTENIDO DE OMEGA-3 EN  
FRUTOS DE FRAMBUESA (*Rubus idaeus L.*)

**Tesis**

Elaborada por NAYELLI AZUCENA SIGALA AGUILAR como requisito parcial para  
obtener el grado de Maestro en Ciencias en Horticultura con la supervisión y aprobación  
del Comité de Asesoría



---

Dr. José Antonio González Fuentes  
Asesor Principal



---

Dr. Armando Hernández Pérez  
Asesor



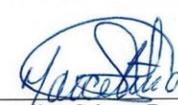
---

Dra. Susana González Morales  
Asesor



---

Dr. Adalberto Benavides Mendoza  
Asesor



---

Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente  
Subdirector de Postgrado  
UAAAN

## INDICE GENERAL

RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	x
INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVOS .....	2
Objetivo general .....	2
Objetivos específicos .....	2
Hipótesis.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Cultivo de frambuesa .....	3
Alimento funcional.....	4
Síntesis de ácidos grasos en plantas .....	5
Biotestimulantes.....	8
Algas marinas.....	8
Ácidos húmicos y fúlvicos .....	9
Ácido glutámico .....	10
Ácido salicílico.....	10
Peróxido de hidrógeno .....	11
MATERIALES Y MÉTODOS .....	12
Desarrollo del cultivo.....	12
Descripción de tratamientos .....	13
Procesamiento de la muestra.....	14
Extracción de ácidos grasos .....	14
Cuantificación de ácidos grasos .....	15
Calidad del fruto.....	16
Fenoles totales.....	16
Flavonoides .....	16
Antocianinas.....	17
Crecimiento vegetativo .....	17

Análisis estadístico.....	17
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>18</b>
Ácidos grasos de cadena larga en frutos de frambuesa.....	18
Relación omega 3- omega 6.....	28
Calidad de frutos de frambuesa.....	29
Compuestos fenólicos .....	32
Parámetros de crecimiento y desarrollo de plantas de frambuesa.....	35
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>37</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>38</b>

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Carboxilación de la acetil-CoA para formar malonil CoA, catalizada por la acetil-CoA carboxilasa.....	5
<b>Figura 2.</b> Esquema de la síntesis de los ácidos grasos. a) Etapa de la iniciación, b) Etapa del alargamiento.....	6
<b>Figura 3.</b> Síntesis de ácidos grasos poliinsaturados.....	7
<b>Figura 4.</b> Biosíntesis de EPA y DHA.....	7
<b>Figura 5.</b> Condiciones climáticas (promedios diarios de temperatura, humedad relativa y punto de rocío) dentro del invernadero durante el periodo de aplicación y evaluación (número de días con flecha).....	12
<b>Figura 6.</b> Color para determinar la madurez del fruto de frambuesa.....	14
<b>Figura 7.</b> Contenido de ácido alfa linoleico (omega 3) en frutos de frambuesa (mg g <sup>-1</sup> peso seco) después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 47) aplicación de tratamientos vía foliar.....	19
<b>Figura 8.</b> Contenido de ácido alfa linoleico (omega 3) en frutos de frambuesa (mg g <sup>-1</sup> peso seco) después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 47) aplicación de tratamientos vía foliar.....	19
<b>Figura 9.</b> Contenido de ácido palmítico, en frutos de frambuesa (mg g <sup>-1</sup> peso seco) después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 47) aplicación de tratamientos vía foliar.....	20
<b>Figura 10.</b> Contenido de ácido esteárico, en frutos de frambuesa (mg g <sup>-1</sup> peso seco) después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 47) aplicación de tratamientos vía foliar.....	21
<b>Figura 11.</b> Contenido de ácido oleico, en frutos de frambuesa (mg g <sup>-1</sup> peso seco) después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 47) aplicación de tratamientos vía foliar.....	22
<b>Figura 12.</b> Contenido de ácido linoleico, en frutos de frambuesa (mg g <sup>-1</sup> peso seco) después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 47) aplicación de tratamientos vía foliar.....	22

<b>Figura 13.</b> Comportamiento en ácidos grasos de cadena carbonada larga en frutos de frambuesa ( $\text{mg g}^{-1}$ peso seco), por tratamiento, después de la después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 77). .....	27
<b>Figura 14.</b> Relación $\omega$ -6/ $\omega$ -3, después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 77), aplicación de tratamientos foliares. Relación (1: 1 $\omega$ -6 / $\omega$ -3) indicado con línea de puntos y (1: 2 $\omega$ -6 / $\omega$ -3) entre las dos líneas sólidas.....	28
<b>Figura 15.</b> Calidad de frutos de frambuesa: Sólidos solubles totales ( $^{\circ}$ Brix), ácido cítrico ( $\text{mg g}^{-1}$ peso seco) después de la cuarta (día 47), quinta (día 62), y sexta (día 77), aplicación de tratamientos y relación entre ellos. ....	31
<b>Figura 16.</b> Contenido de fenoles totales ( $\text{mg g}^{-1}$ peso seco), después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 47) aplicación de tratamientos vía foliar. ....	32
<b>Figura 17.</b> Contenido de flavonoides ( $\text{mg g}^{-1}$ peso seco), después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 47) aplicación de tratamientos vía foliar. ....	33
<b>Figura 18.</b> Contenido de antocianinas ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ peso seco), después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 47) aplicación de tratamientos vía foliar.....	34

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Nutrientes en frutos de frambuesa.....	5
<b>Tabla 2.</b> Solución nutritiva utilizada en hidroponía para el cultivo de frambuesa bajo condiciones de invernadero. La concentración de macro elementos esta reportada en mili equivalentes por litro (Meq/L) y la de micro nutrientes en partes por millón (ppm).....	13
<b>Tabla 3.</b> Programa del horno empleado en (GC/MS) en la separación de ácidos grasos de cadena carbonada larga. ....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>Tabla 4.</b> Parámetros de crecimiento y desarrollo de plantas de frambuesa .....	36

**RESUMEN**

EFFECTO DE ESTIMULANTES SOBRE EL CONTENIDO DE OMEGA-3 EN  
FRUTOS DE FRAMBUESA (*Rubus idaeus L.*)

POR

NAYELLI AZUCENA SIGALA AGUILAR  
MAESTRÍA EN CIENCIA EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTONÓMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DR. JOSÉ ANTONIO GONZÁLEZ FUENTES -ASESOR-

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2020

Los ácidos omega 3 (n-3) están relacionados con proveer protección cardiovascular, entre ellos se encuentra el ácido eicosapentaenoico (EPA; 20:5 $\Delta$ ) y decosaheptaenoico (DHA; 22:6 $\Delta$ ) provenientes principalmente de aceite de peces, lo cual incrementa la sobre pesca situando un riesgo para la fauna marina, por tal motivo se ha intensificado la búsqueda de nuevas fuentes de n-3. El ácido alfa linoleico (ALA; 18:3 $\Delta$ ) es otro ácido relacionado con protección cardiovascular, que a diferencia de EPA y DHA su fuente principal son los vegetales siendo una alternativa asequible. Una manera de incrementar los ácidos grasos dentro de las plantas, podría ser por medio de estímulos inducidos, ya que se ha reportado que con el uso de biostimulantes y elicitores, en plantas funcionan como señalizadores, los cuales manipulan los mecanismos de defensa, niveles fitoquímicos específicos de antioxidantes y vitaminas. Por lo cual el objetivo de presente trabajo fue evaluar la respuesta de los tratamientos aplicados sobre el contenido de n-3 en frutos de frambuesa. Para ello se utilizaron plantas de frambuesa de la variedad xz28, las cuales estuvieron bajo un diseño completamente al azar con 4 repeticiones. La aplicación de tratamientos consistió en la aspersión foliar de peróxido de hidrógeno, ácido glutámico, ácido salicílico, extracto de algas marinas y ácidos húmicos y fúlvicos, en etapa de floración, con intervalos de 15 días, dando como resultado 6 aplicaciones en total. Los frutos fueron evaluados, después de la cuarta, quinta y sexta aplicación de tratamientos. Las variables de respuesta consistieron en ácidos grasos de cadena larga, al igual que compuestos fenólicos y variables de calidad en frutos de frambuesa, así como parámetros de crecimiento de plantas de frambuesa. Bajo ciertas condiciones, la aplicación exógena de peróxido de hidrógeno incrementó el contenido de ácido alfa linoleico, ácido oleico y compuestos fenólicos en frutos de frambuesa. Aspersiones foliares de algas marinas favorecieron el contenido de sólidos solubles totales y compuestos fenólicos en frutos de frambuesa. Aplicaciones de ácido salicílico, favoreció la floración temprana de plantas de frambuesa, así como el número de entre nudos y frutos por planta, de igual manera incrementó el contenido de ácido cítrico y compuestos fenólicos, pero disminuye ° Brix en frutos de frambuesa.

**Keywords:** Ácidos grasos polinsaturados, biocompuestos, alimento funcional.

**ABSTRACT**

EFFECT OF STIMULANTS ON OMEGA-3 CONTENT IN RASPBERRY FRUITS

*(Rubus idaeus L.)*

BY

NAYELLI AZUCENA SIGALA AGUILAR  
MASTER IN SCIENCE IN HORTICULTURE

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DR. JOSE ANTONIO GONZALEZ FUENTES –ADVISER

Saltillo, Coahuila

December 2020

Omega 3 (n-3) acids are related to providing cardiovascular protection, among them are eicosapentaenoic acid (EPA; 20: 5 $\Delta$ ) and decosahexaenoic acid (DHA; 22: 6 $\Delta$ ), which come mainly from fish oil, which increases overfishing, being a risk for marine fauna, for this reason the search for new sources of n-3 has been intensified. Alpha linoleic acid (ALA; 18: 3 $\Delta$ ) is another acid related to cardiovascular protection, which unlike EPA and DHA, its main source is vegetables, being an affordable alternative. One way to increase fatty acids within plants could be through induced stimuli, since it has been reported that with the use of biostimulants and elicitors, in plants they function as signalizers, manipulate defense mechanisms, phytochemical levels specific of antioxidants and vitamins. Therefore, the objective of this work was to evaluate the response of the treatments applied on the content of n-3 in raspberry fruits. For this, raspberry plants of the variety xz28 were used, which were under a completely random design with 4 repetitions. The application of treatments consisted of foliar spraying of hydrogen peroxide, glutamic acid, salicylic acid, extract of marine algae and humic and fulvic acids, in the flowering stage, with intervals of 15 days, resulting in 6 applications in total. The fruits were evaluated after the fourth, fifth and sixth applications of treatments. The response variables consisted in long-chain fatty acids, as well as phenolic compounds and quality variables in raspberry fruits, as well as growth parameters of raspberry plants. Under certain conditions, the exogenous application of hydrogen peroxide increased the content of alpha linoleic acid and phenolic compounds in raspberry fruits. Seaweed foliar sprays favored the content of total soluble solids and phenolic compounds in raspberry fruits. Salicylic acid applications, favored the early flowering of raspberry plants, as well as the number of between nodes and fruits per plant, in the same way increased the content of citric acid and phenolic compounds, but decreased ° Brix in raspberry fruits.

**Keywords:** Polyunsaturated fatty acids, biocomposites, functional food.

## INTRODUCCIÓN

Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), también conocidos como omega-3 (n-3), han adquirido gran interés en la salud humana, ya que proveen protección contra enfermedades cardiovasculares, así como ayuda para un buen desarrollo del feto, siendo un ácido graso del tipo esencial por lo cual es necesaria su ingesta (Burlingame et al., 2009; Napier & Graham, 2010; Swanson et al., 2012). Estos ácidos (n-3) son clasificados como ácido alfa linoleico (ALA; 18:3 $\Delta$ ), eicosapentaenoico (EPA; 20:5 $\Delta$ ) y el ácido docosahexaenoico (DHA; 22:6 $\Delta$ ). Los ácidos grasos mayormente relacionados con proveer protección cardiovascular son el EPA; 20:5 $\Delta$  y DHA; 22:6 $\Delta$  (Mozaffarian & Wu, 2011) provenientes principalmente de aceite de pescados marinos (Ruiz-Lopez et al., 2014). El aumento en la demanda de EPA y DHA derivados de la fauna marina, ha incrementado la sobre-pesca situando un riesgo para la fauna marina (Hixson, 2014). Por lo cual se ha intensificado la búsqueda de nuevas fuentes de omega-3 (Tocher, 2009), sin embargo, el suministro global tradicional de estos nutrientes sigue siendo insuficiente para satisfacer los requerimientos humanos (Tocher et al., 2019). El ALA es otro ácido graso relacionado con beneficios cardiovasculares (Ruiz-Lopez et al., 2014), que a diferencia de EPA y DHA, proviene principalmente de vegetales, siendo una alternativa más asequible (Pan et al., 2012).

Una alternativa para incrementar los ácidos grasos dentro de las plantas podría ser por medio de estímulos inducidos, estos se pueden aplicar en cultivos ya establecidos para aumentar su valor nutricional. Se ha comprobado que por medio de estrés oxidativo inducido con el uso de elicitores (peróxido de hidrógeno, ácido salicílico) y bioestimulantes (extractos de algas marinas, ácido glutámico, ácidos húmicos y fúlvicos), en plantas funcionan como señalizadores, donde se ha reportado que manipulan los mecanismos de defensa y niveles fitoquímicos específicos de antioxidantes y vitaminas (Luciano P. Canellas et al., 2015; Colla et al., 2015; du Jardin, 2015; Mendoza, 2002; Reza & Rigi, 2014).

En ese sentido el acetyl CoA derivado principalmente de azúcares provenientes de fotosintatos, es el precursor de ácidos grasos en plantas. Dos sistemas enzimáticos son usados para la formación '*de novo*' de ácidos grasos en plantas, acetyl CoA-carboxilasa (Hooper, 2002) y ácido graso sintasa (Wakil, 1989), estas enzimas producen ácidos de cadena larga (PAL; 16:0 $\Delta$ - EST 18:0 $\Delta$ ) palmítico y esteárico, una vez sintetizados por

medio de desaturación (desaturasas) y elongación (elongasas) formaran ácidos de cadena carbonada muy larga >18C como el ácido graso alfa linoleico (ALA; 18:3 $\Delta$ ). Debido a que la producción de omega-3 ya está presente en frambuesa, es muy posible que esta vía se pueda intensificar con estimulación. Por lo que el objetivo del presente estudio es analizar la aplicación exógena de 5 estimulantes en la producción de ácidos grasos de cadena larga (palmítico, esteárico, linoleico y principalmente (ALA), a lo largo del ciclo productivo en frutos de frambuesa.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Evaluar la respuesta de los tratamientos aplicados sobre el contenido de omega 3 en frutos de frambuesa.

### **Objetivos específicos**

1. Evaluar el crecimiento vegetativo en plantas de frambuesa con la aplicación de bioestimulantes.
2. Analizar el contenido de biocompuestos en frutos de plantas de frambuesa con la aplicación de bioestimulantes.

### **Hipótesis**

Al menos algún tratamiento tendrá efecto en la producción de omega 3 en frutos de frambuesa.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Cultivo de frambuesa

El cultivo de frambuesa (*Rubus idaeus L.*), pertenece al grupo conocido como berris o frutas del bosque, cuentan con un incremento creciente a nivel nacional e internacional, con una producción de 390,239 ton y un crecimiento anual de 21.8% durante el periodo 2003-2016 ubicándolos como uno de los productos con mayor potencial en el sector agrícola mexicano (Sagarpa, 2017). En el año 2018 la superficie de frambuesa sembrada en México fue de 7,205.92 ha con una producción de 130,187.15 ton. En el año 2019 se obtuvo un crecimiento en superficie sembrada de 1.49 % con 7,313.67 ha, sin embargo, una disminución de 1.028 % en producción con 128,847.80 ton. Los estados con mayor producción de esta berris son Jalisco, Michoacán, Baja California, Guanajuato, Puebla, Colima, México y Ciudad de México (SIAP, 2019).

La frambuesa perteneciente a la familia *Rosaceae*, cultivo el cual se adapta principalmente a climas templados. El sistema radicular está compuesto mayormente por raíces finas y algunas leñosas que sirven como soporte el 80 % de su sistema radicular se encuentra en los primeros 30 cm de la superficie, sobre las raíces leñosas se forman yemas adventicias donde surgen brotes nuevos que pueden alcanzar hasta los 2 metros de altura llamados primocañas o floricañas, según su etapa de crecimiento (primer y segundo año), es un arbusto con tallo erecto, espinudo y semileñoso el cual emite ramas conocidas como vástagos. Las hojas están compuestas de 5 a 7 folíolos ovales son alternas y estipuladas, las flores son de color blanco, se encuentran en forma de inflorescencia, compuestas por 5 pétalos con numerosos pistilos y mayormente son hermafroditas, sin embargo la polinización cruzada favorece el tamaño del fruto el cual es comestible y altamente conocido por su gran capacidad en biocompuestos benéficos para la salud, es agregado, formado por numerosas drupas generalmente se encuentra una semilla por drupa, el color varía dependiendo de la variedad en su mayoría son frutos de color rojo aunque también se encuentran negros, púrpuras y amarillos (García, 2016; Intagri, 2017; Skrovankova et al., 2015).

### **Alimento funcional**

Los alimentos funcionales son aquellos integrales, fortificados, enriquecidos o mejorados que pueden reducir el riesgo de enfermedades crónicas u optimizar la salud, cuando se consumen en niveles eficientes como parte de una dieta variada de forma regular. El alto contenido de biocompuestos en frutos de frambuesas, indica que su consumo sería beneficio para la salud, derivado de la oportunidad de emplear sus componentes bioactivos; fenoles, antocianinas, flavonoides, taninos y vitamina c (ácido ascórbico), los cuales están mayormente relacionados con efectos protectores para la salud humana, al emplearse como ingredientes de alimentos funcionales (Skrovankova et al., 2015). Las antocianinas están frecuentemente relacionadas con protección contra enfermedades cardiovasculares (Borges et al., 2013), se ha reportado que los aceites de las semillas de frambuesa pueden ser utilizados como ingrediente de alimentos funcionales (Radočaj et al., 2014).

Las propiedades nutrimentales de los frutos de frambuesa, pueden variar según el estado de madurez y variedad, generalmente en cada 100g de peso fresco de frutos de frambuesa se encuentra una gran cantidad de nutrientes (Tabla 1). La vitamina c (ácido ascórbico) es un antioxidante altamente encontrado en los frutos de frambuesa, el cual ha resurgido como un agente anticanceroso (Shenoy et al., 2018). El linoleico (omega-6) y alfa linoleico (omega-3), son ácidos grasos esenciales, necesarios en la dieta humana (Medina, 2013), el alfa linoleico (omega-3), está altamente relacionado con proveer protección contra enfermedades cardiovasculares (Napier & Graham, 2010; Swanson et al., 2012), al igual que, un balance adecuado entre omega 6 y 3 (Gómez Candela et al., 2011). Los frutos de frambuesa son consumidos en fresco y son altamente utilizados en la medicina tradicional, en la cura de cólicos, diarrea, enfermedades renales y heridas. (Zhang et al., 2011). También son empleados en la elaboración de productos industriales y artesanales como lo son; salsas, mermeladas, vinagres, yogurt, helados, licores, zumos, también son utilizados en la cosmética y fuente de color natural (Garcia, 2016).

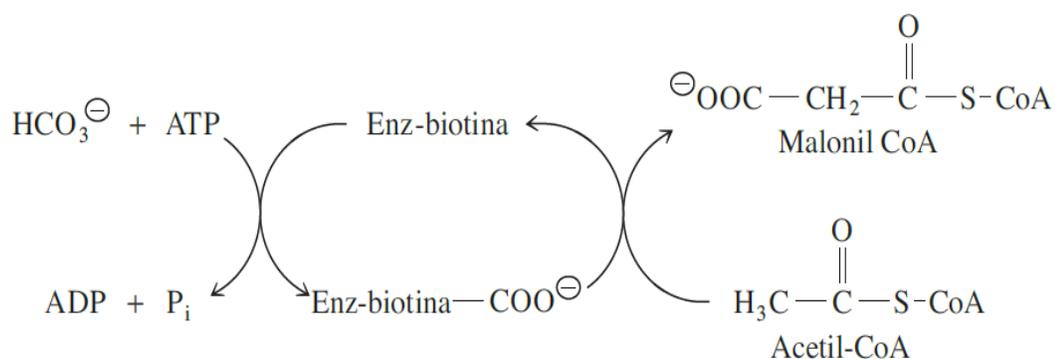
**Tabla 1.** Nutrientes en frutos de frambuesa.

Nutriente	Cantidad	Nutriente	Cantidad
Ácido palmítico	0.016 g	Agua	85.75 g
Ácido esteárico	0.064 g	Fibra	6.5 g
Ácido oleico	0.059 g	Glucosa	1.86 g
Ácido linoleico	0.249 g	Vitamina C	26.2 mg
Ácido alfa linoleico	0.126 g	Proteína	1,2 g
Ácido eicosapentaenoico	0 g	Carbohidratos	11.94 g
Ácido decosaheptaenoico	0 g	Azúcares totales	4.42 g
Lípidos totales	0.65 g	Sacarosa	0.2 g

Valor nutricional por cada 100 g de peso fresco de frutos de frambuesa. (Fuentes: USDA National Nutrient Database for Standard Reference; \*USDA Database for the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) of Selected Foods).

### Síntesis de ácidos grasos en plantas

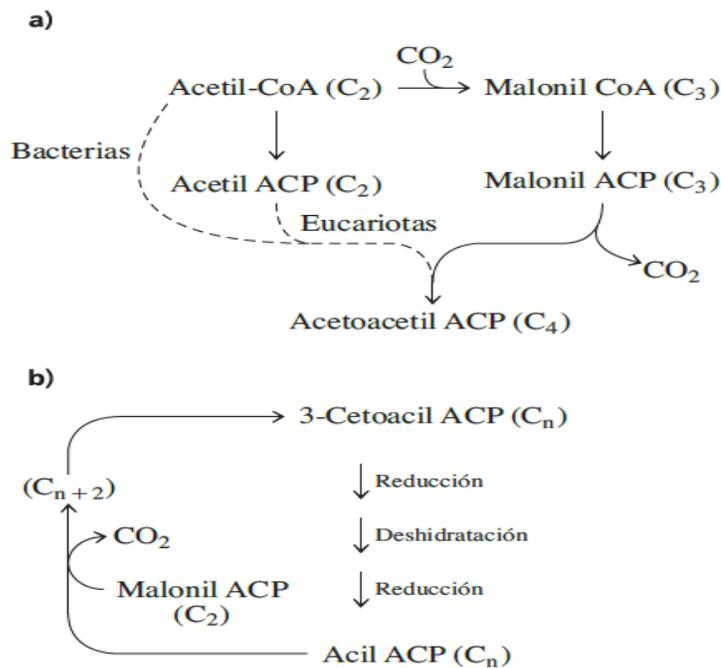
Los ácidos grasos se sintetizan, por adición repetitiva de unidades con dos carbonos al extremo en crecimiento de una cadena de hidrocarburos, el primer paso en su catabolismo es la carboxilación de acetil-CoA para formar malonil CoA, catalizada por la acetil-CoA carboxilasa (Figura 1) (H. Robert Horton, Laurence A. Moran & Scrimgeour, 2008).



**Figura 1.** Carboxilación de la acetil-CoA para formar malonil CoA, catalizada por la acetil-CoA carboxilasa.

La síntesis de ácidos grasos, consiste en la condensación de grupos acetilo y malonilo para formar un precursor con cuatro carbonos, en el paso de “elongación” (alargamiento), se

modifica, el producto de la condensación inicial, mediante dos reacciones de reducción y una de deshidratación para formar acil ACP (Figura 2).



**Figura 2.** Esquema de la síntesis de los ácidos grasos. a) Etapa de la iniciación, b) Etapa del alargamiento.

La acil ACP sirve entonces como sustrato para más reacciones de condensación, usando malonil ACP como donador de dos carbonos, obteniendo como productos directos del FAS; 16:0-ACP y 18:0-ACP, posteriormente, el acil-ACP se desprende y puede seguir la ruta procariota o ruta eucariota para la síntesis de glicerolípidos (H. Robert Horton, Laurence A. Moran & Scrimgeour, 2008). El acetil- CoA ocupa 7 moléculas de ATP y 14 de NADPH, para la síntesis de ácido palmítico (PAL;16:00) (Sasaki & Nagano, 2004).

La síntesis de PUFAs (Figura 3), ocurre por medio de desaturasas unidas a la membrana del plastidio (ruta procariota) y citoplasma (ruta eucariota), excepto por la desaturación de ácido estérico (EST;18:00) a (OLE; 18:1 $\Delta$ ) por  $\Delta^9$ - desaturasa soluble, en ambos compartimientos mediante una  $\Delta^{12}$ - desaturasa el ácido (OLE; 18:1 $\Delta$ ) es transformado en ácido linoleico (LA; 18:2 $\Delta$ ), también conocido como omega-6, partiendo de LA ocurre una tercera desaturación por la acción de  $\Delta^3$ - desaturasa transformándolo en omega 3 (ALA; 18:3 $\Delta$ ) (Harwood, 1988).

El omega 3, es un ácido graso poliinsaturado de cadena larga se clasifica como; ácido alfa linoleico (ALA;  $18:3\Delta^{9,12,15}$ ), ácido eicosapentaenoico (EPA;  $20:5\Delta^{7,10,13,16,19}$ ) y el ácido decosahexaenoico (DHA;  $22:6\Delta^{4,7,10,13,16,19}$ ) (Mozaffarian & Wu, 2011). Éstos son provenientes principalmente de aceite de pescados marinos (Ruiz-Lopez et al., 2014) sin embargo, en plantas EPA y DHA se sintetizan en bajas cantidades a partir del ácido alfa linoleico (ALA;  $18:3\Delta$ ) siendo su fuente principal los vegetales (Figura 4 ) (Pan et al., 2012).

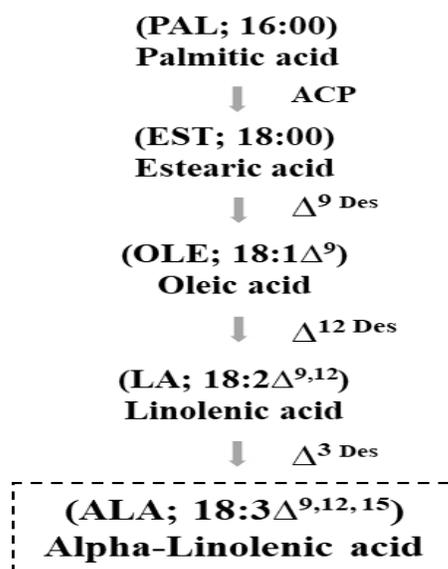


Figura 3. Síntesis de ácidos grasos poliinsaturados.

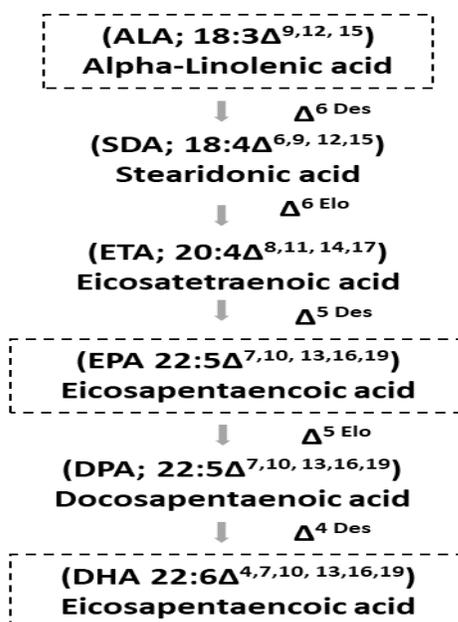


Figura 4. Biosíntesis de EPA y DHA

### **Biostimulantes**

Los bioestimulantes, son definidos como cualquier microorganismo o sustancia aplicados a las plantas, con el fin de mejorar la eficiencia nutricional, calidad del cultivo y tolerancia al estrés abiótico independientemente de su contenido nutricional. Son clasificados en siete grupos (du Jardin, 2015): 1. Ácidos húmicos y fúlvico, 2. Hidrolizados proteicos y otros compuestos que contienen nitrógeno, 3. Extractos de algas, 4. Quitosán y otros biopolímeros, 5. Compuestos inorgánicos, 6. Hongos benéficos y 7. Bacterias benéficas. Su efecto depende de diferentes factores como lo son materia prima, variedad vegetativa, método de aplicación y clima (Drobek et al., 2019) a pesar de no ser un nutriente o regulador de crecimiento, al ser aplicados en cantidades pequeñas, generan impactos positivos (Serna-rodríguez et al., 2011). En plantas, funcionan como señalizadores, después de la aplicación de un bioestimulante, se desencadena una secuencia de eventos que constan de percepción, transducción, señalización y respuesta que modifican la expresión génica y con ello el metabolismo (Juárez-Maldonado et al., 2019), favoreciendo, los mecanismos de defensa, niveles fitoquímicos específicos de antioxidantes y vitaminas, permitiendo, el uso más eficiente de recursos ambientales y con ello, mayor rendimiento (du Jardin, 2015; Mendoza, 2002), aumentan la flexibilidad de las paredes celulares, mejorando las propiedades mecánicas (Tarantino et al., 2018).

### **Algas marinas**

Las algas marinas son un grupo diverso de organismos fotosintéticos acuáticos (Guiry, 2012), utilizadas, como bioestimulantes en plantas hortícolas (Battacharyya et al., 2015), conocidas por su composición en polisacáridos, minerales, vitaminas y hormonas de crecimiento como lo son citoquininas y auxinas (Cabrita et al., 2016; Craigie, 2011; Schiener et al., 2014). Dichos compuestos activan los procesos de rizogénesis y cambios morfológicos, anatómicos que favorecen a las plantas (Drobek et al., 2019). Son utilizados ampliamente como reguladores de crecimiento en la agricultura (Y. Li & Mattson, 2015), en un estudio en plantas de menta y albahaca la aplicación de extractos de algas incrementó el contenido de aceites esenciales (Elansary et al., 2016), de igual manera están relacionadas con favorecer el contenido de sólidos solubles totales en cultivos de vid cv. Shiraz y tomate (Kumari et al., 2011; Zermeño Gonzalez et al., 2018). Extractos líquidos

de algas marinas en concentraciones altas indujeron un incremento en la acumulación de azúcares totales y reductores en plántulas de frijol mungo (Castellanos-Barriga et al., 2017) y floración temprana en el cultivo de tomate (Crouch & Van Staden, 1992). En condiciones escasas de nutrientes aplicaciones foliares de bioestimulantes a base de algas marinas mejoran parámetros de calidad, como lo son firmeza y compuestos fenólicos en frutos de fresa (Soppelsa et al., 2019), de igual manera son aplicadas para confrontar patógenos en cultivos de fresa (Righini et al., 2018), el uso de extractos de algas marinas incrementó el contenido de fenoles totales y flavonoides en brócoli (Lola-luz et al., 2014).

### **Ácidos húmicos y fúlvicos**

Las sustancias húmicas son compuestos orgánicos, creados a partir de la descomposición y transformación de plantas, animales y residuos microbianos (Rose et al., 2014). Son utilizados ampliamente en la agricultura como bioestimulantes, se ha reportado que los ácidos húmicos y fúlvicos modifican el metabolismo primario y secundario de la planta, promueven el crecimiento vegetal mediante la inducción del metabolismo de carbono y nitrógeno, así como, sustituyen reguladores de crecimiento. La mayoría de los beneficios que favorece el uso de sustancias húmicas parece estar relacionado con los cambios de la arquitectura de la raíz (Luciano P. Canellas et al., 2015). En las raíces ocurre una estimulación de  $H^+$ -ATPasa y expresión de la enzima por estimulación con HS (Luciano Pasqualoto Canellas et al., 2002), las raíces finas liberan iones  $H^+$  y ácidos orgánicos como citrato, oxalato malato a través de  $H^+$ -ATPasa, modificando el pH de la rizosfera del suelo, a través de la membrana plasmática de la raíz (PM), se genera energía que favorece el transporte pasivo de iones y metabolitos (Morsomme & Boutry, 2000). En el citoplasma la hidrólisis de ATP por la acción de  $H^+$ -ATPasa, libera  $H^+$  que se excreta al apoplasto, creando un pH bajo, estableciendo un potencial electroquímico, gracias al diferencial en PM, ocurre el transporte secundario de iones a través del PM hacia la célula, generando nuevamente un bombeo de  $H^+$ , reduciendo el pH de la pared celular del apoplasto, activando enzimas y proteínas relacionadas con la pared, e iniciando el aflojamiento y extensión de la pared celular (Luciano P. Canellas et al., 2015). Estudios mencionan que aplicación foliar de SH mejora la calidad del fruto de fresa incrementando firmeza y sólidos solubles totales, acompañados de un mayor rendimiento (Farahi, M. H.,

Aboutalebi, A., Eshghi, S., Dastyaran, M., & Yosefi, 2013; Neri et al., 2002), aplicaciones de sustancias húmicas, mejoran el metabolismo secundario, incrementó la actividad de la enzima PAL en maíz (Schiavon et al., 2010).

### **Ácido glutámico**

El ácido glutámico o su forma iónica L-glutamato (GLU), forma parte de un gran número de proteínas vegetales y animales, siendo el aminoácido más abundante en la naturaleza (Albarracín et al., 2016). Es utilizado ampliamente en la agricultura como un bioestimulante, su aplicación en plantas, junto con molibdeno, reduce concentraciones elevadas de nitratos, al favorecer la actividad de la enzima nitrato reductasa, promoviendo la formación de aminoácidos y la actividad de la enzima glutamina sintetasa (Intagri, 2018). Favorece la reducción en el uso de fertilizantes al igual que estimula el crecimiento y es amigable con el medio ambiente (Ugolini et al., 2015). Un trabajo realizado en tomate obtuvo beneficios en aplicaciones foliares de ácido glutámico en el contenido de clorofila b, actividad de la enzima glutamina, pesos fresco y seco de fruto (Serna-rodríguez et al., 2011) de igual manera se relaciona con incidir en floración temprana en lima (Flores et al., 2015).

### **Ácido salicílico**

El ácido salicílico pertenece a un grupo diverso de fenólicos vegetales (Harwood, 1988). Es una hormona vegetal, que actúa como una molécula de señalización, estimulando diversos procesos fisiológicos, relacionados con el desarrollo y crecimiento de las plantas como; la absorción de iones, permeabilidad de la membrana, actividad enzimática, mecanismos de resistencia a enfermedades, actividad antioxidante y la biosíntesis de compuestos fitoquímicos (Reza & Rigi, 2014; Sariñana-Aldaco et al., 2020). Juega un papel importante en las respuestas en varios tipos de estrés ambiental, como lo son sequía, baja temperatura y alta salinidad (Khokon et al., 2011). Esta molécula, está relacionada con la inhibición de síntesis de etileno y desarrollo de hongos (Muñoz et al., 2014), y en proveer mayor eficiencia asimilativa de CO<sub>2</sub> y tasa fotosintética. En múltiples trabajos, aplicaciones exógenas de ácido salicílico mejoraron la calidad de los frutos, incrementado el contenido de °Brix, ácido ascórbico (Karlidag et al., 2009) y favoreciendo el contenido

de acidez titulable en cultivares de fresa y granada (Chandra et al., 2007; Mohamed et al., 2018). Se relaciona con inducción de floración temprana, incremento en número de floración y fructificación en fresa (Baba et al., 2017; Jamali, B., Eshghi, S., & Tafazoli, 2006; Mohamed et al., 2018) e *Ixora coccinea*, al igual que mayor número de brotes en maíz (Ahmad et al., 2013; Gad et al., 2016), e incremento de flavonoides y antocianinas, en trabajos realizados en tomate y jengibre (Ghasemzadeh et al., 2012; Sariñana-aldaco et al., 2020).

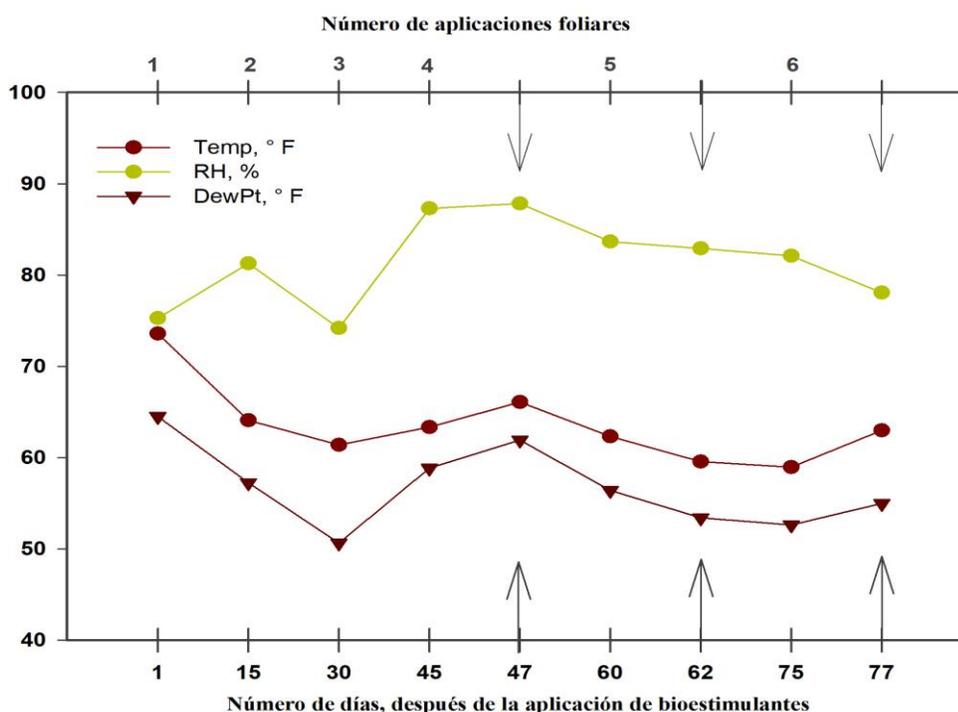
### **Peróxido de hidrógeno**

El peróxido de hidrógeno pertenece a las especies reactivas de oxígeno (ROS), compuestos altamente energéticos capaces de realizar funciones catalíticas en ausencia de enzimas, siendo muy adecuados para la activación de cascadas de señalización (Foyer & Noctor, 2005). Las células son capaces de monitorear extensión de aumento en moléculas  $H_2O_2$ , localizando choques oxidativos, que produce una secuencia de eventos que constan de percepción, transducción, señalización, acción efectora que modifican parte de la red de señalización y expresión génica, de tal forma que fortifican las defensas de las plantas (Mendoza, 2002).  $H_2O_2$  está relacionado con la adaptación al estrés, activa las cascadas MAPKs (MPK3 y MPK6) (Kovtun et al., 2000). Por otra parte se ha demostrado que aumentos en concentración de peróxido de hidrógeno, provocó una respuesta de transcripción imitada a la respuesta por estrés biótico como abiótico (Vandenabeele et al., 2003). Autores proponen que en arroz, SERF1 amplifica la cascada de señalización MAPK, activada por peróxido de hidrógeno, durante la fase inicial de estrés salino (Schmidt et al., 2013). La aplicación de peróxido de hidrógeno está relacionada con aumentar la actividad fotosintética en hojas melón (Ozaki et al., 2009), en plantas de maíz, el peróxido de hidrógeno indujo tolerancia a la sequía, resultando en mayor peso fresco, seco y actividad de enzimas antioxidantes (Ashraf et al., 2015). Aplicaciones exógenas de peróxido de hidrógeno mejoraron el contenido de GSH y favoreció la actividad de enzimas SOD, CAT APX y POD en plántulas de trigo bajo estrés salino (J. T. Li et al., 2011) y PAL en *Capsicum annuum* L. (Mejía-Teniente et al., 2013).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Desarrollo del cultivo

El experimento en campo se realizó en un invernadero con temperatura controlada, ubicado en el Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) en Saltillo, Coah (25° 21' 14" N 101° 02' 14" W). Se llevó a cabo en el periodo de junio - diciembre 2019, se utilizaron plantas de frambuesa (*Rubus* spp.) de la variedad (xz28) las cuales se establecieron en macetas con capacidad de 20 L en volumen, utilizando como sustrato fibra de coco al 100% con las siguientes propiedades físicas: 25% de aireación, 69% de contenido volumétrico de humedad y 94% de porosidad total. La densidad de plantación fue de 4 plantas por metro lineal, las plantas estuvieron expuestas a una solución nutritiva Steiner modificada (Tabla 2), la cual se aplicó por medio un sistema de goteo. La capacidad de emisión de los goteros fue de 2 litros por minuto y la frecuencia de riego fue de 2 a 4 horas dependiendo del clima prevaleciente en el momento y con un tiempo de riego suficiente para lograr un volumen de drenaje del 25 al 30%. Las condiciones climáticas dentro del invernadero se mantuvieron de la siguiente manera (Figura 5).



**Figura 5.** Condiciones climáticas (promedios diarios de temperatura, humedad relativa y punto de rocío) dentro del invernadero durante el periodo de aplicación y evaluación (número de días con flecha).

**Tabla 2.** Solución nutritiva utilizada en hidroponía para el cultivo de frambuesa bajo condiciones de invernadero. La concentración de macro elementos está reportada en mili equivalentes por litro (Meq/L) y la de micro nutrientes en partes por millón (ppm).

Nutriente	Concentración
Nitrógeno NO <sub>3</sub> -N (Meq/L)	5.5
NH <sub>4</sub> -N	1
Fosforo H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1
Azufre SO <sub>4</sub>	4.5
Potasio K	4.5
Calcio Ca	5.0
Magnesio Mg	2.5
Hierro (ppm)	2.0
Boro	0.6
Manganeso	0.04
Zinc	0.2
Cobre	0.1
Molibdeno	0.05
pH	5.5 – 6.0
Conductividad eléctrica (dS m <sup>-1</sup> )	~1.4

### Descripción de tratamientos

Ocho tratamientos fueron aplicados de manera foliar; T1. Peróxido de hidrógeno 50% (P.M. 34.0147) (10<sup>-4</sup> M), T2. Ácido glutámico 99% (P.M. 147.13) (0.750 g/L), T3. Ácido glutámico 99.28% (P.M. 147.13) 0.2 g, más extracto de algas marinas *Sargassum* spp (producto comercial “Algaenzims”) (2.5 ml/L), T4. Ácido salicílico 99.5% (P.M. 138.12) (0.750 g/L), T5. Ácidos húmicos y fúlvicos (10 ml/L), T6. Extracto de algas marinas (producto comercial “Algaenzims”) (7.5 ml/L), T7. Extracto de algas marinas (producto comercial “Algaenzims”) (15 ml/L), T8. Testigo absoluto. Se empleó un diseño completamente al azar con 4 repeticiones, cada repetición contó con 3 plantas, resultando 12 plantas por tratamiento y 96 plantas en total. Los tratamientos se aplicaron cada 2 semanas hasta completar 6 aplicaciones, las cuales iniciaron en plantas con suficiente número de inflorescencias en formación (etapa de floración), tomando en cuenta la primer

aplicación como día 1, las siguientes se realizaron los días 15, 30, 45, 60 y 75 después de la primer aplicación foliar (Figura 5).

### **Procesamiento de la muestra**

Se realizaron 3 cosechas a lo largo del ciclo, la primera 48 horas después de la cuarta aplicación (día 47), la segunda se realizó 48 horas después de la quinta aplicación (día 62), y la tercera 48 horas posteriores a la sexta aplicación de tratamientos (día 77), ya que el máximo efecto de los estimulantes de enzimas, como el ácido salicílico se encuentra en su máxima expresión en este periodo de tiempo después de una aplicación foliar (Figura 5).

Los frutos de frambuesa fueron cosechados en estadio de madurez entre C3 y C4 (Figura 6) (Intagri, 2017), cada cosecha de frutos se realizó estrictamente usando guantes de nitrilo e inmediatamente se tomó el peso fresco. Los frutos se trasladaron al laboratorio de fisiología vegetal, utilizando una hielera con hielo, a un refrigerador con temperatura controlada a  $-80^{\circ}\text{C}$ , ubicado en el Departamento de Horticultura en la UAAAN, donde posteriormente se deshidrataron por medio de un liofilizador (FreeZone 2.5 Liter Benchtop Free Dry System, LABCONCO), la muestra liofilizada se macero en un mortero.



**Figura 6.** Color para determinar la madurez del fruto de frambuesa.

### **Extracción de ácidos grasos**

La extracción de los ácidos grasos, se realizó en el Departamento de biotecnología y bioquímica de CINVESTAV, dentro del laboratorio de química de productos naturales, ubicado en la ciudad de Irapuato, mediante la técnica Folch (Folch et al., 1987). Se pesaron 50 mg del tejido de frambuesa liofilizado, al cual se le agregó cloroformo-metanol (2:1) en una cantidad de 1000  $\mu\text{L}$ , dejando reaccionar 30 minutos a  $60^{\circ}\text{C}$ . Una vez enfriado a temperatura ambiente se tomaron 200  $\mu\text{L}$  y se agregó, 1 mL de diclorometano,

20 de  $\mu\text{L}$  de methyl heptadecanoate (utilizado como estándar interno), a los cuales se derivatizo, agregado 1 mL de NaOH/MeOH .5 M. La mezcla se dejó reaccionar 30 minutos a  $80^\circ\text{C}$ , nuevamente, enfriado a temperatura ambiente, se metilo añadiendo 1 mL de  $\text{BF}_3$  (Kang & Wang, 2005) y se sometió por 30 minutos a  $80^\circ\text{C}$ , enfriado a temperatura ambiente, la mezcla se pasó a un tubo de ensaye, donde se lavó la fase orgánica con hexano, la cual se filtró mediante una columna con sulfato de sodio, mismo que fue evaporado con nitrógeno, una vez secado el hexano, se agregó 20  $\mu\text{L}$  de isoctano.

### Cuantificación de ácidos grasos

Se analizaron utilizando cromatografía de gases / espectrometría de masas (GC/MS), en el cual, se inyectaron 2  $\mu\text{L}$ , de los 20  $\mu\text{L}$  de isoctano extraídos, en un cromatógrafo de gases (Agilent 5890 Serie II; Agilent, Foster City, CA), equipado con un detector de MS (HP 5972) y el software Chemstation (Hewlett-Packard Co.). Empleando una columna SUPELCO SP-2330 (30 m). Con el objetivo de visualizar en los cronogramas los ácidos grasos de cadena larga (palmítico, esteárico, oleico, linoleico y alfa linoleico), la temperatura del inyector se ajustó a  $230^\circ\text{C}$ , utilizando helio como gas portador. El programa del horno comenzó a  $130^\circ\text{C}$  y se mantuvo de la siguiente manera (Tabla 3).

**Tabla 3.** Programa del horno empleado en (GC/MS) en la separación de ácidos grasos de cadena carbonada larga.

	<b>Velocidad c/min</b>	<b>Temperatura final</b>	<b>Tiempo final</b>
<b>Nivel 1</b>	5	190	1
<b>Nivel 2</b>	2	210	1
<b>Nivel 3</b>	1	218	1

Los datos se obtuvieron por medio del programa Enhanced Data Analysis, tiempos de retención y espectral de masas se obtuvieron, utilizando espectral de masas automatizado sistema de desconvolución e identificación (AMDIS), <http://www.amdis.net/>. La identidad de las moléculas, se obtuvo comparando el espectral de masas de los respectivos extractos, con los espectros de masas de la biblioteca y software (NIST) National Institute of Standards and Technology, USA.

### **Calidad del fruto**

El contenido de ácido cítrico, se extrajo y se determinó con la metodología descrita anteriormente para ácidos grasos. El contenido de sólidos soluble totales (SST), se determinó midiendo en un refractómetro digital HI 96801 (0-85 %), se utilizó el jugo de cinco frutos por repetición, reportándose en °Brix.

### **Fenoles totales**

La extracción de fenoles totales se realizó con agua/acetona (1:1), en base a la metodología de (Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, 1999), donde a 100 mg de tejido liofilizado se le agregaron 2 ml de agua/acetona, el cual se homogenizó con vortex por 10 s, posteriormente se sonó durante 5 minutos y centrifugó a 12,000 rpm, durante 10 minutos a 4°C. El sobrenadante se filtró mediante una membrana de nylon de 0.45 µm de diámetro. Para la lectura de las muestras, se agregaron 50 µL de cada una de ellas, 200 µL del reactivo Folin Ciocalteu 1M, 500 µL de carbonato de sodio al 20% y 5 mL de agua destilada, se dejó reaccionar durante 30 minutos a una temperatura de 45°C y la absorbancia fue medida por espectrofotometría  $A_{750}$  nm. Se cuantificó conforme la ecuación de una recta, utilizando ácido gálico como estándar y los datos se reportaron en  $\text{mg g}^{-1}$  de peso seco.

### **Flavonoides**

El análisis de flavonoides se realizó siguiendo el método de (Zhishen et al., 1999). Una cantidad de 50 mg del material, se homogenizó con 2 ml de metanol 80% y se centrifugó a 4,000 rpm, durante 10 minutos a 4°C. La mezcla de reacción consistió en poner 250 µL de la alícuota en un tubo de ensayo, agregar 75 µL de  $\text{NaNO}_2$  al 5 %, agitación mediante un vortex, dejar reposar durante 5 minutos, agregar 150 µL de ALCL al 10% y 500 µL de NaOH 1 M. La absorbancia fue medida por espectrofotometría  $A_{510}$  nm. Se cuantificó conforme la ecuación de una recta, utilizando como estándar catequina, y los datos se reportaron en  $\text{mg g}^{-1}$  de peso seco.

### **Antocianinas**

El contenido de antocianinas se determinó de acuerdo a la metodología de (Atanacković et al., 2012), se pesaron 100 mg del tejido liofilizado y se agregó 2 mL de etanol/agua/HCl concentrado, en una proporción (70/29/1), se sometieron a homogenización mediante el uso del vortex, la separación se realizó, mediante centrifugación a 12,000 rpm por 10 min. Para la lectura de las muestras, se tomó una alícuota de 250  $\mu$ L, la cual se colocó en un tubo de ensayo, se agregaron 2 mL de etanol/agua/HCl (79/29/1). La absorbancia fue medida por espectrofotometría  $A_{540}$  nm, el cálculo de la concentración se expresó en equivalentes de malvidin-3- glucósido siguiendo la fórmula de (Atanacković et al., 2012) y los datos se reportaron en mg 100 g<sup>-1</sup> de peso seco.

$$TA = (A_{540nm}) (16.7) (\text{dilución})$$

### **Crecimiento vegetativo**

Los parámetros de crecimiento se evaluaron al final del ciclo productivo de la planta, los cuales incluye; dimensiones finales de altura, utilizando una cinta métrica (Truper Modelo 12694) y diámetro de plantas (Calibre Digital Electrónico Vernier Caliper 0-150 Mm De Fibr) y cuantificación de número de hojas, cargadores de frutos y rendimiento.

### **Análisis estadístico**

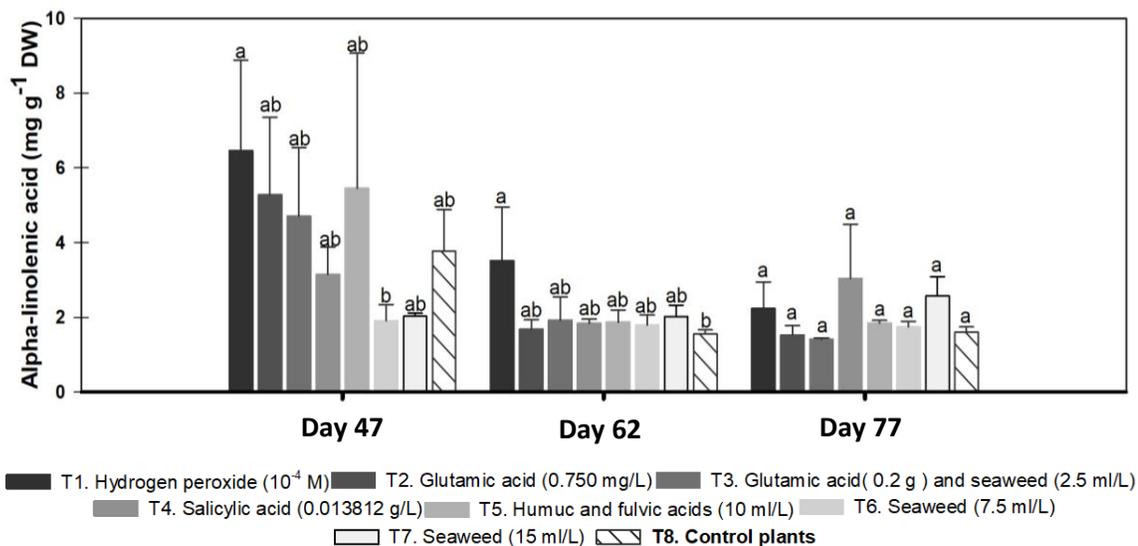
El experimento se realizó bajo un diseño completamente al azar, utilizando 3 repeticiones para ácidos grasos y 4 en calidad, compuestos fenólicos y parámetros de crecimiento. Los datos se analizaron con un ANOVA, la separación de medias se realizó de acuerdo a la prueba simultánea de LSD Fisher ( $p \leq 0.05$ ), usando el paquete estadístico INFostat.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

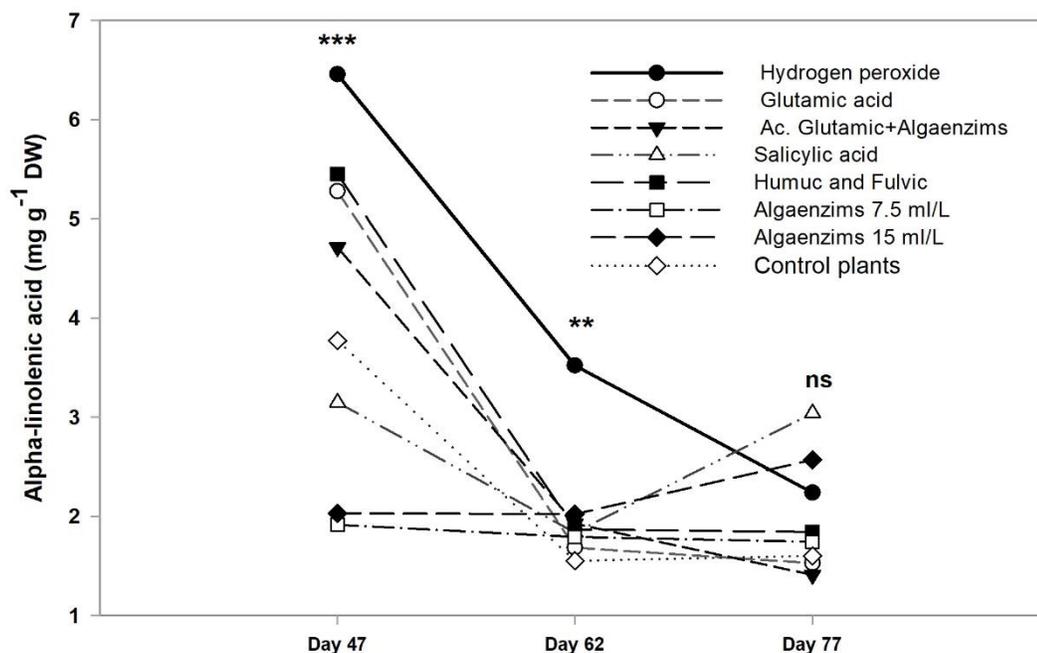
### Ácidos grasos de cadena larga en frutos de frambuesa

El contenido de ácido alfa linoleico, en frutos de plantas de frambuesa estimuladas, luego de la quinta aplicación de tratamientos, correspondientes al día 62 (Figura 7), mostró un incremento estadístico de 126.89%, cuando las plantas fueron tratadas con peróxido de hidrógeno a  $10^{-4}$  M (T1), en comparación con las plantas de control. Por el contrario, no se observó ningún efecto significativo con la aplicación de ningún tratamiento en la cuarta y sexta aplicación correspondiente a los días 47 y 77 respectivamente. Sin embargo, es importante señalar que en la cuarta aplicación (día 47), la aplicación foliar de peróxido de hidrógeno a una concentración de  $10^{-4}$  M (T1) y ácidos húmicos y fúlvicos a 10ml / L (T5), causó una ganancia numérica de 71.19% y 44.56% respectivamente, en comparación en las plantas de control.

En muestreo 1 y 2 correspondientes a los días 47 y 62, la aplicación de peróxido de hidrógeno  $10^{-4}$  M, obtuvo diferencia en el contenido de ácido alfa linoleico en comparación al testigo. En los resultados obtenidos después de la sexta aplicación (día 77) (Figura 7), no se mostraron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los ácidos, siendo la estimulación foliar con peróxido de hidrógeno  $10^{-4}$  M el único tratamiento que para fines de este trabajo, obtuvo resultados significativos en el incremento de n-3 en frutos de frambuesa con respecto al control. Sin embargo se mostró una decadencia, (Figura 8), en un 45% y 65% en muestreos 2 y 3 (día 62 y 47) con respecto al 1 (día 47).

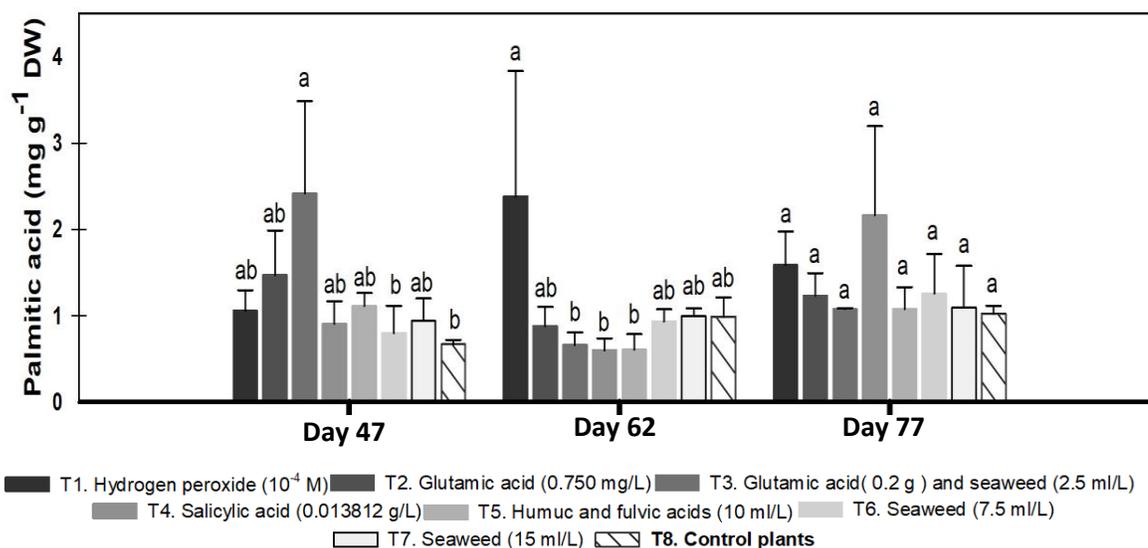


**Figura 7.** Contenido de ácido alfa linoleico (omega 3) en frutos de frambuesa (mg g<sup>-1</sup> peso seco) después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 47) aplicación de tratamientos vía foliar. Los datos son el promedio de 3 repeticiones ± error estándar. Letras distintas señalan diferencias significativas, de acuerdo a la prueba estadística de LSD de Fisher ( $p \leq 0.05$ ), los datos son el promedio de 3 repeticiones ± error estándar.



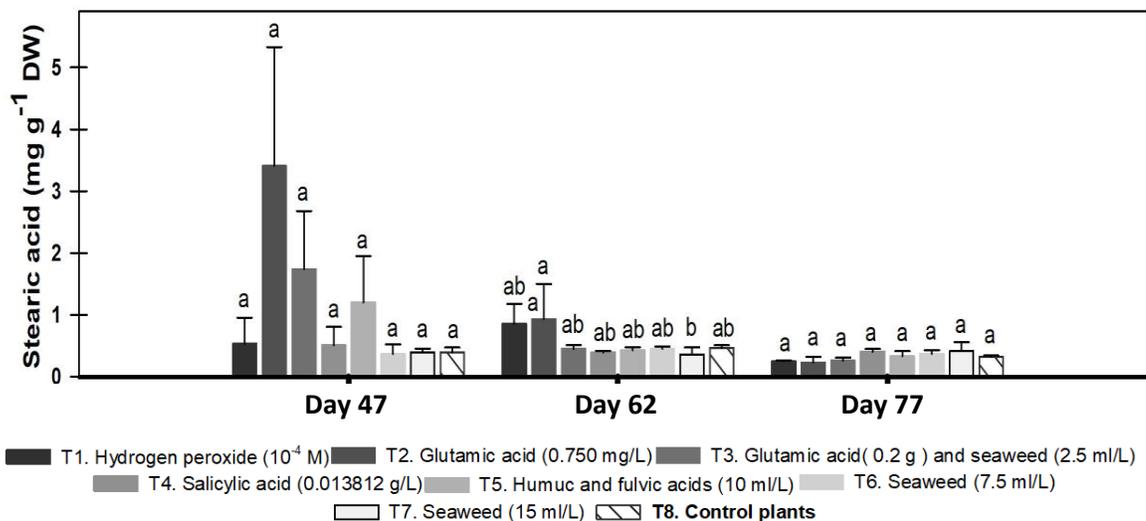
**Figura 8.** Contenido de ácido alfa linoleico (omega 3) en frutos de frambuesa (mg g<sup>-1</sup> peso seco) después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 47) aplicación de tratamientos vía foliar. Los datos son el promedio de 3 repeticiones ± error estándar. Significativo (\*\*\*), medianamente significativo (\*\*), no significativo (ns) ( $p \leq 0.05$ ), prueba LSD Fisher.

La aplicación de tratamientos por vía foliar, afectó significativamente el contenido de ácidos grasos de cadena larga en frutos de frambuesa. La figura 9, muestra diferencia significativa con la aplicación T3 (ácido glutámico a 0.2 g + algaenzims 2.5 ml / L), después de la cuarta aplicación de tratamientos, correspondiente al día 47, con un aumento de 259.26% en ácido palmítico en comparación con las plantas de control absoluto (T8) sin aplicación. Luego de la quinta y sexta aplicación correspondientes a los días 62 y 77 respectivamente, la aplicación foliar de ácido glutámico no tuvo efecto estadísticamente significativo sobre el ácido palmítico, sin embargo, cabe señalar que los frutos analizados luego de la quinta aplicación de los tratamientos correspondientes al día 62, mostraron un gran aumento de ácido palmítico de 139.93%, en estimulación con T1 (peróxido de hidrógeno  $10^{-4}$  M) en relación a las plantas control.



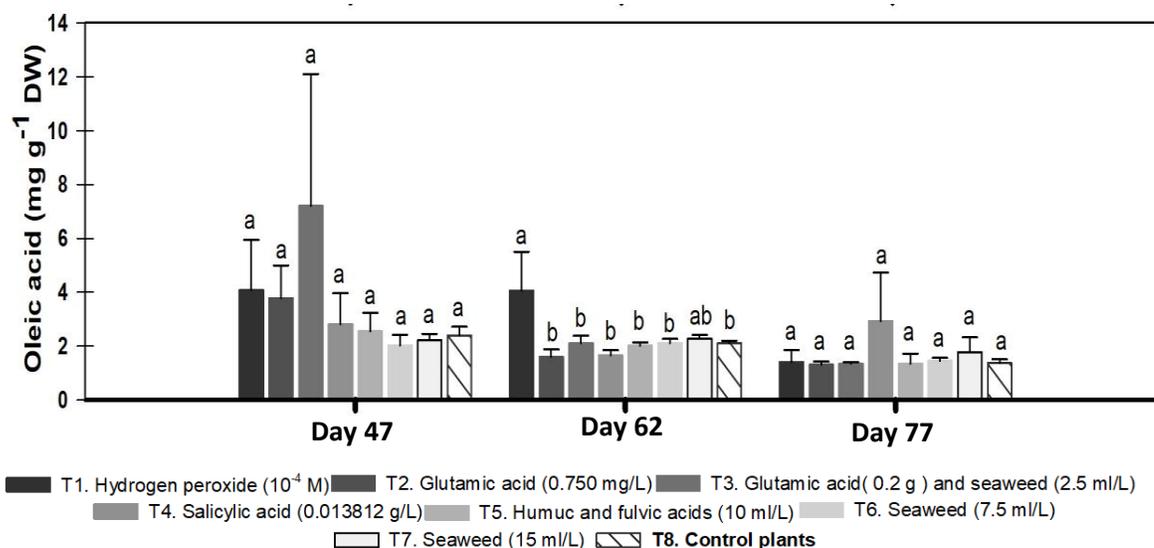
**Figura 9.** Contenido de ácido palmítico, en frutos de frambuesa ( $\text{mg g}^{-1}$  peso seco) después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 77) aplicación de tratamientos vía foliar. Los datos son el promedio de 3 repeticiones  $\pm$  error estándar. Letras distintas señalan diferencias significativas, de acuerdo a la prueba estadística de LSD de Fisher ( $p \leq 0.05$ ).

En cuanto a la producción de ácido esteárico (Figura 10), no se observó efecto significativo con la aplicación de tratamientos, en ninguno de los días de aplicación. Sin embargo, es importante mencionar que la aplicación foliar de T2 (0,750 mg/L de ácido glutámico) en el día 47, provocó un enorme aumento numérico del contenido de ácido esteárico en un 759.78% en relación al control.



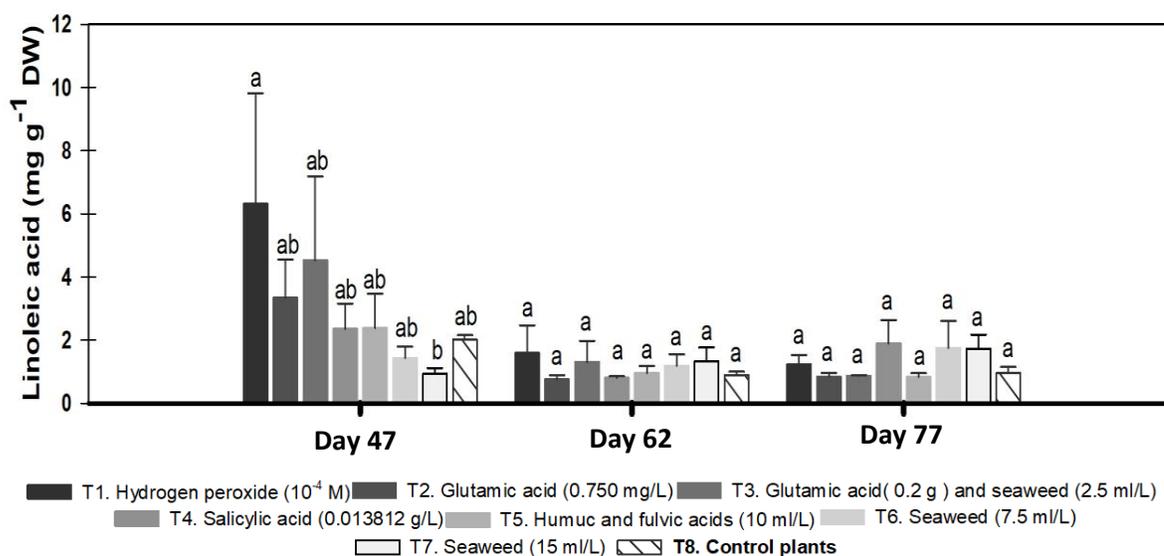
**Figura 10.** Contenido de ácido esteárico, en frutos de frambuesa ( $\text{mg g}^{-1}$  peso seco) después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 77) aplicación de tratamientos vía foliar. Los datos son el promedio de 3 repeticiones  $\pm$  error estándar. Letras distintas señalan diferencias significativas, de acuerdo a la prueba estadística de LSD de Fisher ( $p \leq 0.05$ ).

El contenido de ácido oleico (Figura 11), en frutos de plantas de frambuesa estimuladas luego de la quinta aplicación de tratamientos correspondientes al día 62, mostró un aumento estadísticamente diferente en ácido oleico de 92.35%, cuando las plantas fueron estimuladas con peróxido de hidrógeno en concentración  $10^{-4}$  M (T1), en relación a las plantas de control. Por el contrario, no se observó ningún efecto significativo con la aplicación de ningún tratamiento en la cuarta y sexta aplicación correspondiente a los días 47 y 77 respectivamente. Sin embargo, es importante señalar que la aplicación foliar de ácido glutámico a 0.750 mg / L (T3) en la cuarta aplicación (día 47) provocó un aumento numérico de 200.77% en el contenido de ácido oleico en comparación con las plantas de control.



**Figura 11.** Contenido de ácido oleico, en frutos de frambuesa (mg g<sup>-1</sup> peso seco) después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 77) aplicación de tratamientos vía foliar. Los datos son el promedio de 3 repeticiones ± error estándar. Letras distintas señalan diferencias significativas, de acuerdo a la prueba estadística de LSD de Fisher ( $p \leq 0.05$ ).

Con respecto a la producción de ácido linoleico (Figura 12), no se observó una ganancia significativa con la aplicación de ningún tratamiento, en ninguno de los días de aplicación, en comparación con las plantas de control. Sin embargo, se observó un aumento numérico de 214.80%, con la estimulación foliar de peróxido de hidrógeno a 10<sup>-4</sup> M (T1), en el día 47.



**Figura 12.** Contenido de ácido linoleico, en frutos de frambuesa (mg g<sup>-1</sup> peso seco) después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 77) aplicación de tratamientos vía foliar. Los datos son el promedio de 3 repeticiones ± error estándar. Letras distintas señalan diferencias significativas, de acuerdo a la prueba estadística de LSD de Fisher ( $p \leq 0.05$ ).

En resultados previos (Figura 7), aplicaciones foliares a plantas de frambuesa, con peróxido de hidrógeno  $10^{-4}$  M ( $H_2O_2$ ), incrementaron el contenido de ácido alfa- linoleico (omega-3), siendo el ácido de interés y favoreció la concentración de ácido palmítico, oleico y linoleico (Figura 9, 11,12). Este incremento, podría deberse a que el peróxido de hidrógeno pertenece a las ROS (especies reactivas de oxígeno), las cuales son adecuadas para activación de cascadas de señalización (Foyer & Noctor, 2005) y actuara como molécula de señalización, dependiendo de su concentración (Khan et al., 2018), en procesos intracelulares e intercelulares (Bienert et al., 2006).  $H_2O_2$  está relacionado con la adaptación al estrés, activa los MAPKs (MPK3 y MPK6) a través de la MAPK quinasa quinasa (MAPKKK) ANP1 en *Arabidopsis* (Kovtun et al., 2000). La concentración de ácido alfa -linoleico (n-3,) incrementó en 41 % bajo condiciones de estrés por calor y un 33 % bajo estrés por salinidad, en *Salicornia brachiata* (Mishra et al., 2015), como consecuencia en condiciones de estrés biótico o abiótico, se obtiene incremento en peróxido de hidrógeno en cloroplastos y mitocondria (Foyer & Noctor, 2003), las células perciben incremento en moléculas de  $H_2O_2$ , localizando choques oxidativos, los cuales producen una secuencia de eventos que constan de; percepción, transducción, señalización, acción efectora modificando las cascadas de señalización y con ello la expresión génica, dando como resultado un fortalecimiento de las defensas de las plantas (Mendoza, 2002), por otra parte se ha demostrado que aumentos en concentración de peróxido de hidrógeno provoca una respuesta de transcripción imitada a la respuesta por estrés biótico como abiótico (Vandenabeele et al., 2003), autores proponen que en arroz, SERF1 amplifica la cascada de señalización MAPK, activada por peróxido de hidrógeno, durante la fase inicial de estrés salino. (Schmidt et al., 2013). Es bien conocido que un incremento celular en ROS, desemboca en peroxidación lipídica, dañando las células (Catalá, 2006).

Sin embargo, en el caso del presente estudio, la evidencia sugiere que la aplicación exógena de peróxido de hidrógeno en una concentración de  $10^{-4}$  M en plantas de frambuesa, quizás incrementó el contenido de peróxido de hidrógeno en el citosol por medio de acuaporinas desde el apoplasto (Pastori & Foyer, 2008), desencadenando una cascada de señalización similar a estrés biótico como abiótico (Vandenabeele et al.,

2003), donde bajo estas condiciones se reportó un incremento en el contenido de omega 3 (Mishra et al., 2015).

Otra opción es que la aplicación de peróxido de hidrogeno está relacionado con aumentar la actividad fotosintética en plantas (Khan et al., 2018) ,durante lo fotosíntesis NADPH junto con ATP son producidos, por lo que pudo inducir la disponibilidad de ellos ya que parte son necesarios en la síntesis de ácidos grasos, debido a que acetyl- CoA ocupa 7 moléculas de ATP y 14 de NADPH, para la síntesis de ácido palmítico (PAL;16:00) (Sasaki & Nagano, 2004). Posteriormente, la síntesis de PUFAs, ocurre por medio de desaturasas unidas a la membrana del plastidio (ruta procariota) y citoplasma (ruta eucariota), excepto por la desaturación de ácido esteárico (EST;18:00) a (OLE; 18:1 $\Delta$ ) por  $\Delta^9$ - desaturasa soluble, en ambos compartimientos mediante una  $\Delta^{12}$ - desaturasa el ácido (OLE; 18:1 $\Delta$ ), es transformado en ácido linoleico (LA; 18:2 $\Delta$ ), también conocido como omega-6, partiendo de LA ocurre una tercera desaturación por la acción de  $\Delta^3$ - desaturasa transformándolo en omega 3 (ALA; 18:3 $\Delta$ ) (Harwood, 1988).

De manera descriptiva, el comportamiento de los ácidos grasos respecto al tratamiento fue muy variante (Figura 13), en algunos de ellos, la mayoría de sus ácidos en preferencia insaturados se vieron afectados a lo largo el tiempo. Con aplicaciones de peróxido de hidrógeno (A), los ácidos grasos saturados no muestran tendencia en incrementó o decadencia en su contenido, caso contrario con los insaturados los cuales señalan una disminución clara a lo largo del tiempo en días 62 y 77 respecto al 47 en un 0.47%, 65.56% en ácido oleico y 74.70%, 80.50% en ácido linoleico.

La aplicación foliar de ácido glutámico (B), mostró disminución en contenido de ácidos grasos de 68.09% y 71.05% en ácido alfa linoleico, 72.62% y 93.15% en ácido esteárico, 57.51 y 65.29 % en ácido oleico, 77.89 y 74.83 % en ácido linoleico y 39.89%, 15.87% en ácido palmítico, todo ello, los días 62 y 77 respeto al 47.

Comportamiento similar se obtuvo con el tratamiento de ácido glutámico + algas marinas (C), con decadencias en concentración de 72.55% y 55.34% en ácido palmítico, 73.89% y 84.93% en ácido esteárico, 70.81% y 81.23% en ácido oleico, 71.04% y 80.87% en ácido linoleico y 59.11%- 70.09% en contenido de ácido alfa linoleico, todos ello, los días 62 y 77 con respecto al 47.

Ácidos húmicos y fúlvicos (E), obtuvieron disminuciones en concentraciones, de 45.31% y 2.89% en ácido palmítico, 64.20% y 72.24% en ácido esteárico, 20.61% y 46.77% en ácido oleico, 59.74 % y 65.15 % en ácido linoleico y 65.74 % y 66.20 % en alfa linoleico. El control obtuvo comportamiento similar en ácidos grasos insaturados con disminución de 11.82% y 42.55%, 55.25% y 51.93%, 58.87% y 57.58% en ácidos oleico, linoleico y alfa linoleico respectivamente, e incrementó en ácido palmítico de 47.80% y 53.07%, todo ello, los días 62 y 77 respecto al 47, el contenido de ácido esteárico incrementó en 18.10% el día 62 y disminuyó el día 77 con un 18.09 %. La aplicación de extracto de algas marinas en baja concentración (F), disminuyó el contenido de ácido alfa linoleico en 6.33% y 8.88%, el contenido de ácido palmítico, incrementó 17.04%, 57.52%, al igual que el ácido oleico con 22.24%, 0.88% los días 62 y 47 en comparación al día 47, ácido esteárico incrementó el día 62 con 3.71% y disminuyó el día 77 con 28.59%, ácido linoleico disminuyó 17.22% e incrementó 22.14% en días 62 y 77 respectivamente.

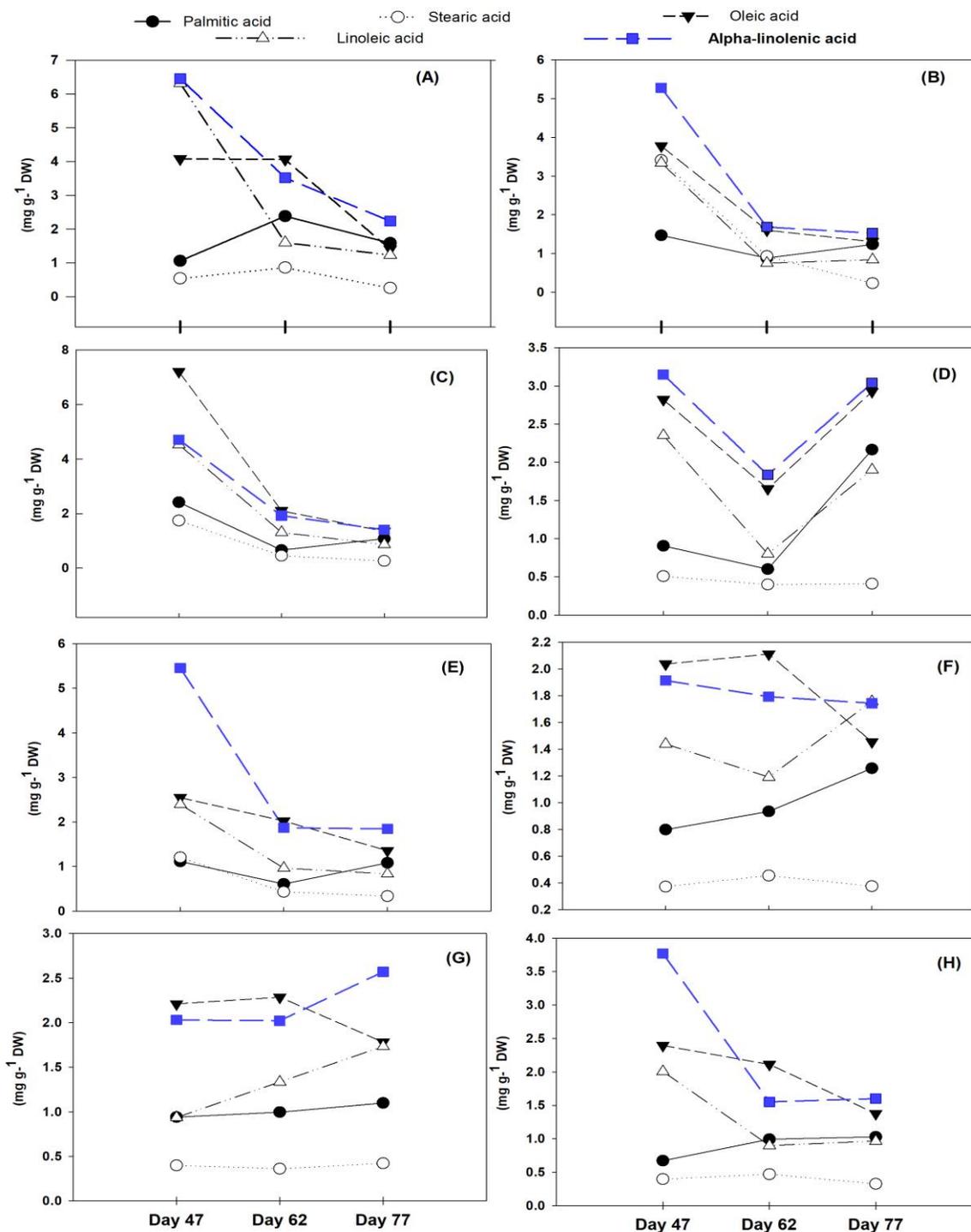
De igual manera la aplicación del mismo tratamiento de algas marinas, pero a mayor concentración (G), nuevamente aumentó el contenido en ácido palmítico con 5.90% y 16.76%, al igual el de ácido linoleico con 42.60% y 85.25% los días 62 y 77 respecto al 47, ácido esteárico disminuyó el día 62 con 9.16%, e incrementó 6.29% el día 77, el ácido linoleico incrementó 3.43% para el día 62 y obtuvo una disminución el día 77 de 19.40%, se obtuvo una disminución en el contenido de ácido alfa linoleico de 0.41% y un incremento de 26.59% en días 62 y 77 respectivamente.

La aplicación de ácido salicílico (D), mostró un comportamiento distinto al resto de los tratamientos al disminuir su contenido en ácido alfa linoleico un 41.68% y 3.44%, el ácido linoleico en 65.88% y 19.13% y ácido oleico con 21.41% y 19.52 %, todo lo ello, en días 62 y 77 respecto al día 47. Siendo así el día 62, donde el contenido de ácidos disminuyó drásticamente, ácido palmítico y oleico se comportaron de manera distinta, disminuyendo el día 62 con 33.59% en ácido palmítico y 41.39 % en ácido oleico respecto al día 47, e incrementando en el día 77 respecto al 47 con 139.07% y 3.71% respectivamente.

Mencionando así, aspersiones exógenas de algas marinas, favoreció el incremento de ácido palmítico y mantuvo la concentración del resto de ácidos a lo largo del tiempo, pero a menor concentración que el resto de los tratamientos (F)(G), el contenido de ácidos insaturados fue mayor en comparación de los saturados en aspersiones de ácidos húmicos

y fúlvicos (E). El contenido de ácidos grasos de cadena larga, fue disminuyendo a lo largo del tiempo con la aplicación de (B) ácido glutámico, (C) ácido glutámico + algaenzims y (A) peróxido de hidrógeno. La aplicación de ácido salicílico no mostró tendencia en incrementó o disminución en su contenido de ácidos grasos a lo largo de tiempo (D).

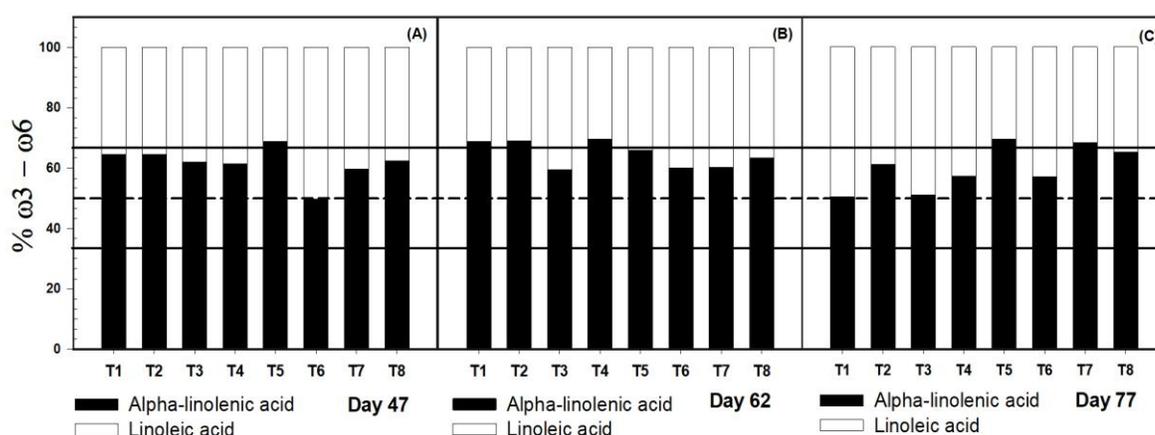
De los 5 ácidos analizados, los saturados (palmítico y esteárico) no mostraron tendencia decadente, ni accedente, en la aplicación de (B) ácido glutámico, (C) ácido glutámico + algaenzims y (A) peróxido de hidrógeno, cosa contraria con los insaturados (oleico, linoleico, ácido alfa linoleico), los cuales se muestran en disminución a lo largo del tiempo, esto podría deberse a que en la peroxidación lipídica, los ácidos grasos polinsaturados son mayormente susceptibles, debido a que contienen múltiples dobles enlaces y un grupo metilo, siendo propensos a oxidación (Catalá, 2006).



**Figura 13.** Comportamiento en ácidos grasos de cadena carbonada larga en frutos de frambuesa ( $\text{mg g}^{-1}$  peso seco), por tratamiento, después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 77). Letras diversas señalan diferencias significativas, de acuerdo a la prueba estadística de LSD de Fisher ( $p \leq 0.05$ ), los datos son el promedio de 3 repeticiones  $\pm$  error estándar. (A) Peróxido de hidrógeno  $10^{-4}$  M, (B) Ácido glutámico 0.750 mg/L, (C) Ácido glutámico 0.2 g + algaenzims 2.5 ml/L, (D) Ácido salicílico 0.013812 g/L, (E) Ácidos húmicos y fúlvicos 10 ml/L, (F) Algaenzims 7.5 ml/L, (G) Algaenzims 15 ml/L y (H) Testigo absoluto.

### Relación omega 3- omega 6

El ácido alfa linoleico y ácido linoleico, conocidos como omegas 3 y 6, son necesarios en la dieta humana debido a que son considerados como esenciales (Napier & Graham, 2010), las dietas enriquecidas en n-6 y disminución de n-3, se asocian con distintas enfermedades, entre ellas; diabetes, cáncer, obesidad, enfermedades cardiovascular, por lo cual, es mayormente recomendado una mayor ingesta de ácidos grasos omega-3 que omega-6 (Simopoulos, 2002). Dado el interés entre la proporción de ácidos grasos esenciales, se muestra la relación entre ellos, en frutos de frambuesa estimulados a lo largo del tiempo (Figura 14). En base al 100% Incluyendo ambos ácidos, todas los frutos de plantas tratadas tienen una relación mínima a lo largo de los muestreos de (1: 1  $\omega$ -3 /  $\omega$ -6), por lo que se encuentra dentro del rango recomendado (indicado con líneas de puntos). Sin embargo, T5, en la fecha de muestreo (día 47, 62 y 77), mostró mayor concentración de ácido alfa linoleico vs ácido linoleico (2: 1  $\omega$ -3 /  $\omega$ -6) (rango indicado entre las dos líneas sólidas). En la fecha de muestreo (día 62), el T1, T2 y T4, obtuvieron mayor concentración de ácido alfa-linoleico (figura 14, B) de (1: 2  $\omega$ -6 /  $\omega$ -3), y el T7, obtuvo la misma relación el día 77 (Figura 14, C).



**Figura 14.** Relación  $\omega$ -6/ $\omega$ -3, después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 77), aplicación de tratamientos foliares. (T1. Peróxido de hidrógeno  $10^{-4}$  M, T2. Ácido glutámico 0.750 mg/L, T3. Ácido glutámico 0.2 g + algaenzims 2.5 ml/L, T 4. Ácido salicílico 0.013812 g/L, T5. Ácidos húmicos y fúlvicos 10 ml/L, T6. Algaenzims 7.5 ml/L T7. Algaenzims 15 ml/L y T8. Testigo absoluto). Relación (1: 1  $\omega$ -6 /  $\omega$ -3) indicado con línea de puntos y (1: 2  $\omega$ -6 /  $\omega$ -3) entre las dos líneas sólidas.

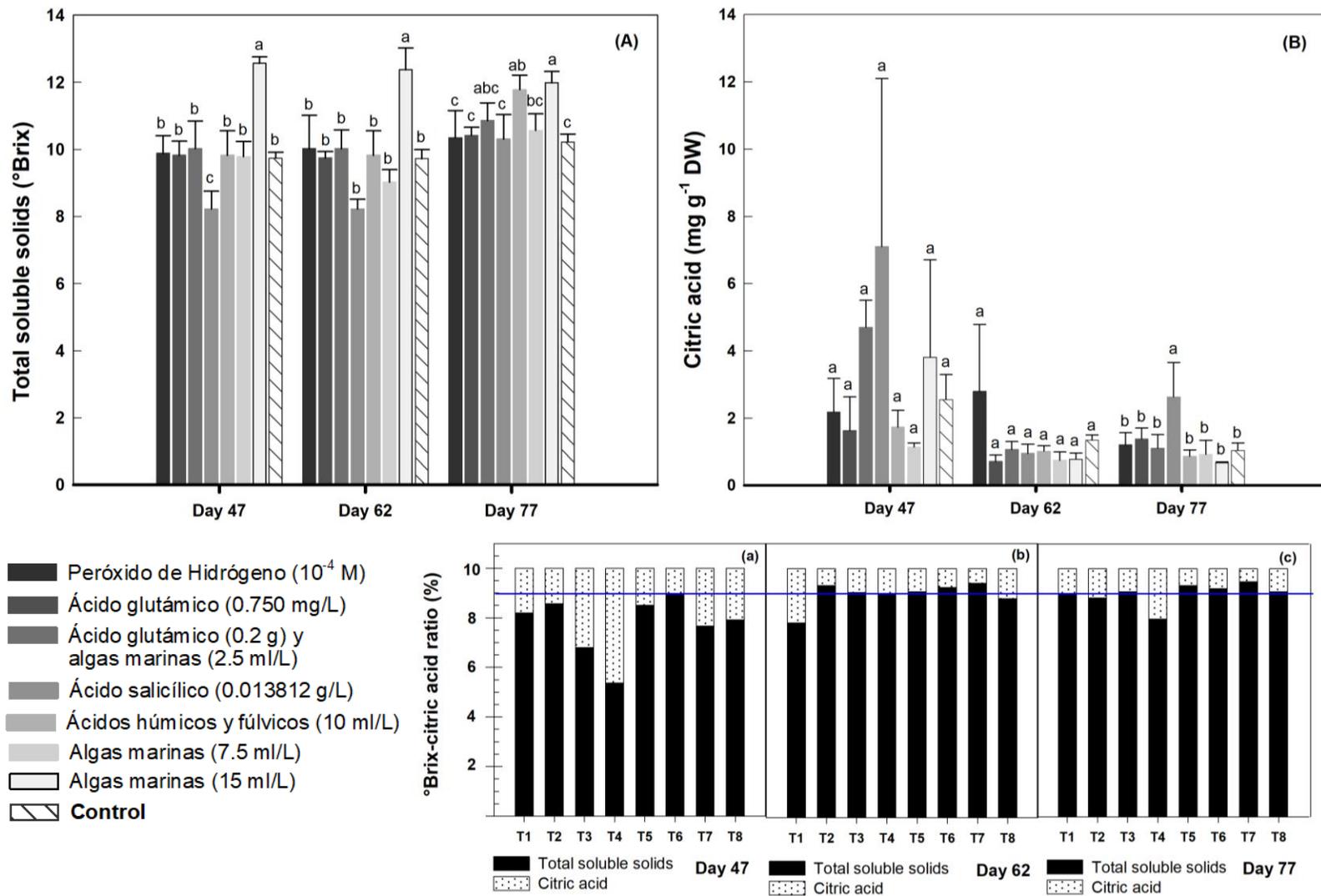
### Calidad de frutos de frambuesa

Los resultados de la calidad de fruto de frambuesa (Figura 15, A), muestran diferencias estadísticamente significativas. El día 47 la aplicación foliar de T7 (algaenzims 15 ml/L), incrementó 29.05% el contenido de sólidos solubles totales, este mismo día la aplicación de T4 (ácido salicílico), disminuyó su concentración en 15.53%. Para el día 62, de igual manera la estimulación con T7 (algaenzims 15 ml/L), aumentó su contenido °Brix con 27.49% en comparación al testigo, para el día 77, nuevamente la aplicación de T7 (algaenzims 15 ml/L) obtuvo diferencias significativas, al incrementar 17.29% el contenido de sólidos solubles totales y T5 (ácidos húmicos y fúlvicos) con 15.3%, ambos respecto al testigo. El incremento en sólidos solubles con la aplicación extracto de algas marinas, puede deberse a que después de la aplicación de un bioestimulante, se desencadena una secuencia de eventos de que constan en percepción, transducción, señalización y respuesta que modifican la expresión génica y con ello el metabolismo (Juárez-Maldonado et al., 2019), favoreciendo el contenido de pigmentos fotosintéticos (Battacharyya et al., 2015) y por lo tanto la tasa fotosintética (Castellanos-Barriga et al., 2017), el resultado coincide con un trabajo en el cultivo vid cv. Shiraz, donde la aplicación de (algaenzims), el extracto de algas marinas utilizado en el presente estudio, incrementó la concentración en °Brix, concluyendo que las algas marinas inducen a una mayor eficiencia asimilativa de bióxido de carbono (Zermeño Gonzalez et al., 2018). Un estudio en tomate, menciona un mayor contenido de sólidos solubles totales con aplicaciones foliares de extracto de algas marinas *Sagarssum johntonii* (Kumari et al., 2011), los sólidos solubles totales son el contenido de azúcar en solución acuosa, en este sentido los resultados concuerdan en el cultivo de frijol mungo, donde la aplicación de extractos líquidos de algas marinas en concentraciones altas, favorecieron acumulación de azúcares totales (Castellanos-Barriga et al., 2017).

El contenido de ácido cítrico (Figura 15, B), no obtuvo diferencias significativas para el día 47 y día 62, sin embargo se obtuvieron diferencias significativas el día 77 en la aplicación de T4 (ácido salicílico 0.013812 g/L), el cual incrementó el contenido de ácido cítrico en 153.64 %. El ácido salicílico pertenece a un grupo diverso de fenólicos vegetales (Harwood, 1988), es una hormona vegetal que actúa como una molécula de señalización, estimulando diversos procesos fisiológicos en las plantas, relacionados con absorción de

iones, permeabilidad de la membrana, actividad enzimática, mecanismos de resistencia a enfermedades, desarrollo, crecimiento y la biosíntesis de compuestos fitoquímicos (Reza & Rigi, 2014; Sariñana-aldaco et al., 2020; Sariñana-Aldaco et al., 2020), el incremento en ácido cítrico el día 77 en plantas estimulados con ácido salicílico 0.013812 g/L, se le atribuye a que en múltiples trabajos esta molécula se relaciona con mejorar la calidad de los frutos (Karlidag et al., 2009), al inhibir la síntesis de etileno y desarrollo de hongos (Chandra et al., 2007; Mohamed et al., 2018). El ácido cítrico pertenece a los ácidos orgánicos, estos tienden a disminuir a medida que el fruto madura y los °Brix tienden a aumentar, la acidez titulable es la forma de expresar la acidez en ácidos orgánicos, siendo así nuestros resultados concuerdan con múltiples trabajos donde la acidez titulable incrementó con aplicaciones exógenas de ácido salicílico en cultivares de fresa y granada (Chandra et al., 2007; Mohamed et al., 2018).

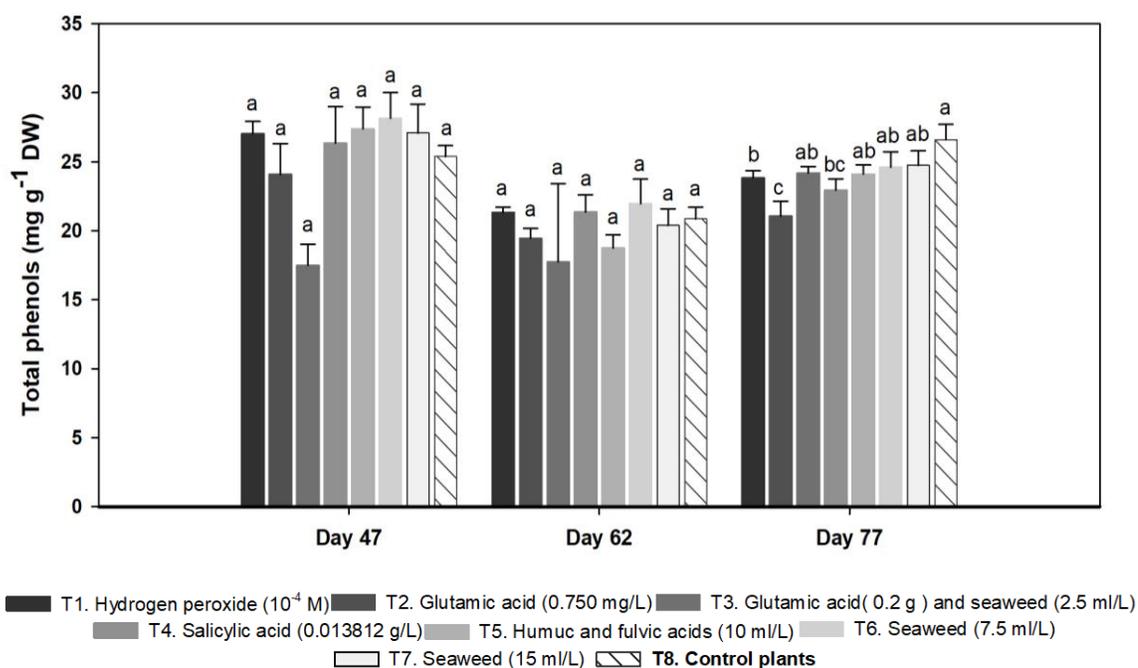
Según estándares en calidad de frutos de frambuesa, la acidez de ellas no debe sobrepasar el 0.7% y los azúcares en °Brix, deben ser superiores a 9% (Madrid & Beaudry, 2020). Por lo cual, se muestra la relación ácido cítrico- °Brix, basándonos en un 10%. Para el día 47 (Figura 15, a), el T1 (peróxido de hidrógeno  $10^{-4}$  M), obtuvo 1.8% de ácido cítrico, el T3 (Ácido Glutámico 0.2 g + algaenzims 2.5 ml/L) 3.19% y el T4 (ácido salicílico 0.013812 g/L) 4.6% de ácido cítrico. En el día 62 (Figura 15, b), el T1 obtuvo 2.18% en ácido cítrico y T4, 1.3% de ácido cítrico, nuevamente para el día 77 (Figura 15, c), estos dos tratamientos obtuvieron 2.03% (T4) y 1.04% (T1) en ácido cítrico. Siendo la estimulación foliar de peróxido de hidrógeno y ácido salicílico, los tratamientos que influyeron en menor concentración de sólidos solubles totales, el resto de tratamientos influyó de manera positiva en contenido de °Brix.



**Figura 15.** Calidad de frutos de frambuesa: Sólidos solubles totales (°Brix), ácido cítrico ( $\text{mg g}^{-1}$  peso seco) después de la cuarta (día 47), quinta (día 62), y sexta (día 77), aplicación de tratamientos y relación entre ellos. Los datos son el promedio de 3 repeticiones  $\pm$  error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos según la prueba estadística de LSD de Fisher ( $p \leq 0.05$ ).

### Compuestos fenólicos

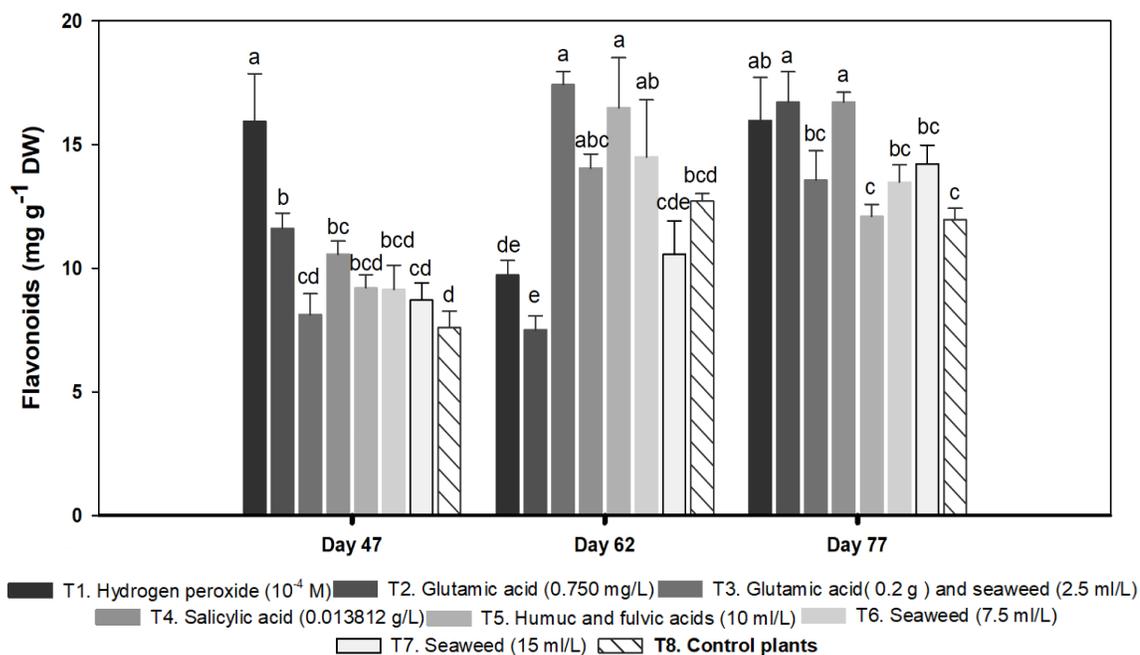
La aplicación foliar de T3 (ácido glutámico 0.2 g + algaenzims 2.5 ml/L), disminuyó el contenido de fenoles totales en un 31.08% en comparación al control el día 47, para el día 62 no se mostraron diferencias. El día 77, la aplicación de T1 (peróxido de hidrógeno  $10^{-4}$  M), T2 (ácido glutámico 0.750 mg/L) y T4 (ácido salicílico 0.013812 g/L), disminuyeron su contenido fenólico, en 10.37%, 20.86% y 13.72% respectivamente, en comparación al testigo (Figura 16).



**Figura 16.** Contenido de fenoles totales ( $\text{mg g}^{-1}$  peso seco), después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 47) aplicación de tratamientos vía foliar. Los datos son el promedio de 3 repeticiones  $\pm$  error estándar. Letras distintas señalan diferencias significativas, de acuerdo a la prueba estadística de LSD de Fisher ( $p \leq 0.05$ ).

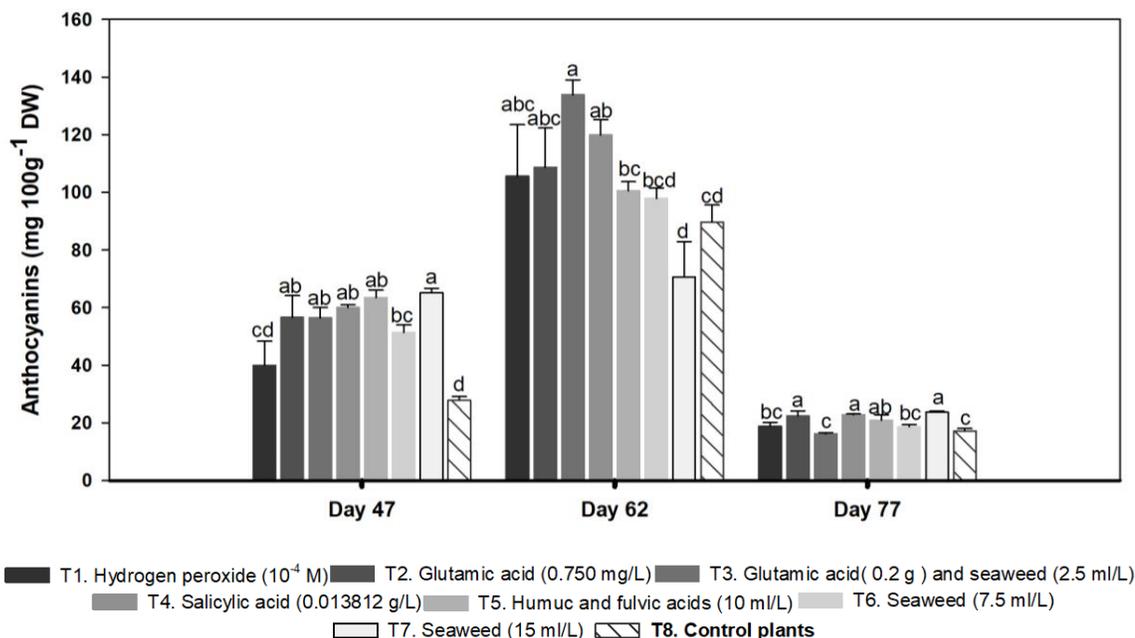
En el día 47, la aplicación foliar de T1 (peróxido de hidrógeno  $10^{-4}$  M), incrementó el contenido de flavonoides en 110.14%, el tratamiento T2 (ácido glutámico 0.750 mg/L) con 52.83% y el T4 (ácido salicílico 0.013812 g/L) en 39.13%, todos ellos en comparación al control. El día 62, aplicaciones foliares de T3 (ácido glutámico 0.2 g + algaenzims 2.5 ml/L), incrementó el contenido de flavonoides con 37.05%, el T5 (ácidos húmicos y fúlvicos 10 ml/L) en 29.74%, tratamiento 2 (ácido glutámico 0.750 mg/L) disminuyó su contenido en 40.99%. Para el día 77, la aplicación de T1 (peróxido de hidrógeno  $10^{-4}$  M, T2 (ácido glutámico 0.750 mg/L) y T4 (ácido salicílico 0.013812 g/L) incrementó el

contenido de flavonoides con 33.52%, 39.71% y 39.79% respectivamente, en comparación al testigo (Figura 17).



**Figura 17.** Contenido de flavonoides (mg g<sup>-1</sup> peso seco), después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 77) aplicación de tratamientos vía foliar. Los datos son el promedio de 3 repeticiones  $\pm$  error estándar. Letras distintas señalan diferencias significativas, de acuerdo a la prueba estadística de LSD de Fisher ( $p \leq 0.05$ ).

El contenido de antocianinas totales (Figura 18), incrementó el día 47, con aplicaciones foliares de; T2 (ácido glutámico 0.750 mg/L) en 103.08%, T3 (ácido glutámico 0.2 g + algaenzims 2.5 ml/L) con 102.51%, T4 (ácido salicílico) en 115.42%, T5 (ácidos húmicos y fúlvicos 10 ml/L) con 127.84%, T6 con 84.42% y T7 (algaenzims 15 ml/L) con 134.05 %. En el día 62 aplicaciones foliares de T3 (Ácido glutámico 0.2 g + algaenzims 2.5 ml/L), incrementó su contenido de antocianinas en 49.15% y T4 (ácido salicílico 0.013812 g/L) con 33.57%. Para el día 77, el contenido de antocianinas incrementó, con aplicaciones foliares de; T2 (ácido glutámico 0.750 mg/L) con 30.35%, T4 (ácido salicílico 0.013812 g/L) en 32.50%, T5 (ácidos húmicos y fúlvicos 10 ml/L) en 21.35% y T7 (algaenzims 15 ml/L) con 37.60%, todo lo anterior en comparación al testigo (Figura 18). Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios, los cuales se dividen en: ácidos fenólicos, flavonoides, diterpenos fenólicos y aceites volátiles capaces de donar H<sup>+</sup> a los radicales libres reduciéndolos (Brewer, 2011).



**Figura 18.** Contenido de antocianinas ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$  peso seco), después de la cuarta (día 47), quinta (día 62) y sexta (día 77) aplicación de tratamientos vía foliar. Los datos son el promedio de 3 repeticiones  $\pm$  error estándar. Letras distintas señalan diferencias significativas, de acuerdo a la prueba estadística de LSD de Fisher ( $p \leq 0.05$ ).

Los flavonoides se emplean como captadores de ROS neutralizando los radicales antes que causen daño (Puthur, 2016), el efecto antioxidante de las antocianinas, surge de que actúan como captadores de radicales libres (Borges et al., 2013). El incremento de compuestos fenólicos, en aplicaciones de biostimulantes concuerdan con múltiples trabajos, en los cuales, este efecto se atribuye, a mayor actividad de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL), la cual cataliza la conversión de L-fenilalanina, en ácido cinámico, de donde deriva una gran cantidad de fenoles (Sengupta et al., 2018). Misma que es estimulada en aplicaciones exógenas de elicitors, como lo es ácido salicílico y peróxido de hidrógeno en *Capsicum annuum* L. (Mejía-Teniente et al., 2013). La aplicación de ácido glutámico incrementó la actividad de la enzima PAL en soja (Teixeira et al., 2017). El uso de sustancias húmicas mejoran el metabolismo secundario favoreciendo la actividad de la enzima PAL en maíz (Schiavon et al., 2010), al igual que el uso de extractos de algas marinas, incrementando el contenido de fenoles totales y flavonoides en brócoli (Lola-luz et al., 2014) y aspersiones foliares de SA, incrementó el contenido de flavonoides y antocianinas en tomate y jengibre (Ghasemzadeh et al., 2012; Sariñana-aldaco et al., 2020).

### **Parámetros de crecimiento y desarrollo de plantas de frambuesa**

La aplicación de estimulantes, en plantas de frambuesa, promovió la floración y maduración de frutos, en comparación al testigo (Tabla 4). Tomando en cuenta la primera aplicación de biostimulantes, como el día uno, los tratamientos que mayormente promovieron la floración y cosecha, fueron; T1. Peróxido de hidrógeno, T3. Ácido glutámico + algaenzims y T6. Algaenzims, ya que, los primeros frutos fueron cosechados al día 37. El día 39, se cosecharon frutos correspondientes al T 4. Ácido salicílico. Para el día 41, frutos del T5. Ácidos húmicos y fúlvicos, y T7. Algaenzims. Finalmente al día 47, se cosecharon los primeros frutos de T2. Ácido glutámico y T8. Control absoluto. Diámetro de plantas y altura de las mismas, no mostraron, diferencias significativas entre tratamientos. La floración temprana con el uso de sustancias húmicas, extractos de algas marinas y ácido glutámico, podría deberse a que en la agricultura son utilizados como biostimulantes (Battacharyya et al., 2015; Luciano P. Canellas et al., 2015; Colla et al., 2015), los cuales, son sustancias benéficas para las plantas y están relacionados con promover el crecimiento (du Jardin, 2015), extractos de algas marinas son utilizados ampliamente como reguladores de crecimiento en la agricultura (Y. Li & Mattson, 2015), al igual se ha reportado que aplicaciones de sustancias húmicas sustituyen reguladores de crecimiento (Luciano P. Canellas et al., 2015). Lo cual concuerda con lo reportado en *Gladiolus*, donde la aplicación de sustancias húmicas, incidió en la floración temprana (Baldotto & Baldotto, 2013). Aspersiones de algas marinas indujo floración temprana en el cultivo de tomate (Crouch & Van Staden, 1992) y ácido glutámico en lima (Flores et al., 2015). La floración temprana con aplicaciones de peróxido de hidrogeno, podría deberse a que la molécula, está relacionada con favorecer la capacidad fotosintética y mejora el crecimiento de plantas (Khan et al., 2018).

La aplicación foliar de T4 (ácido salicílico 0.013812 g/L), mostró una disminución del 14.03% en su número de hojas por planta con respecto al control, también obtuvo incrementó de 70.42% en número de cargadores y número de frutos por planta con 66.07 %, ambos porcentajes, con respecto al control. Sin embargo, aunque la estimulación con ácido salicílico mostró numéricamente un incrementó en número cargadores y por ende mayor número de frutos, variables como peso del fruto por planta y rendimiento no obtuvo

diferencias significativas en comparación al testigo. Diversos estudios mencionan floración temprana, incrementó en número de floración y fructificación, con la aplicación foliar de ácido salicílico en fresa (Baba et al., 2017; Jamali, B., Eshghi, S., & Tafazoli, 2006; Mohamed et al., 2018) e *Ixora coccinea*, al igual que mayor número de brotes en maíz (Ahmad et al., 2013; Gad et al., 2016). Lo cual concuerda con nuestro trabajo, donde se obtuvo mayor número de entre nudos y frutos por planta, al igual que una floración temprana, a comparación del testigo, este efecto positivo podría atribuirse a que SA está relacionado en proveer mayor eficiencia asimilativa de CO<sub>2</sub> y tasa fotosintética (Karlidag et al., 2009).

**Tabla 4.** Parámetros de crecimiento y desarrollo de plantas de frambuesa

<b>DT</b>	<b>IC (días)</b>	<b>DT (mm)</b>	<b>Altura (m)</b>	<b>No. Hojas</b>	<b>No. Ca</b>	<b>No. F</b>	<b>PF (g)</b>	<b>R (g)</b>
<b>T1</b>	37	13.5 a	1.89 a	39.0 ab	11.7 ab	61.5 ab	4.3 a	268.3 a
<b>T2</b>	47	13.4 a	2.0 a	42.7 a	14.1 a	61.5 ab	4.6 a	288.9 a
<b>T3</b>	37	12.5 a	2.0 a	38.6 ab	11.7 ab	51.6 ab	4.9 a	240.4 a
<b>T4</b>	39	12.0 a	1.99 a	<b>36.7 b</b>	<b>15.1 a</b>	<b>82.0 a</b>	4.3 a	367.1 a
<b>T5</b>	41	13.5 a	1.93 a	41.1 ab	13.4 a	68.6 ab	4.3 a	298.5 a
<b>T6</b>	37	13.3 a	2.0 a	41.8 ab	13.1 a	67.7 ab	4.7 a	323.6 a
<b>T7</b>	41	14.3 a	1.99 a	41.1 ab	12.6 a	61.8 ab	5.0 a	310.3 a
<b>Control</b>	47	12.9 a	2.0 a	<b>42.7 a</b>	<b>8.8 b</b>	<b>49.3 b</b>	4.4 a	217.4 a

DT: Descripción de tratamientos: T1. Peróxido de hidrógeno 10<sup>-4</sup> M, T2. Ácido glutámico 0.750 mg/L, T3. Ácido glutámico 0.2 g + algaenzims 2.5 ml/L, T 4. Ácido salicílico 0.013812 g/L, T5. Ácidos húmicos y fúlvicos 10 ml/L, T6. Algaenzims 7.5 ml/L, T7. Algaenzims 15 ml/L y T8. Control. IC: Inicio de cosecha, después de la primer aplicación de bioestimulantes (en días), DT: Diámetro de tallo promedio, Altura: Altura por planta promedio, No. C: Número de cargadores promedio, por planta, No. F: Número promedio, de frutos por planta, PF: Peso promedio, de fruto por planta, R: Rendimiento promedio por planta. Letras diversas señalan diferencias significativas, de acuerdo a la prueba estadística de LSD de Fisher ( $p \leq 0.05$ ), los datos son el promedio de 4 repeticiones  $\pm$  error estándar.

## CONCLUSIONES

Bajo ciertas condiciones la aplicación exógena de peróxido de hidrógeno, incrementó el contenido de ácido oleico, ácido alfa linoleico (n-3), compuestos fenólicos y favoreció la proporción recomendable de ingesta entre omega 3 y omega 6 en frutos de frambuesa.

Aspersiones foliares de algas marinas, incrementaron el contenido de sólidos solubles totales, compuestos fenólicos y favoreció la proporción recomendable de ingesta entre omega 3 y omega 6 en frutos de frambuesa. Basándonos en el estándar de calidad de frutos de frambuesa, el porcentaje °Brix-ácido cítrico influyó de manera positiva con aspersiones de extractos de algas marinas.

Aplicaciones de ácido salicílico, incrementó el contenido de ácido cítrico, compuestos fenólicos y favoreció la proporción recomendable de ingesta entre omega 3 y omega 6 en frutos de frambuesa.

Las aspersiones foliares de ácidos húmicos y fúlvicos, incrementaron los compuestos fenólicos y favorecieron la proporción recomendable de ingesta entre omega 6 y omega 3 en frutos de frambuesa., basándonos en los estándares de calidad las aplicaciones influyeron de manera positiva en la relación °Brix-ácido cítrico.

Aspersiones foliares de ácido glutámico, favoreció la relación recomendada de ingesta entre omega 3 y omega 6 en frutos de frambuesa.

Las aplicaciones exógenas de peróxido de hidrógeno, ácido glutámico, extracto de algas marinas y ácido salicílico, indujeron la floración temprana en plantas de frambuesa en comparación a las plantas del control.

La aplicación de ácido salicílico incrementó el número de cargadores en plantas de frambuesa y número de frutos por planta.

## REFERENCIAS

- Ahmad, I., Basra, S. M. A., Afzal, I., Farooq, M., & Wahid, A. (2013). Growth improvement in spring maize through exogenous application of ascorbic acid, salicylic acid and hydrogen peroxide. *International Journal of Agriculture and Biology*, *15*(1), 95–100.
- Albarracín, S. L., Baldeón, M. E., Sangronis, E., Petruschina, A. C., & Reyes, F. G. R. (2016). L-Glutamato: Un aminoácido clave para las funciones sensoriales y metabólicas. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, *66*(2), 101–112.
- Ashraf, M. A., Rasheed, R., Hussain, I., Iqbal, M., Haider, M. Z., Parveen, S., & Sajid, M. A. (2015). Hydrogen peroxide modulates antioxidant system and nutrient relation in maize (*Zea mays* L.) under water-deficit conditions. *Archives of Agronomy and Soil Science*, *61*(4), 507–523. <https://doi.org/10.1080/03650340.2014.938644>
- Atanacković, M., Cvejić, J., Gojković-Bukarica, L., Veljović, M., Despotović, S., Pecić, S., Gaćeša, B., & Leskošek-Čukalović, I. (2012). Quantitative determination of total anthocyanins and flavonoids in natural products obtained from grapes and malt. *CEFood 2012 - Proceedings of 6th Central European Congress on Food, May*, 183–188.
- Baba, T. R., Ali, A., Kumar, A., & Husain, M. (2017). Effect of exogenous application of salicylic acid and triacontanol on growth characters and yield of strawberry. *The Pharma Innovation Journal*, *6*, 274–279.
- Baldotto, M. A., & Baldotto, L. E. B. (2013). Gladiolus development in response to bulb treatment with different concentrations of humic acids. *Revista Ceres*, *60*(1), 138–142. <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2013000100020>
- Battacharyya, D., Babgohari, M. Z., Rathor, P., & Prithiviraj, B. (2015). Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, *196*, 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.012>
- Bienert, G. P., Schjoerring, J. K., & Jahn, T. P. (2006). Membrane transport of hydrogen peroxide. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, *1758*(8), 994–1003. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2006.02.015>
- Borges, G. D. S. C., Gonzaga, L. V., Jardini, F. A., Mancini Filho, J., Heller, M., Micke, G., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2013). Protective effect of *Euterpe edulis* M. on Vero cell culture and antioxidant evaluation based on phenolic composition using HPLC-ESI-MS/MS. *Food Research International*, *51*(1), 363–369. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.035>
- Brewer, M. S. (2011). Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *10*(4), 221–247. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x>
- Burlingame, B., Nishida, C., Uauy, R., & Weisell, R. (2009). Fats and fatty acids in human nutrition: Introduction. *Annals of Nutrition and Metabolism*, *55*(1–3), 5–7. <https://doi.org/10.1159/000228993>
- Cabrita, A. R. J., Maia, M. R. G., Oliveira, H. M., Sousa-Pinto, I., Almeida, A. A., Pinto, E., & Fonseca, A. J. M. (2016). Tracing seaweeds as mineral sources for farm-animals. *Journal of Applied Phycology*, *28*(5), 3135–3150. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0839-y>
- Canellas, Luciano P., Olivares, F. L., Aguiar, N. O., Jones, D. L., Nebbioso, A., Mazzei, P., & Piccolo, A. (2015). Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture.

- Scientia Horticulturae*, 196, 15–27. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.013>
- Canellas, Luciano Pasqualoto, Olivares, F. L., Okorokova-Façanha, A. L., & Façanha, A. R. (2002). Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiology*, 130(4), 1951–1957. <https://doi.org/10.1104/pp.007088>
- Castellanos-Barriga, L. G., Santacruz-Ruvalcaba, F., Hernández-Carmona, G., Ramírez-Briones, E., & Hernández-Herrera, R. M. (2017). Effect of seaweed liquid extracts from *Ulva lactuca* on seedling growth of mung bean (*Vigna radiata*). *Journal of Applied Phycology*, 29(5), 2479–2488. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1082-x>
- Catalá, A. (2006). An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 38(9), 1482–1495. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.02.010>
- Chandra, A., Anand, A., & Dubey, A. (2007). Effect of salicylic acid on morphological and biochemical attributes in cowpea. *Journal of Environmental Biology*, 28(2), 193–196.
- Colla, G., Nardi, S., Cardarelli, M., Ertani, A., Lucini, L., Canaguier, R., & Rouphael, Y. (2015). Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 28–38. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.037>
- Craigie, J. S. (2011). Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 371–393. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9560-4>
- Crouch, I. J., & Van Staden, J. (1992). Effect of seaweed concentrate on the establishment and yield of greenhouse tomato plants. *Journal of Applied Phycology*, 4(4), 291–296. <https://doi.org/10.1007/BF02185785>
- Drobek, M., Frac, M., & Cybulska, J. (2019). Plant biostimulants: Importance of the quality and yield of horticultural crops and the improvement of plant tolerance to abiotic stress-a review. *Agronomy*, 9(6). <https://doi.org/10.3390/agronomy9060335>
- du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- Elansary, H. O., Yessoufou, K., Shokralla, S., Mahmoud, E. A., & Skalicka-Woźniak, K. (2016). Enhancing mint and basil oil composition and antibacterial activity using seaweed extracts. *Industrial Crops and Products*, 92, 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.048>
- Farahi, M. H., Aboutalebi, A., Eshghi, S., Dastyaran, M., & Yosefi, F. (2013). Foliar Application of Humic Acid on Quantitative and Qualitative Characteristics of 'Aromas' Strawberry in Soilless Culture. *Agricultural Communications*, 1(1), 13–16.
- Flores, R. A., Ayala, A. B., García, M. H., Moreno, F. B., & Aceves, A. M. (2015). Fitohormonas y bioestimulantes para la floración, producción y calidad de lima mexicana de invierno \* Phytohormones and bio-stimulants to flowering, production and quality of Mexican lime in winter Resumen Introducción. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 6(7), 1653–1666.
- Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. (1987). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 55(5), 999–1033.
- Foyer, C. H., & Noctor, G. (2003). Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum*,

- 119(3), 355–364. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00223.x>
- Foyer, C. H., & Noctor, G. (2005). Oxidant and antioxidant signalling in plants: A re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant, Cell and Environment*, 28(8), 1056–1071. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01327.x>
- Gad, M., Abdul-Hafeez, E., & Ibrahim, O. (2016). Foliar application of salicylic acid and gibberellic acid enhances growth and flowering of *Ixora coccinea* L. *Plants. Journal of Plant Production*, 7(1), 85–91. <https://doi.org/10.21608/jpp.2016.43477>
- Garcia, R. J. C. (2016). *El cultivo del frambueso*. <http://www.serida.org/pdfs/6085.pdf>
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. E., & Karimi, E. (2012). Involvement of salicylic acid on antioxidant and anticancer properties, anthocyanin production and chalcone synthase activity in ginger (*zingiber officinale* roscoe) varieties. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(11), 14828–14844. <https://doi.org/10.3390/ijms131114828>
- Gómez Candela, C., Bermejo López, L. M., & Loria Kohen, V. (2011). Importancia del equilibrio del índice omega-6/omega-3 en el mantenimiento de un buen estado de salud. recomendaciones nutricionales. *Nutricion Hospitalaria*, 26(2), 323–329. <https://doi.org/10.3305/nh.2011.26.2.5117>
- Guiry, M. D. (2012). How many species of algae are there? *Journal of Phycology*, 48(5), 1057–1063. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2012.01222.x>
- H. Robert Horton, Laurence A. Moran, K. G., & Scrimgeour, M. D. P. and J. D. R. (2008). *Principios de Bioquímica, Cuarta edición* (Cuarta). Pearson Education.
- Harwood, J. L. (1988). Fatty Acid Metabolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 39(1), 101–138. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.39.060188.000533>
- Hixson, S. M. (2014). Fish nutrition and current issues in aquaculture: The Balance in providing safe and nutritious seafood, in an environmentally sustainable manner. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 5(3). <https://doi.org/10.4172/2155-9546.1000234>
- Hooper, L. (2002). Lipid biochemistry. In *Journal of Human Nutrition and Dietetics* (Vol. 15, Issue 6). <https://doi.org/10.1046/j.1365-277x.2002.00394.x>
- Intagri. (2017). El Cultivo de la Frambuesa. *Artículos Técnicos de Intagri*, 49. <https://www.intagri.com/articulos/frutillas/el-cultivo-de-la-frambuesa>
- Intagri. (2018). El Ácido Glutámico en la Bioestimulación de los Cultivos. *Artículos Técnicos de INTAGRI*, 5. <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/el-acido-glutamico-en-la-bioestimulacion-de-los-cultivos>
- Jamali, B., Eshghi, S., & Tafazoli, E. (2006). Vegetative and reproductive growth of strawberry plant cv. “Pajaro” affected by salicylic acid and nickel. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 32(1), 1–12. <https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?ID=216853>
- Juárez-Maldonado, A., Ortega-Ortíz, H., Morales-Díaz, A. B., González-Morales, S., Morelos-Moreno, Á., Cabrera-De la Fuente, M., Sandoval-Rangel, A., Cadenas-Pliego, G., & Benavides-Mendoza, A. (2019). Nanoparticles and nanomaterials as plant biostimulants. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(1), 1–19. <https://doi.org/10.3390/ijms20010162>
- Kang, J. X., & Wang, J. (2005). A simplified method for analysis of polyunsaturated fatty acids. *BMC Biochemistry*, 6, 4–7. <https://doi.org/10.1186/1471-2091-6-5>
- Karlıdag, H., Yildirim, E., & Turan, M. (2009). Exogenous applications of salicylic acid

- affect quality and yield of strawberry grown under antifrost heated greenhouse conditions. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 172(2), 270–276. <https://doi.org/10.1002/jpln.200800058>
- Khan, T. A., Yusuf, M., & Fariduddin, Q. (2018). Hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism: Signalling and its effect under abiotic stress. *Photosynthetica*, 56(4), 1237–1248. <https://doi.org/10.1007/s11099-018-0830-8>
- Khokon, M. A. R., Okuma, E., Hossain, M. A., Munemasa, S., Uraji, M., Nakamura, Y., Mori, I. C., & Murata, Y. (2011). Involvement of extracellular oxidative burst in salicylic acid-induced stomatal closure in Arabidopsis. *Plant, Cell and Environment*, 34(3), 434–443. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02253.x>
- Kovtun, Y., Chiu, W. L., Tena, G., & Sheen, J. (2000). Functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cascade in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(6), 2940–2945. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.6.2940>
- Kumari, R., Kaur, I., & Bhatnagar, A. K. (2011). Effect of aqueous extract of *Sargassum johnstonii* Setchell & Gardner on growth, yield and quality of *Lycopersicon esculentum* Mill. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 623–633. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9651-x>
- Li, J. T., Qiu, Z. B., Zhang, X. W., & Wang, L. S. (2011). Exogenous hydrogen peroxide can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(3), 835–842. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0608-5>
- Li, Y., & Mattson, N. S. (2015). Effects of seaweed extract application rate and method on post-production life of petunia and tomato transplants. *HortTechnology*, 25(4), 505–510. <https://doi.org/10.21273/horttech.25.4.505>
- Lola-luz, T., Hennequart, F., & Gaffney, M. (2014). Effect on yield , total phenolic , total flavonoid and total isothiocyanate content of two broccoli cultivars ( *Brassica oleracea* var *italica* ) following the application of a commercial brown seaweed extract ( *Ascophyllum nodosum* ). *Agricultural and Food Science*, November 2013, 28–37.
- Madrid, M., & Beaudry, R. (2020). Small fruits: Raspberries, blackberries, blueberries. In *Controlled and Modified Atmospheres for Fresh and Fresh-Cut Produce*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-804599-2.00020-x>
- Medina, G. (2013). Aceites y grasas comestibles. *Universidad de Atioquia*, 1–25. [http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/file.php/424/Gilma\\_Medina/Grasasy\\_aceites/Documento\\_Grasas\\_y\\_aceites.pdf](http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/file.php/424/Gilma_Medina/Grasasy_aceites/Documento_Grasas_y_aceites.pdf)
- Mejía-Teniente, L., Duran-Flores, F. de D., Chapa-Oliver, A. M., Torres-Pacheco, I., Cruz-Hernández, A., González-Chavira, M. M., Ocampo-Velázquez, R. V., & Guevara-González, R. G. (2013). Oxidative and molecular responses in capsicum annum L. after hydrogen peroxide, salicylic acid and chitosan foliar applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(5), 10178–10196. <https://doi.org/10.3390/ijms140510178>
- Mendoza, A. B. (2002). Estrategias para el uso de los mecanismos naturales de tolerancia al estrés en plantas. *Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro*, June 2004, 1–9.
- Mishra, A., Patel, M. K., & Jha, B. (2015). Non-targeted metabolomics and scavenging activity of reactive oxygen species reveal the potential of *Salicornia brachiata* as a functional food. *Journal of Functional Foods*, 13, 21–31.

- <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.027>
- Mohamed, R., Abdelbaset, A.-K., & Abd-Elkader, D. Y. (2018). Salicylic Acid Effects on Growth, Yield, and Fruit Quality of Strawberry Cultivars. *Journal of Medicinally Active Plants*, 6(2), 1–11. <https://scholarworks.umass.edu/jmap/vol6/iss2/2>
- Morsomme, P., & Boutry, M. (2000). The plant plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase: Structure, function and regulation. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1465(1–2), 1–16. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(00\)00128-0](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(00)00128-0)
- Mozaffarian, D., & Wu, J. H. Y. (2011). Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: Effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. *Journal of the American College of Cardiology*, 58(20), 2047–2067. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2011.06.063>
- Muñoz, A., Sáenz, A., López, L., Cantú, L., & Barajas, L. (2014). Citric Acid: Interesting Compound. *Revista Científica de La Universidad Autónoma de Coahuila. AQM Acta Química Mexicana*, 6(12), 1–6. [posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.12/4.pdf](http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.12/4.pdf)  
<http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.12/4.pdf>
- Napier, J. A., & Graham, I. A. (2010). Tailoring plant lipid composition: Designer oilseeds come of age. *Current Opinion in Plant Biology*, 13(3), 329–336. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2010.01.008>
- Neri, D., Lodolini, E. M., Savini, G., Sabbatini, P., Bonanomi, G., & Zucconi, F. (2002). Foliar application of humic acids on strawberry (cv Onda). *Acta Horticulturae*, 594(November), 297–302. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.594.35>
- Ozaki, K., Uchida, A., Takabe, T., Shinagawa, F., Tanaka, Y., Takabe, T., Hayashi, T., Hattori, T., Rai, A. K., & Takabe, T. (2009). Enrichment of sugar content in melon fruits by hydrogen peroxide treatment. *Journal of Plant Physiology*, 166(6), 569–578. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.08.007>
- Pan, A., Chen, M., Chowdhury, R., Sun, Q., Campos, H., Mozaffarian, D., & Hu, F. B. (2012).  $\alpha$ -Linolenic acid and risk of cardiovascular disease : a systematic. *Am J Clin Nutr*, 96(6), 1262–1273. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.044040>.INTRODUCTION
- Pastori, G. M., & Foyer, C. H. (2008). Common Components, Networks, and Pathways of Cross-Tolerance to Stress. The Central Role of “Redox” and Abscisic Acid-Mediated Controls. *Plant Physiology*, 129, 79–85. <https://doi.org/10.1104/pp.011021.460>
- Puthur, J. T. (2016). *Antioxidants and cellular antioxidation mechanism in plants*. 2(1), 14–17.
- Radočaj, O., Vujasinović, V., Dimić, E., & Basić, Z. (2014). Blackberry (*Rubus fruticosus* L.) and raspberry (*Rubus idaeus* L.) seed oils extracted from dried press pomace after longterm frozen storage of berries can be used as functional food ingredients. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(8), 1015–1024. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400014>
- Reza, M., & Rigi, K. (2014). *Review article Young Researchers and Elite Club , Zahedan Branch , Islamic Azad University , Zahedan , Iran Young Researchers and Elite Club , Zahedan Branch , Islamic Azad University , Zahedan , Iran Corresponding author email : krigi66@yahoo.com Chlorop*. 291–296.
- Righini, H., Roberti, R., & Baraldi, E. (2018). Use of algae in strawberry management. *Journal of Applied Phycology*, 30(6), 3551–3564. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1478-2>

- Rose, M. T., Patti, A. F., Little, K. R., Brown, A. L., Jackson, W. R., & Cavagnaro, T. R. (2014). A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: Practical implications for agriculture. In *Advances in Agronomy* (1st ed., Vol. 124). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800138-7.00002-4>
- Ruiz-Lopez, N., Haslam, R. P., Napier, J. A., & Sayanova, O. (2014). Successful high-level accumulation of fish oil omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in a transgenic oilseed crop. *Plant Journal*, 77(2), 198–208. <https://doi.org/10.1111/tpj.12378>
- Sagarpa. (2017). Frutas del bosque. *Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural*. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257076/Potencial-Frutas\\_del\\_Bosque.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257076/Potencial-Frutas_del_Bosque.pdf)
- Sariñana-aldaco, O., Esteban, S., & Troyo-di, E. (2020). Foliar Aspersion of Salicylic Acid Improves Nutraceutical Quality and Fruit Yield in Tomato. *Agriculture*, 10(10), 482. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/agriculture10100482>
- Sariñana-Aldaco, O., Sanchez-Chavez, E. Fortis-Hernández, M., González-Fuentes, J.A. Moreno-Resendez, A., Rojas-Duarte, A., & Preciado-Rangel, P. (2020). Improvement of the nutraceutical quality and yield of tomato by application of salicylic acid. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 48(2), 882–892. <https://doi.org/10.15835/nbha48211914>
- Sasaki, Y., & Nagano, Y. (2004). Plant acetyl-CoA carboxylase: Structure, biosynthesis, regulation, and gene manipulation for plant breeding. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 68(6), 1175–1184. <https://doi.org/10.1271/bbb.68.1175>
- Schiavon, M., Pizzeghello, D., Muscolo, A., Vaccaro, S., Francioso, O., & Nardi, S. (2010). High molecular size humic substances enhance phenylpropanoid metabolism in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Chemical Ecology*, 36(6), 662–669. <https://doi.org/10.1007/s10886-010-9790-6>
- Schiener, P., Black, K. D., Stanley, M. S., & Green, D. H. (2014). The seasonal variation in the chemical composition of the kelp species *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea*, *Saccharina latissima* and *Alaria esculenta*. *Journal of Applied Phycology*, 27(1), 363–373. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0327-1>
- Schmidt, R., Mieulet, D., Hubberten, H. M., Obata, T., Hoefgen, R., Fernie, A. R., Fisahn, J., San Segundo, B., Guiderdoni, E., Schippers, J. H. M., & Mueller-Roebera, B. (2013). Salt-responsive ERF1 regulates reactive oxygen species-dependent signaling during the initial response to salt stress in rice. *Plant Cell*, 25(6), 2115–2131. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.113068>
- Sengupta, G., Gaurav, A., & Tiwari, S. (2018). Substituting medicinal plants through drug synthesis. In *Synthesis of Medicinal Agents from Plants*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102071-5.00003-9>
- Serna-rodríguez, J. R., Castro-brindis, R., Colinas-león, M. T., Sahagún-, J., Rodríguez-pérez, J. E., Foliar, A., Glutámico, D. E. Á., Plantas, E. N., Lycopersicon, D. E. J., Jitomate, P. D. E., & Sahagún-castellanos, J. (2011). Aplicación foliar de ácido glutámico en plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 17(1)(April), 9–13.
- Shenoy, N., Creagan, E., Witzig, T., & Levine, M. (2018). Ascorbic Acid in Cancer Treatment: Let the Phoenix Fly. *Cancer Cell*, 34(5), 700–706. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.07.014>
- Simopoulos, A. P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty

- acids. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 56(8), 365–379. [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(02\)00253-6](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(02)00253-6)
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, 299(1974), 152–178. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.11.004>
- Skrovankova, S., Sumczynski, D., Mlcek, J., Jurikova, T., & Sochor, J. (2015). Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(10), 24673–24706. <https://doi.org/10.3390/ijms161024673>
- Soppelsa, S., Kelderer, M., Casera, C., Bassi, M., Robatscher, P., Matteazzi, A., & Andreotti, C. (2019). Foliar applications of biostimulants promote growth, yield and fruit quality of strawberry plants grown under nutrient limitation. *Agronomy*, 9(9), 1–22. <https://doi.org/10.3390/agronomy9090483>
- Swanson, D., Block, R., & Mousa, S. A. (2012). Omega-3 Fatty Acids EPA and DHA : Health. *Journal of Advanced Nutrition*, 3, 1–7. <https://doi.org/10.3945/an.111.000893.Omega-3>
- Tarantino, A., Lops, F., Disciglio, G., & Lopriore, G. (2018). Effects of plant biostimulants on fruit set, growth, yield and fruit quality attributes of ‘Orange rubis®’ apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivar in two consecutive years. *Scientia Horticulturae*, 239(May), 26–34. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.04.055>
- Teixeira, W. F., Fagan, E. B., Soares, L. H., Umburanas, R. C., Reichardt, K., & Neto, D. D. (2017). Foliar and seed application of amino acids affects the antioxidant metabolism of the soybean crop. *Frontiers in Plant Science*, 8(March), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00327>
- Tocher, D. R. (2009). Issues surrounding fish as a source of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. *Lipid Technology*, 21(1), 13–16. <https://doi.org/10.1002/lite.200800079>
- Tocher, D. R., Betancor, M. B., Sprague, M., Olsen, R. E., & Napier, J. A. (2019). Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids, EPA and DHA: Bridging the gap between supply and demand. *Nutrients*, 11(1), 1–20. <https://doi.org/10.3390/nu11010089>
- Ugolini, L., Cinti, S., Righetti, L., Stefan, A., Matteo, R., D’Avino, L., & Lazzeri, L. (2015). Production of an enzymatic protein hydrolyzate from defatted sunflower seed meal for potential application as a plant biostimulant. *Industrial Crops and Products*, 75, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.11.026>
- Vandenabeele, S., Van Der Kelen, K., Dat, J., Gadjev, I., Boonefaes, T., Morsa, S., Rottiers, P., Slooten, L., Van Montagu, M., Zabeau, M., Inzé, D., & Van Breusegem, F. (2003). A comprehensive analysis of hydrogen peroxide-induced gene expression in tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(26), 16113–16118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2136610100>
- Wakil, S. J. (1989). Fatty Acid Synthase, A Proficient Multifunctional Enzyme. *Biochemistry*, 28(11), 4523–4530. <https://doi.org/10.1021/bi00437a001>
- Zermeño Gonzalez, A., López Rodríguez, B. R., Melendres Alvarez, A. I., Ramírez Rodríguez, H., Cárdenas Palomo, J. O., & Munguía López, J. P. (2018). Extracto de alga marina y su relación con fotosíntesis y rendimiento de una plantación de vid. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12, 2437. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i12.773>

- Zhang, Y., Zhang, Z., Yang, Y., Zu, X., Guan, D., & Wang, Y. (2011). Diuretic activity of *Rubus idaeus* L (Rosaceae) in rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, *10*(3), 243–248. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v10i3.15>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. In *Food Chemistry* (Vol. 64, Issue 4, pp. 555–559). [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)