

Efecto de Bioestimulantes en Crecimiento, Fisiología y Calidad Bioquímica de Frambuesa (*Rubus idaeus* L.) Sometida a Estrés Hídrico Effect of Biostimulants on Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Growth, Physiology and Biochemical Quality Subjected to Water Stress

Gerardo Anastacio-Angel¹ , José Antonio González-Fuentes¹ ,
Alejandro Zermeño-González² , Armando Robledo-Olivo¹ ,
Eduardo Alberto Lara-Reimers³ y Fidel Maximiano Peña-Ramos⁴

¹ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Maestría en Ciencias en Horticultura, ² Maestría en Ciencias en Ingeniería en Sistemas de Producción, ³ Departamento Forestal, ⁴ Departamento de Ciencias del Suelo. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista. 25315 Saltillo, Coahuila, México; (G.A.A.), (J.A.G.F.), (A.Z.G.), (A.R.O.), (E.A.L.R.), (F.M.P.R.).

† Autor para correspondencia: jagf252001@gmail.com

RESUMEN

En la actualidad la actividad agrícola se ve amenazada constantemente por los efectos del cambio climático y la expresión radical de los factores ambientales, como la irregularidad en la distribución pluvial responsable de la disponibilidad del agua y déficit, que genera estrés hídrico en los sistemas productivos, cuyo efecto negativo se refleja en aspectos de crecimiento vegetativo, morfológicos, fisiológicos y bioquímicos. El uso de bioestimulantes surge como estrategia para contrarrestar este impacto, mejorando la eficiencia de los cultivos en el uso de los recursos y generar respuestas, como la producción de metabolitos entre otras sustancias, que mitigan los efectos del estrés oxidativo. Bajo este contexto se planteó el uso de ceras, peróxido de hidrogeno (H_2O_2), ácido salicílico (AS) y algaenzims, sobre plantas de frambuesa sometidas a estrés hídrico moderado (-0.8 MPa) con el objetivo de evaluar la respuesta en aspectos de crecimiento vegetativo, fisiológicos y calidad bioquímica de frutos, para el establecimiento se empleó un diseño completamente al azar con 5 tratamientos: greencover as[®] 5 mL L⁻¹, H_2O_2 10⁻⁴ M, ácido salicílico 0.27 mM, algaenzims[®] 7.5 mL L⁻¹ y el control con recuperación del 50% del volumen transpirado y con potencial hídrico similar al resto de plantas y 4 repeticiones. Como resultados se obtuvo que las ceras, AS y el extracto de algas incrementaron la tasa fotosintética, los cuatro tratamientos aumentaron la longitud de raíces, las ceras la altura, y el H_2O_2 la biomasa de raíz. Por otro lado, en comparación con el control, se produjeron mayores niveles de vitamina C y antocianinas en frutos, un aspecto muy importante por la funcionalidad de estos compuestos en la salud humana. Por lo tanto, el uso de estos bioestimulantes se puede visualizar como una herramienta de gran utilidad para el manejo de cultivos en ambientes con restricción de agua.

Palabras clave: cambio climático, fotosíntesis, metabolitos, sistemas productivos.

SUMMARY

Currently, agricultural activity is constantly threatened by the effects of climate change and radical expression of environmental factors as irregular rainfall distribution responsible for water availability and deficit. These factors generate water stress in productive systems, whose negative effect is reflected on morphological, physiological and biochemical aspects of vegetative growth. The use of biostimulants arises as a strategy to counteract this impact, improving crop efficiency in the use of resources and generating responses, as metabolite production, among other substances that mitigate the effects of oxidative stress. In this context, waxes, hydrogen peroxide (H_2O_2), salicylic acid (SA) and ALGAENZIMS^{MR} were used on raspberry plants subjected to moderate water stress (-0.8 MPa) to evaluate the fruit response



Cita recomendada:

Anastacio-Angel, G., González-Fuentes, J. A., Zermeño-González, A., Robledo-Olivo, A., Lara-Reimers, E. A., & Peña-Ramos, F. M. (2024). Efecto de Bioestimulantes en Crecimiento, Fisiología y Calidad Bioquímica de Frambuesa (*Rubus idaeus* L.) Sometida a Estrés Hídrico. *Terra Latinoamericana*, 42, 1-14. e1772. <https://doi.org/10.28940/terra.v42i0.1772>

Recibido: 15 de junio de 2023.
Aceptado: 13 de octubre de 2023.
Artículo. Volumen 42.
Enero de 2024.

Editor de Sección:
Dr. Pablo Preciado Rangel

Editor Técnico:
Dra. Elizabeth Hernández Acosta



Copyright: © 2024 by the authors.
Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY NC ND) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

in aspects of vegetative growth, physiological and biochemical quality. For the establishment, a completely randomized design was used with 5 treatments: Green Cover as 5 mL L⁻¹, H₂O₂ 10⁻⁴ M, salicylic acid 0.27 mM, ALGAENZIMS^{MR} 7.5 mL L⁻¹ and the control with 50% recovery of the transpired volume as well as water potential similar to the rest of plants and 4 replicates. The results showed that waxes, SA and algal extract increased the photosynthetic rate; the four treatments increased root length; waxes increased root height; and H₂O₂ increased root biomass. Compared to the control, higher levels of vitamin C and anthocyanins were produced in fruits - a very important aspect due to the functionality of these compounds in human health. Therefore, the use of these biostimulants are a very useful tool for crop management in environments with water restriction.

Index words: *climatic change, photosynthesis, metabolites, production systems.*

INTRODUCCIÓN

El cambio climático es un reto para el desarrollo de la agricultura y la seguridad alimentaria, la modificación de los patrones de temperatura y precipitación son elementos que pueden afectar la sostenibilidad agrícola (Malhi, Kaur y Kaushik, 2021). La emisión de gases de efecto invernadero se considera clave en la modificación de estos componentes del clima, dentro de los cuales la disponibilidad de agua es el más importante por los efectos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos que produce en las plantas (Anjum *et al.*, 2011; Boretti y Florentine, 2019; Ozturk *et al.*, 2021). Algunos procesos afectados como expansión celular, síntesis de proteínas, apertura estomática, conductancia y fotosíntesis (metabolismo primario) traen como consecuencia baja generación de biomasa, además una fuente limitada de energía y poder reductor afecta el metabolismo secundario encargado de generar respuestas de adaptación (Florido y Bao, 2014; Parmesan y Hanley, 2015; Dusenge, Duarte y Way, 2019).

El metabolismo primario de las plantas comprende los procesos fotosíntesis y respiración, y la realización en tasas estables, es lo que permite a las plantas obtener las sustancias y energía para crecer, desarrollarse y reproducirse (Brestic y Allakhverdiev, 2022). En el proceso fotosintético asociado a la transpiración, las plantas convierten la energía radiante en energía química almacenada en adenosina trifosfato (ATP), nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) y carbohidratos, sin embargo, este proceso solo es posible con la presencia de agua y sus propiedades (Holding y Streich, 2013). Por lo tanto, la exposición a estrés hídrico se traduce en última instancia en una disminución de los rendimientos (Hayat, Aiman, Fariduddin y Ahmad, 2008).

En la agricultura del futuro las modificaciones de los factores ambientales como la temperatura y la limitante del agua, disminuirán los rendimientos y aumentarán las pérdidas económicas, generando dificultades de acceso a los alimentos (Fang y Xiong, 2015; Arora, 2019).

El uso de bioestimulantes obtenidos de fuentes naturales y artificiales surgen como una propuesta capaz de permitir mejoras en la productividad y calidad de los productos en los sistemas agrícolas bajo condiciones de estrés cada vez más frecuentes (Bulgari, Franzoni y Ferrante, 2019; Del Buono, 2021). La complejidad de estos productos, sus componentes y características son capaces de inducir la bioestimulación a nivel celular resultando en modificaciones de los programas de desarrollo de los organismos expuestos (González-Morales *et al.*, 2021). Moléculas como AS y algas marinas han mostrado efectos positivos contra el estrés (Carvalho, de Camargo, Gaziola y Antunes, 2018; Rai, Pandey y Rai, 2020; Sharma *et al.*, 2020; Preciado, Reyes, Ramírez, Salas, Fortis, Murillo y Troyo, 2019; Zulfikar *et al.*, 2021) a través de la regulación de procesos metabólicos, producción de metabolitos secundarios y osmoprotectantes, aumentando la producción de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, e incluso actuando como antioxidante.

Por otro lado, se usó H₂O₂ bajo el sustento de que es una especie reactiva de oxígeno (ERO) resultado de la exposición al estrés y que el balance de las mismas es responsable de la activación del sistema de defensa antioxidante benéfico para las plantas (Hasanuzzaman *et al.*, 2021). Además, se conoce la sinergia del H₂O₂, la auxina y Ca, implicadas en procesos de señalización que regulan la concentración de azúcares y energía, que posteriormente promueven la división y diferenciación celular que permiten la formación de raíces (Roussos, 2023). Productos elaborados a base de ceras naturales cuya posible forma de acción, es mejorar las funciones de la cutícula contra pérdida de agua y reflexión de la radiación solar, ambas capaces de proporcionar protección contra factores de estrés (Tafolla, González, Tiznado, Zacarias y Baez, 2013, Sharma, Kothari, Rathore y Gour, 2018).

Tras lo expuesto se planteó como objetivo determinar la respuesta de la frambuesa a la aplicación de greencover as[®] (ceras), H₂O₂, AS y Algaenzims, cuando las plantas están bajo estrés hídrico y determinar los efectos en el crecimiento, fisiología y características de calidad bioquímica en los frutos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se estableció en un macrotunel de 350 m² con paredes de fibra de vidrio, techo de polietileno, pared húmeda y extractores de aire del departamento de Horticultura, en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coahuila, México. El material vegetal utilizado fue plantas de frambuesa XE25, establecida en macetas de 11 L, con sustrato de crecimiento compuesto por fibra de coco-peat moss 60:40 (v/v) con valores de propiedades físicas de 88% de porosidad total, 25% aireación y 63% de retención de humedad. El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar con cinco tratamientos: greencover as® (cera natural: 5 mL L⁻¹), H₂O₂ (10⁻⁴ M), ácido salicílico (0.27 mM), algaenzims® (7.5 mL L⁻¹) y el control con recuperación del 50% del volumen transpirado y con potencial hídrico similar al resto de plantas y cuatro repeticiones con dos plantas por unidad experimental 40 unidades experimentales en total, dispuestas en doble hilera regadas con solución Stainer (Steiner, 1961).

La aplicación foliar de tratamientos se inició 90 días después del trasplante (DDT) con plantas de 60 cm de altura, mientras que la inducción del primer episodio de estrés hídrico fue a los 89 DDT y consistió en detener el riego hasta registrar un potencial hídrico de xilema de (-0.8 MPa) medido con la cámara de presión portátil Tipo Scholander (PMS Instrument Company, Albany, OR), esto sucedió al segundo día y posterior a ello se hicieron riegos de recuperación, y se repitieron periodos de estrés y aplicación de tratamientos de forma quincenal hasta completar tres.

Para determinar efectos que tuvieron los estimulantes sobre las plantas de frambuesa se determinaron variables agronómicas y de crecimiento como diámetro de tallos con un vernier (Mitutoyo Corp., Kanagawa, Japón), la altura de plantas, longitud de raíz, con un Flexometro gripper (Truper, S.A. de C.V, México), peso seco de raíz, peso seco de biomasa aérea y rendimiento con una báscula electrónica Baco-30, Rhino (Rhino instruments, México). Las características de calidad que demanda el mercado como sólidos solubles totales se determinó con un refractómetro Master, 53®, Atago (Atago Co., LTD, Japón), pH con el uso de un potenciómetro HI 98107, Hanna, (Hanna® instruments, Rusia) y acidez titulable se obtuvo por titulación con hidróxido de sodio (AOAC, 2000).

Las variables de respuesta fisiológica como la tasa de fotosintética $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, transpiración $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y conductancia estomática $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, fueron determinadas en hojas maduras expuestas y orientadas al este, empleando el equipo de fotosíntesis portátil LI-6800, LI-COR (LI-COR, Inc, Nebraska USA), bajo saturación de luz de ($850 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Con los datos obtenidos se obtuvo la eficiencia instantánea del uso de agua (EiUA). Adicionalmente se determinó área foliar específica (AFE), como variable morfológica, se obtuvo mediante muestras de láminas foliares con área conocida, y su división entre su propio peso seco, para obtener cm^2 de hoja por g de peso. Las variables de calidad bioquímica como la vitamina C se determinó mediante la metodología reportada por Padayatt *et al.* (2001). El procedimiento consiste en pesar 10 g de fruto, triturar en mortero, con 10 mL de ácido clorhídrico al 2% (v/v) a continuación el resultado se homogeniza en 40 mL de agua destilada, se filtra y se recoge en un matraz, 10 mL del sobrenadante se titulan con 2,6-diclorofenol ($1 \times 10^{-3} \text{ N}$) hasta alcanzar el color rosa. Posteriormente la vitamina C se calculó con la fórmula $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ PF} = (\text{mL } 2.6 \text{ diclorofenol} \times 0.0088 \times \text{volumen total} \times 100) / (\text{volumen de alícuota por peso de muestra})$.

La determinación de antocianinas involucró la metodología de Atanacković *et al.* (2012), que consistió en tomar 100 mg de fruto liofilizado de frambuesa, adicionar 2 mL de solución extractora etanol/agua/HCl concentrado en proporción (70:29:1), se homogenizó con vortex y se colocó en baño de ultrasonido por cinco minutos, para posteriormente centrifugar a 12 000 rpm por 10 minutos. Se leyó el sobrenadante a 540 nm en espectrofotómetro UV-Vis y se calculó la concentración en equivalentes de malvidin-3 glucósido. Los fenoles totales se obtuvieron usando la metodología de Ainsworth y Gillespie (2007) mediante espectrofotometría utilizando reactivo Folin-Ciocalteu 1M. La técnica consistió en colocar 50 μL de extracto de biomoléculas más 200 μL de reactivo Folin-Ciocalteu 1M, 500 μL Na₂CO₃ 20% (m/v) y 5 mL de agua destilada. Esto se reposó a 45° durante 20 minutos, para generar la reacción y se leyó la muestra en espectrofotómetro UV-Vis a longitud de onda de 750 nm, los resultados se interpolaron en la curva de calibración trazada con ácido gálico.

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANVA) usando el programa Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2008) y para la comparación de medias se usó LSD Fisher ($P \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables Agronómicas

Los valores de los componentes vegetativos de la planta como son altura y longitud de raíz muestran diferencias estadísticas significativas, mientras que no se reflejaron en el diámetro del tallo ni en el peso del fruto (Figura 1c, d). Las plantas tratadas con el producto a base de ceras naturales aumentaron su altura en 10.48% al compararse con las plantas control, esto ocurre al favorecer el proceso fotosintético por refracción de la radiación excesiva (Xue, Zhang, Lu, Chen y Chen, 2017), (Figura 1a). El comportamiento de las plantas sometidas a una condición de estrés hídrico, tienden a reducir aspectos como el área foliar, contenido relativo de agua, potencial hídrico y contenido de clorofila Ahmad *et al.* (2021), de esta manera se produce menor cantidad de biomasa afectando el crecimiento.

La aplicación de los bioestimulantes: H_2O_2 , algas marinas y AS, no generaron diferencias estadísticas significativas en los valores de altura comparados con el control.

La longitud de las raíces de las plantas incremento con el uso de ceras, H_2O_2 , AS y algas marinas, superando al control en 104.47, 107.46, 182.08 y 76.11% respectivamente (Figura 1, b). El uso de ceras favorece el crecimiento de raíces debido a que este componente cuticular cumple la función de reducir la tasa de transpiración como lo enuncia Patwari *et al.* (2019) y en combinación con la protección de la excesiva radiación solar explicada por Xue *et al.* (2017) es posible mantener niveles fotosintéticos que permiten sintetizar complejos de carbono que permitirán el crecimiento de raíces para tener mayor superficie de exploración en la búsqueda de agua. Con respecto a las aplicaciones de H_2O_2 a concentración de $600 \mu\text{mol}$ se ha reportado que es capaz de promover el enraizamiento, esto ocurre a través de la protección de la estructura mesofilica, que trae mejoras en el aparato fotosintético permitiendo la producción de carbohidratos y nitrógeno que puede emplearse para zonas en crecimiento como la raíz (Liao, Huang, Yu y Zhang, 2012), también se ha encontrado que el H_2O_2 al 2% mejora el crecimiento en plantas al estimular la división y alargamiento celular (Farouk y Qados, 2018), este mismo mecanismo también es estimulado por el ácido salicílico y permite aumentar de la longitud de raíces (Li, Sun y Liu, 2022). El uso de algas es capaz de regular genes que codifican para aumentar el crecimiento de raíz y a la promoción de la resistencia al estrés abiótico (Kumar, Trivedi, Anand y Ghosh., 2020a; Battacharyya, Badgohari, Rhathor y Prithviraj, 2015).

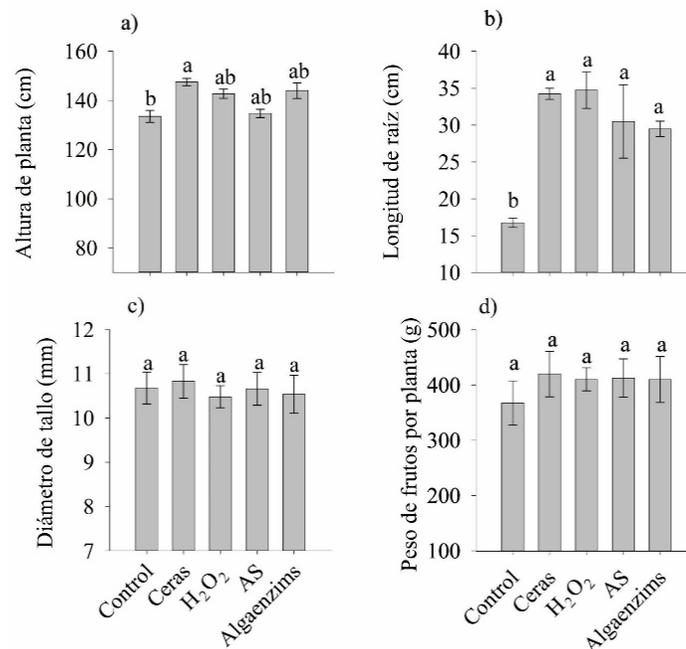


Figura 1. Influencia de los tratamientos con bioestimulantes en la (a) altura, (b) longitud de raíces, (c) diámetro de tallo y (d) rendimiento de frambuesa bajo estrés hídrico moderado (-0.8 MPa). Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas a $P \leq 0.05$.

Figure 1. Influence of treatments with biostimulants on (a) height, (b) root length, (c) stem diameter and (d) raspberry yield under moderate water stress (-0.8 MPa). Different letters indicate statistically significant differences at $P \leq 0.05$.

El diámetro del tallo de las plantas y el rendimiento expresado como peso de fruto por planta (Figura 1c, d), no se vieron afectados por la aplicación de los tratamientos, sin embargo, se aprecia una tendencia numérica a incrementar los valores en esta última variable, lo que sugiere que al incrementar el número de aplicaciones podría obtenerse diferencias estadísticas significativas. Investigadores como Orabi, Dawood y Salma (2015) con dosis más altas lograron obtener mejoras en el rendimiento de dos cultivares de tomate con la aplicación de H_2O_2 y AS en dosis de 0.5 y 1.0 mM respectivamente, sin embargo, la condición de estrés estudiada fue baja temperatura, que no involucra la disminución del agua en tejidos como lo hace el estrés hídrico, pero si impide su uso por las plantas.

La cuantificación de biomasa seca de raíz y biomasa seca aérea mostraron diferencias estadísticas significativas, y para ambos componentes el efecto del AS produjo valores iguales al control (Figura 2a, b). La biomasa seca aérea supero en peso al control con 69.78 y 64.68% cuando se aplicaron, ceras y algas, respectivamente (Figura 2a), la posible explicación de esto es que las ceras son un rasgo natural de las plantas que puede reflejar y proteger a las plantas de la radiación excesiva, permitiendo generar mejores condiciones para desarrollar las funciones metabólicas, que eventualmente permiten la acumulación de biomasa (Xue *et al.*, 2017), mientras que los extractos de algas ejercen efectos gracias a la complejidad de sus constitución que alberga polisacáridos, macro y microelementos, vitaminas y fitohormonas, que sirven como sustratos del metabolismo, induciendo rápidas respuestas fisiológicas que promueven el crecimiento y desarrollo (Mutale-Joan *et al.*, 2020). Estos resultados concuerdan con El-Dayem (2018) quien tras aplicar de 4 mL L^{-1} de extracto de algas aumento significativamente la biomasa seca aérea de alcachofa. Por otro lado, los resultados de biomasa seca de raíz donde el H_2O_2 superó al control con un 100% (Figura 2b), son congruentes con el incremento de biomasa seca de raíz observado en el cultivo de tomate en condiciones de baja temperatura, cuando se aplicó una dosis de 1.0 mM de (Orabi *et al.*, 2015). En el trabajo de Sun, Wang, Liu y Pengi (2016) la aplicación de H_2O_2 a 1.5 mM en plantas de pepino bajo estrés hídrico, produjo un aumento significativo de la biomasa total de planta respecto a plantas no tratadas. Por lo que el potencial del H_2O_2 para regular el metabolismo de especies vegetales, puede inducir mayores rendimientos en condiciones óptimas como estresantes (Rodríguez-Ruiz, Zuccarelli, Palma, Corpas y Freschi, 2019).

Variables de Calidad Comercial

Los valores de SST medidos en °Brix en los frutos muestran diferencias estadísticas significativas (Figura 3a). El estándar que se maneja en México y California para su distribución en Estados Unidos, empleando atmosferas modificadas es un valor mínimo de 9 °Brix (Madrid y Beaudry, 2020), en el presente estudio en todos los tratamientos superaron este nivel, no obstante el H_2O_2 , generó el mayor incremento permitiendo valores sobre 11 °Brix (Figura 3a), siendo esto un incremento del 14.74% al comparar con los frutos de las plantas control. Por otro lado, en los niveles de acidez titulable (Figura 3b), un parámetro útil en la percepción del sabor, solo se apreció una disminución del 38.5% con la aplicación de algas marinas, por lo que se podría aseverar que solo este tratamiento se encuentra dentro del estándar menor al 0.7%, sin embargo, esto está relacionado con la madurez del fruto y este aspecto se puede manejar durante la cosecha (Jayasena y Cameron, 2008). Los ácidos orgánicos son sustratos para enzimas en el proceso respiratorio, por lo que cuando esta actividad incrementa los valores de AT y pH (Figura 3c), disminuyen al ser consumidos mientras que el fruto madura (Fitch-Vargas *et al.*, 2019).

Variables Fisiológicas

La aplicación de biestimulantes resulto benéfico para las plantas de frambuesa bajo estrés hídrico moderado (-0.8 MPa), mejorando la tasa fotosintética y conductancia estomática (Figura 4a, c). Por otro lado, la tasa de transpiración no mostró diferencias estadísticas significativas, pero se pudo observar valores que tienen la misma tendencia que las dos variables anteriores.

Los tratamientos con ceras, AS y algas marinas superaron con 48.1, 39.5 y 32.6% la tasa fotosintética neta de las plantas control, mientras que en conductancia estomática las ceras fueron superiores al control en 100%. Los resultados obtenidos son relevantes ya que se ha documentado que bajo condiciones de estrés hídrico la fotosíntesis se afecta por varias vías, una de ellas es el cierre estomático que impide el ingreso de CO_2 para carboxilación de la enzima ribulosa 1.5 bifosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO), lo que induce a la fotorespiración, además es capaz de afectar la actividad enzimática, metabolitos secundarios, producción de pigmentos, como también se afecta la cadena cíclica y no cíclica de transporte de electrones que disminuye la producción de ATP y reducción de NADP a NADPH (Lisar, Motafakkerzad, Hossain y Rahman, 2012).

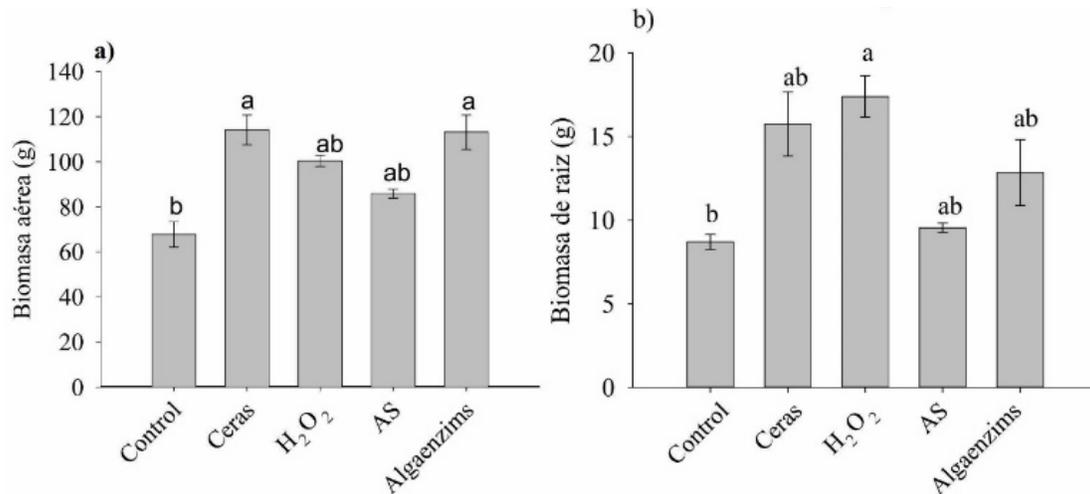


Figura 2. Efecto de bioestimulantes sobre (a) peso seco de biomasa aérea y (b) peso seco de raíz en frambuesa sometida a estrés hídrico moderado (-0.8 MPa). Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas a $P \leq 0.05$.
Figure 2. Effect of biostimulants on (a) dry weight of aerial biomass and (b) dry weight of root in raspberry subjected to moderate water stress (-0.8 MPa). Different letters indicate statistically significant differences at $P \leq 0.05$.

El rango de los valores de la tasa fotosintética, en la presente investigación fue de 8 a 13 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Figura 4a). Uno de los aspectos relevantes a presentar como responsables de la mejora significativa de la actividad fotosintética, es el mantenimiento de la actividad de RuBisCO, la cual se mantiene funcionando en plantas de girasol tolerantes a estrés hídrico y calor debido a una mayor síntesis de cutícula en hojas (Killi, Bussotti, Raschi y Haworth, 2017). Bajo esta premisa la aplicación del tratamiento con ceras naturales sobre las plantas de frambuesa sugiere que estas ejercieron influencia en la refracción y absorción de la radiación espectral (Barthlott, Mail, Bhushan y Koch, 2017; Sharma *et al.*, 2018), impidiendo la elevación de la temperatura de hojas, evitando desnaturalización de enzimas y así incrementar la fijación de CO_2 en comparación con el control. Además, la cutícula por su naturaleza hidrófoba tiene la función conjunta de disminuir el flujo de agua excesivo del interior de la planta a la atmósfera por el proceso de transpiración (Eichert y Fernández, 2012; Xue *et al.*, 2017).

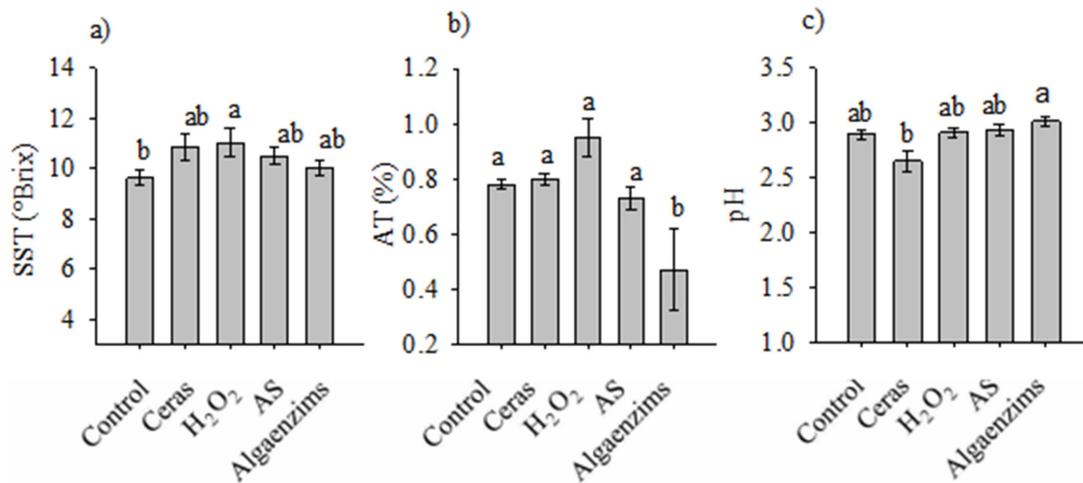


Figura 3. Efecto de bioestimulantes sobre (a) sólidos solubles totales, (b) ácidos titulables y (c) pH en frutos de frambuesa sometida a estrés hídrico moderado (-0.8 MPa). Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas a $P \leq 0.05$.
Figure 3. Effect of biostimulants on (a) total soluble solids, (b) titratable acids and (c) pH in raspberry fruits subjected to moderate water stress (-0.8 MPa). Different letters indicate statistically significant differences at $P \leq 0.05$.

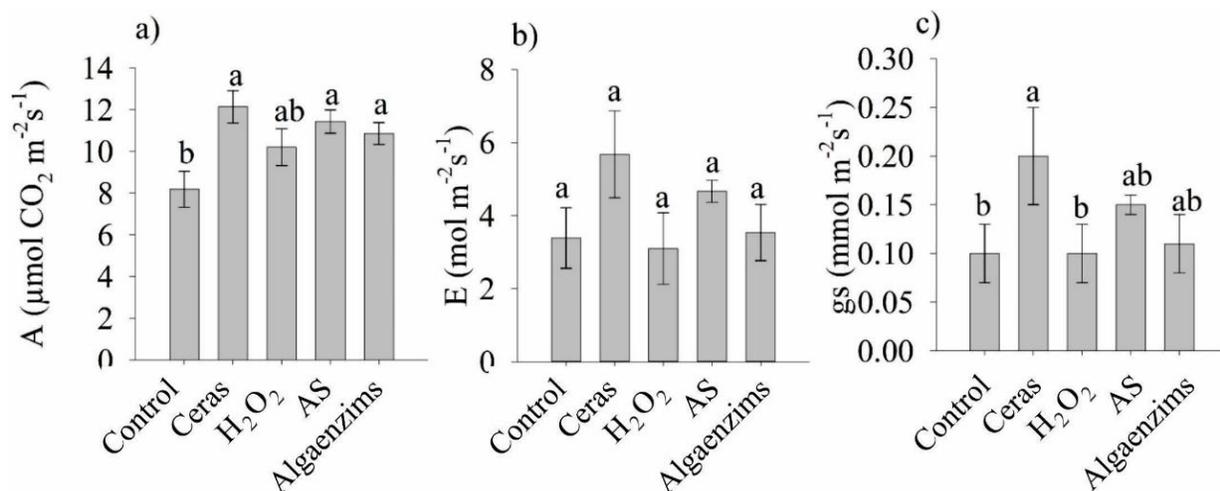


Figura 4. Efecto de bioestimulantes sobre (a) tasa fotosintética, (b) transpiración y (c) conductancia estomática en plantas de frambuesa sometidas a estrés hídrico moderado (-0.8 MPa). Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas a $P \leq 0.05$.
Figure 4. Effect of bioestimulants on (a) photosynthetic rate, (b) transpiration and (c) stomatal conductance in raspberry plants subjected to moderate water stress (-0.8 MPa). Different letters indicate statistically significant differences at $P \leq 0.05$.

En condiciones de estrés hídrico se ha visto que la función de las ceras, se correlacionan en forma negativa con algunos aspectos fisiológicos, por lo tanto, mayor nivel de estas produce menor transpiración, impidiendo que el potencial hídrico sea menos negativo y esto permite aumentar el proceso fotosintético (Ahmad *et al.*, 2021). Esto es fundamental en plantas sometidas a estrés hídrico, ya que al regular la radiación incidente se evita el calentamiento excesivo de la hoja que conduce al cierre estomático con efectos fisiológicos negativos. Por otro lado, al impedir el flujo excesivo del agua desde el interior al exterior de la hoja se puede utilizar y optimizar en procesos que implican el uso de esta molécula.

En referencia al AS a nivel celular, es una hormona cuyo efecto se centra en el núcleo donde regula la actividad de genes, el aumento de esta hormona es proporcional a la exposición al estrés, que, en coordinación con el ácido abscísico y el etileno, fomentan la acumulación de glicina betaína, cuyo efecto osmoprotector puede proteger a las enzimas relacionadas al aparato fotosintético, mejorando el desempeño de este último (Monteiro, Gonçalves, Cortez y Castro, 2022). Referente a la aplicación de AS, Aires *et al.* (2022) reportaron que su aplicación en concentraciones de 1.2 y 1.4 mM en plantas de tomate, incrementaron los valores de todas las variables de intercambio gaseoso, como fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática, concentración interna de CO_2 y la eficiencia en el uso de agua, incluso superando a testigo sin déficit hídrico, lo que no ocurrió en nuestro experimento pudiendo ser por las diferentes concentraciones aplicadas.

Por otra parte, en referencia a la aplicación de extractos de algas se ha reportado que estas mejoran la actividad fotosintética, a través del aumento en la producción de pigmentos fotosintéticos como clorofila a, b y carotenoides, además de reducir el daño en membranas reduciendo la producción de malondialdehído (Kusvuran, 2021). De esta forma el uso de este bioestimulante se convierte en una herramienta que ayuda a mitigar los efectos del estrés hídrico, coincidiendo con los resultados obtenidos en fotosíntesis de este trabajo en frambuesa.

Aun cuando el tratamiento con H_2O_2 no generó diferencias significativas en estas variables fisiológicas, Shan y Ou (2018) mencionan que esta molécula señal es activada bajo estrés hídrico, lo que desencadena la actividad de enzimas antioxidantes como ascorbato peroxidasa (APX), glutatión reductasa (GR), deshidroascorbato reductasa (DHAR) y glutatión elevando la tolerancia al déficit hídrico. Sun *et al.* (2016) demostraron que la aplicación de 1.5 mM de H_2O_2 , puede aumentar la tasa fotosintética en plantas de pepino bajo condición de estrés hídrico, estimulando el sistema de defensa antioxidante y ajuste osmótico que disminuye la peroxidación lipídica de las membranas, para mantener la turgencia celular.

La facilidad con la que se mueven el CO_2 desde la superficie de la hoja hasta el interior del mesófilo, para fijarse, finalmente en el estroma se denomina conductancia del mesófilo (gm) que se determina con la fórmula de Fick $G_m = A_n / (C_i - C_c)$ donde A_n es la tasa de fotosíntesis, C_i es a concentración intercelular de CO_2 y C_c es la concentración del CO_2 en el cloroplasto, por lo tanto se considera esta ecuación como el punto central del

intercambio de gases en plantas, lo cual en conjunto con la conductancia estomática y la conductancia de la capa límite determinarían la actividad fotosintética que se considera flujo primario del carbono (Knauer *et al.*, 2020). Bajo este sustento se puede apreciar que cuando los valores de la conductancia estomática fueron numéricamente más altos, también se mejora la tasa fotosintética (Figura 4a).

Eficiencia Instantánea en el Uso del Agua

Escobar *et al.* (2018) hace una distinción en la eficiencia intrínseca del uso de agua en A/gs (EIUA) y la eficiencia instantánea del uso de agua (EiUA) A/E, para ambos casos el resultado muestra relación de la cantidad de agua requerida para fijar CO₂. Aun cuando la fotosíntesis está más influenciada por la disponibilidad hídrica que la conductancia estomática gs, una disminución en la tasa de esta última variable se reflejaría en una mayor EiUA. Sin embargo, bajo la presión de otras fuentes de estrés como la alta temperatura la disminución de gs por efecto del cierre de estomas afecta negativamente la tasa fotosintética (Flexas *et al.*, 2016).

Pese a la validez de la eficiencia intrínseca en el uso de agua a nivel de las hojas EIUA, cabe mencionar que esto no siempre se relaciona con el uso eficiente del agua a nivel de planta, además de que estos valores siempre tienden a fluctuar a lo largo del día, a lo largo de una estación del año y etapa fenológica de las plantas debido a las condiciones ambientales externas (Medrano *et al.*, 2015; Escobar *et al.*, 2018).

Las plantas de frambuesa asperjadas con diversos bioestimulantes no presentaron diferencia significativa en EiUA, sin embargo, se aprecian diferencias numéricas indicando que con el uso de H₂O₂, las plantas son menos eficientes, puesto que necesitan más cantidad de agua para fijar CO₂ (Figura 5b). Considerando que la hora de toma de lecturas fue al medio día, es importante destacar que esta condición soleada y su impacto en las plantas se aminora con la presencia de las ceras aplicadas en forma foliar por su efecto refractivo, ya que la EiUA está determinada por la radicación interceptada (Medrano *et al.*, 2015).

Área Foliar Específica

En las plantas de frambuesa tratadas, el área foliar específica (AFE) (Figura 5a) como variable de respuesta morfológica no mostró diferencias estadísticas significativas. Sin embargo, se puede apreciar un aumento numérico en los valores obtenidos cuando se aplican los bioestimulantes respecto al control.

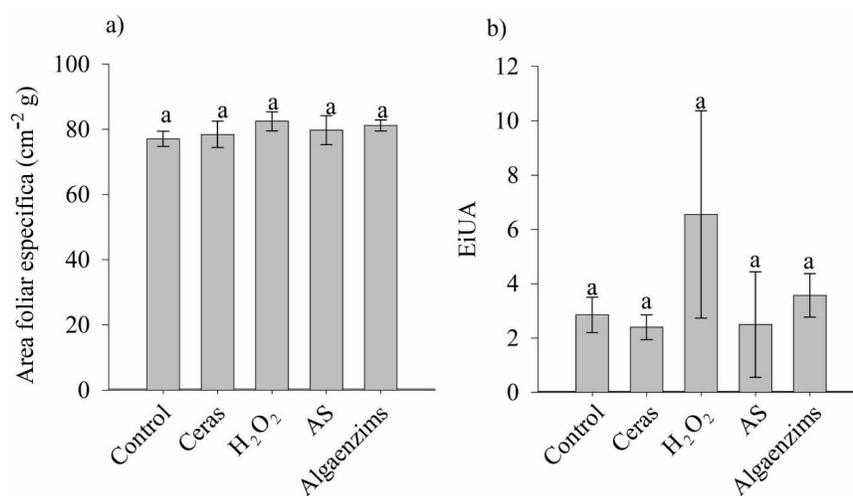


Figura 5. Efecto de bioestimulantes sobre (a) área foliar específica y (b) eficiencia instantánea en el Uso de Agua (EIUA) en plantas de frambuesa sometidas a estrés hídrico moderado (-0.8 MPa). Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas a $P \leq 0.05$.

Figure 5. Effect of biostimulants on (a) specific leaf area and (b) instantaneous Water Use Efficiency (IWUA) in raspberry plants subjected to moderate water stress (-0.8 MPa). Different letters indicate statistically significant differences at $P \leq 0.05$.

Según Lawrence, Stinziano y Hanson (2019) el área foliar específica es un valor resultado de la división del área foliar entre la masa seca foliar, que determina el grosor o densidad de la hoja, valores bajos presentan células empalizadas adicionales, o más largas y por lo tanto con mayores cantidades de cloroplastos, enzimas fotosintéticas y mejor desempeño fotosintético. No obstante, esto no siempre funciona de esta manera, dado que los cloroplastos disminuyen la producción de clorofila, debido a la disminución o extinción de la radiación a medida que está a traviesa capas adicionales de células y por lo tanto hay menor aprovechamiento de la radiación (Zhang, Chen, Jin, Yang y Li, 2022).

Este indicador morfológico es regulado a través de la disponibilidad hídrica y la temperatura, tendiendo a bajar cuando estas condiciones limitantes se incrementan, esto ocurre gracias a la modificación de área foliar y grosor de la hoja cuya principal finalidad es aumentar la eficiencia de los recursos del entorno principalmente CO_2 , agua y luz (Zhou *et al.*, 2020).

Otros estudios aclaran que la configuración de la AFE puede variar en diferentes especies, en respuestas a los cambios ambientales en el espacio y tiempo, por lo tanto, las situaciones de origen antropogénico como la escorrentía de fertilizantes o las estaciones del año con la fluctuación de la humedad ambiental modifican el AFE con la finalidad de adaptarse y aprovechar recursos como el agua (Dwyer, Hobbs y Mayfield, 2014).

Calidad Bioquímica

Los frutos de frambuesa analizados mostraron diferencias estadísticas significativas en el contenido de antocianinas y vitamina C, por otro lado, no se observaron diferencias en el contenido de fenoles totales (Figura 6a). En conjunto con los metabolitos primarios, las hormonas y los metabolitos secundarios regulan los procesos metabólicos de los organismos, aunque a estos últimos se les atribuye la mediación de las relaciones entre planta ambiente, actualmente se justifica su multifuncionalidad pudiendo funcionar como reguladores de crecimiento, y actuar en defensa de plantas, señalización, almacenamiento y reciclaje (Erb y Kliebenstein, 2020).

Fenoles Totales

En las plantas los compuestos fenólicos son parte importante del grupo de los metabolitos secundarios, los cuales son fundamentales en procesos de crecimiento vegetal y en la generación de las respuestas al estrés ambiental (Chalker-Scott y Fuchigami, 2018). Además de que estas moléculas pueden quedarse en forma libre, también pueden unirse a macromoléculas y matrices alimentarias, esto permite generar alimentos funcionales con efectos antioxidantes, probióticos, anticancerígenos, antiinflamatorios, entre otras actividades biológicas involucradas en la salud humana (Wang, Li, Ge y Lin, 2020).

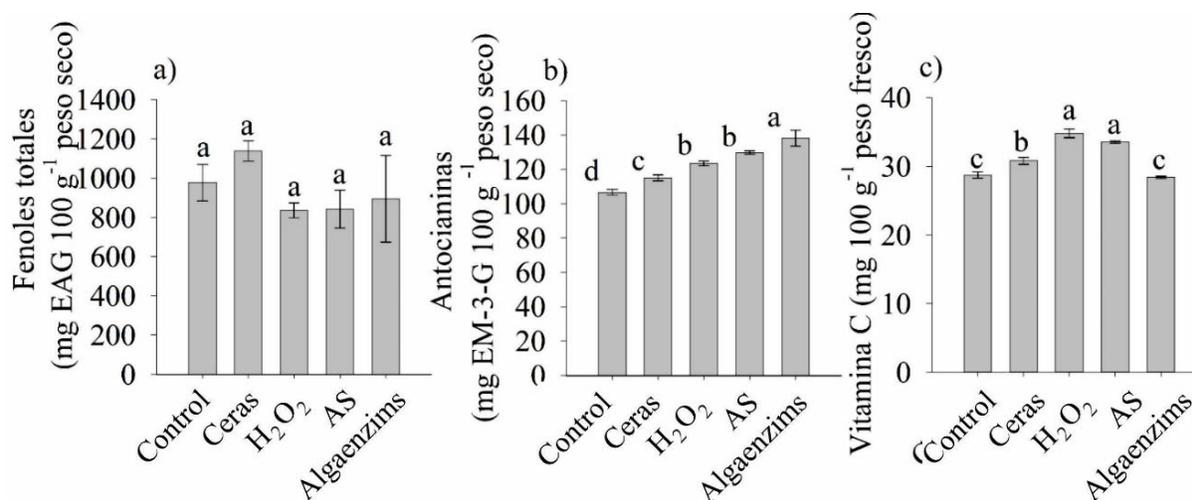


Figura 6. Efecto de bioestimulantes sobre el contenido (a) fenoles totales en equivalentes de ácido gálico (EAG), (b) antocianinas en equivalentes de malvidin-3-glucósido (EM-3-G) y (c) vitamina C en frambuesa sometida a estrés hídrico moderado (-0.8 MPa). Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas a $P \leq 0.05$.

Figure 6. Effect of biostimulants on the content of (a) total phenols in equivalentents of gallic acid (EAG), (b) anthocyanins in equivalentents of malvidin-3-glucoside (EM-3-G) and (c) vitamin C in raspberry subjected to moderate water stress (-0.8 MPa). Different letters indicate statistically significant differences at $P \leq 0.05$.

En los frutos de frambuesa analizados no se encontraron diferencias estadísticas significativas en el contenido de fenoles totales sin embargo se encontraron valores de 835 ± 37.6 hasta 1137 ± 52.5 mg EAG 100 g^{-1} de fruto seco. Estos valores superan los resultados de Bobinaitė, Viškelis y Venskutonis (2012) que encontraron niveles en el rango de 278.6 a 714.7 mg 100 g^{-1} cuando analizaron 17 variedades de frambuesa roja. Por otro lado, Pantelidis Vasilakakis, Manganaris y Diamantidis (2007) encontraron valores que oscilan entre 1040.95 ± 15.91 a 2494 ± 77 expresados en mg EAG 100 g^{-1} , valores dentro de los cuales se encuentran los frutos analizados en esta investigación.

Investigaciones como la de Latif *et al.* (2016) demostraron efectos benéficos, cuando aplicaron AS a una concentración de 10^{-5} M L^{-1} en plantas de maíz bajo sequía, aumentando en contenido de compuestos fenólicos, y proteína total, además de mejorar el peso fresco del brote, el peso seco del brote, el peso fresco de raíz, el peso seco de raíz, la longitud de raíz y el área radicular.

Kumar *et al.* (2020b) aseveran que la acumulación de los compuestos fenólicos es una respuesta normal de las plantas sometidas a estrés por sequía, para proteger a la planta del daño oxidativo ocasionado por las ERO y trasladar estos antioxidantes al fruto justificando los niveles encontrados en la presente investigación.

Antocianinas

Las antocianinas son uno de los fitoquímicos antioxidantes más importantes en los frutos de frambuesa (Rao y Syder, 2010). Estos compuestos orgánicos clasificados dentro del grupo de flavonoides son los responsables del color de hojas, flores y frutos, su síntesis es por medio de la derivación de la vía fenil propanoide, cuyo precursor es el aminoácido fenilalanina y de donde pueden sintetizarse todos los compuestos fenólicos (Mannino, Gentile, Ertani, Serio y Bertea, 2021).

Los frutos de frambuesa analizados mostraron diferencias estadísticas significativas en el contenido de antocianinas, las plantas tratadas con los bioestimulantes: ceras, H_2O_2 , AS y algas, superaron los niveles del tratamiento control con 7.86, 15.78, 21.7 y 29.56%, respectivamente.

Considerando a Mannino *et al.* (2021) quien menciona que una de las funciones es la protección contra altas intensidades de radiación y luz UV-B, el tratamiento que promovió la menor concentración comparado con el control fueron las ceras, esto se puede atribuir al carácter refractivo de radiación que cumplen las mismas, lo cual disminuyó la cantidad de radiación a la que estaban sometidas las hojas, impidiendo la producción al alza de estos antioxidantes.

Moléculas como H_2O_2 se encuentran implicadas en diversos procesos regulando el metabolismo, por lo que al ser aplicadas de manera exógena permite mejorar el desempeño fotosintético, crecimiento y la protección antioxidante donde las antocianinas juegan un papel muy importante (Khan, Yusuf y Fariduddin, 2018).

Pantelidis *et al.* (2007) reportan valores en el rango 35.1 ± 2.6 hasta 49.1 ± 7.8 mg equivalentes de cianidin-3-glucosido por 100 g de fruto de frambuesa. Estos valores fueron superados en esta investigación, logrando obtener niveles de 106.6 hasta 138.13 mg equivalentes a cianidin-3-glucosido por 100 g de fruto seco (Figura 6b).

Vitamina C

Las vitaminas son compuestos orgánicos con alta capacidad antioxidante, los resultados de esta investigación demostraron que la aplicación de: ceras, H_2O_2 y AS, aumentaron el contenido de vitamina C en 7.2, 21.14 y 16.73%, con referencia al control, mientras que no se demostró ningún aumento con la aplicación del producto a base de algas marinas.

Los niveles de esta vitamina se han encontrado en rangos de 31 ± 0.8 a 32.4 ± 2.1 mg 100 g^{-1} en frambuesas de color rojo (Pantelidis *et al.*, 2007), estos valores coinciden con los encontrados en este estudio (Figura 6d). Además, se conoce que la exposición a condiciones ambientales adversas y hormonas vegetales como el AS es capaz de generar aumentos en los niveles de la vitamina C en frutos (Zheng *et al.*, 2022). Por otro lado, las moléculas como el H_2O_2 pueden aumentar los niveles de ácido ascórbico mediante la inducción de la defensa antioxidante (Ahmad, Basra, Afzal, Farooq y Wahid, 2013).

La importancia de la vitamina C en la salud humana reside en su papel como cofactor de enzimas, además de la capacidad antioxidante que permite hacer frente a procesos inflamatorios relacionados con enfermedades crónicas y estimular el sistema inmune (Sorice *et al.*, 2014).

CONCLUSIONES

La aplicación de ceras naturales, ácido salicílico y algas marinas demostraron ser eficaces para promover aumentos en uno de los procesos fisiológicos más importantes de las plantas de frambuesa y esto es la tasa de fotosíntesis que promueve el crecimiento a través de generación de biomasa aérea y de raíz en condiciones de estrés. En particular el peróxido de hidrogeno actuó directamente incrementando la longitud de raíz, biomasa de raíz y condujo a elevar el contenido de vitamina C y antocianinas dos antioxidantes muy importantes, mismos que se incrementaron en los frutos de las plantas tratadas con ceras y AS en comparación con el tratamiento control.

Por lo tanto, el uso de ceras, AS y algaenzims, representan una alternativa útil para hacer frente a los efectos negativos causados por estrés hídrico y promover la acumulación compuestos bioquímicos importantes aún bajo estas condiciones limitantes.

DECLARACIÓN DE ÉTICA

No aplicable.

CONSENTIMIENTO PARA PUBLICACIÓN

No aplicable.

DISPONIBILIDAD DE DATOS

Los conjuntos de datos utilizados o analizados durante el estudio actual están disponibles del autor correspondiente a solicitud razonable.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

FINANCIACIÓN

No aplicable.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Conceptualización: J.A.G.F., y G.A.A. Metodología: A.Z.G. Software: A.Z.G. Validación: A.R.O., y E.A.L.R. Análisis formal: F.M.P.R. Investigación: J.A.G.F., y G.A.A. Recursos: A.R.O. Curación de datos: A.Z.G. Escritura: preparación del borrador original, G.A.A. escritura: revisión y edición, J.A.G.F., y E.A.L.R. Visualización: F.M.P.R. Supervisión: A.R.O. Administración del proyecto: G.A.A. Adquisición de fondos: J.A.G.F.

AGRADECIMIENTOS

Con agradecimiento especial a CONAHCYT por la beca otorgada durante el desarrollo de la maestría. El apoyo de los laboratorios de Fisiología del Departamento de Horticultura y el Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

LITERATURA CITADA

- Ahmad, H. M., Wang, X., Rahman, M. U., Fiaz, S., Azeem, F., & Shaheen, T. (2021). Morphological and physiological response of *Helianthus annuus* L. to drought stress and correlation of wax contents for drought tolerance traits. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 47, 1-15. <https://doi.org/10.1007/s13369-021-06098-1>
- Ahmad, I., Basra, S. M., Afzal, I., Farooq, M., & Wahid, A. (2013). Growth improvement in spring maize through exogenous application of ascorbic acid, salicylic acid and hydrogen peroxide. *International Journal of Agriculture and Biology*, 15, 95-100.
- Ainsworth, E. A., & Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2(4), 875-877. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.102>

- Aires, E. S., Ferraz, A. K. L., Carvalho, B. L., Teixeira, F. P., Putti, F. F., De Souza, E. P., ... & Ono, E. O. (2022). Foliar application of salicylic acid to mitigate water stress in tomato. *Plants*, 11(13), 1775. <https://doi.org/10.3390/plants11131775>
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (2000). *Official Methods of Analysis*. 17th Edition. Gaithersburg, MD, USA: The Association of Official Analytical Chemists.
- Arora, N. K. (2019). Impact of climate change on agriculture production and its sustainable solutions. *Environmental Sustainability*, 2(2), 95-96. <https://doi.org/10.1007/s42398-019-00078-w>
- Anjum, S. A., Xie, X., Wang, L. C., Saleem, M. F., Man, C., & Lei, W. (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6(9), 2026-2032. <https://doi.org/10.5897/AJAR10.027>
- Atanacković, M., Cvejić, J., Gojković-Bukarica, L., Veljović, M., Despotović, S., Pecić, S., ... & Leskošek-Čukalović, I. (2012). Quantitative determination of total anthocyanins and flavonoids in natural products obtained from grapes and malt. In J. Lević (Ed.). *CEFood 2012-Proceedings of 6th Central European Congress on Food* (pp. 183-188). Novi Sad, Serbia: University of Novi Sad-Institute of Food Technology-Central European Congress on Food. ISBN: 9788679940278
- Barthlott, W., Mail, M., Bhushan, B., & Koch, K. (2017). Plant surfaces: structures and functions for biomimetic applications. *Nano-Micro Letters*, 9, 1-40. <https://doi.org/10.1007/s40820-016-0125-1>
- Battacharyya, D., Babgohari, M. Z., Rathor, P., & Prithiviraj, B. (2015). Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 39-48. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.012>
- Bobinaite, R., Viškelis, P., & Venskutonis, P. R. (2012). Variation of total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and radical scavenging capacity in various raspberry (*Rubus* spp.) cultivars. *Food Chemistry*, 132(3), 1495-1501. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.137>
- Boretti, A., & Florentine, S. (2019). Atmospheric CO₂ concentration and other limiting factors in the growth of C₃ and C₄ plants. *Plants*, 8(4), 1-11. <https://doi.org/10.3390/plants8040092>
- Brestic, M., & Allakhverdiev, S. I. (2022). Photosynthesis under Biotic and Abiotic Environmental Stress. *Journal Cells*, 11(24), 1-5. <https://doi.org/10.3390/cells11243953>
- Bulgari, R., Franzoni, G., & Ferrante, A. (2019). Biostimulants application in horticultural crops under abiotic stress conditions. *Agronomy*, 9(6), 1-30. <https://doi.org/10.3390/agronomy9060306>
- Carvalho, M. E. A., de Camargo, P. R., Gaziola, S. A., & Azevedo, R. A. (2018). Is seaweed extract an elicitor compound? Changing proline content in drought-stressed bean plants. *Comunicata Scientiae*, 9(2), 292-297.
- Chalker-Scott, L., & Fuchigami, L. H. (2018). The role of phenolic compounds in plant stress responses. In P. H. Li (Ed.). *Low temperature stress physiology in crops* (pp. 67-80). Boca Raton, FL, USA: CRC press.
- Del Buono, D. (2021). Can biostimulants be used to mitigate the effect of anthropogenic climate change on agriculture? It is time to respond. *Science of The Total Environment*, 751, 141763. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141763>
- Di Rienzo, J. A., Balzarini, M. G., González, L., Casanoves, F., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2008). *InfoStat. Manual del Usuario*. Córdoba, Argentina: Editorial Brujas.
- Dusenge, M. E., Duarte, A. G., & Way, D. A. (2019). Plant carbon metabolism and climate change: elevated CO₂ and temperature impacts on photosynthesis, photorespiration and respiration. *New Phytologist*, 221(1), 32-49. <https://doi.org/10.1111/nph.15283>
- Dwyer, J. M., Hobbs, R. J., & Mayfield, M. M. (2014). Specific leaf area responses to environmental gradients through space and time. *Ecology*, 95(2), 399-410. <https://doi.org/10.1890/13-0412.1>
- El-Dayem, A. (2018). Effect of silicon and algae extract foliar application on growth and early yield of globe artichoke plants. *Annals of Agricultural Science, Moshtohor*, 56(1), 207-214. <https://doi.org/10.21608/assjm.2018.65139>
- Eichert, T., & Fernández, V. (2012). Uptake and release of elements by leaves and other aerial plant parts. In Z. Rengel, I. Cakmak, & P. J. White (Eds.). *Marschner's mineral nutrition of higher plants* (pp. 71-84). Cambridge, MA, USA: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819773-8.00014-9>
- Erb, M., & Kliebenstein, J. D. (2020). Plant secondary metabolites as defenses, regulators, and primary metabolites: the blurred functional trichotomy. *Plant Physiology*, 184(1), 39-52. <https://doi.org/10.1104/pp.20.00433>
- Escobar, H., de Ovando, L. S., Contreras, D., Baginsky, C., Arenas, J., & Silva, H. (2018). Efecto de la disponibilidad de agua de riego en el intercambio gaseoso, rendimiento de semillas, biomasa y eficiencia del uso del agua en dos fenotipos de Chía establecidos en el valle de Azapa, Arica, Chile. *Interciencia*, 43(1), 55-61.
- Fang, Y., & Xiong, L. (2015). General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 72(4), 673-689. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1767-0>
- Farouk, S., & Qados, A. M. A. (2018). Enhancing seed quality and productivity as well as physio-anatomical responses of pea plants by folic acid and/or hydrogen peroxide application. *Scientia Horticulturae*, 240, 29-37. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.049>
- Fitch-Vargas, P. R., Aguilar-Palazuelos, E., Vega-García, M. O., Zazueta-Morales, J. J., Calderón-Castro, A., Montoya-Rodríguez, A., ... & Camacho-Hernández, I. L. (2019). Effect of a corn starch coating obtained by the combination of extrusion process and casting technique on the postharvest quality of tomato. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 18(3), 789-801.
- Flexas, J., Díaz-Espejo, A., Conesa, M. A., Coopman, R. E., Douthe, C., Gago, J., ... & Niinemets, Ü. (2016). Mesophyll conductance to CO₂ and Rubisco as targets for improving intrinsic water use efficiency in C₃ plants. *Plant, Cell & Environment*, 39(5), 965-982. <https://doi.org/10.1111/pce.12622>
- Florida-Bacallao, M., & Bao-Fundora, L. (2014). Tolerancia a estrés por déficit hídrico en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Cultivos Tropicales*, 35(3), 70-88.
- González-Morales, S., Solís-Gaona, S., Valdés-Caballero, M. V., Juárez-Maldonado, A., Loredó-Treviño, A., & Benavides-Mendoza, A. (2021). Transcriptomics of biostimulation of plants under abiotic stress. *Frontiers in Genetics*, 12, 583888. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.583888>
- Hasanuzzaman, M., Parvin, K., Bardhan, K., Nahar, K., Anee, T. I., Masud, A. A. C., & Fotopoulos, V. (2021). Biostimulants for the regulation of reactive oxygen species metabolism in plants under abiotic stress. *Cells*, 10(10), 1-29. <https://doi.org/10.3390/cells10102537>
- Hayat, S., Hasan, S. A., Fariduddin, Q., & Ahmad, A. (2008). Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. *Journal of Plant Interactions*, 3(4), 297-304. <https://doi.org/10.1080/17429140802320797>
- Holding, D. R., & Streich, A. M. (2013). *Plant growth processes: transpiration, photosynthesis, and respiration*. Lincoln, NE, USA: University of Nebraska.
- Jayasena, V., & Cameron, I. (2008). ° Brix/acid ratio as a predictor of consumer acceptability of crimson seedless table grapes. *Journal of Food Quality*, 31(6), 736-750. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2008.00231.x>
- Khan, T. A., Yusuf, M., & Fariduddin, Q. (2018). Hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism: Signalling and its effect under abiotic stress. *Photosynthetica*, 56(4), 1237-1248. <https://doi.org/10.1007/s11099-018-0830-8>

- Killi, D., Bussotti, F., Raschi, A., & Haworth, M. (2017). Adaptation to high temperature mitigates the impact of water deficit during combined heat and drought stress in C3 sunflower and C4 maize varieties with contrasting drought tolerance. *Physiologia Plantarum*, 159(2), 130-147. <https://doi.org/10.1111/ppl.12490>
- Knauer, J., Zaehle, S., De Kauwe, M. G., Haverd, V., Reichstein, M., & Sun, Y. (2020). Mesophyll conductance in land surface models: effects on photosynthesis and transpiration. *The Plant Journal*, 101(4), 858-873. <https://doi.org/10.1111/tj.14587>
- Kumar, R., Trivedi, K., Anand, K. V., & Ghosh, A. (2020a). Science behind biostimulant action of seaweed extract on growth and crop yield: Insights into transcriptional changes in roots of maize treated with *Kappaphycus alvarezii* seaweed extract under soil moisture stressed conditions. *Journal of Applied Phycology*, 32, 599-613. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01938-y>
- Kumar, S., Bhushan, B., Wakchaure, G. C., Meena, K. K., Kumar, M., Meena, N. L., & Rane, J. (2020b). Plant phenolics under water-deficit conditions: biosynthesis, accumulation, and physiological roles in water stress alleviation. *Plant Phenolics in Sustainable Agriculture*, 1, 451-465. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4890-1_19
- Kusvuran, S. (2021). Microalgae (*Chlorella vulgaris* Beijerinck) alleviates drought stress of broccoli plants by improving nutrient uptake, secondary metabolites, and antioxidative defense system. *Horticultural Plant Journal*, 7(3), 221-231. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2021.03.007>
- Latif, F., Ullah, F., Mehmood, S., Khattak, A., Khan, A. U., Khan, S., & Husain, I. (2016). Effects of salicylic acid on growth and accumulation of phenolics in *Zea mays* L. under drought stress. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science*, 66(4), 325-332. <https://doi.org/10.1080/09064710.2015.1117133>
- Lawrence, E. H., Stinziano, J. R., & Hanson, D. T. (2019). Using the rapid A-Ci response (RACiR) in the Li-Cor 6400 to measure developmental gradients of photosynthetic capacity in poplar. *Plant, Cell & Environment*, 42(2), 740-750. <https://doi.org/10.1111/pce.13436>
- Li, A., Sun, X., & Liu, L. (2022). Action of salicylic acid on plant growth. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1-7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.878076>
- Liao, W. B., Huang, G. B., Yu, J. H., & Zhang, M. L. (2012). Nitric oxide and hydrogen peroxide alleviate drought stress in marigold explants and promote its adventitious root development. *Plant Physiology and Biochemistry*, 58, 6-15. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.06.012>
- Lisar, S. Y., Motafakkerzad, R., Hossain, M. M., & Rahman, I. M. (2012). Causes, effects and responses. *Water Stress*, 25(1), 33.
- Malhi, G. S., Kaur, M., & Kaushik, P. (2021). Impact of climate change on agriculture and its mitigation strategies: A review. *Journals Sustainability*, 13(3), 1-21. <https://doi.org/10.3390/su13031318>
- Madrid, M., & Beaudry, R. (2020). Small fruits: Raspberries, blackberries, blueberries. In M. I. Gil, & R. Beaudry (Eds.). *Controlled and Modified Atmospheres for Fresh and Fresh-Cut Produce* (pp. 335-346). Cambridge, MA, USA: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804599-2.00020-X>
- Mannino, G., Gentile, C., Ertani, A., Serio, G., & Berteau, C. M. (2021). Anthocyanins: Biosynthesis, distribution, ecological role, and use of biostimulants to increase their content in plant foods—A review. *Agriculture*, 11(3), 212. <https://doi.org/10.3390/agriculture11030212>
- Medrano, H., Tomás, M., Martorell, S., Flexas, J., Hernández, E., Rosselló, J., ... & Bota, J. (2015). From leaf to whole-plant water use efficiency (WUE) in complex canopies: Limitations of leaf WUE as a selection target. *The Crop Journal*, 3(3), 220-228. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2015.04.002>
- Mutale-Joan, C., Redouane, B., Najib, E., Yassine, K., Lyamlouli, K., Laila, S., ... & Hicham, E. A. (2020). Screening of microalgae liquid extracts for their bio stimulant properties on plant growth, nutrient uptake and metabolite profile of *Solanum lycopersicum* L. *Scientific Reports*, 10(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59840-4>
- Monteiro, E., Gonçalves, B., Cortez, I., & Castro, I. (2022). The role of biostimulants as alleviators of biotic and abiotic stresses in grapevine: A review. *Plants*, 11(3), 1-18. <https://doi.org/10.3390/plants11030396>
- Orabi, S. A., Dawood, M. G., & Salman, S. R. (2015). Comparative study between the physiological role of hydrogen peroxide and salicylic acid in alleviating the harmful effect of low temperature on tomato plants grown under sand-ponic culture. *Scientia Agriculturae*, 9(1), 49-59.
- Ozturk, M., Turkyilmaz-Unal, B., García-Caparrós, P., Khurshed, A., Gul, A., & Hasanuzzaman, M. (2021). Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. *Physiologia plantarum*, 172(2), 1321-1335. <https://doi.org/10.1111/ppl.13297>
- Padayatt, S. J., Daruwala, R., Wang, Y., Eck, P. K., Song, J., Koh, W. S., & Levine, M. (2001). Vitamin C: from molecular actions to optimum intake. In E. Cadenas, & L. Packer (Eds.). *Handbook of antioxidants* (pp.117-145). Los Angeles, CA, USA: Marcel Dekker Inc.
- Pantelidis, G. E., Vasilakakis, M., Manganaris, G. A., & Diamantidis, G. R. (2007). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*, 102(3), 777-783. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.021>
- Patwari, P., Salewski, V., Gutbrod, K., Kreszies, T., Dresen-Scholz, B., Peisker, H., ... & Dörmann, P. (2019). Surface wax esters contribute to drought tolerance in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 98(4), 727-744. <https://doi.org/10.1111/tj.14269>
- Parmesan, C., & Hanley, M. E. (2015). Plants and climate change: complexities and surprises. *Annals of Botany*, 116(6), 849-864. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv169>
- Preciado-Rangel, P., Reyes-Pérez, J. J., Ramírez-Rodríguez, S. C., Salas-Pérez, L., Fortis-Hernández, M., Murillo-Amador, B., & Troyo-Diéguez, E. (2019). Foliar asperion of salicylic acid improves phenolic and flavonoid compounds, and also the fruit yield in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plants*, 8(2), 1-8. <https://doi.org/10.3390/plants8020044>
- Rai, K. K., Pandey, N., & Rai, S. P. (2020). Salicylic acid and nitric oxide signaling in plant heat stress. *Physiologia Plantarum*, 168(2), 241-255. <https://doi.org/10.1111/ppl.12958>
- Roussos, P. A. (2023). Adventitious Root Formation in Plants: The Implication of Hydrogen Peroxide and Nitric Oxide. *Antioxidants*, 12(4), 1-17. <https://doi.org/10.3390/antiox12040862>
- Rao, A. V., & Snyder, D. M. (2010). Raspberries and human health: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7), 3871-3883. <https://doi.org/10.1021/jf903484g>
- Rodríguez-Ruiz, M., Zuccarelli, R., Palma, J. M., Corpas, F. J., & Freschi, L. (2019). Biotechnological application of nitric oxide and hydrogen peroxide in plants. Nitric Oxide and Hydrogen Peroxide Signaling in Higher Plant. In D. Gupta, J. Palma, & F. Corpas (Eds.). *Nitric oxide and hydrogen peroxide signaling in higher plants* (pp. 245-270). Cham, Switzerland: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11129-8_12
- Shan, C., & Ou, X. (2018). Hydrogen peroxide is involved in the regulation of ascorbate and glutathione metabolism in wheat leaves under water stress. *Cereal Research Communications*, 46(1), 21-30. <https://doi.org/10.1556/0806.45.2017.053>
- Sharma, A., Sidhu, G. P. S., Araniti, F., Bali, A. S., Shahzad, B., Tripathi, D. K., ... & Landi, M. (2020). The role of salicylic acid in plants exposed to heavy metals. *Molecules*, 25(3), 1-22. <https://doi.org/10.3390/molecules25030540>
- Sharma, P., Kothari, S. L., Rathore, M., & Gour, V. (2018). Properties, variations, roles, and potential applications of epicuticular wax: a review. *Turkish Journal of Botany*, 42(2), 135-149. <https://doi.org/10.3906/bot-1702-25shar>
- Sorice, A., Guerriero, E., Capone, F., Colonna, G., Castello, G., & Costantini, S. (2014). Ascorbic acid: its role in immune system and chronic inflammation diseases. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 14(5), 444-452.

- Steiner, A. A. (1961) A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil*, 15, 134-154.
- Sun, Y., Wang, H., Liu, S., & Peng, X. (2016). Exogenous application of hydrogen peroxide alleviates drought stress in cucumber seedlings. *South African Journal of Botany*, 106, 23-28. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.05.008>
- Tafolla-Arellano, J. C., González-León, A., Tiznado-Hernández, M. E., Zacarías-García, L., & Báez-Sañudo, R. (2013). Composición, fisiología y biosíntesis de la cutícula en plantas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(1), 3-12.
- Wang, Z., Li, S., Ge, S., & Lin, S. (2020). Review of distribution, extraction methods, and health benefits of bound phenolics in food plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(11), 3330-3343. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06574>
- Xue, D., Zhang, X., Lu, X., Chen, G., & Chen, Z. H. (2017). Molecular and evolutionary mechanisms of cuticular wax for plant drought tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1-12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00621>
- Zhang, Y., Chen, C., Jin, Z., Yang, Z., & Li, Y. (2022). Leaf anatomy, photosynthesis, and chloroplast ultrastructure of *Heptacodium miconioides* seedlings reveal adaptation to light environment. *Environmental and Experimental Botany*, 195, 104780. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.104780>
- Zheng, X., Gong, M., Zhang, Q., Tan, H., Li, L., Tang, Y., ... & Deng, W. (2022). Metabolism and regulation of ascorbic acid in fruits. *Plants*, 11(12), 1-18. <https://doi.org/10.3390/plants11121602>
- Zhou, H., Zhou, G., He, Q., Zhou, L., Ji, Y., & Zhou, M. (2020). Environmental explanation of maize specific leaf area under varying water stress regimes. *Environmental and Experimental Botany*, 171, 103932. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103932>
- Zulfiqar, F., Chen, J., Finnegan, P. M., Younis, A., Nafees, M., Zorrig, W., & Hamed, K. B. (2021). Application of trehalose and salicylic acid mitigates drought stress in sweet basil and improves plant growth. *Plants*, 10(6), 1-14. <https://doi.org/10.3390/plants10061078>