

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA



Metabolitos Relacionados a la Defensa en Plantas de Tomate
(*Solanum lycopersicum* L.) Bajo Estrés Abiótico

Por:

CÉSAR AUGUSTO MARTÍNEZ SANTIAGO

TESIS

Presentada como requisito para obtener el título de

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila, México.

Abril de 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Metabolitos Relacionados a la Defensa en Plantas de Tomate
(*Solanum lycopersicum* L.) Bajo Estrés Abiótico

Por:

CÉSAR AUGUSTO MARTÍNEZ SANTIAGO


TESIS


Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Aprobada por el Comité de Asesoría:

Dr. Adalberto Benavides Mendoza
Asesor Principal


Dra. Susana González Morales
Coasesor


Dr. Marcelino Cabrera De La Fuente
Coasesor


Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coordinador de División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Abril del 2017



DEDICATORIA

Con profundo amor y admiración a mi familia:

A mis amados padres a quienes nunca podré expresar todo el agradecimiento por haber confiado en mí a pesar de todos los momentos difíciles que llegué a provocar durante mi adolescencia, las voces que hicieron dudar al mundo en una medida comprensible y que ustedes se rehusaron a escuchar, manteniendo la fe y el anhelo de que siguiera el camino indicado aun cuando lo gris de mis pensamientos lo hacía parecer cada vez más lejos con el pasar de los días. A ustedes que siempre estuvieron ahí cuando incluso yo ya no quería estarlo, a ti padre mío, quien recordaré por el silencio a tu alrededor que hacia reflejar todo el sentimiento de tu ser en la tranquilidad de tu mirada, a ti madre mía, que siempre formarás parte de ese cálido fuego que llevo en el corazón por enseñarme a tocar al mundo con el más sublime de los sentidos, pero por sobre todo por mostrarme ese gran amor incondicional y esa fuerza defensora que llevas dentro, a ustedes quienes recordaré hasta el momento en el que la luz del día abandone el brillo de mis ojos, pues no hay amor más puro, coraje, fuerza o sacrificio, que el que ustedes me han demostrado, los amaré hoy y siempre.

A MIS HERMANOS:

Por formar parte indispensable en mi vida, a ustedes quienes lograron aliviar mis momentos de soledad en la amplitud de aquellos fríos días, a ustedes quienes han formado parte de los sueños que me han mostrado cuan doloroso será el mundo el día en que no pueda verlos más. A ustedes que jugaron conmigo y ahora comparten la esperanza de una vida mejor en compañía nuestra pequeña familia, les expreso el gran amor que siempre he sentido por ustedes.

A MIS ABUELOS:

A Leonel, Lucía y Margarita, a quienes veo al cerrar los ojos, a quienes escucho reír en el silencio de mi mente, a quienes puedo abrazar únicamente a través de la dimensión formada entre el recuerdo y mi presente, a quienes espero encontrar después de que el sueño cubra mi cuerpo para siempre. Les agradezco por haberme ofrecido lo mejor de ustedes a través de mis amados padres, esperando el día, en el que sin temor a ese instante, sean ustedes aquellos, quienes me reciban con el manto de la familia que nos cobije para siempre.

AGRADECIMIENTOS

A esa fuerza que nos permite intentar, a esa fuerza que nos hace fallar, que nos permite levantarnos, que nos permite intentarlo nuevamente, a esa fuerza invisible que nos permite pensar y existir a través del tiempo y el espacio.

A mi ALMA MATER, por brindarme conocimientos, no solo académicos, si no el transmitido en cada uno de los momentos que pude experimentar a través de ella, por brindarme el brillo de la juventud y los mejores años del inicio en mí desarrollo personal y profesional.

Al Dr. José Antonio González Fuentes. Por haber depositado parte de su confianza y despertar en mí la inquietud de las ambiciones proporcionadas por ese éxito que nos devuelve la mirada desafiante.

Al Dr. Alberto Sandoval Rangel. Por sus consejos, su objetividad y sus enseñanzas, pero sobre todo, por las bromas que siempre hicieron de él un profesionalista único e inigualable.

Al Dr. Ricardo Requejo López. Quien fue una fuente de admiración, fuente de conocimiento, faro de iluminación. Por haberme brindado el conocimiento y sentido de autoconfianza necesaria para superar mis propios límites.

A M.C. Ema Laura García Enciso, por la paciencia demostrada y la dedicación en asesorarme hasta el final de un trabajo que parecía imposible. Gracias por ese empeño inamovible por elaborar un trabajo de calidad. Me llevo esa parte de ti.

Al Dr. Adalberto Benavides Mendoza, Dra. Susana González Morales y al Dr. Marcelino Cabrera De La Fuente, por formar parte de este trabajo y ser quienes asistan mi presentación, gracias por su tiempo.

A los amigos que formaron parte de cada una de las locuras que pudimos idear durante todo este tiempo. A Erik Serrano y Diego López, quienes siempre me orientaron con su experiencia, habilidades y conocimientos, quienes compartieron buenos y malos momentos, miedos y esperanzas, pero sobre todo, por rescatarme en aquellos momentos de extrema necesidad. Nunca los olvidaré.

A Jesús Moreno Hernández. Por enseñarme a experimentar la intensidad de cada uno de los momentos que elegimos pasar con nuestros amigos, por compartir momentos de inspiración, anhelos y fantasías sobre la vida en aquellas pláticas que ameritaron el enervante efecto del tabaco bajo el manto oscuro de una noche fría. Por cada uno de los momentos en los que convivimos y que hicimos pasar a la historia para ser contados hasta el cansancio. Gracias por enseñarme a vivir la vida con todo su color.

A Jorge Luis Vicente Hernández. Por enseñare a pensar con ingenio, por motivarnos a explorar nuestras habilidades y por compartir sus bromas y experiencias.

A Víctor Emiliano Madrigal Hernández. Por ser la chispa de intelecto y filosofía, pero sobre todo por hacernos reír con sus magníficas bromas y por contar mejor que nadie cada una de las anécdotas que creamos.

A Teresa Ramírez Ramírez e Hilda Ortiz Mendoza. Por su intelecto y por ser buenas amigas. Gracias por escucharme cuando llegué a necesitarlo. Siempre recordaré las risas que pasamos.

A Miguel Castillo Rodríguez y Manuel Elías Soto, David Colorado Ruiz, Joshua G. Moreno Luna, Samuel Villegas Mondragón y Karla Paola González Martínez, a David Martínez Pazarán y Yonatan García Sampayo, con quienes llegué a vivir inolvidables aventuras, y que sin ellos esta experiencia no habría sido tan florida como hoy. Siempre los recordaré.

A la casa de los amigos, integrada por Miguel Angel Rodríguez Beas, Fabio Saúl López Arellano, Addy Bonilla, Diego López y Jesús Moreno, fue una suerte vivir con ustedes, vivimos momentos inolvidables, gracias por cada detalle.

Especialmente, a Néstor García Zárate. Por ofrecerme la más sincera de las amistades, por formar parte esencial en mi vida y por permitirme desarrollar todo el esplendor de mi ser. Te deseo lo mejor de la suerte en la vida amigo mío, esperando algún día volverte a ver.

CONTENIDO

INDICE DE FIGURAS	vi
INDICE DE CUADROS	vii
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
Objetivos	4
Hipótesis	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
Importancia económica del tomate en México	5
La producción de tomate: sistemas de producción	5
El recurso hídrico en los cultivos	6
Condiciones de estrés	7
Estrés hídrico.....	8
Inductores de resistencia	10
Extractos vegetales como inductores de resistencia	12
MATERIALES Y MÉTODOS	14
Localización del sitio experimental	14
Desarrollo del experimento	15
Fertirrigación.....	15
Muestreos	16
Clorofilas	17
Fenoles	18
Extracción de proteínas	19
Actividad de la Fenilalanina Amonio Liasa.....	19
Actividad Peroxidasa	19
Prolina.....	20
Diseño experimental utilizado en campo y análisis estadístico.....	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
Clorofila a.....	21
Clorofila b.....	23

Relación clorofila a/b.....	26
Clorofila Total.....	27
Fenoles.....	30
Actividad Fenilalanina Amonio Liasa	33
Actividad Peroxidasa	35
Prolina.....	37
CONCLUSIONES	40
LITERATURA CITADA.....	41

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sitio experimenta. Invernaderos de Horticultura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.	14
Figura 2. Laboratorios de Fisiología Vegetal. Departamento de Horticultura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.	15
Figura 3. Comportamiento de la clorofila a en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico en diferentes etapas del cultivo.	23
Figura 4. Comportamiento de la clorofila b en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico en diferentes etapas del cultivo.	25
Figura 5. Comportamiento del comportamiento entre la relación de la clorofila a y b en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico en diferentes etapas del cultivo....	27
Figura 6. Comportamiento de la clorofila total en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico en diferentes etapas del cultivo.	30
Figura 7. Comportamiento de fenoles totales en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico en diferentes etapas del cultivo.	32
Figura 8. Actividad específica de la enzima fenilalanina amonio liasa en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico en diferentes etapas del cultivo.	35
Figura 9. Actividad peroxidasa en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico en diferentes etapas del cultivo.....	36
Figura 10. Contenido de prolina en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico en diferentes etapas del cultivo.....	39

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de tratamientos.	16
Tabla 2. Cronología de los muestreos realizados	17

RESUMEN

El siguiente estudio se desarrolló durante el ciclo primavera-verano del año 2016, bajo un invernadero experimental de mediana tecnología, perteneciente al departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coahuila. El objetivo de este experimento fue evaluar el efecto de extractos vegetales en calidad de elicitor o inductor de resistencia a estrés hídrico sobre el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*). Se evaluó únicamente el efecto de este producto sobre la variedad de tomate Rio Grande. El experimento se estableció mediante un diseño completamente al azar y fue constituido por un testigo absoluto, un tratamiento con la aplicación del déficit hídrico más la aplicación del elicitor y un testigo para el déficit hídrico. Cada tratamiento estuvo compuesto por 20 repeticiones, de los cuales se eligieron 5 repeticiones al azar, para la obtención de muestras foliares durante 7 muestreos realizados a los 15, 24, 27, 28, 29, 20 y 21 días después del trasplante (DDT). Estos tejidos foliares fueron sometidos posteriormente a una serie de análisis bioquímicos, donde se cuantificaron los niveles de clorofila a, b, total y la relación clorofila a/b. También se analizó la actividad de las enzimas peroxidasa y fenilalanina amonioliasa y los contenidos de fenoles y prolina, esto con la finalidad de relacionarlos con la manifestación de resistencia a estrés hídrico. Los estudios determinaron que la actividad de la fenilalanina amonio-liasa y los niveles en contenido de fenoles y prolina se vieron modificados positivamente sobre el tratamiento que fue sometido a estrés hídrico y la aplicación del elicitor, lo anterior está relacionado a la resistencia al estrés hídrico mediante el incremento de metabolitos propios de la resistencia sistémica en plantas.

Palabras clave: Estrés hídrico, elicitores, fenilalanina amonioliasa, prolina, compuestos fenólicos

INTRODUCCIÓN

Para México la producción de tomate representa la mayor aportación agronómica vegetal dado que, en la mayoría de las culturas alrededor del mundo se tiene una gran aceptación sobre este producto, de acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera México se ha consolidado como primer exportador de tomate, ya que la producción de esta hortaliza en el país asciende a 3,098,329.41 Ton con un valor de producción de \$ 20,639,978.73, en una superficie de 50,595.56 Ha (SIAP, 2015). Esto ha sido impulsado por el crecimiento de las extensiones productoras en los últimos años en estados como Sinaloa y Baja California, transformando áreas de producción de cielo abierto a condiciones de horticultura protegida, la cual ha generado considerables aumentos en la producción (COLPOS, 2014). Sin embargo, en la producción bajo invernadero, la disponibilidad de agua comprende un factor determinante durante la etapa de producción, pues se llega a requerir hasta 2 litros de agua por día en promedio, a esto hay que sumar la consideración del aporte de la fertilización que incrementa los niveles de sales en el agua y los sustratos, elevando la CE que lleva a la generación de cuadros de estrés osmótico e hídrico en última instancia (Pardo, 2013). Si bien, el estrés hídrico se presenta de manera natural todos los días al superarse el nivel de absorción de agua por el de la transpiración, son los períodos prolongados de estrés hídrico los que modifican considerablemente el funcionamiento de las plantas (Díaz *et al.*, 1999), por esta razón la falta de agua es uno de los principales eventos que causan enormes pérdidas en la productividad y el rendimiento de los cultivos (Tripathi *et al.*, 2013), como consecuencia los cultivos que son sometidos constantemente a amplios lapsos de estrés hídrico tienden a perder potencial de rendimiento, también cierran sus estomas para disminuir su transpiración (Taiz y Zeiger, 1991) interrumpiendo la captación de CO₂ necesario para el proceso de la fotosíntesis, lo que origina el envejecimiento del cultivo, la maduración temprana de los frutos y provoca modificaciones morfológicas así como la disminución del tamaño, número de hojas y frutos y un aumento en la longitud del sistema radical, además de modificaciones en

el sistema fisiológico que interviene en la expresión de genes (Potters *et al.*, 2007; Shao *et al.*, 2008).

Aunque las respuestas al estrés hídrico son diferentes entre especies vegetales, todas cuentan con la información genética suficiente para percibir estas condiciones de estrés y responder moderadamente ante ellas (Bonerth *et al.*, 1995; Bonhert & Sheveleva, 1998), dichas respuestas pueden ocurrir produciendo enzimas para la síntesis de osmolitos y antioxidantes, entre otros. No obstante, este tipo de respuestas pueden promoverse mediante el uso de elicitores, los cuales se denominan como sustancias que provocan respuestas defensivas dentro de la planta, induciendo la producción de metabolitos secundarios a niveles que normalmente no se producen. Dentro de los elicitores se reconocen elicitores abióticos como la temperatura, luz UV, sales de metales pesados, pH, etc. y los bióticos que pueden ser micelio de hongos, bacterias, levaduras o moléculas que pueden poseer estructuras de oligosacáridos, glicoproteínas, péptidos y lípidos, donde cada uno puede obtenerse a partir de diversas fuentes, algunas son naturales, como por ejemplo los exoesqueletos de crustáceos y los extractos de algas marinas que se formulan para aplicarse exógenamente sobre los tejidos de las plantas (Ebel and Mithöfer, 1996; Savitha *et al.*, 2006; Pitta–Alvarez, *et al.*, 2000). Estos productos también pueden llamarse bioestimulantes cuando provienen de fuentes naturales, pues se encargan de estimular procesos naturales durante el crecimiento del cultivo mejorando las respuestas ante el estrés biótico y abiótico (Palazón, 2014). De esta manera se provee al cultivo de mecanismos de defensa que le permita sobrellevar las condiciones adversas que tengan lugar reduciendo el impacto de estos sobre su potencial productivo. Por lo que los bioestimulantes o elicitores naturales son considerados materiales que nos permiten inducir los mecanismos defensivos de las plantas ante diferentes condiciones de estrés y que además son amigables con el ambiente.

Objetivo General

Estudiar los cambios en la concentración de metabolitos relacionados con la defensa en plantas de tomate tratadas con extractos naturales bajo estrés por déficit hídrico.

Objetivos Específicos

1. Analizar el contenido de clorofila a, b y total en plantas de tomate tratadas con extractos naturales bajo estrés por déficit hídrico.
2. Analizar la concentración de compuestos fenólicos y prolina en plantas de tomate tratadas con extractos naturales bajo estrés por déficit hídrico.
3. Determinar la actividad enzimática de la peroxidasa y fenilalanina amonio liasa en plantas de tomate tratadas con extractos naturales bajo estrés por déficit hídrico.

Hipótesis

Los extractos naturales serán capaces de inducir la defensa en las plantas de tomate bajo estrés por déficit hídrico, modificando las concentraciones de metabolitos relacionados con la defensa en plantas.

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia económica del tomate en México

En 2016 se reportó en México una exportación de alrededor de 2.4 millones de toneladas de jitomate, siendo la hortaliza de mayor exportación en este país, además registro un valor de 20 mil millones de pesos para este mismo año. México participa con un 21% de las aportaciones de jitomate al mercado internacional, destinando más de 51 mil hectáreas para este cultivo y se estima que la producción alcanza los 2.8 millones de toneladas según las Estadísticas del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SAGARPA, 2016).

En los últimos 10 años la superficie de este cultivo ha disminuido, sin embargo, se ha registrado un aumento en el rendimiento por unidad de superficie. En términos de valor de producción el cultivo del jitomate se encuentra en el segundo lugar con más de 15.7 mil millones de pesos, cifra integrada en mayor medida por las producciones de los estados de Sinaloa, Michoacán, Zacatecas, San Luis Potosí, Baja California Sur y Jalisco (SAGARPA, 2016).

La producción de tomate: sistemas de producción

El cultivo del tomate en México se encuentra ampliamente distribuido gracias a la gran variedad de climas que posee, esto permite adoptar entre sistemas tradicionales, semi-tecnificados y altamente tecnificados aunque estos últimos representan altos costos de producción compensan dicha inversión con los altos rendimientos que llegan a alcanzar (Schwentenius & Gómez, 1998).

Independientemente del sistema que sea utilizado siempre existen factores que disminuyen el potencial productivo del cultivo como la radiación, los nutrientes disponibles, el manejo del cultivo y sobre todo la disponibilidad del factor hídrico en la cantidad necesaria para cada etapa fenológica del cultivo (Bastida, 2006).

El recurso hídrico en los cultivos

El agua es el elemento de mayor importancia en los cultivos debido a que la mayor parte de la estructura vegetal está conformada por agua, alcanzando valores que van desde el 80% hasta un 95% en distintos órganos y proporciones dentro de las plantas de acuerdo a sus necesidades metabólicas (González & Trejo, 2012), de manera que un cultivo en su etapa de crecimiento puede llegar a necesitar para el proceso de la transpiración hasta 4.5 litros de agua/m² en días en los que la radiación alcanza los 2,000 julios/cm² de energía (Lee, 2009). El gasto hídrico está determinado por la superficie en cm² con la habilidad de transpirar, y esto a su vez está determinado por el recurso hídrico y la presión que este ejerza sobre la carga genética durante el transcurso del desarrollo vegetal, permitiéndole adaptarse paulatinamente a la disponibilidad de agua mediante la modificación del tamaño y la cantidad de hojas (Medrano *et al.*, 2007). El agua también es responsable de la elongación del sistema radical, el cual depende de la elongación celular que genera el agua al proporcionar la fuerza necesaria para la expansión de dichas células (Acevedo, 1979).

El papel que interpreta el agua sobre los cultivos es determinante para diversas funciones como el transporte de nutrientes, transpiración y regulación de temperatura, producción de metabolitos, el proceso fotosintético y la respiración (FAO, 2002). El estado hídrico de las plantas resulta de un intercambio de agua entre el agua disponible en el suelo y la atmósfera, cuando la planta pierde más agua de la que absorbe se produce el déficit hídrico (Acevedo, 1979). Esto disminuye el funcionamiento de las plantas, interfiriendo principalmente con la captación de CO₂ debido al cierre estomático que en última instancia disminuye el potencial de producción debido a baja acumulación de biomasa (FAO, 2002).

El agua es el principal constituyente de los factores de estrés sobre los cultivos, debido a esto, las plantas se han especializado tanto morfológica como fisiológicamente a través de la evolución, desarrollando mecanismos ante los distintos niveles de déficit hídrico (Moreno, 2009).

Condiciones de estrés

Dentro de las condiciones desfavorables que pueden presentarse en el entorno donde se desarrollan las plantas, se reconocen tres tipos de estrés, el ambiental, el fisiológico y el bioquímico, el primero incluye al estrés por radiación, temperatura y los déficits hídricos. El segundo está relacionado con la morfología de la planta y procesos como la apertura estomática, la asimilación de CO₂ y la foto-respiración, mientras que el último incluye respuestas generadas debido a factores bióticos externos y la expresión génica que estos inducen sobre las plantas (Basurto *et al*, 2008).

Durante el ciclo de vida de los cultivos se presentan muchos factores adversos que les impiden alcanzar el máximo rendimiento, estos factores de estrés provocan alteraciones en diferentes etapas del ciclo fenológico de los cultivos, modificando sus respuestas bioquímicas y fisiológicas (BIOIBERICA, *sf.*), e interfiriendo con el óptimo fisiológico de cada especie (Lallana, 2004), de manera que el desarrollo y la producción de los cultivos está determinado por todos los factores de estrés que incidan en las diferentes etapas de crecimiento y el tiempo que estos se prolonguen (Kramer, 1983).

Las grandes alturas sobre el nivel del mar suelen generar condiciones de estrés que afectan a los sistemas vegetales, entre los factores que genera estas condiciones están los altos valores de radiación incidente que genera cutículas gruesas y disminuye la transpiración, las bajas temperaturas, las condiciones de sequedad debido a vientos intensos al remover las ligeras capas de humedad transpirada sobre las hojas, la falta de oxígeno y la baja tensión de CO₂ captado (Lallana, 2004).

Por otro lado, las temperaturas también constituyen uno de los factores más determinantes en la producción vegetal, pues son estas las que condicionan su sobrevivencia bajo determinadas condiciones, mientras que las bajas temperaturas pueden ocasionar congelamiento en los líquidos intracelulares, las altas temperaturas llegan a generar la desnaturalización de las proteínas si se ven

afectadas ciertas enzimas (Lallana, 2004). La resistencia de las plantas a elevadas temperaturas puede darse a causa de la alta velocidad de ciertos procesos biosintéticos bajo un elevado consumo energético de la planta, a la generación de isoenzimas resistentes y reconversión del amonio a ciertas formas nitrogenadas (Lallana, 2004).

Por otra parte la salinidad conforma uno de los factores que interviene con el óptimo desarrollo de los cultivos, estas sales se encuentran acumuladas fuertemente en áreas desérticas debido a la alta tasa de evaporación y los bajos niveles de precipitación (Benavides, 2002). Las sales que se concentran en mayor medida en estos suelos son los cloruros, sulfatos y bicarbonatos de sodio, calcio y magnesio que generan niveles altos de pH (Basurto *et al.*, 2008). La salinidad se convierte un problema cuando las altas concentraciones alteran la retención osmótica del agua y las alteraciones iónicas sobre el citoplasma y las membranas de las células de las raíces de los cultivos, afectando los sistemas enzimáticos de la glicólisis, el ciclo de Krebs y la fosforilación principalmente, lo que conduce a una disminución de la energía disponible y la asimilación de nutrientes, el crecimiento de la planta e incluso a germinación de las semillas (Larcher, 1995).

El estrés hídrico se genera en ambientes escasos de agua, cuando la transpiración excede el suministro de agua dentro de la planta, cuando se presentan bajas temperaturas o cuando existen condiciones de alta salinidad en los suelos (Moreno, 2009).

Estrés hídrico

La pérdida de agua es un proceso natural de las plantas que funciona como un regulador de la temperatura, esto se presenta durante el proceso de captación de CO₂, cuando a través de los estomas se liberan pequeñas cantidades de agua para mantener un determinado ritmo de crecimiento (Benavides, 2002)

El agua tiene un papel esencial dentro de los procesos metabólicos de la planta, un déficit de este se traduce rápidamente en una disminución de la fotosíntesis, afectando la expansión celular y su crecimiento y promoviendo una serie de

desórdenes en los procesos fisiológicos (Pugnaire *et al.*, 1994) y metabólicos que dependen en gran medida de la intensidad con la que se presente el déficit y el estado fenológico en el que el cultivo se encuentre (Díaz *et al.*, 1999). En general al presentarse la condición de déficit se genera un descenso en el potencial hídrico de las células de las plantas, así como su contenido hídrico relativo y la conductividad hídrica, lo que genera un descenso en la conductancia estomática y la expansión foliar, que a su vez afecta la difusión del CO₂ hacia el estroma, las reacciones fotoquímicas en el Ciclo de Calvin y el transporte de los asimilatos fabricados (Medrano *et al.*, 2007).

La limitación de la expansión foliar como medida de adaptación a la poca disponibilidad de agua en el medio, es una de las respuestas ante la falta de agua, modificando en contraparte el crecimiento radicular que continúa su desarrollo más allá del estrés en busca de aguas más profundas (Potters *et al.*, 2007; Shao *et al.*, 2008). Ante estas condiciones las plantas han desarrollado ciertas estrategias de tolerancia como el cierre de estomas debido a la acción del ácido abscísico (ABA) (Leung y Giraudat, 1998), que es una respuesta fisiológica de corto plazo. Las respuestas de aclimatación son variadas e incluyen ajustes osmóticos a través de la biosíntesis de osmolitos orgánicos de bajo peso molecular (Cushman, 2001), cambios en la elasticidad de la pared celular que se producen en el mediano plazo y adaptaciones que incluyen respuestas genéticas que se producen a largo plazo e incluyen redistribuciones de biomasa y modificaciones anatómicas transmitidas a generaciones posteriores (Pugnaire., *et al.* 1994).

Aunque los cultivos generan distintas respuestas morfofisiológicas como la acumulación de ceras en sus hojas, aumento en la longitud radical, disminución y redistribución de estomas o modificaciones en su metabolismo (Frensch, 1997), en general reaccionan de dos maneras, acelerando sus procesos de crecimiento mediante el uso eficiente del recurso hídrico disponible o afrontando el déficit mediante modificaciones morfológicas y fisiológicas (Turner, 1986; Padilla-Ramírez, 1994).

Inductores de resistencia

Cuando las plantas son atacadas por agentes bióticos generan sobre la planta una reacción que la protege de infecciones posteriores. A estas respuesta se les conoce como resistencia adquirida (Walters *et al.*, 2005) y resistencia inducida (RSA), donde ambas necesitan de un agente externo que induzca los mecanismos de defensa en los sitios afectados o medianamente generalizadas en toda la planta (Cavalcanti, *et al.*, 2005).

En la actualidad existen varios agentes químicos y naturales capaces de inducir distintos mecanismos de defensa ante agentes bióticos y abióticos (Raddatz, 2001). Estas sustancias son identificadas por las plantas (Schreiber & Desveaux, 2008), e inducen respuestas ante distintos factores ambientales y biológicos, permitiéndoles anticiparse y protegerse local y sistémicamente (Schreiber & Desveaux, 2008). Esta inducción autoprotectora se da al aplicarse estas sustancias de manera exógena (Cavalcanti, *et al.*, 2005), y se consideran una alternativa biológica y ambiental ante el uso de productos químicos (Riveros *et al.*, 2004).

Un ejemplo del efecto de los elicitores de origen biótico son las fitoalexinas que se producen después del ataque de ciertos organismos (Agrios, 1996). Las fitoalexinas son sintetizadas inmediatamente después del ataque, resultando tóxicas para un amplio espectro de hongos y bacterias fitopatógenas (Taiz y Zeiger, 1991). Aunque no está muy claro el proceso específico mediante el cual se producen estas sustancias se sabe que ciertos polisacáridos son generados por la pared celular de algunos hongos en el momento del ataque (Davis *et al.* 1984), de manera que a estas sustancias inductoras de fitoalexinas se les considera los “elicitores” (Ebel, 1986). Estos elicitores estimulan la transcripción del ARN mensajero del hospedero para codificar la expresión de las enzimas involucradas en la biosíntesis de las fitoalexinas (García & Pérez, 2003). Un ejemplo de estas fitoalexinas inducidas es la gliceolina I en células de soya, la cual tiene una naturaleza fenólica y es sintetizada por la fenilalanina amonioliasa (PAL) (García & Pérez, 2003).

En diversos esquemas planta-patógeno, se involucra a enzima fenilalanina amonio liasa (PAL), la cual participa en la vía fenilpropanoide, determinando la formación de compuestos fenólicos (Dixon & Pavia, 1995) y otras estructuras de defensa (Alain, 2000). La PAL es la enzima que regula la formación de múltiples metabolitos al catalizar la primera reacción de la ruta fenilpropanoide, de esta manera se relaciona con los mecanismos de defensa activados frente a otros escenarios (Mohammadi & Kamesi, 2002; Heather *et al.*, 2002, Modafar *et al.*, 2001).

También durante el ataques de algunos patógenos se induce la síntesis de compuestos fenólicos y la formación de estructuras de defensa (Higuera, 2001; Ardila & Higuera, 2005). Los compuestos fenólicos son antioxidantes con la flavona como estructura principal es la flavona, cuya función es mantener la integridad vascular al reducir la fragilidad y/o permeabilidad capilar, además frente a condiciones de estrés puede quelatar iones metálicos para evitar que actúen como catalizadores en las reacciones de formación de radicales libres (Shindo *et al.*, 1994). Estos compuestos aumentan sus concentraciones cuando se presentan altas temperaturas (Wang & Zheng, 2001).

Las peroxidasa es otra enzima cuya inducción se considera parte de una respuesta defensiva ante la presencia y ataque patógenos, y alteraciones físico-químicas y medioambientales (Solórzano, 1997). Estas enzimas son una subclase de óxido-reductasa que usan el peróxido de hidrógeno como agente oxidante (IUB, 1992), y están implicadas en distintos procesos fisiológicos como la deposición de polifenoles, la oxidación de compuestos fenólicos y la producción de radicales tóxicos (Pozo, 1999), aumentando en respuesta al estrés biótico y abiótico (Bernal *et al.*, 1994).

Aunque la mayoría de estos inductores son de origen natural, muchos de ellos pueden replicarse en laboratorios para ser aplicadas de manera exógena sobre el follaje de las plantas (Pascholati, *et al.*, 2005). Anteriormente se habían realizado estudios sobre sustancias orgánicas para obtener elicitores a partir de procesos sintéticos para poder darles una aplicación en la agricultura (García & Pérez, 2003). Uno de estos elicitores sintéticos es el acilbenzolar-S-methyl, de nombre comercial Actigard 50 WG generado por la compañía Syngenta, del cual se tiene registro

positivo sobre su capacidad elicitora contra una gran variedad de hongos, bacterias y virus en solanáceas bajo condiciones de campo abierto (Abbasi *et al.*, 2002). El acilbenzolar-S-methyl ha demostrado ser altamente efectivo para reducir el impacto de la mancha (*Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*) y la peca bacteriana (*Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*) en el follaje y frutos de jitomate (Tlatilpa, 2010). Además también se ha encontrado que reduce la incidencia de la marchitez bacteriana provocada por *Clavibacter michiganensis* (Pradhanang *et al.*, 2005; Tlatilpa, 2010).

Muchas de las moléculas que se utilizan no son propiamente inductores de resistencia, pero tiene efectos similares, como los fosfitos de potasio (Sônego, 2003), o los fosfitos de calcio y magnesio (Dianese *et al.*, 2009), el ácido B-aminobutírico, entre otros (Gómez & Reis, 2011; Méndez *et al.*, 2010). Todas estas sustancias actúan en ciertos puntos de la señalización involucrada en la inducción de la resistencia ante enfermedades (Walters *et al.*, 2005). Aunque sin importar el tipo de estrés, biótico o abiótico, los mecanismos que se desarrollan en las plantas son bastante similares (Palazón, 2014).

Extractos vegetales como inductores de resistencia

En los últimos años numerosos estudios fitoquímicos han sido realizados sobre sustancias consideradas desecho de las plantas, y se han encontrado una gran diversidad de estructuras químicas de diversa naturaleza con capacidad estimulante o elicitora (García & Pérez, 2003) como distintos tipos de aminoácidos denominados alfa-aminoácidos que son utilizados como elicitores y que son compuestos de proteínas. La alanina, arginina, asparagina, el ácido aspártico, la cisteína, el ácido glutámico, la glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina triptófano, tirosina y la valina pertenecen a este grupo de aminoácidos (Sanabria, 2011), dichos compuestos que proveen resistencia ante plagas y enfermedades y ciertos factores de estrés abióticos como el hídrico o el térmico (Granados, 2015).

Entre algunas de las especies de las cuales se han obtenido extractos vegetales figuran *Lippia graveolens*, *Cymbopogon citratus* y *Heliopsis longipes*, entre otros

cuyas moléculas estimulan distintos niveles de inducción ante daños microbianos, además de favorecer parámetros como el incremento en la altura, longitud de raíz, rendimiento y biomasa total de algunos cultivos (Ghazanfar, 2011; Gonzáles *et al.*, 2011; Obledo *et al.*, 2004). Algunos antecedentes obtenidos por estos extractos vegetales han sido los siguientes:

Lippia graveolens. Contiene diversos monoterpenos como aceites esenciales que confieren actividad anti fúngica frente a hongos fitopatógenos, entre los que destacan especies como *Aspergillus niger* y *Fusarium sp.* (Maria, A., & Guillermo, J. 2008)

Cymbopogon. citratus. Muestra actividad tóxica sobre esporas de *Aternaria solani*, e incluso afecta el crecimiento micelial de esporas de *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus* y *Fusarium moniliforme* (Nguefack *et al.*, 2004) en estudios in vitro, mientras que sobre plantas de tomate desarrolla efectos fungitóxicos tanto local como sistémica frente a *Alternaria solani* al modificarse los contenidos de la enzima peroxidasa, la polifenoloxidasa y la β -1, 3-glucanase (Terumi *et al.*, 2013).

Heliopsis longipes. Ha logra reducir los daños ocasionados por *Fusarium oxysporum* f. *sp. Lycopersici* al incrementar las expresiones enzimáticas PAL, peroxidasa, quitinasa y β -1,3 glucanasa, y modificar ciertas estructuras en los tejidos de tallo y raíz en plantas de tomate (González M., 2011).

Estos inductores de resistencia han sido utilizados ampliamente sobre muchos cultivos como cucúrbitas, arroz, algodón, banano, papa y tomate, entre otros, permitiendo obtener beneficios que van desde mejoras de calidad en la producción hasta la formación de resistencia ante los factores dañinos del ambiente, plagas y enfermedades (Granados, 2015). Esto último se da mediante la acumulación de ciertos metabolitos como la prolina, beneficiando la calidad de frutos, tamaños, colores y texturas además de generar un mayor rendimiento (Núñez, 1981).

En cuanto a la técnica de aplicación se puede mencionar que esta depende de la naturaleza del inductor, pudiendo ser asperjados, aplicados en el riego e incluso en el tratamiento de semillas, desencadenando sus efectos en el momento de la aplicación hasta 30 días después aproximadamente (Gómez & Reis, 2011).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del sitio experimental

La parte experimental de la presente investigación tuvo lugar en el invernadero de mediana tecnología perteneciente al departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en la Saltillo, Coahuila, México, con coordenadas 25°21'21.6" de latitud norte y 101°02'10.3" longitud oeste con una altura de 1742 msnm.

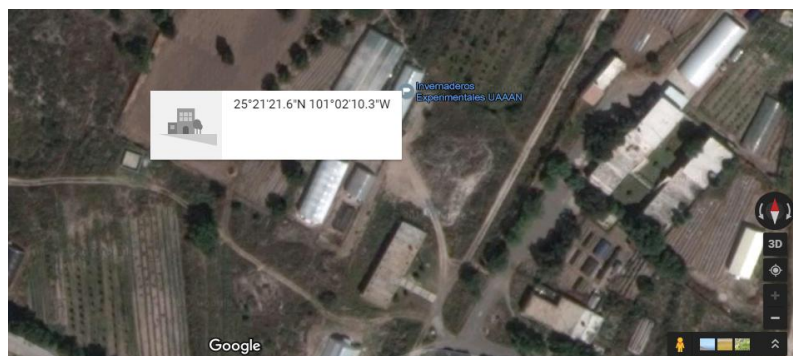


Figura 1. Sitio experimental. Invernaderos de Horticultura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Mientras que los análisis bioquímicos fueron realizados en el laboratorio de Fisiología Vegetal pertenecientes al departamento de Horticultura.



Figura 2. Laboratorios de Fisiología Vegetal. Departamento de Horticultura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Desarrollo del experimento

Para el establecimiento del presente experimento fueron utilizadas semillas de tomate de la variedad Rio grande, las cuales fueron plantadas en charolas de polietileno de 200 cavidades que fueron desinfectadas perfectamente antes de ser llenadas con una mezcla de peat-moss y perlita relación 1:1 (v/v). Sobre las charolas se depositó una sola semilla por cavidad, asegurando una profundidad de siembra y cobertura homogénea. Al terminar las charolas se cubrieron con plástico oscuro y se descubrieron hasta el momento de observar las primeras semillas germinadas a los 3 días. A partir de ese momento se comenzó a dar de uno a dos pequeños riegos manuales dependiendo de las temperaturas alcanzadas durante el transcurso del día durante aproximadamente 20 días.

El trasplante fue realizado el día 13 de marzo de 2016, cuando las plántulas tuvieron entre 5 y 6 hojas verdaderas, cada planta fue trasplantada a una bolsa de 10 litros con la mezcla de sustrato antes descrita.

Fertirrigación

Se instaló un sistema de irrigación localizado sincronizado a un timer programado a 1 minuto por riego. El número de riegos fue ajustado a la edad del cultivo y la radiación durante el día, de manera que estos fueron menores durante el primer mes de edad de las plantas, aumentando el número de riegos después de eso. Los requerimientos

nutricionales fueron aportados con una solución nutritiva Steiner al 100% con pH de 6.5. Así mismo, la humedad del sustrato fue monitoreada diariamente utilizando tensiómetros marca Hidrometer. Los tratamientos utilizados en este estudio fueron estructurados como se indica en la Tabla 1.

Tabla 1. Descripción de tratamientos.

CLAVE	DESCRIPCIÓN	TRATAMIENTO FOLIAR
TA	TESTIGO ABSOLUTO	AGUA
DHE	DÉFICIT HÍDRICO + ELICITOR	EXTRACTO VEGETAL (2.5 mL/L)
DH	DEFICIT HIDRICO	AGUA

Las aplicaciones de los tratamientos se realizaron a los 7, 14 y 28 DDT, en el caso del tratamiento Absoluto (TA) fue cultivado bajo óptimas condiciones hídricas y la solución nutritiva fue suministrada sin pausas durante el desarrollo del cultivo. Para los tratamientos de Déficit Hídrico y Déficit Hídrico + Elicitor (DHE) las condiciones de riego óptimo fueron suspendidas a los 15 DDT, a partir de este punto la humedad en el sustrato se mantuvo bajo monitoreo mediante el uso de los tensiómetros marca Hidrometer, hasta llegar a 35 KPa que pueden representar peligro de Marchitez Permanente (PMP) del cultivo.

Muestreos

Para la evaluación de los parámetros bioquímicos se realizaron muestreos de tejido foliar obtenido de la tercera hoja fisiológicamente madura debajo del ápice. La recolección de las muestras se obtuvo a partir de 5 repeticiones por tratamiento. Esta

actividad se realizó en las primeras horas de las mañana, para lo cual las muestras de tejido vegetal se colocaron en bolsas de aluminio previamente etiquetadas con el tratamiento, repetición y número de muestreo. Estas bolsas se colocaron en nitrógeno líquido para ser introducidas al ultra congelador hasta la realización de las evaluaciones. El tejido vegetal obtenido fue macerado con nitrógeno líquido y pesado según las técnicas descritas para cada determinación.

Tabla 2. Cronología de los muestreos realizados

MUESTREO		DDT
1	24 horas después de la 2da aplicación del elicitor	15
2	Lectura del tensiómetro 15 KPa	24
3	Lectura del tensiómetro 30 KPa	27
4	Lectura del tensiómetro 35 KPa	28
5	24 horas después de la 3er aplicación del elicitor y reanudación del riego	29
6	48 horas después de la 3er aplicación del elicitor y reanudación del riego	30
7	72 horas después de la 3er aplicación del elicitor y reanudación del riego	31

Clorofilas

El contenido de clorofila en hojas se estimó mediante el método propuesto por Arnon (1949) y modificado por Munira *et al.*, 2015, el cual consistió en pesar y triturar con la ayuda de un mortero a 1 g de material vegetal, a esta pasta obtenida se le añadieron 5 ml de acetona al 90% y se homogeneizó. Después se adicionó carbonato de magnesio con la finalidad de proteger y estabilizar las clorofilas. De la mezcla obtenida se utilizaron 2 mL que fueron colocados en microtubos, estos fueron centrifugados por 5 minutos a 10 000 rpm a una temperatura de 2°C. Al finalizar esta operación se extrajo el sobrenadante y se procedió a tomar lectura de las absorbancias de la clorofila a y b a 663 nm y 645 nm respectivamente utilizando acetona al 90% como blanco.

El contenido total de clorofila se expresó como $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, el cual fue determinado usando las siguientes fórmulas:

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}) = 25.38\cdot A_{663} + 3.64\cdot A_{645}$$

$$\text{Clorofila b } (\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}) = 30.38\cdot A_{645} - 6.58\cdot A_{663}$$

$$\text{Clorofila total } (\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}) = 18.8\cdot A_{663} + 34.02\cdot A_{645}$$

Con los resultados obtenidos para clorofila a y b, se calculó el cociente de clorofila a/b.

Fenoles

Para la extracción de fenoles se pesaron 250 mg de hoja y se colocaron en un microtubo para centrifuga, después se agregó 1 mL de metanol al 80% agitando en vortex durante 1 minuto. Posteriormente se centrifugó a 10 000 rpm durante 15 minutos, al finalizar se obtuvieron dos fases acuosas dentro de los tubos, de los cuales se recuperó el sobrenadante para transferirlo a un nuevo microtubo, al residuo se añadió 500 μL de metanol al 100% y nuevamente se agitó en vortex durante 1 minuto, posteriormente se sometió a centrifugación a 10 000 rpm durante 15 minutos, se recuperó el sobrenadante y éste fue transferido al micro tubo que contenía el sobrenadante de la primera centrifugación, se ajustó el volumen a 2 mL con metanol, el extracto de fenoles fue protegido de la luz y mantenido a -20°C hasta el momento de la lectura espectrofotométrica.

El contenido de fenoles totales se determinó por el método de Folin-Ciocalteu, tomándose 200 μL del extracto obtenido, se mezclaron con 1.5 mL de agua destilada, se agregaron 100 μL de reactivo Folin-Ciocalteu y 200 μL de carbonato de sodio anhidro al 20 % (p/v), la mezcla se agitó en vortex por 30 minutos y se efectuó la lectura a 765 nm.

El contenido total de fenoles fue estimado como equivalentes de ácido gálico (mg GAE/100mg de materia fresca) por medio de una curva estándar.

Extracción de proteínas

Para obtener el extracto enzimático se agregó 1 mL de buffer de fosfatos en 500 mg de tejido vegetal, homogeneizando con vortex para después centrifugar a 12000 rpm durante 10 minutos a 4°C. Una vez finalizado ese procedimiento se extrajo el sobrenadante o extracto proteína, la cuantificación de las proteínas totales se realizó por medio de la técnica espectrofotométrica desarrollada por Bradford (1976)

Actividad de la Fenilalanina Amonio Liasa

Para la evaluación de la actividad de la Fenilalanina Amonio Liasa (PAL) se tomaron 0.9 mL de L-Fenilalanina ($1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), y se adicionaron 0.1 mL de extracto enzimático, esta mezcla fue incubada a 40 °C durante 30 minutos. Una vez concluido el tiempo, se detuvo la reacción con 0.25 mL de ácido clorhídrico 5N. Posteriormente estas muestras fueron colocadas sobre una cama de hielo y se les adicionó 5 mL de agua destilada. Al terminar el anterior procedimiento se comenzó con la lectura de las absorbancias a una longitud de onda de 290 nm. Finalmente, una unidad de actividad enzimática se definió como el equivalente a la producción de 1 μmol de ácido Transcinámico/ $\text{min} \cdot \text{mg}$ de proteína (Paz-Lago, 1999).

Actividad Peroxidasa

La actividad peroxidasa fue determinada espectrofotométricamente utilizando rojo de fenol como sustrato. Para llevar a cabo la determinación se utilizaron 20 μL de extracto proteico, después se añadieron 50 μL de rojo de fenol al 0.2% (p/v) y 930 μL de citrato de sodio a 50 mM (pH 4.2), posteriormente la reacción fue desencadenada con 10 μL de peróxido de hidrógeno a una concentración de 1 mM. Después de 3 minutos la reacción fue detenida con 40 μL de hidróxido de sodio (2N) y se evaluó la absorbancia a 610 nm, esta fue calculada con el coeficiente de extinción molar de $22,000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ para el producto oxidado. La actividad de peroxidasa fue expresada como milimoles de rojo de fenol oxidado por gramo de tejido fresco por minuto ($\text{mmol Rojo de Fenol/g Tejido Fresco} \cdot \text{min}$).

Prolina

El análisis de prolina se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Bates *et al.*, (1973), para lo cual se utilizaron 0.5 g de tejido vegetal el cual fue homogenizado con 5 mL de ácido sulfosalicílico al 3%, esta solución fue filtrada utilizando papel filtro Whatman # 2, posteriormente, del filtrado obtenido se tomó 1ml, el cual se hizo reaccionar con 1 ml de ninhidrina ácida y 1 mL de ácido acético glacial, la mezcla se colocó en un tubo de ensayo y se incubó por una hora a 100°C. Inmediatamente después los tubos se colocaron en baño de hielo para detener la reacción. A continuación se agregaron 3 mL de tolueno en cada tubo de ensayo y se mezclaron vigorosamente en vortex entre 15 y 20 segundos.

El cromóforo contenido en el tolueno fue extraído de la fase acuosa. Este extracto se dejó llegar a temperatura ambiente para posteriormente tomar lectura de absorbancia a 520 nm usando tolueno como blanco.

La concentración de prolina se determinó a partir de una curva de calibración y se calculó en base a peso fresco usando la siguiente fórmula:

$$\text{Prolina (ppm)} = \text{ppm de prolina} * FD$$

Donde:

ppm de prolina: Contenido de prolina obtenido de la curva estándar.

FD: Volumen de Ácido Sulfosalicílico (L) / peso de la muestra (g).

Diseño experimental utilizado en campo y análisis estadístico

El diseño experimental utilizado fue un diseño completamente al azar el cual estuvo integrado por 3 tratamientos y cada uno constaba de 5 repeticiones, considerando 3 plantas como unidad experimental, completando 45 plantas para el estudio.

A los datos obtenidos a partir de los estudios de laboratorio se les realizó un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias de LSD de Fisher con un $P < 0.05$ para cada una de las variables analizadas, para lo cual se utilizó el software *inFostat versión 2016I*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Clorofila a

La evaluación de los contenidos de clorofila a mostró fluctuaciones a través de las fechas de muestreo (Figura 3), a los 15 DDT se encontró que el nivel de clorofila a contenido en el tratamiento del elicitador fue superior al testigo absoluto y al testigo del déficit hídrico en un 16%, generando diferencias estadísticas. Este porcentaje disminuyó después de suspenderse el riego a un valor de $202.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, el equivalente a un 17% menos respecto al testigo absoluto, este último tratamiento y el testigo del déficit hídrico no presentaron diferencia estadística entre ellos.

Durante el muestreo realizado a los 27 y 28 DDT no se encontraron diferencias estadísticas entre los niveles de clorofila a de ninguno de los tratamientos. Esta situación cambió 24 horas después de reanudarse el riego y de haberse realizado la tercera aplicación de producto, cuando el tratamiento del elicitador y el déficit hídrico registraron un 18% menos en sus contenidos de clorofila a al ser comparados con el testigo absoluto.

Para el siguiente muestreo (30 DDT) se observaron diferencias altamente significativas entre los tres tratamientos, las plantas sometidas a estrés hídrico más el elicitador presentaron su nivel más bajo de todo el experimento, el cual fue un 28% inferior al testigo absoluto, resultados similares fueron encontrados para el tratamiento del déficit hídrico, que presentó una disminución del 15% en comparación con el testigo.

Finalmente, en el análisis realizado a los 31 DDT se encontró el nivel más alto de clorofila a registrado en todo el experimento para el tratamiento del elicitor. Se registró un decremento en la concentración de este pigmento de 9% para el tratamiento con la aplicación del elicitor y de 16% para el tratamiento sometido al estrés en comparación con el testigo absoluto.

Los resultados anteriores no presentan una tendencia general u homogénea, lo que dificulta atribuir ese comportamiento a un factor en específico, de hecho, existe evidencia de que los contenidos de clorofila a tienden a disminuir bajo una gran diversidad de factores (Zancan y col., 2006; Santos y col., 2004), aunque en gran medida estos depende del vigor y del estado fenológico de la planta (Lei *et al.* 1996), de manera que sus variaciones se deben a la inhibición de su síntesis y degradación (Appels & Lagudah, 1990; Flowers & Yeo, 1986) o a su conversión a clorofila b a través del proceso de la oxigenación enzimática (CAO) (Tanaka & Tanaka 2006).

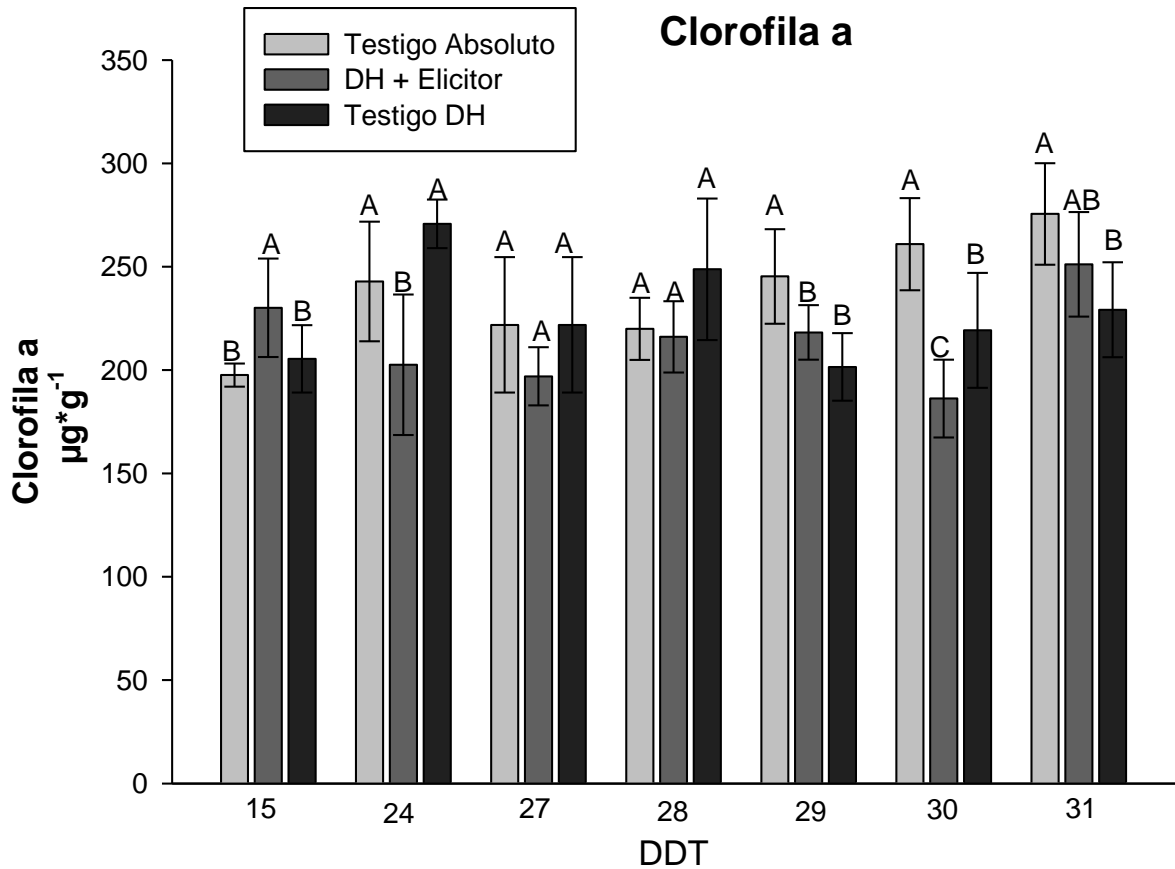


Figura 3. Comportamiento de la clorofila a en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico en diferentes etapas del cultivo.

Clorofila b

Los contenidos de clorofila b (Figura 4) fluctuaron en distintas proporciones durante el lapso del incremento del déficit hídrico, alcanzando su nivel más bajo a los 28 DDT tras haber alcanzado los 35 KPa de tensión sobre el sustrato del cultivo. El tratamiento que registró los valores más inestables en el contenido de clorofila b fue el testigo del déficit hídrico con un valor máximo de 44.2 µg*g⁻¹ durante el período de

estrés hídrico, mientras que los contenidos de clorofila b entre el Testigo Absoluto y el tratamiento que recibió el elicitor no generaron diferencias significativas durante ninguno de los muestreos.

El análisis estadístico realizado del primer muestreo no mostró diferencias estadísticas entre ninguno de los tratamientos a los 15 DDT. Esta situación cambió a los 24 DDT, donde se encontró un incremento en los contenidos de clorofila b del testigo del déficit hídrico, presentado un 69% más de clorofila b que el testigo absoluto. En esta ocasión el tratamiento del elicitor presentó la misma condición estadística que el testigo absoluto.

No se encontró diferencia estadística en los contenidos de clorofila b a los 27 DDT. Estos niveles continuaron disminuyendo tras alcanzar los 35 KPa a los 28 DDT, donde no se encontró diferencia estadística entre el testigo absoluto y el tratamiento del elicitor, con concentraciones de 22 y 22.1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, en tanto que el tratamiento sometido al déficit hídrico presentó un aumento del 21% comparado con el testigo absoluto.

Transcurridas las 24 horas después de haberse reanudado el sistema de riego y de haberse realizado la tercera aplicación del producto, se observó que se incrementaron los niveles de clorofila b, pero no se presentaron diferencias estadísticas entre ninguno de los tratamientos. Esta misma condición estadística se presentó en el muestreo posterior.

En el último muestreo a los 31 DDT, el tratamiento con la aplicación del elicitor presentó un decremento de 21%, en tanto que el tratamiento testigo del estrés incrementó en 6% con respecto al testigo absoluto.

Se ha encontrado información que afirma que no siempre disminuyen estos pigmentos al presentarse condiciones de este tipo de estrés (Yong *et al.*, en 2012) también se ha determinado que los niveles de clorofila b son más sensibles a los factores ambientales que la clorofila a (Sagromsky, 1956), e incluso se ha encontrado que ciertos niveles de radiación estimulan la expresión de genes relacionados con la biosíntesis de las clorofilas (Dalal & Tripathy, 2012). Sin

embargo, se debe tomar en cuenta la influencia de la etapa fenológica del cultivo, debido a que esta tiene gran influencia sobre el metabolismo de la planta y la capacidad para mantener la homeostasis de sus procesos (Lei *et al.* 1996).

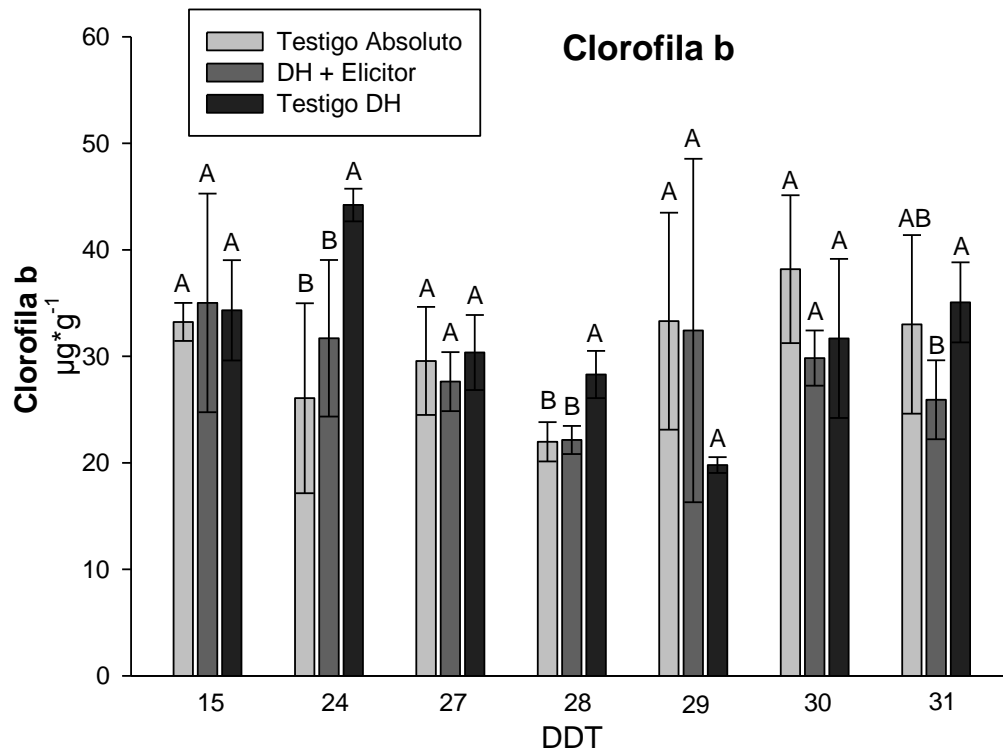


Figura 4. Comportamiento de la clorofila b en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico en diferentes etapas del cultivo.

Relación clorofila a/b

El comportamiento entre la relación de clorofila a y b se vio afectada durante el desarrollo del cultivo (Figura 5), indica que la tendencia de esta relación se vio beneficiada en los tres tratamientos entre los 27 DDT y 29 DDT sin presentarse diferencias estadísticas entre la relación de clorofila a/b.

Durante el primer muestreo no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos. Durante el período en que se alcanzaron los 15 KPa en el sustrato a los 24 DDT, el testigo absoluto presentó en su relación clorofila a/b un 42% más que el obtenido por el tratamiento del elicitor y el testigo del déficit hídrico.

A los 27 DDT se alcanzaron 30 KPa de tensión en el sustrato del cultivo, sin embargo no se registraron diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos. Esta misma condición se presentó en el muestreo realizado a los 28 y 29 DDT.

En el muestreo realizado a los 30 DDT se encontró diferencia significativa entre el tratamiento absoluto y el tratamiento con la condición de estrés, observándose una decremento de 9% en la relación de clorofila a/b que el testigo absoluto. Este comportamiento entre tratamientos se presentó nuevamente en el último muestreo, aunque en esta ocasión la diferencia porcentual entre ellos fue de 33%.

De acuerdo a la literatura obtenida, se esperaba que esta relación entre pigmentos se viera modificada, pues existe registro de que son altamente sensibles a diversas condiciones de estrés (Ustin *et al.* 1998), entre ellas altas temperaturas (Friend, 1961) y la disponibilidad de luz. En particular, se habría esperado que la relación entre estos pigmentos disminuyera bajo las condiciones de estrés hídrico proporcionadas, tal como indica Zarco Tejada *et al.*, (2004), pero el comportamiento experimentado corresponde más a los estudios realizados por Sagromsky (1956), quien encontró que en tomate se mantiene esta relación bajo diferentes factores de estrés. No obstante, en aquellos muestreos en los que disminuyó esta relación es muy probable que se deba a un incremento en el contenido de la clorofila b, pues se ha encontrado que este último fotosistema es mucho más inestable que el fotosistema I (Powels 1984; Casierra Posada 2007) frente a diversas condiciones

ambientales (Sagromsky, 1956), pero sobre todo a la condición fenológica de la planta y su senescencia (Lei *et al.* 1996).

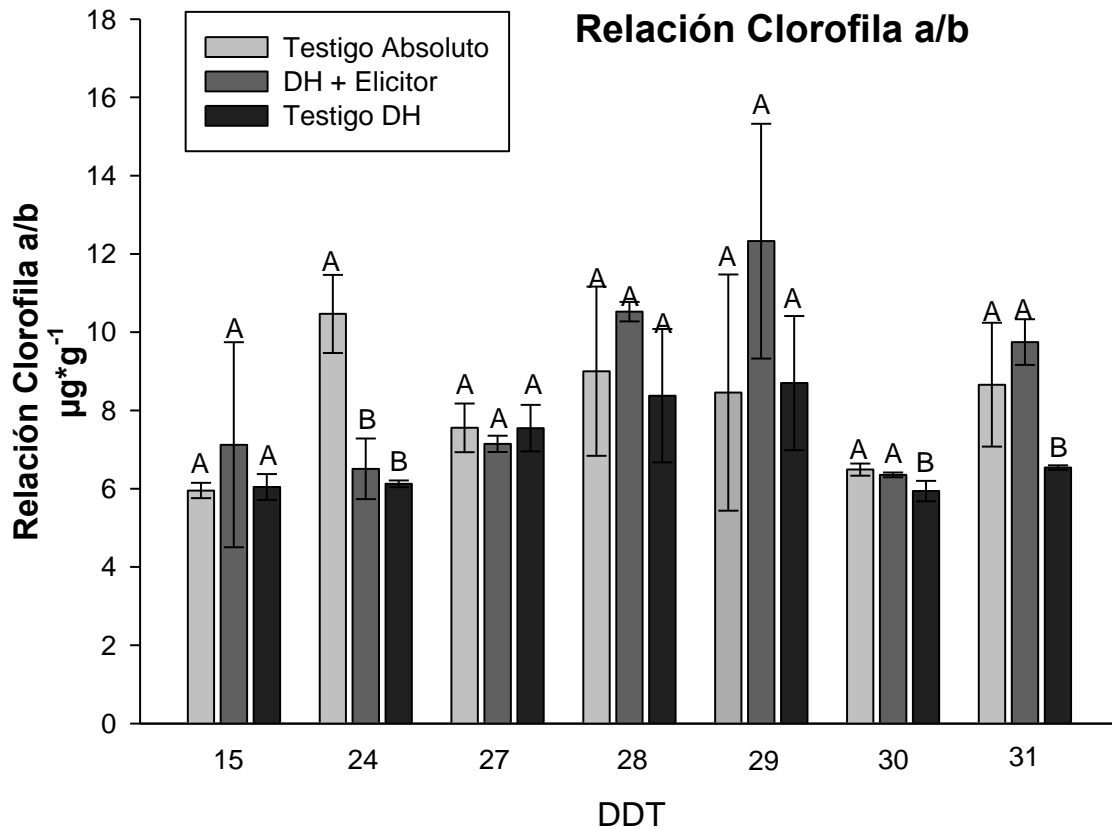


Figura 5. Comportamiento del comportamiento entre la relación de la clorofila a y b en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico en diferentes etapas del cultivo.

Clorofila Total

De acuerdo a los análisis realizados a los datos de clorofila total (Figura 6), se encontró que los niveles de clorofila total disminuyeron sobre el tratamiento del elicitor después de aplicarse el estrés hídrico, aumentando justo antes de reanudarse el riego y disminuyendo nuevamente después de ese evento. Por otra parte, aunque el testigo absoluto no experimentó esta condición hídrica también mostró un

comportamiento similar durante ese período, pero incrementándose después de la reanudación del riego en el tratamiento del elicitador y el testigo del déficit hídrico.

Los valores que resultaron del muestreo a los 15 DDT demostraron que el mayor contenido de clorofila total fue observado en las plantas sometidas al estrés y que recibieron la aplicación del elicitador, este presentó un 15% más en el contenido de clorofilas totales que el testigo absoluto cuyo valor fue de $230.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, mientras que el testigo del déficit hídrico tuvo un incremento de 14%.

En el muestreo realizado a los 24 DDT, no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos testigo y con la aplicación del elicitador, los valores para estos tratamientos se situaron en 268.9 y $234.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ respectivamente, mientras que el testigo para la condición de estrés sufrió un incremento de 17% con respecto al testigo absoluto.

Para el muestreo realizado a los 27 DDT, los valores más altos fueron presentados por el tratamiento testigo absoluto y el testigo del déficit hídrico, mientras que el tratamiento del elicitador presentó un 13% menos en el contenido de estos pigmentos en comparación con el testigo absoluto. A los 28 DDT se encontró un incremento del 17% en el contenido de clorofila total frente al testigo absoluto y el tratamiento del elicitador.

Los niveles de estos pigmentos se invirtieron tras haberse reanudado el riego; el testigo absoluto con valores de $284.9 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, superó en un 15% al tratamiento del elicitador y un 23% al testigo del déficit hídrico. El comportamiento de la clorofila total continuó con ligeros incrementos en las 24 horas siguientes sobre el Testigo Absoluto. En esta ocasión, comparándolos con el testigo absoluto se obtuvo que los niveles de clorofila total del testigo del déficit hídrico fueron inferiores en un 15%, mientras que en aquellas plantas tratadas con el elicitador fue de un 28%.

El estudio del último muestreo realizado a los 31 DDT mostró que el tratamiento del elicitador y el testigo del déficit hídrico presentaron un 10% y 14% menos en sus contenidos de clorofila total en comparación con el testigo absoluto.

Aunque en general son muchos factores de estrés los que disminuyen el contenido total de clorofilas (Zancan *et al.*, 2006; Santos *et al.*, 2004), se ha encontrado que el mantenimiento en sus niveles, puede responder al aumento en la producción de los metabolitos secundarios que permiten disminuir el impacto de esos factores adversos (Jansen y col., 1998) los cuales evitan la degradación de proteínas asociadas al aparato fotosintético e incluso aumentan su síntesis (Jansen y col., 1998), al activarse mecanismos de protección frente al daño oxidativo que se genera a partir de la aparición de especies reactivas al oxígeno (Cogdell & Frank, 1987). Además también está comprobado que el estrés hídrico influye sobre la expresión de genes que intervienen en la biosíntesis de clorofilas de acuerdo a los estudios de Olivares (2005), donde observó incrementos en los niveles totales de clorofilas de *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst por efecto del estrés hídrico. Sin embargo, esta condición está ligada al estado fenológico de la planta, condicionando el estímulo para la producción de estos pigmentos (Lei *et al.* 1996).

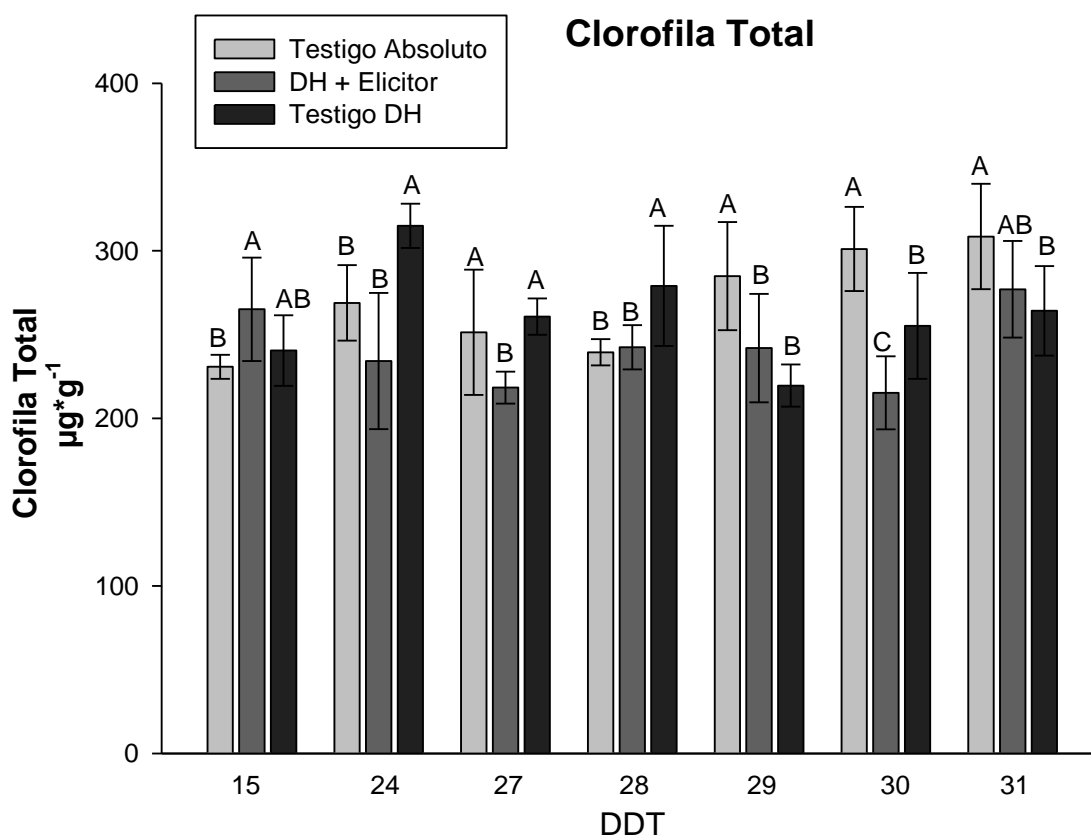


Figura 6. Comportamiento de la clorofila total en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico en diferentes etapas del cultivo.

Fenoles

El comportamiento de los fenoles mostró incrementos que generaron diferencias estadísticas durante todos los muestreos, siendo el tratamiento sometido exclusivamente a estrés hídrico el que presentara los niveles más altos respecto de los demás tratamientos (Figura 7). En general el incremento mayor en contenidos de fenoles para el tratamiento sometido al estrés hídrico y el tratamiento del elicitor se dio en el período en el que se suspendió el sistema de riego, disminuyendo nuevamente al reanudarlo sin ser superados por el tratamiento absoluto.

A los 15 DDT, después de realizar la segunda aplicación del elicitor y suspender el riego, se realizó el primer muestreo, y se observó diferencia significativa entre los tratamientos presentándose un decremento de 5% en el tratamiento del elicitor y un aumento de 24% en el testigo absoluto frente al testigo absoluto.

El comportamiento a los 24 DDT tras alcanzar los 15 KPa en el sustrato, fue similar al observado en el muestreo anterior; el tratamiento del elicitor y el testigo absoluto no presentaron diferencias estadísticas entre ellos, mientras que el Testigo DH alcanzó un valor de 0.47mg GAE/100mg de materia fresca. Sin embargo al alcanzarse la tensión de 30 KPa a los 27 DDT, se observó un incremento en el contenido de fenoles para los tres tratamientos con respecto al muestreo anterior. De acuerdo al análisis de varianza realizado a los tratamientos para este muestreo, se encontró diferencia significativa entre ellos, siendo los tratamientos sometidos al estrés hídrico los que mostraron los valores más altos con una diferencia de 32% para el estrés y de 24% para el elicitor al compararlos con el testigo absoluto, que obtuvo una concentración de 0.053 mg GAE/100mg de materia fresca.

Al presentarse una tensión de 35 KPa en el sustrato de las plantas a los 28 DDT, se observó el contenido de fenoles más alto registrado durante todo el experimento, y fue presentado por el Testigo DH con 0.120mg GAE/100mg de materia fresca, esto representó una diferencia de 70.83% respecto del Tratamiento Absoluto y 61.66%

respecto del tratamiento con el elicitor, lo que derivó en tres grupos perfectamente delimitados por sus diferencias estadísticas.

El quinto muestreo (29 DDT) se realizó 24 horas después de la reanudación del riego que tuvo como la finalidad de evitar el punto de marchitez permanente en el cultivo. Los análisis realizados demostraron que los niveles contenidos de fenoles disminuyeron sustancialmente en un 37.5% en el tratamiento Testigo DH respecto del análisis en 28 DDT. Por otra parte el análisis de varianza no encontró diferencias estadísticas entre el Testigo Absoluto y tratamiento del elicitor, pero si para el testigo del estrés contra los otros tratamientos, con un incremento del 37%.

En la evaluación de los datos obtenidos en el muestreo realizado 48 horas después, se encontró que los niveles de fenoles continuaron disminuyendo, ésta vez en un 18% en el testigo del déficit hídrico, respecto de sus niveles en el anterior muestreo, sin embargo este tratamiento continuo mostrando la concentración más alta para todos los tratamientos, seguido por el tratamiento con la aplicación del elicitor y el testigo absoluto mostró los valores más bajos con una concentración de 0.041 mg GAE/100mg de materia fresca.

El tratamiento del elicitor aumentó su contenido de fenoles en un 13.55% respecto de su muestreo anterior, aunque no presentó diferencias significativas al ser comparado con el testigo del déficit hídrico, en tanto que el testigo absoluto mantuvo sus niveles cercanos a los obtenidos en 30 DDT.

El último muestreo a los 31 DDT mostró un incremento en la concentración de fenoles totales para el tratamiento con el elicitor y se observaron valores similares para el tratamiento con la condición de estrés, siendo de aproximadamente 27% con respecto al testigo,

El comportamiento observado para este estudio en la concentración de fenoles totales, puede deberse a que los contenidos de fenoles puede verse afectado como un ajuste para proteger las células de las especies reactivas de oxígeno (Pinhero *et al.*, 201), pues se ha demostrado que daños de tipo abiótico como altas y bajas temperaturas (Hodges *et al.*, 2004), altos niveles de radiación (Luthria *et al.*, 2006) e

incluso infecciones (García & Pérez, 2003), provocan la oxidación de los componentes celulares debido a la sobreproducción de estas especies reactivas (Hodges *et al.*, 2004) las cuales inducen la lisis de las células (Puentes, 2012).

También se ha propuesto que este incremento se debe a que los compuestos fenólicos reaccionan aumentando su concentración para quelatar y evitar que los iones metálicos intervengan como catalizadores en las reacciones de formación de los radicales libres (Shindo *et al.*, 1994), durante períodos de estrés biótico.

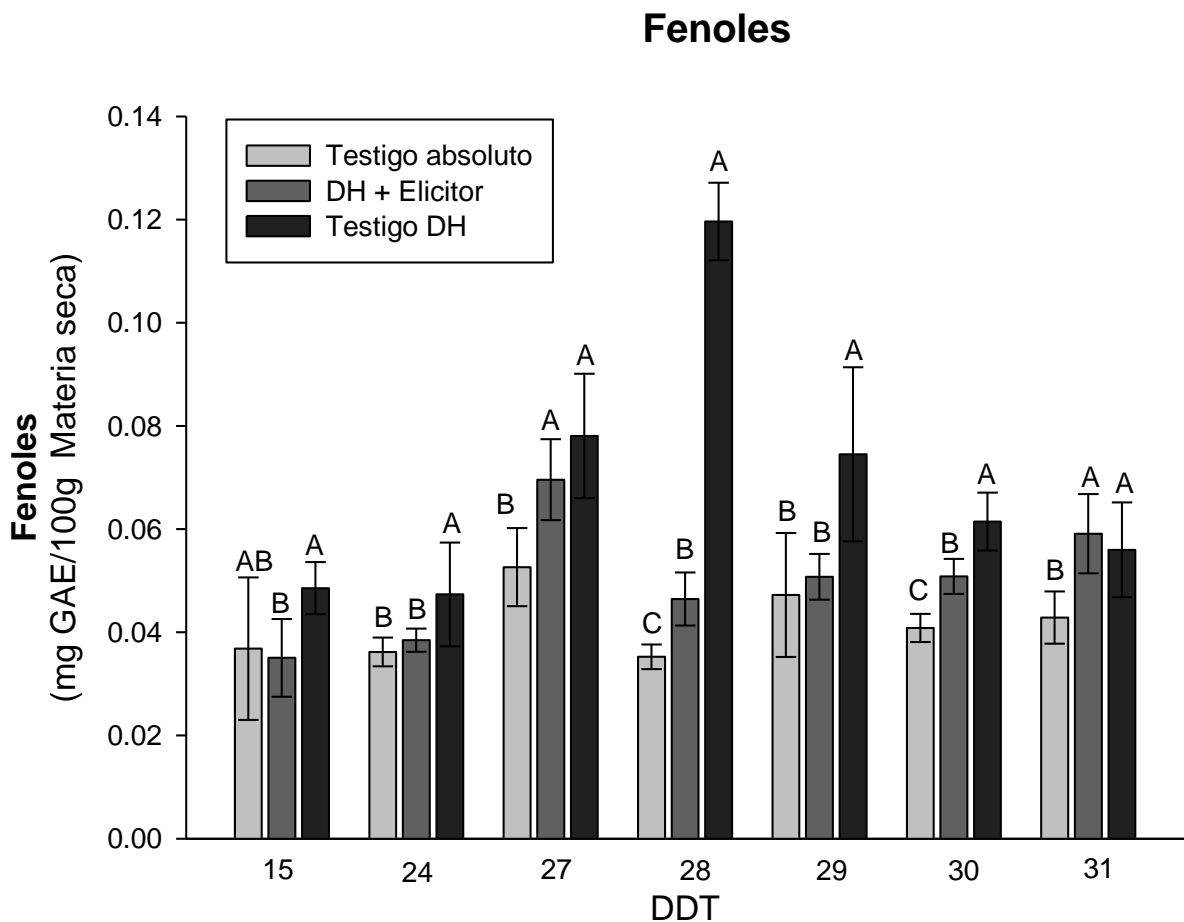


Figura 7. Comportamiento de fenoles totales en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico en diferentes etapas del cultivo.

Actividad Fenilalanina Amonio Liasa

La actividad de la PAL presentó cambios durante el desarrollo de las plantas de tomate, observándose una tendencia de incremento en la actividad de esta enzima en las plantas de tomate sometidas al estrés hídrico y tratadas con el elicitor hasta los 27 DDT, posteriormente fueron las plantas sometidas al estrés, las que mostraron la mayor actividad de esta enzima (Figura 8).

Para el muestreo realizado a los 15 DDT que corresponde a la segunda aplicación del elicitor, la actividad de esta enzima presentó valores entre 616 y 693 μmol de ácido Transcinámico/ $\text{min} \cdot \text{mg}$ de proteína, de acuerdo al análisis de varianza realizado, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que, para el muestreo realizado a la tensión de 15 KPa en el sustrato (24 DDT) se observó un incremento en la actividad de la PAL correspondiente al 9.7% en las plantas tratadas con el elicitor en comparación con el testigo absoluto, mientras que en el tratamiento testigo de la condición de estrés se presentó un decremento del 8.6% en la actividad de esta enzima.

Cuando se presentó una tensión de 30 KPa, (27 DDT), se observó que la actividad de la PAL fue muy similar para las plantas sometidas a estrés hídrico y aquellas sometidas al estrés y la aplicación del inductor de resistencia, observándose un aumento de 24% en su actividad enzimática con respecto al testigo, el cual mostró una actividad específica de 680 μmol de ácido Transcinámico/ $\text{min} \cdot \text{mg}$ de proteína.

Cuando la tensión en el sustrato de las plantas fue de 35 KPa (28 DDT), que indica peligro por marchitamiento, se apreció un incremento del 20% en las plantas sometidas al déficit hídrico y las plantas tratadas con el estrés y la aplicación del elicitor, en comparación con las plantas testigo cuya actividad enzimática fue de 717 μmol de ácido Transcinámico/ $\text{min} \cdot \text{mg}$ de proteína.

No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos estudiados para el muestreo realizado 24 horas después de la tercer aplicación del elicitor y la reanudación del riego (29 DDT) encontrándose valores de 734, 821 y 917 μmol de ácido Transcinámico/min*mg de proteína para el tratamiento testigo absoluto, el tratamiento con el elicitor y el tratamiento testigo del estrés respectivamente, mientras que a las 48 horas después se presentó un rápido incremento en la actividad de esta enzima, presentando un incremento de 34% para las plantas sometidas al estrés con la aplicación el elicitor y de 70% para las plantas testigo del estrés hídrico con respecto al testigo absoluto, resultados similares se observaron en el muestreo realizado a las 72 horas (31 DDT), la diferencia de la actividad de la PAL en este muestreo con el testigo fue de hasta 65%, cuya actividad enzimática fue de 603 μmol de ácido Transcinámico/min*mg de proteína.

La PAL es una enzima que cataliza la primer etapa de la vía fenilpropanoide, que produce precursores de una variedad de metabolitos secundarios importantes, que intervienen en los procesos de resistencia de las plantas (Ward *et al.*, 1991). El incremento en su actividad después de la inducción del estrés hídrico coincide con diversos estudios que han mostrado que el gen PAL es sensible a una variedad de estímulos, los cuales incluyen la infección por patógenos, heridas, agotamiento, irradiación UV, temperaturas extremas y otras condiciones de estrés (Lawton *et al.*, 1983, Edwards *et al.*, 1985; Liang *et al.*, 1989a, 1989b; Dixon y Paiva, 1995).

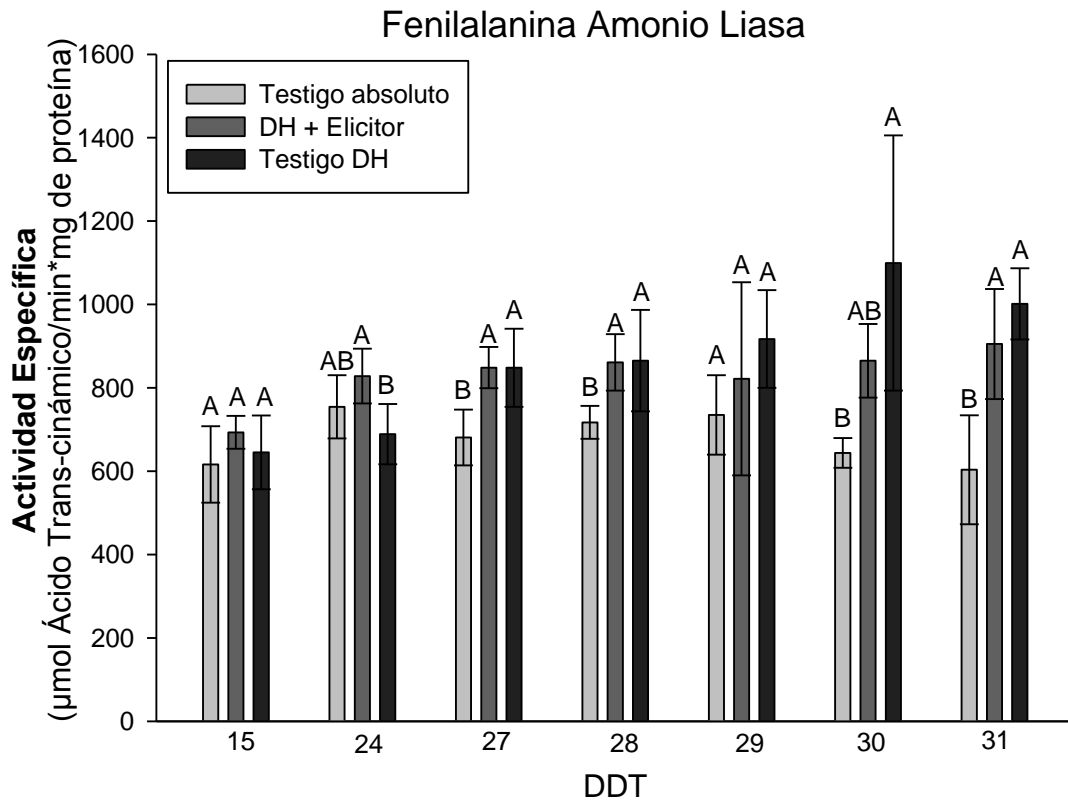


Figura 8. Actividad específica de la enzima fenilalanina amonio liasa en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico en diferentes etapas del cultivo.

Actividad Peroxidasa

Los resultados obtenidos en actividad peroxidasa (Figura 9), no mostraron diferencias significativas entre tratamientos, a excepción del sexto muestreo realizado a los 30 DDT. Sin embargo, se observó que durante el período de estrés hídrico (15DDT – 28DDT) disminuyeron los niveles de peroxidasa de todos los tratamientos, recuperándose gradualmente después de la reanudación del sistema de riego.

Los valores obtenidos en los muestreos realizados a los 15, 24, 27, 28 y 29 DDT presentaron un patrón muy similar, en el que fueron disminuyendo mientras se incrementaba la tensión hídrica en el sustrato a causa de la suspensión del riego, debido a esto no se generaron diferencias estadísticas entre ninguno de los

tratamientos durante ese período, resultados similares se apreciaron después de analizar el muestreo posterior a la reanudación del riego, aunque se encontró que los niveles de la actividad peroxidasa continuaron disminuyendo, esta condición cambió a los 30 DDT donde los contenidos de peroxidasa del testigo del déficit hídrico se incrementaron en un 18% sobre los contenidos del testigo absoluto y el que recibió el elicitor. En el último muestreo a los 31 DDT se presentó el valor más alto registrado en todo el experimento, siendo de 0.0001504 mmol Rojo de Fenol/g Tejido Fresco*min y obtenido por el testigo absoluto, sin embargo no se presentaron diferencias entre tratamientos.

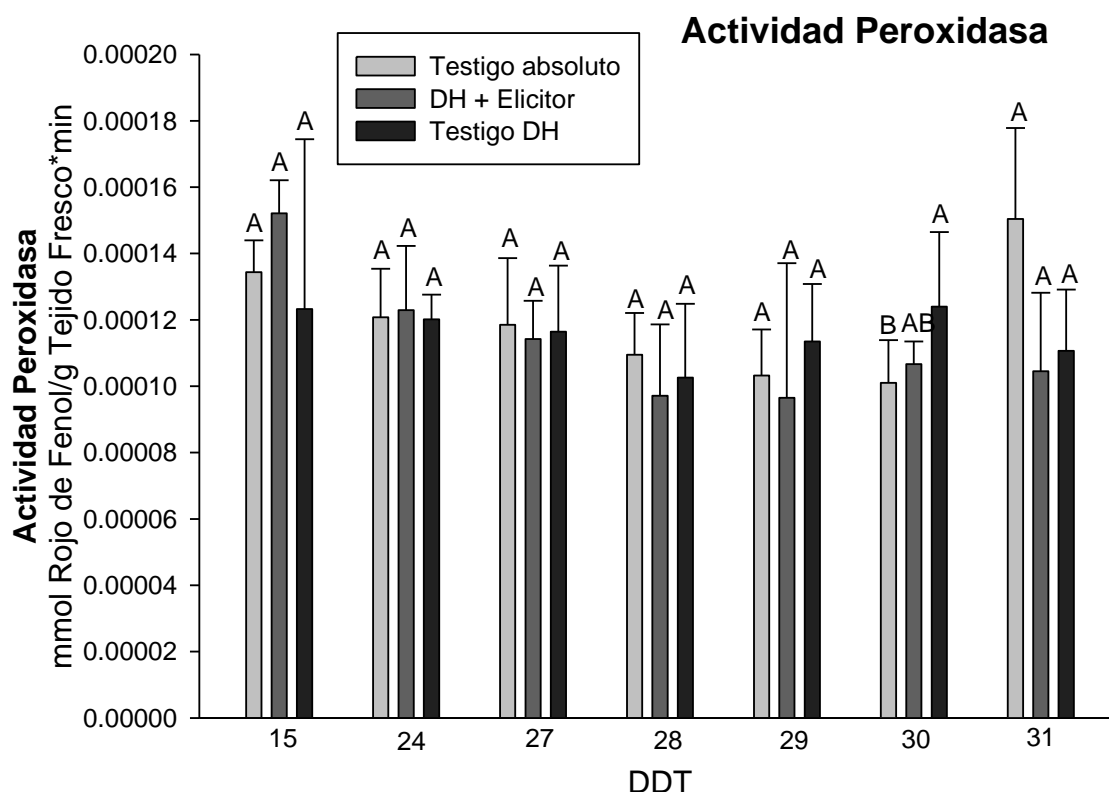


Figura 9. Actividad peroxidasa en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico en diferentes etapas del cultivo.

El comportamiento en la actividad de peroxidasas en plantas sometidas a estrés hídrico, fueron contrarios a los descritos por Sairam y Saxena (2000), quienes describieron que se incrementaban los valores de la actividad de esta enzima al

reducir la humedad del sustrato de *Lolium temulentum*, por otro lado Stuart *et al.*, (1997) observaron un comportamiento similar, al indicar que esta actividad aumentó en la pared celular de las hojas en expansión de esa especie bajo condiciones de estrés hídrico, mientras que Romero-Aranda *et al.*, (2001) encontraron que la actividad de esta enzima es promovida por el estrés hídrico cuando se generan incrementos en los niveles de salinidad, aunque también existe la posibilidad de que el comportamiento observado en esta investigación se deba a la existencia de distintas isoformas de peroxidasa que aumentan y disminuyen al ser sometidas a períodos de estrés hídrico (Navrot *et al.*, 2006).

Prolina

El comportamiento en los niveles de prolina contenidos en las plantas de los tratamientos bajo estrés con y sin aplicación del elicitor así como del tratamiento absoluto, mostraron fluctuaciones a través de tiempo, presentándose los valores más altos en las plantas del Testigo del Déficit Hídrico (Figura 10).

Durante las fechas de muestreo correspondientes a los 15 y 24 DDT se observó una disminución en la concentración de la prolina para la segunda fecha de muestreo con respecto al muestreo anterior. Sin embargo no se observaron diferencias significativas para ninguno de los tratamientos.

Los niveles de prolina más bajos para todos los tratamientos se registraron en el muestreo realizado cuando se alcanzó los 30 KPa a los 27 DDT. Donde el análisis realizado presentó diferencia estadística, observándose valores similares para los tratamientos testigo, mientras que en el tratamiento que recibió el elicitor existió un decremento del 29% en el contenido de prolina en comparación con el testigo absoluto.

Al llegar a los 35 KPa, se obtuvieron diferencias altamente significativas, donde el testigo del déficit hídrico mostró un incremento de hasta 248% y el tratamiento del elicitor un 22% en el contenido de prolina en comparación con el testigo absoluto, cuya concentración fue de 116.4 ppm. El comportamiento de las plantas sometidas a

estrés hídrico se mantuvo similar a los 29 DDT, con respecto al muestreo anterior, observándose diferencias significativas entre los tratamientos, registrándose un 132% más en el contenido de prolina que el obtenido en el testigo absoluto, mientras que el tratamiento del elicitor no presentó diferencias estadísticas en comparación con este último.

El muestreo realizado 24 horas después (31 DDT) mostró diferencias altamente significativas entre los tres tratamientos, donde el tratamiento testigo alcanzó una concentración 74 ppm, al mismo tiempo que el tratamiento del elicitor presentó un aumento de 123% y el testigo del déficit hídrico un 294%, finalmente a los 31 DDT se observó un descenso en los niveles de prolina de todos los tratamientos respecto del muestreo realizado en 30 DDT. La diferencia estadística se generó cuando los contenidos de prolina en el tratamiento del elicitor se encontraron en el mismo rango del testigo absoluto (125 y 74 ppm, respectivamente), en tanto que, el testigo del déficit hídrico superó a este último observándose un 226% de incremento.

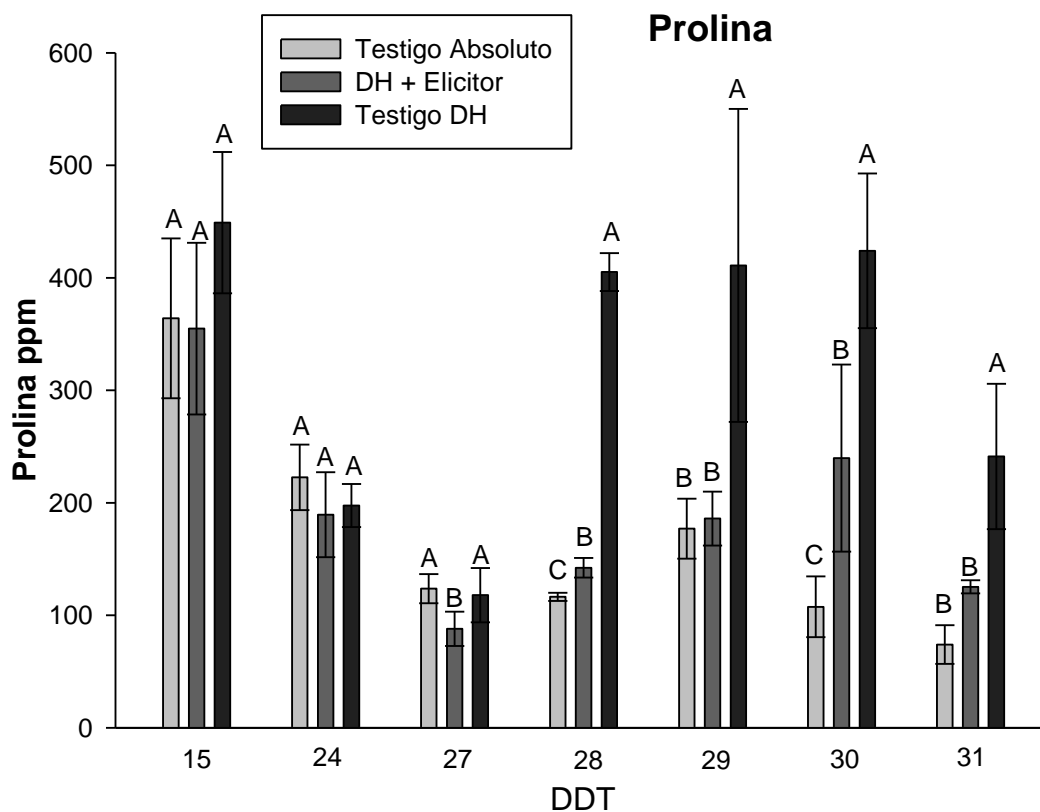


Figura 10. Contenido de prolina en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico en diferentes etapas del cultivo.

Es posible que el tratamiento que registró los niveles más altos de este aminoácido haya experimentado los mecanismos compensatorios propios de la prolina a través de las funciones de recuperación al haber terminado el período de estrés hídrico tal como afirmaron Blum & Ebercon (1976), llevando a cabo funciones de regulación osmótica (Aspinall & Paleg, 1981), promoviendo la protección contra la desnaturalización enzimática (Paleg *et al*, 1984) y la estabilización de la maquinaria para la síntesis de proteínas (Kardpal & Rao, 1985). Sin embargo estos resultados difieren de los obtenidos por Martínez y Moreno (1992), los cuales demuestran que en distintas variedades de papa se almacenan altos niveles de prolina inmediatamente después de aplicar el estrés hídrico. Esto confirma que, efectivamente, las cantidades de prolina que se sintetizan en respuesta al estrés hídrico, salinidad o temperaturas, varían entre especies como ha sido propuesto por Cavalieri y Huang en (1979) y Aspinall y Paleg (1981).

CONCLUSIONES

La aplicación de extractos naturales como elicitores fue efectivo al modificar el comportamiento y concentración de los compuestos estudiados relacionados con la resistencia y defensa de las plantas frente a estrés hídrico.

La aplicación foliar del extracto natural sobre las plantas de tomate de la variedad Rio Grande, generó un aumento en la actividad de la enzima PAL.

Se incrementó la producción de fenoles totales y prolina, compuestos que interviene en la formación de resistencia frente al estrés hídrico y la habilidad de recuperación posterior a esa etapa.

LITERATURA CITADA

- Abbasi, P.A., J. Al-Dahmani, F. Sahin, H.A.J. Hoitink, and S. A. Miller. (2002). Effect of compost amendment on diseases severity and yield of tomato in conventional and organic production system. *Plant Diseases*. 86:156-161
- Acevedo, E. (1979). Interacciones suelo-agua-raíz en el proceso de absorción de agua por las plantas. *Bol. Téc. Facultad de Agronomía Universidad de Chile*, 44(9), 17–25.
- Agrios, G. N. (1996). *Fitopatología*. Ed. Limusa. 2ª ed. México. 838 p.
- Alain-M., B. (2000). Lignins and lignification: Selected issues. *Plant Physiol. Biochem.* 38: 81-96.
- Angarita A. S. R. (2001). Moléculas activadoras de la inducción de resistencia, incorporadas en programas de agricultura sostenible. *Revista Manejo Integrado de Plagas* 6: 4-11.
- Appels, A. & Lagudah, H. E. (1990). Manipulation of chromosomal segments from wild wheat for the improvement of bread wheat. *Aust. J. Plant Physiol.*, vol. 17, p. 253-266.
- Ardila, H. D., Higuera, B. L. (2005). Inducción diferencial de Polifenol oxidasa y -1,3-glucanasa en clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) durante la infección por *Fusarium oxysporum* f. sp. dianthi raza 2. *Acta Biológica Colombiana*. 10: 65-78.
- Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*. 24(1): 1 – 15
- Aspinall, D. & Paleg, L.G. (1981). Proline accumulation: Physiological Aspects. *Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*. Academic Press, Australia. p. 205-241.

- Bastida T. A. (2006). Manejo y operación de invernaderos agrícolas. UACH AGRIBOT. 238 p.
- Basurto Sotelo, M., Núñez Barrios, A., Pérez Leal, R., & Hernández Rodríguez, O. a. (2008). Fisiología del Estrés ambiental en plantas. Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, 1–5.
- Bates, L. S. (1973). Short Communucation: Rapid determination of free proline for water – stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205–207.
- Baudoin, W., Nisen, A., Grafiadellis, M., Verlodt, H., Jiménez, R., De Villele, O., & Monteiro, A. (2002). El cultivo protegido en clima mediterráneo. Medios y Técnicas de Producción. Suelo y Sustratos. FAO. Roma, 143-182.
- Benavides, M.A (2002). “Ecofisiología y química del estrés en plantas”, Departamento de agricultura. UAAAN.
- Bernal, M. A., Díaz, J., Barceló, A. Ros y Merino de Cáceres, F. (1994). Peroxidase isoenzyme gradients in *Capsicum annuum* leaves and their expression in vegetative and flowering plant. *Agronomie*. Vol. 2, p. 205-210
- BIOIBERICA (*sin fecha*). Obtenido de <https://www.bioiberica.com/salud-vegetal/diagnostico-del-estres-vegeta/el-estres-vegetal>
- Blum, A. & Ebercon, A. (1976). Genotypic responses in sorghum to drought stress. III. Free proline accumulation and drought resistance. *Crop Science*, 16:428-431.
- Bonhert, H. & Sheveleva, E. (1998). Plant stress adaptations-making metabolism move. *Curr. Opin. Plant Biol.* 1: 267-274.
- Bonhert, H., Nelson, D. & Jensen, R. (1995). Adaptation to environmental stresses. *Plant Cell*: 1099-1111.

- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Carrera D. E., & Canacuán A. Z. (2011). Efecto de tres bioestimulantes orgánicos y un químico en dos variedades de frijol arbustivo, cargabello y calima rojo (*Phaseolus vulgaris* L.) en coatacachi-imbabura. Universidad técnica del Norte Ecuador.
- Casierra Posada, F. (2007). Fotoinhibición: Respuesta fisiológica de los vegetales al estrés por exceso de luz. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 1(1):114-123.
- Cavalcanti LS, Di Piero RM, Cia P, Pascholati SF, De Resende MLV, Romeiro R. (2005) Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. FEALQ. Piracicaba. 11-153.
- Cavaliere, A. J. & Huang, H. C. (1979). Evaluation of proline accumulation in the adaptation of diverse species of marsh halophytes to the saline environment. *American Journal of Botany*, 66:307-312.
- Cogdell, R.J. & Frank, H.A. (1987). How carotenoids function in photosynthetic bacteria. *Biochimica et Biophysica. Acta* 1020: 1-24.
- COLPOS (2014). COLPOS. Obtenido de <http://www.cofupro.org.mx/cofupro/Publicacion/Archivos/penit32.pdf>
- Cushman, J.C. (2001). Osmoregulation in plants: implications for agriculture. *Amer. Zool.* 41, 758-769
- Dalal V. K., Tripathy B. C. (2012). Modulation of chlorophyll biosynthesis by water stress in rice seedlings during chloroplast biogenesis. *Plant, Cell & Environment* 35: 1685-1703

- Davis, K. R., Lyon, G.D., Darvill, A. G., Albersheim, P. (1984). Host-pathogen interactions XXV. Endopolygalacturonic acid lyase from *Erwinia carotovora* elicits phytoalexins accumulation by releasing plant cell wall fragments. *Plant Physiology* 74: 52-60
- Dianese AC, Blum LEB, Dutrall JB, Lopes LF. (2009). Aplicação de fosfito de potássio, cálcio ou magnésio para a redução da podridão-do-pé do mamoeiro em casa de vegetação. *Revista Ciência Rural* 39 (8): 2309-2314.
- Diaz Puentes, L. N. (2012). Systemic Acquired Resistance Induced By Salicylic Acid Resistência Sistêmica Adquirida. *Biotecnología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial Vol 10 No. 2 (257 - 267), 10(2), 257–267.*
- Díaz, P., Borsani, O., Munza, J. (1999). Acumulación de prolina en plantas en respuesta al estrés osmótico. *Agrociencia*. 3(1), 1-10.
- Dixon R. A., Paiva N.L. (1995) Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7: 1085–1097.
- Ebel, J. (1986). Phytoalexin Synthesis: The Biochemical Analysis of the Induction Process. *Annals Review Phytopathology* 24: 235- 264.
- Ebel, J., & Mithöfer, A. (1998). Early events in the elicitation of plant defence. *Planta*, 206(3), 335-348.
- Edwards K, Cramer CL, Bolwell GP, Dixon RA, Schuch W, Lamb CJ (1985) Rapid transient induction of phenylalanine ammonia-lyase mRNA in elicitor-treated bean cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 6731–6735.
- Flowers, T. J. y Yeo, A. R. (1986). Ion relations of plants under drought and salinity. *Australian Journal of Scientific Research*, vol. 75, 91 p.

- FOSAC. (2007). Importancia de los ácidos húmicos. Fertilizantes orgánicos S.A.C. (en línea). Recuperado el 11 de septiembre de 2012. Disponible en: <http://fosacperu.blogspot.com/2007/07/importancia-de-los-cidos-humicos-delmo.html>
- Frensch, J. (1997). Primary responses of root and leaf elongation to water deficits in the atmosphere and soil solution. *Journal of Experimental Botany*, 48(5), 985-999.
- Friend, D.J.C. (1961). The control of chlorophyll accumulation in leaves of Marquis wheat by temperature and light intensity. *Physiol. Plantarum* 14:28-39.
- Gallardo R, N. G. (1998). Efecto de la aplicación de bioestimulantes en floración de palto (*Persea americana*) Mill. cv. Hass sobre la cuaja y retención de frutos. Universidad Católica de Valparaíso Chile. Recuperado el 07 de septiembre de 2012. Disponible en: <http://www.fichier-pdf.fr/2012/05/23/biostavocatier/biostavocatier.pdf>
- García M. R., & Pérez L. R. (2003). Fitoalexinas: mecanismo de defensa de las plantas. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales Y Del Ambiente*, 9(1), 5-10.
- García R. G. (2005). Efectos de un multi-extracto de algas y cianobacterias sobre la producción y calidad de tomate ecológico e integrado. Horticom. Recuperado el 11 de septiembre de 2012. Disponible en: <http://www.horticom.com/pd/imagenes/59/039/59039.html>
- Ghazanfar, M. Usman; Wakil, W. & Sahi, S. T. (2011). Inducción de Resistencia en garbanza (*Cicer arietinum* L.) contra *Ascochyta rabiei* por la aplicación de productos químicos y extractos vegetales. *Chilean Journal of Agricultural Research Vol. 71*, No. 1, pp. 52-62
- Gómez, D. E., & Reis, E. M. (2011). Inductores abióticos de resistencia contra fitopatógenos. *Química Viva*. 1, 6-17.

- González Morales, S., Pérez Delgado, H., Benavides-Mendoza, A., Rodríguez Campos, E. & Flores Olivas, A. (2011). Expresión diferencial de genes y metabolitos relacionados a la inducción de defensa relacionada a la aplicación del extracto de *Heliopsis longipes* sobre el patosistema tomate-*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *J. Agric. Food Chem.* 51(16):4487-4503
- González M. S. (2011). Respuesta de defensa relacionada con la aplicación de extracto de *Heliopsis longipes* en el patosistema tomate-*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. [Tesis de Doctorado], UAAAN.
- González, G. A., & Trejo-Tellez, B. (2012). Nutrición de cultivos. *México DF., México. Mundi-Prensa.*
- Granados Escobar E. F. (2015). Efecto de bioestimulantes foliares en el rendimiento del cultivo de berenjena.
- Heather M. Way, Kemal Kazan, Neena Mitter, Kenneth C. Goulter, Robert G. Birch and John M. Manners. (2002). Constitutive expression of a phenylalanine ammonia-lyase gene from *Stylosanthes humilis* in transgenic tobacco leads to enhanced disease resistance but impaired plant growth. *Physiological and Molecular Plant Pathology.* 60: 275-282.
- Hernández, T., Canales, M., García, A. M., Duran, A., Meráz, S., Dávila, P., Ávilah, J. G. (2008). Antifungal Activity of the Essential Oils of Two Verbenaceae : *Lantana achyranthifolia* and *Lippia graveolens* of Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México.
- Higuera, B. L. (2001). Contribución al estudio de la participación de los compuestos fenólicos en los mecanismos de la interacción clavel *Dianthus caryophyllus* L-*Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. Tesis de doctorado en Química. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.

- Hodges D.M., Lester G.E., Munro K.D., Toivonen P.M.A. (2004) Oxidative stress: importance for postharvest quality. *HortSci.* 39, 924-929. Lyons J., 1973. Chilling injury in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 24: 445-466.
- Jansen, M. A., Gaba, V. & Greenberg, B. (1998) Higher plants and UV-B radiation: Balancing damage, repair and acclimation. *Trends Plant Sci.* 4, 131-135.
- Jorquera, Y., & Yuri, J. A. (2006). Bioestimulantes. Centro de Pomáceas de la Universidad de Talca.
- Kardpal, R.P. & Rao, N.A. (1985). Alterations in the biosynthesis of proteins and nucleic acids in finger millet (*Eleucibe cirocana*) seedlings during water stress; and the effects of proline on protein biosynthesis. *Plant Science*, 40:73-79.
- Kramer, P.J. (1983). "Drought Tolerance and Water Efficiency", en: Water Relations of Plants, Nueva York, Academy Press. 390-415.
- Lallana, V. H. (2004). Fisiología en condiciones de estrés. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 1–17.
- Lara Ledesma, S. E. (2009). Evaluación de varios Bioestimulantes Foliares en la producción del Cultivo de Soya (*Glycine max* L.), en la zona de Babahoyo Provincia de Los Ríos. *Escuela Superior Politécnica Del Litoral*.
- Larcher, W. (1995). *Physiological Plant Ecology*, Berlin, Heidelberg, Springer-Verlang. p. 506
- Lawton M.A., Dixon R.A., Hahlbrock K., Lamb C. (1983) Rapid induction of the synthesis of phenylalanine ammonia-lyase and of chalcone synthase in elicitor-treated plant cells. *Eur J Biochem* 129: 593–601.
- Lee, A. (2009). El movimiento del agua a través de las plantas. *Horticultura internacional*, 44, 72.

- Lei, T.T., Tabuchi, R., Kitao, M. y Koike, T. (1996). Functional relationship between chlorophyll content and leaf reflectance, and light-capturing efficiency of Japanese forest species. *Physiol. Planta* 96:411-418.
- Leung, J. y J. Giraudat. (1998). Abscisic acid signal transduction. *Ann. Rev. plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 199-222.
- Liang X. W., Dron M., Cramer C. L., Dixon R. A., Lamb C. J. (1989) Differential regulation of phenylalanine ammonia-lyase genes during plant development and by environmental cues. *J. Biol Chem* 264: 14486–14492.
- Liang, X. W., Dron, M., Schmid, J., Dixon, R. A., & Lamb, C. J. (1989). Developmental and environmental regulation of a phenylalanine ammonia-lyase-beta-glucuronidase gene fusion in transgenic tobacco plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(23), 9284-9288.
- Luthria, D.L., S. Mukhopadhyay y D.T. Krizek. (2006). Content of total phenolics and phenolic acids in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 771-776.
- Martinez, C., & Moreno, U. (1992). Expresiones fisiológicas de resistencia a la sequía en dos variedades de papa sometidas a estrés hídrico en condiciones de campo. *Bras. Fisiol. Veg*, 4(1), 33–38.
- Medjdoub, R. (2012). Las Algas Marinas y la Agricultura. Terralia. Recuperado el 11 de septiembre de 2012. Disponible en: <http://www.terralia.com/articulo.php?recordID=5806>
- Medrano, H., Bota, J., Cifre, J., Flexas, J., Ribas-carbó, M., Gulías, J. (2007). Eficiencia En El Uso Del Agua Por Las Plantas. *Investigaciones Geográficas*, 43, 63–84.

- Méndez, L.W., Arauz, L.F., Ríos, R. (2010). Evaluación de fungicidas convencionales e inductores de resistencia para el combate del mildiu veloso (*Pseudoperonospora cubensis*) en melón (*Cucumis melo*). *Agronomía Costarricense* 34(2): 153-164.
- Mitrakos, K. (1959). Tagesperiodische Schwankungen der Fähigkeit zur Chlorophyllbildung. *Plant Physiology*. 52:583-586.
- Modafar, E.L., Tantaoui, A., Boustani, E.L. (2001). Differential induction of Phenylalanine ammonia-lyase activity in date palm roots in response to inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* and to elicitation with fungal wall elicitor. *Journal of Plant Physiology*. 158: 715-722.
- Mohammadi, M.; Kamesi, H. (2002). Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. *Plant Science*. 162: 491-498.
- Moreno F, L. P. (2009). Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. *Agronomía Colombiana*, 27(2), 179–191.
- Munira, S., Hossain, M. M., Zakaria, M., Ahmed, J. U. & Islam, M. M. (2015). Evaluation of Potato Varieties against Salinity Stress in Bangladesh. *IJPSS*, 6(2): 73-81.
- Navrot, N., V. Collin, U. Gualberto, E. Gelhaye, M. Hirasawa, P. Rey, D. B. Knaff, E. Issakidis, J. P. Jacquot and N. Rouhier. (2006). Plant Glutathione peroxidases are functional peroxiredoxins distributed in several subcellular compartments and regulated during biotic and abiotic stresses. *Plant Physiology*. 142: 1364-1379
- Nguefack, J., Leth, V., Amvam Zollo, P.H., S.B. Mathur. (2004). Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. *Journal of Food Microbiology*, 94: 329-334.

- Núñez E. R. (1981). Principios de fertilización agrícola con abonos orgánicos. Biotecnología para el aprovechamiento de los desperdicios orgánicos. AGT Editor S.A. México, D. F. 117 p
- Obledo, E.N., Hernández-Rosales A.S., López-Orué, M.L. (2004). Extractos vegetales, una opción en el control de la Sigatoka negra. XVI Reunión Internacional ACORBAT. Oaxaca. México.
- Olivares E. O. (2005) Efecto de la sequía sobre la eficiencia fotoquímica del psii en *N. dombeyi* (Mirb.) Oerst. Trabajo presentado para optar al título de Licenciado en Ciencias Biológicas. Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. Valdivia
- Padilla-Ramírez, J.S. (1994): Osmotic adjustment of Cotton (*G. hirsutum*. L.) in Response to Water Stress, Las Cruces, Nuevo México, Universidad de Las Cruces, p. 110
- Palazón, P. A. (2014). Bioestimulantes e inductores de resistencia en el control de las enfermedades de madera. Agroalimentarios, E. (n.d)
- Paleg, L.G., Steward, C.R. & Bradbeer, J.W. (1984) Proline and glycine betaine influence protein solvation. *Plant Physiology*, 75:974-978.
- Pardo, A. (2013). Importancia del invernadero hoy en día; factores a considerar previos a la construcción. *deRiego*, 67(1), 7-8.
- Pascholati SF, Leite B. (2005). Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças. *Revisão Annual de Patologia de Plantas* 2:1-51.
- Paz Lago, D., Cabrera, G., Ramírez, M., Pombo, R., Gutiérrez, A. (1999). Influencia de derivados de quitina en la interacción tomate-*Fusarium oxysporum* f. sp. *licopersici* a nivel de bioensayo. *Cultivos Tropicales* 20:59- 66.

- Pinhero, R.G., M.V. Rao, G. Palyath, D.P. Murr, R.A. Fletcher. (2001). Changes in the activities of antioxidant enzymes and their relationship to genetic and paclobutrazol-induced chilling tolerance of maize seedlings. *Plant Physiology*. 114, 695-704
- Pitta-Alvarez SI, Spollansky TC, Giulietti AM. (2000). The influence of different biotic and abiotic elicitors on the production and profile of tropane alkaloids in hairy root cultures of *Brugmansia candida*. *Enzyme Microb Technol*; 26:252–8.
- Potters, G., T.P. Pasternak, Y. Guisez, K.J. Palme, M.A.K. Jansen. (2007). Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? *Trends Plant Science*. 12(3), 99-105.
- Powels, S.B. (1984). Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annu. Rev. Plant Physiol* 35:14-44.
- Pozo, M. J. (1999). Inducción de enzimas hidrolíticas en raíces de tomate (*Lycopersicon esculentum*) como respuesta a la formación de MA y su implicación en el control biológico de *P. parasítica*. Granada: Universidad de Granada.
- Pradhanang, P. M., Ji, M., Momol, M. T., Olson, S. M., Mayfield, J. L. & Jones, J. B. (2005). Application of acibenzolar-S-methyl enhances host resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum*.
- Pugnaire, F. I., Serrano, L. U. I. S., & Pardos, J. O. S. E. (1994). Constraints by water stress on plant growth. *Handbook of plant and crop stress*, 2, 271-283.
- Quiminet. (2011). Aproveche las ventajas de utilizar ácido fúlvico en la agricultura. Quiminet. (En línea). Recuperado el 11 de septiembre de 2012. Disponible en: <http://www.quiminet.com/articulos/aproveche-las-ventajas-de-utilizar-acidofulvico-en-la-agricultura-2644286.htm>

- Raddatz E. (2001). VAM y la resistencia de las plantas contra causantes de daños. Cali, Colombia. 17 p.
- Riveros A. S., Rosales F. E., Pocasangre L. E. (2004). Manejo alternativo de *Mycosphaerella fijiensis* a través de la inducción de resistencia y uso de bioproductos. XVI Reunión Internacional ACORBAT.
- Romero-Aranda, R., Soria, T. & Cuartero, J. (2001) Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. *Plant Science*, vol. 160(2), p. 265-272
- SAGARPA. (2016). SAGARPA. Obtenido de <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/bajacaliforniasur/boletines/2016/ago/sto/Documents/2016BS345.pdf>
- Sagromsky, H. (1956). Zur Chlorophyll bildung bei Aureaformen I. Z. Naturf. 11 b, 548-554.
- Sairam, R. K. and D. C. Saxena. (2000). Oxidative stress and antioxidants in Wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy & Crop Science*. 184, 55-61.
- Sanabria, H. (2011). Beneficio de aminoácidos ante situaciones de estrés del cultivo. Hortalizas. (En línea). Disponible en: <http://www.hortalizas.com/articulo/26092/beneficios-de-aminoacidos-antesituaciones-de-estres-del-cultivo>
- Santos, I., Almeida, J., Fidalgo, F. y R. Salema. (2004) Biochemical and ultrastructural changes in leaves of potato plants grown under supplementary UV-B radiation. *Plant Science*. 167, 925-935.
- Savitha, B. C., Thimmaraju, R., Bhagyalakshmi, N., & Ravishankar, G. A. (2006). Different biotic and abiotic elicitors influence betalain production in hairy root cultures of *Beta vulgaris* in shake-flask and bioreactor, 41, 50–60.

- Schreiber, K., & Desveaux, D. (2008). Message in a bottle: chemical biology of induced disease resistance in plants. *Plant Pathol. Vol. 24(3)*, 245-268.
- Schwentenius, R., & Gómez, M. (1998). Competitividad de hortalizas mexicanas en el mercado norteamericano. Tendencias recientes en el marco del TLC. TLC y agricultura: ¿Funciona el experimento? 3-52.
- Shao, H.B., L.Y. Chu, C.A. Jaleel y C.X. Zhao. (2008). Water-deficit stress induced anatomical changes in higher plants. *C.R. Biol.* 331, 215-225
- Shindo Y., Witt E., Han D., Epstein W., Parkel L. (1994). Enzymic and non-enzymic antioxidants in epidermis and dermis of human skin. *Journal of Investigative Dermatology. Vol. 102*, pp. 122-124.
- SIAP. (2015). SIAP. Obtenido de http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/identidad/index.jsp
- Solórzano, E. (1997). Inducción y caracterización parcial de proteínas asociadas con la patogénesis en la interacción tomate-*Alternaria solani*. [Tesis de Maestría], INISAV.
- Sônego OR, Garrido L, Czermainski ABC. (2003). Avaliação de Fosfitos no Controle do Míldio da Videira. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Embrapa. 1-18
- Stuart, T. D., S. Wilkinson, M. A. Bacon and W. J. Davies. (1997). Multiple signals and mechanisms that regulate leaf growth and stomatal behaviour during water deficit. *Physiologia Plantarum.* 100: 303-313
- Taiz, L. y E. Zeiger. (2006). Plant Physiology. 4th ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Taiz, L., Zeiger, E. (1991). Plant Physiology. The Benjamin/Cummings. Redwood City, California. U.S.A. 316 p.

- Tanaka, A., & Tanaka, R. (2006). Chlorophyll metabolism. *Current opinion in plant biology*, 9(3), 248-255.
- Terumi I. A., Batista T. J. J., Schwan-Estrada, K. R. F. (2013). *Cymbopogon citratus* essential oil bioactivity and the induction of enzymes related to the pathogenesis of *Alternaria solani* on tomato plants. *Idesia*, 31(4), 11–17.
- Tlatilpa Santamaría, M. I. (2010). Estrategias de manejo de *Clavibacter Michiganensis* subsp. michiganensis en jitomate. (Tesis de Grado). Colegio de Postgraduados. Texcoco, Edo. México.
- Tripathi, P., Rabara, R. C., & Rushton, P. J. (2013). A systems biology perspective on the role of WRKY transcription factors in drought responses in plants.
- Turner, N. C. (1986). Adaptation to water deficits: a changing perspective. *Functional Plant Biology*, 13(1), 175-190.
- Ustin, S.L., Smith, M.O., Jacquemoud, S., Verstraete, M.M., y Govaerts, Y. (1998). GeoBotany: Vegetation mapping for Earth sciences, in *Manual of Remote Sensing, Remote Sensing for the Earth Sciences*, edited by A. N. Rencz, 3rd ed., 3:189-248.
- Walters, D., Walsh, D., Newton, A. & Lyon, G. (2005). Induced resistance for plant disease control: maximizing the efficacy of resistance elicitors. *Phytopathology*, 95: 1368-1373.
- Wang, S.Y. y W. Sheng. 2001. Effect of plant temperature on antioxidant capacity in strawberry. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 49, 4977-4982.
- Ward, E. R., Uknes, S. J., Williams, S. C., Dincher, S. S., Wiederhold, D. L., Alexander, D. C., Ahl Goy, P., Metraux, J. P.; Ryals, A. (1991). Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *Plant Cell* 3: 1085-1094.

- Yong Z, Hou N, Wang Q, Yang J-T, Yang X-T, Fan W. (2012) Responses of chlorophyll content and fluorescence to water stress in *Vitex negundo* var. *Heterophylla*: take hilly area of Taihang Mountain in Henan for example. International Conference on Biomedical Engineering and Biotechnology (ICBEB), pp.1656 -1659.
- Zancan, S., Cesco, S. y Ghisi, R. (2006) Effect of UV-B radiation on iron content and distribution in maize plants. *Environmental and Experimental Botany*. 55, 266-272.
- Zarco Tejada, P. J., Miller, J. R., Morales, A., Berjon, A., Aguera, J. (2004). Hyperspectral indices and model simulation for chlorophyll estimation in open-canopy tree crops. *Remote Sensing of Environment*. 90:463-476.