



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

**PROGRAMA DE POSTGRADO EN RECURSOS
GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD**

FISIOLOGÍA VEGETAL

**RESPUESTA DE LAS ESPECIES *Capsicum annuum* y
Solanum lycopersicum A LA APLICACIÓN DE
ELEMENTOS BENÉFICOS COMO BIOESTIMULANTES**

ATONALTZIN GARCÍA JIMÉNEZ

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2018

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe Atonaltzin García Jiménez, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor Fernando Carlos Gómez Merino, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis Respuesta de las especies Capsicum annuum y Solarum lycopersicum
= la aplicación de elementos benéficos como biestimulantes

y de los producto de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre el colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 20 de junio de 2018



Firma del
Alumno (a)



Vº. Bº. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis, titulada: “**Respuesta de las especies *capsicumm annuum* y *solanum lycopersicum* a la aplicación de elementos benéficos como bioestimulantes**”, realizada por el alumno: “**Atonaltzin García Jiménez**”, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

FISIOLOGIA VEGETAL

CONSEJO PARTICULAR


CONSEJERO: DR. FERNANDO CARLOS GÓMEZ MERINO


ASESORA: DRA. LIBIA IRIS TREJO TÉLLEZ


ASESOR: DR. DAGOBERTO GUILLÉN SÁNCHEZ


ASESORA: DRA. OLGA TEJEDA SARTORIUS


ASESOR: DR. MARCELO ACOSTA RAMOS

Montecillo, Texcoco, Estado de México, julio de 2018

RESPUESTA DE LAS ESPECIES *Capsicum annuum* y *Solanum lycopersicum* A LA APLICACIÓN DE ELEMENTOS BENÉFICOS COMO BIOESTIMULANTES

Atonaltzin García Jiménez, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2018

RESUMEN

Los elementos benéficos son considerados no esenciales para las plantas, pero a dosis óptimas y aplicados adecuadamente pueden inducir respuestas favorables. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de diferentes concentraciones de lantano (La: 0 y 10 μM LaCl_3), vanadio (V: 0, 5, 10 y 15 μM NH_4VO_3) y silicio (Si: 0, 60, 125 y 250 mg L^{-1} CaSiO_3) sobre el crecimiento y las concentraciones de clorofilas, aminoácidos, proteínas, azúcares y nutrimentos en pimiento (*Capsicum annuum*) y tomate (*Solanum lycopersicum*) cultivados en hidroponía. Para La se evaluaron cuatro variedades comerciales de pimiento: Sven, Sympathy, Yolo Wonder y Zidenka. Treinta días después de aplicado el La, la variedad Yolo Wonder prevaleció en altura de planta, número de hojas, número de botones florales y área foliar siendo significativo comparado con el control. A los 15 ddt el La incrementó la concentración de clorofilas y proteínas en las cuatro variedades de estudio; a los 30 ddt el La incrementó la concentración de azúcares. En el estudio con V y Si, se evaluaron plantas de pimiento cv. Misterio F1 de 37 d de edad. Para el V las evaluaciones se realizaron a los 7, 14, 21 y 28 días después del inicio de tratamientos. La aplicación de 5 μM V incrementó el crecimiento de la planta y aceleró la floración. Del mismo modo, favoreció la concentración de aminoácidos en hojas, así como 5 y 15 μM V en tallos. La mayor concentración de este elemento fue en la raíz. La aplicación de Si, con aplicaciones de 60 y 250 mg L^{-1} , incrementó la concentración de aminoácidos en raíz, y de azúcares en hojas y tallos, con la aplicación de 125 mg L^{-1} Si. La mayor concentración de Si fue en raíz. En el último ensayo se evaluó el efecto del V en plantas de tomate, encontrando que la altura aumentó con la aplicación de 5 μM y volumen de raíz a los 28 ddt. La aplicación de 5 μM V favoreció los pigmentos fotosintéticos en hojas, y con 15 μM V incrementó en tallos y hojas. La concentración de V en raíz fue superior con 10 μM V. Con esta investigación se concluye que el La, V y Si pueden estimular respuestas en pimiento y tomate, y se plantean como bioestimulantes potenciales con aplicaciones en la agricultura.

Palabras clave: Solanaceae, pimiento, tomate, elementos benéficos, lantano, vanadio, silicio

RESPONSE OF SPECIES *Capsicum annuum* and *Solanum lycopersicum* TO THE APPLICATION OF BENEFICIAL ELEMENTS AS BIOSTIMULANTS

Atonaltzin García Jiménez, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2018

ABSTRACT

Beneficial elements are considered not essential for the plants, but at optimal doses and properly applied they can induce favorable responses. The objective of this investigation was to evaluate the effect of different concentrations of lanthanum (La: 0 and 10 μM LaCl_3), vanadium (V: 0, 5, 10 and 15 μM NH_4VO_3) and silicon (Si: 0, 60, 125 and 250 mg L^{-1} CaSiO_3) on growth and concentrations of chlorophylls, amino acids, proteins, sugars and mineral nutrients of pepper (*Capsicum annuum*) and tomato (*Solanum lycopersicum*) plants grown in hydroponics. For La, four commercial pepper varieties were evaluated: Sven, Sympathy, Yolo Wonder and Zidenka. In the growth variables at 30 days after treatments (dat) the Yolo Wonder treated with 10 μM La variety prevailed in plant height, number of leaves, number of flower buds and leaf area being significant compared to the control. At 15 dat, the concentration of chlorophylls and proteins in the four varieties treated with La increased; at 30 dat, the application of La increased the concentration of sugars. In the study with V and Si, pepper plants cv. Misterio F1 of 37 d of age were used. Evaluations were made at 7, 14, 21 and 28 dat. The application of 5 μM V increased the growth of the plant and accelerated flowering. In the same way, it favored the concentration of amino acids in leaves and 5 and 15 μM V in stems. The highest concentration of this element was in roots. The application of Si increased the concentration of amino acids in the root with applications of 60 and 250 mg L^{-1} Si and sugars with the application of 125 mg L^{-1} Si in leaves and stems. The highest concentration of this element was at the root. In the last trial the effect of V on tomato plants was evaluated, finding that the height increased with the application of 5 μM and root volume at 28 dat. The application of 5 μM V favored the photosynthetic pigments in leaves, and with 15 μM V increased in stems and leaves. The concentration of V was higher with 10 μM V in root. With this research it is concluded that La, V and Si can stimulate favorable responses in pepper and tomato. Therefore, these elements in this research are emerging as potential biostimulants with applications in agriculture.

Keywords: Solanaceae, pepper, tomato, beneficial elements, lanthanum, vanadium, silicon.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a CONACyT por su valioso apoyo económico para lograr esta meta.

Agradezco al COLEGIO DE POSTGRADUADOS y al programa de RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD - FISIOLÓGIA VEGETAL por haberme brindado la oportunidad de acceder en esta prestigiosa casa de estudios, por su entrañable apoyo a lo largo de mi estancia y por haberme dotado de los conocimientos precisos para poder realizar la presente tesis y poder desarrollarme como profesionista.

A todo mi comité asesor: DR. FERNANDO CARLOS GÓMEZ MERINO, DRA. LIBIA IRIS TREJO TELLEZ, DR. DAGOBERTO GUILLEN SÁNCHEZ, DRA. OLGA TEJEDA SARTORIUS y DR. MARCELO ACOSTA RAMOS por su gran disposición y apoyo para dirigir mi tesis.

CONTENIDO

RESUMEN	i
ABSTRACT.....	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FIGURAS.....	x
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
Planteamiento del problema.....	3
Objetivo general	4
Objetivos específicos.....	4
Revisión de literatura	4
El papel de los elementos benéficos en las plantas	4
El lantano en las plantas	6
El vanadio en las plantas	7
El silicio en las plantas	8
Referencias	9
CAPÍTULO 1. LANTHANUM AFFECTS BELL PEPPER SEEDLING QUALITY DEPENDING ON THE GENOTYPE AND TIME OF EXPOSURE BY DIFFERENTIALLY MODIFYING PLANT HEIGHT, STEM DIAMETER AND CONCENTRATIONS OF CHLOROPHYLLS, SUGARS, AMINO ACIDS, AND PROTEINS.....	16
1.1. Abstract	16
1.2. Introduction	17
1.3. Materials and Methods.....	19
1.3.1. Treatment Design and Experimental Design	19
1.3.2. Variables Evaluated	20
1.3.3. Statistical Analysis.....	21
1.4. Results	21
1.5. Discussion	34
1.6. Conclusions	41
1.7. References	42

CAPÍTULO 2. VANADIUM STIMULATES PEPPER PLANT GROWTH AND FLOWERING, INCREASES CONCENTRATIONS OF AMINO ACIDS, SUGARS AND CHLOROPHYLLS, AND MODIFIES NUTRIENT CONCENTRATIONS	51
2.1. Abstract	51
2.2. Introduction	52
2.3. Materials and Methods	54
2.3.1. Plant material and growth conditions	54
2.3.2. Growth variables	54
2.3.3. Concentration of chlorophylls <i>a</i> , <i>b</i> , and total in leaves and stems	55
2.3.4. Total amino acids in leaves, stems, and roots.....	55
2.3.5. Total soluble sugars in leaves, stems, and roots	56
2.3.6. Nutritional analysis	56
2.4. Statistical analysis	57
2.5. Results	57
2.5.1. Pepper plant growth and development are stimulated by vanadium	57
2.5.2. Concentrations of chlorophylls in leaves and stems.....	63
2.5.3. Concentration of total free amino acids and total soluble sugars	64
2.5.4. Nutrient concentration in leaves, stems, and roots	65
2.6. Discussion	68
2.6.1. Vanadium stimulates pepper plant growth and development.....	68
2.6.2. Vanadium differentially stimulates chlorophyll biosynthesis in leaves and stems	72
2.6.3. Low concentrations of vanadium enhance the biosynthesis of amino acids and sugars in leaves, stems, and roots	72
2.6.4. Vanadium differently affects the nutrient status of pepper plants.....	73
2.7. Conclusions	76
2.8. References	77
CAPÍTULO 3. EL SILICIO ESTIMULA EL CRECIMIENTO Y LA BIOSÍNTESIS DE ALGUNAS BIOMOLÉCULAS VITALES EN PIMIENTO	83
3.1. Resumen	83
3.2. Introducción	84
3.3. Materiales y métodos	85

3.3.1. Material vegetal y condiciones de crecimiento	85
3.4. Mediciones fisiológicas y bioquímicas	86
3.4.1. Evaluación del crecimiento y desarrollo de la planta	86
3.4.2. Evaluación de la concentración de clorofila <i>a</i> , <i>b</i> y total de hojas y tallos.....	86
3.4.3. Evaluación de aminoácidos totales en hojas, tallos y raíces.....	87
3.4.4. Azúcares solubles totales en hojas, tallos y raíces	87
3.4.5. Análisis nutrimental.....	88
3.5. Análisis estadístico.....	88
3.6. Resultados	88
3.6.1. Crecimiento y desarrollo de planta.....	88
3.6.2. Concentración de clorofila en hojas y tallos.....	93
3.6.3. Concentración de aminoácidos libres totales y azúcares solubles totales	94
3.6.4. Concentración de nutrimentos en hojas, tallos y raíces.....	96
3.7. Discusión.....	98
3.7.1. Crecimiento y desarrollo de planta.....	98
3.7.2. Concentración de clorofila en hojas y tallos.....	101
3.7.3. Concentración de aminoácidos libres totales y azúcares solubles totales	103
3.7.4. Concentración de nutrimentos en hojas, tallos y raíces.....	104
3.8. Conclusiones	106
3.9. Referencias.....	107
CAPÍTULO 4. EFECTO DEL VANADIO EN EL DESARROLLO DE TOMATE (<i>Solanum lycopersicum</i>).....	113
4.1. Resumen.....	113
4.2. Introducción	114
4.3. Materiales y métodos	116
4.3.1. Material vegetal y condiciones de crecimiento	116
4.4. Mediciones fisiológicas y bioquímicas	117
4.4.1. Crecimiento y desarrollo de la planta	117
4.4.2. Clorofila <i>a</i> , <i>b</i> y total.....	117
4.4.3. Aminoácidos totales	118
4.4.4. Azúcares solubles totales.....	118

4.4.5. Análisis nutrimental.....	119
4.4.6. Análisis estadístico	119
4.5. Resultados	119
4.5.1. La aplicación de V tiende a estimular la germinación de tomate.....	119
4.5.2. El V estimula el crecimiento y desarrollo de la planta	120
4.5.2.1. Altura de planta.....	120
4.5.2.2. Volumen de raíces.....	121
4.5.2.3. Diámetro de tallos, número de hojas, número de botones florales, peso de materia fresca y seca de flores	122
4.5.2.4. Peso de biomasa fresca y seca de hojas, tallos y raíces	123
4.5.2.5. Concentración de clorofila en hojas y tallos	125
4.5.2.6. Concentración de aminoácidos libres totales y azúcares solubles totales en hojas, tallos y raíces.....	126
4.5.2.7. Concentración de nutrimentos en hojas, tallos y raíces	128
4.6. Discusión.....	131
4.6.1. Efecto del V en el crecimiento y desarrollo de la planta.....	131
4.6.2. La clorofila en hojas y tallos de tomate crecido en diferentes dosis de V.....	134
4.6.3. Aminoácidos libres y azúcares totales en hojas, tallos y raíces de tomate.....	135
4.6.4. El V y su efecto en la concentración nutrimental de plantas de tomate	135
4.7. Conclusiones	138
4.8. Referencias	139
CONCLUSIÓN GENERAL.....	145

LISTA DE TABLAS

Table 1.1. Number of flower buds and leaves per plant of four sweet bell pepper varieties treated with la (0 and 10 μM LaCl_3) in the nutrient solution.....	25
Table 1.2. Chlorophylls concentration in leaves of four sweet bell pepper varieties as affected by varieties treated with la (0 and 10 μM LaCl_3) in the nutrient solution.....	30
Table 2.1. Effect of different concentrations of vanadium (V) on root volume, leaf area, flower buds, and weight of fresh and dry flower biomass in pepper plants grown for 28 d in the treatments.	61
Table 2.2. Concentration of chlorophyll (mg g^{-1} fresh biomass) in leaves and stems of pepper plants 28 d after the application of vanadium (V).	63
Table 2.3. Effect of vanadium (V) on the nutrient concentrations in leaves, shoots and roots of pepper plants exposed to different concentrations of V.	67
Tabla 3.1. Efecto de diferentes concentraciones de Si sobre volumen de raíces, área foliar, botones florales, peso de biomasa fresca y seca de flores en plantas de pimiento crecidas durante 28 d en los tratamientos.	92
Tabla 3.2. Concentración de clorofila (mg g^{-1} de biomasa fresca) en hojas y tallos de plantas de pimiento, después de 28 d de la aplicación de los tratamientos con Silicio.	94
Tabla 3.3. Efecto del silicio (Si) en la concentración de macro y micronutrientes en hojas, tallos y raíces de pimiento después de 28 d de la aplicación de los tratamientos.....	97
Tabla 4.1. Diámetro de tallos, número de hojas, número de botones florales, y peso de la materia fresca y seca de flores de plantas de tomate expuestas a diferentes concentraciones de vanadio (V) en la solución nutritiva.....	123
Tabla 4.2. Concentración de clorofilas en hojas y tallos de plantas de tomate expuestas a diferentes concentraciones de vanadio (V) en la solución nutritiva.	126
Tabla 4.3. Concentración de macronutrientes en hojas, tallos y raíces de plantas de tomate expuestas a diferentes concentraciones de vanadio (V) en la solución nutritiva.	129

Tabla 4.4. Concentración de micronutrientos en hojas, tallos y raíces de plantas de tomate expuestas a diferentes concentraciones de vanadio (V) en la solución nutritiva. 130

LISTA DE FIGURAS

Figure 1.1. Seedling height of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum (0 and 10 μM LaCl_3) in the nutrient solution.	23
Figure 1.2. Stem diameter of seedlings of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum (0 and 10 μM LaCl_3) in the nutrient solution.	24
Figure 1.3. Leaf area of seedlings of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum (0 and 10 μM LaCl_3) in the nutrient solution.	26
Figure 1.4. Leaf dry biomass weight of seedlings of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum (0 and 10 μM LaCl_3) in the nutrient solution.	27
Figure 1.5. Root dry biomass weight of seedlings of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum in the nutrient solution.	28
Figure 1.6. Total dry biomass weight of seedlings of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum (0 and 10 μM LaCl_3) in the nutrient solution.	29
Figure 1.7. Total soluble sugars in leaves of seedlings of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum (0 and 10 μM LaCl_3) in the nutrient solution.	31
Figure 1.8. Total soluble amino acids in leaves of seedlings of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum (0 and 10 μM LaCl_3) in the nutrient solution.	32
Figure 1.9. Total soluble proteins in leaves of seedlings of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum (0 and 10 μM LaCl_3) in the nutrient solution.	33
Figure 2.1. Effect of vanadium (0, 5, 10 and 15 μM V) on pepper plant growth. plant height (a) and root length (b). values are means \pm standard error (SE) from at least five individual plants. Different letters above the column indicate significant differences (Duncan, $\alpha = 0.05$).	58
Figure 2.2. Growth and development displayed by pepper plants 28 days after treatment with different concentrations of vanadium (0, 5, 10 and 15 μM V). Control: a, e, i; 5 μM V: b, f, j; 10 μM V: c, g, k; and 15 μM V: d, h, l.	59
Figure 2.3. Stem diameter (a) and number of leaves (b) of pepper plants grown in nutrient solutions containing different concentrations of vanadium (0, 5, 10	

and 15 $\mu\text{M V}$) during 28 d. Values are means \pm standard error (SE) from at least five individual plants. Different letters above the column indicate significant differences (Duncan, $\alpha = 0.05$).....	60
Figure 2.4. Fresh (a) and dry (b) biomass weight of leaves, shoots and roots of pepper plants grown in nutrient solutions containing different concentrations of vanadium (0, 5, 10 and 15 $\mu\text{M V}$) measured 28 days after treatment application. Values are means \pm standard error (SE) from at least five individual plants. Different letters above the column indicate significant differences (Duncan, $\alpha = 0.05$).	62
Figure 2.5. Concentrations of total free amino acids (a) and total soluble sugars (b) in leaves, shoots and roots of pepper plants grown in nutrient solutions containing different concentrations of vanadium (0, 5, 10 and 15 $\mu\text{M V}$) during 28 d. Values are means \pm standard error (SE) from at least five individual plants. Different letters above the column indicate significant differences (Duncan, $\alpha = 0.05$).	65
Figure 2.6. Vanadium (V) concentrations in leaves, shoots and roots of pepper plants grown in nutrient solutions containing different concentrations of vanadium (0, 5, 10 and 15 $\mu\text{M V}$) during 28 days. Values are means \pm standard error (SE) from at least five individual plants. Different letters above the column indicate significant differences (Duncan, $\alpha = 0.05$).	68
Figura 3.1. Altura de la planta (a) y longitud de raíz (b) de plantas de pimiento crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de si. Barras de error indican desviación estándar. Columnas con diferente letra son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).....	89
Figura 3.2. Imagen representativa del desarrollo de plantas de pimiento a los 28 d después del inicio de los tratamientos: (a, e, i) control, (b, f, j) 60 mg L^{-1} , (c, g, k) 125 mg L^{-1} , (d, h, l) 250 mg L^{-1} si.....	90
Figura 3.3. Diámetro del tallo (a) y número de hojas (b) en plantas de pimiento crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de si (mg L^{-1}) durante 28 d. Barras de error indican desviación estándar. Columnas con diferente letra son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).....	91

Figura 3.4. Peso de biomasa fresca (a) y seca (b) de hojas, tallos y raíces de plantas de chile de 65 d de edad, crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de Si, a los 28 d después del inicio de los tratamientos. Barras de error indican desviación estándar. Columnas con diferente letra son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).	93
Figura 3.5. Concentración de aminoácidos libres totales (a) y azúcares solubles totales (b) en hojas, tallos y raíces de plantas de pimiento crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de si durante 28 d. barras de error indican desviación estándar. Columnas con diferente letra son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$). FBW: Fresh Biomass Weight.	95
Figura 3.6. Concentración de silicio (Si) en hojas, tallos y raíces de plantas de pimiento crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de si durante 28 d. Barras de error indican desviación estándar. Columnas con diferente letra son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).	98
Figura 4.1. Porcentaje de germinación de semillas de tomate tratadas con diferentes concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μM V) 2, 3, 4 y 5 días después de aplicados los tratamientos. Medias con letras distintas sobre las columnas de cada medición indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$). Medias \pm error estándar ($n = 100$).	120
Figura 4.2. Altura de plantas de tomate crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μM V) 7, 14, 21 y 28 días después de aplicados los tratamientos. Medias con letras distintas sobre las columnas de cada medición indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$). Medias \pm error estándar ($n = 10$).	121
Figura 4.3. Volumen de raíz de plantas de tomate crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μM V) durante 28 días. Medias con letras distintas sobre las columnas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$). Medias \pm error estándar ($n = 10$).	122

- Figura 4.4. **Peso de biomasa fresca de hojas, tallos y raíces de plantas de tomate crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μM V) durante 28 días. Medias con letras distintas sobre las columnas de cada tejido indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$). medias \pm error estándar (n = 10).....** 124
- Figura 4.5. **Peso de biomasa seca de hojas, tallos y raíces de plantas de tomate crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μM V) durante 28 días. Medias con letras distintas sobre las columnas de cada tejido indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$). Medias \pm error estándar (n = 10)....** 124
- Figura 4.6. **Concentración de aminoácidos libres totales en hojas, tallos y raíces de plantas de tomate crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μM V) durante 28 días. Medias con letras distintas sobre las columnas de cada tejido indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$). Medias \pm error estándar (n = 4). FBW: Fresh Biomass Weight.....** 127
- 128
- Figura 4.7. **Concentración de azúcares solubles totales en hojas, tallos y raíces de plantas de tomate crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μM V) durante 28 días. Medias con letras distintas sobre las columnas de cada tejido indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$). Medias \pm error estándar (n = 4). FBW: Fresh Biomass Weight.....** 128
- Figura 4.8. **Concentración de vanadio (V) en hojas, tallos y raíces de plantas de tomate crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μM V) durante 28 días. Medias con letras distintas sobre las columnas de cada tejido indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$). Medias \pm error estándar (n = 4). DBW: Dry Biomass Weight.....** 131

INTRODUCCIÓN GENERAL

México se caracteriza como uno de los principales países exportadores de hortalizas a nivel mundial (Ayala *et al.*, 2012). Los hábitos de consumo de hortalizas en México, son diversos y están influenciados por el poder adquisitivo y por las tradiciones locales. En los últimos años, ha aumentado el consumo de este tipo de cultivos, y se estima que el consumo *per cápita* en México es de alrededor de 66.63 kg de vegetales al año (FAO-FAOSTAT, 2017).

México ocupa el segundo lugar, después de China, en la producción de chile (*Capsicum annuum* L.) y es el principal exportador de esta hortaliza a nivel mundial (FAO-FAOSTAT, 2017). El chile es el 8° cultivo con mayor valor generado en México, pues alcanza alrededor de 13 mil mdp anualmente con un volumen de producción de aproximadamente 2.2 millones de toneladas, del cual se exporta cerca de 900 mil ton de chiles frescos, secos y en preparaciones (SAGARPA, 2015).

El rendimiento y calidad de cultivos depende de factores intrínsecos como el genotipo de la planta, así como factores extrínsecos, como las condiciones climáticas, tipo de suelo, calidad del agua y nutrición (Marschner, 1995). En este sentido, la nutrición de cultivos es esencial para la producción suficiente de alimentos que satisfagan la demanda de la población mundial (Greenwood, 1981).

De acuerdo con Arnon and Stout (1939), un elemento se considera esencial cuando cumple con dos criterios de esencialidad: 1) directo: el elemento participa en la formación de algún compuesto vital o en alguna reacción crucial para la vida de la planta, 2) indirecto: en ausencia del elemento la planta no completa su ciclo de vida, muestra síntomas de deficiencia y finalmente muere, ya que dicho elemento no puede ser sustituido por otro.

Los elementos esenciales que requieren las plantas para poder completar su ciclo de vida se dividen en macro y micro nutrientes; dentro de los primeros se encuentra el N, P, K, Ca, Mg, S y son necesarios en altas cantidades, pues constituyen alrededor del 0.1 % de la materia seca de los tejidos de la planta. Mientras que los micronutrientes: Fe, Mn, Zn, Cu, B, Cl, Mo se requieren en cantidades pequeñas y por lo general su acumulación en la materia seca es inferior al 0.01 % (Barker and Pilbeam, 2007).

En la agricultura también son usados los elementos que pertenecen al grupo de tierras raras. Tal es el caso del lantano que se considera benéfico para el metabolismo de los cultivos en suministros de pequeñas cantidades. El lantano combinado con cerio, incrementa el desarrollo y rendimiento de los cultivos (Zhang *et al.*, 2003). También se encuentra asociado a las funciones fisiológicas de las plantas como absorción de nutrientes (Pang *et al.*, 2002).

Otros elementos se consideran benéficos ya que afectan positivamente el crecimiento, desarrollo y producción de las plantas pero sin ser considerados esenciales, debido a que estas variables no son características determinantes para que un elemento sea considerado esencial, es decir, que la planta puede sobrevivir si ellos (Arnon and Stout, 1939). Entre los elementos benéficos que han demostrado aportar datos positivos al desarrollo de las plantas se tiene al selenio, aluminio, sodio, vanadio, silicio y cobalto (Asher, 1991; Epstein and Bloom, 2005).

Estudios han demostrado que el vanadio (V) puede aportar beneficios a ciertas plantas cultivadas; por ejemplo, Wang and Liu (1999) dijeron que V participa en el metabolismo de los nitratos y por lo tanto contribuye en el crecimiento de las leguminosas. Welch and Huffman (1973) sugieren que la lechuga y tomate se pueden cultivar exitosamente con solución nutritiva que contengan menos de 0.04 ng ml^{-1} de V.

Por otra parte, se ha dicho que el silicio (Si) podría entrar en la lista de los micronutrientes, aunque sería más adecuado considerarlo como benéfico o casi-esencial (Epstein, 1999) y que aparte de optimizar la fertilidad de suelo manteniendo los nutrimentos en formas disponibles para la planta, también refuerza su protección contra enfermedades (Snyder *et al.*, 2007). Matichenkoy *et al.* (2001) señalaron que la aplicación de silicio en naranja aumentó significativamente el contenido de azúcares en la fruta. De igual modo, Savant *et al.* (1997) dijeron que este elemento juega un papel importante en la formación de la cascara de arroz e influye en la calidad del grano.

Estudios han reflejado que la aplicación de estos elementos en cantidades pequeñas desempeñan funciones que contribuyen en el desarrollo de algunas plantas (Crans *et al.*, 2004; Tang *et al.*, 2009; Vachirapatama *et al.*, 2011); sin embargo, cantidades altas podrían causar toxicidad, por lo que en la práctica su uso es poco común, además, son pocos los estudios sobre su efecto en plantas cultivadas.

Planteamiento del problema

Los elementos benéficos son poco estudiados y su uso es mínimo debido a los riesgos sobre sus efectos tóxicos para ciertas plantas; sin embargo, es interesante determinar las condiciones de crecimiento de las plantas bajo las cuales estos elementos tienen efectos positivos, pues en el contexto de la ecología vegetal, algunos de estos elementos intervienen en la resistencia a estrés abiótico o en las interacciones de la planta con herbívoros o patógenos (Menzies *et al.*, 1991; Feng, 2004).

Los mecanismos de las plantas detrás de los beneficios de estos elementos son poco investigados en comparación con los efectos tóxicos que algunos de estos elementos provocan a altas concentraciones. Los efectos de los elementos benéficos a concentraciones bajas en plantas cultivadas merecen mayor atención, porque pueden proporcionar más conocimiento sobre los procesos básicos de las plantas, y también porque la fertilización con este tipo de nutrientes puede aumentar la producción de cultivos e incrementar el valor nutricional de los alimentos (Pilon-Smits *et al.*, 2009), lo que contribuiría al combate de la desnutrición, pues de acuerdo con la OMS la deficiencia nutricional conocida como “el hambre oculta” es un problema identificado particularmente en los países en desarrollo (Ferreyra y Vallejos, 2003). Además, en otros estudios se ha señalado que algunos de estos elementos pueden contribuir positivamente en la salud humana. Por ejemplo, la suplementación dietética de Se puede reducir significativamente la incidencia de cáncer e infertilidad masculina, así como la susceptibilidad a virus como el VIH (Lyn, 2004; Safarinejad and Safarinejad, 2009). De igual manera, otros autores han mencionado que el V puede tener efectos positivos en el combate de la diabetes tipo I (Soveid *et al.*, 2013).

El desarrollo de algunas especies de plantas depende particularmente de ciertos elementos. La omisión de nutrientes benéficos en la producción comercial puede significar que las plantas no se desarrollen a su óptimo potencial genético, sino que simplemente se producen a un nivel de subsistencia (Kaur *et al.*, 2015). Si se confirma que el V y Si aportan efectos positivos en el crecimiento y desarrollo de plantas de Chile, este trabajo contribuiría a que en un futuro se empleen estos elementos de manera práctica como nutrientes para la producción de este cultivo.

Objetivo general

Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de La, V y Si sobre el crecimiento, acumulación de clorofilas, aminoácidos, azúcares y el estatus nutrimental de chile pimiento y tomate cultivado en hidroponía.

Objetivos específicos

- 1.1.1. Determinar el efecto de La, V y Si sobre el crecimiento, desarrollo y floración de pimiento y tomate.
- 1.1.2. Evaluar el resultado de la aplicación de V y Si sobre el peso de biomasa fresca y seca de plantas de pimiento y tomate.
- 1.1.3. Comparar el efecto de La, V y Si sobre plantas de pimiento y tomate, en el contenido de clorofila, aminoácidos, azúcares y su estatus nutrimental.

Revisión de literatura

El papel de los elementos benéficos en las plantas

Existen más de 60 elementos en las plantas que crecen en el suelo, y sus concentraciones varían entre las especies de plantas y suelos. Estos elementos se han clasificado como esenciales, benéficos y tóxicos según su efecto sobre el crecimiento de las plantas ([Barker and Pilbeam, 2007](#)). Se sabe que existen 17 elementos esenciales para el crecimiento de las plantas, los cuales son absolutamente necesarios para el crecimiento de todas las especies de plantas en cualquier condición de crecimiento. Los elementos esenciales se dividen en macro y micronutrientes. Los macronutrientes incluyen: C, H, O, Ca, K, Mg, N, S y P; de los cuales, C, H, y O representa alrededor del 95% de materia seca vegetal y los demás constituyen más de 1000 mg kg⁻¹ del peso seco. Los micronutrientes (conocidos también como oligoelementos) incluyen: Cl, B, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni y Zn, que están típicamente presentes a menos de 100 mgkg⁻¹ de biomasa seca ([Pilon-Smits *et al.*, 2009](#)).

Por el contrario, los elementos benéficos son aquellos que tienen efectos positivos solo en algunas especies de plantas o en condiciones de crecimiento específicas. Dentro de estos elementos, los más estudiados son: Al, Co, Na, Se, Si y V; los cuales promueven el crecimiento de varios taxones bajo ciertas condiciones ambientales, sin embargo, la función y concentración varía en cada elemento y especie vegetal (Marschner, 1995).

Se han realizado diversos estudios sobre los efectos de estos elementos en el crecimiento de las plantas, por ejemplo, se han estudiado las diferencias fenotípicas entre plantas que crecieron en presencia o ausencia del elemento y se determinó en qué tejidos y órganos de la planta el elemento tiene un efecto positivo. Estos datos contribuyen a fundamentar la información de que Al, Co, Na, Se, Si y V tienen efectos positivos sobre el crecimiento de las plantas, y que, por lo tanto, pueden aplicarse como fertilizante (Pilon-Smits *et al.*, 2009).

El papel más importante de los elementos benéficos no radica en su aceptación general de esencialidad, sino más bien en su función única de conferir tolerancia a las plantas a diversas tensiones de estrés bióticas como ataque de hongos, virus y herbívoros y/o abióticas como salinidad, sequía, déficit nutricional, entre otros (Kaur *et al.*, 2015). Ante estos factores, las plantas activan diversas estrategias de defensa, por lo que si la planta tiene acceso a diversos elementos benéficos, se puede esperar una gama de interacciones complejas, considerando que los patógenos, herbívoros y plantas también pueden ser susceptibles a ciertas concentraciones de estos elementos.

Algunos elementos benéficos pueden proteger a la planta del estrés biótico de las siguientes maneras: a) defensa metálica en los hiperacumuladores de iones metálicos, ya sea actuando como anti alimentadores o como plaguicidas vegetales, b) Metaloterapia mediante la conmutación de defensas orgánicas, o c) fortificación de las plantas inducida por metales contra el ataque de patógenos (Poschenrieder *et al.*, 2006). La aplicación de elementos benéficos puede generar reacciones de defensa en respuesta al ataque de patógenos en plantas no acumuladoras. La protección sólo es posible si el metal menos tóxico para la planta que al parásito, es decir, la planta es más resistente al metal que el patógeno / herbívoro (Walters *et al.*, 2005).

Por otra parte, se ha señalado que otros elementos distintos a los mencionados anteriormente pueden tener efectos benéficos sobre las plantas cultivadas pero se necesitan más estudios para confirmar tales resultados. Tales elementos incluyen: Ag, Ce, Cr, F, I, La, Rb, Sn, Ti y W (Diatloff *et al.*, 1999). De tal modo que si se comprobara que alguno de estos elementos tiene efectos positivos sobre las plantas cultivadas, sería un área interesante para futuros estudios (Pilon-Smits *et al.*, 2009).

Los estudios del papel de los nutrientes en las plantas han implicado varios criterios de diagnóstico que abordan la acumulación de nutrientes y su papel en las plantas, estos criterios incluyen diagnóstico visual, análisis de plantas, pruebas bioquímicas y análisis de suelo (Barker and Pilbeam, 2007). Algunos elementos benéficos pueden ser clasificados en el futuro como elementos esenciales, el níquel es un ejemplo de un elemento que se clasificó como benéfico, pero posteriormente se demostró que es esencial (Brown *et al.*, 1987).

El lantano en las plantas

El lantano se encuentra en el grupo de tierras raras, incluidos en la tabla periódica, conocidos como lantánidos, que comparten propiedades químicas relacionadas con una configuración electrónica externa similar. Los elementos raros de las tierras raras se utilizan hoy en producción industrial de dispositivos tecnológicos. China proporciona la mayor parte de la oferta de tales elementos raros a nivel mundial (Alguacil y Rodriguez, 1997).

Se considera que el lantano genera efectos benéficos en las plantas. Diatloff *et al.* (1995) sugirieron un papel positivo de La en la respuesta al estrés por sequía en el maíz y frijol mungo. Pang *et al.* (2002) informó que La incrementa las enzimas antioxidantes en plantas de trigo mejorando su tolerancia al estrés por plomo. Los sistemas antioxidantes controlan la producción de especies reactivas de oxígeno y consisten de enzimas (superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasas), metabolitos redox, como el ascorbato (ASC) y el tripéptido glutatión (GSH), y las enzimas implicadas en su metabolismo, también conocidas como ASC-GSH ciclo (Noctor and Foyer, 1998).

Por lo tanto el lantano es uno de los elementos más abundantes que enriquece los fertilizantes y que es uno de los principales responsables de los efectos de tales fertilizantes en los

cultivos. Su uso adecuado puede promover la germinación del desarrollo de semillas y raíces, aumentar la biomasa vegetal y mejorar la calidad de los cuerpos fructíferos.

Para el caso del pimiento dulce, La puede mejorar la calidad de las plántulas mejorando algunos parámetros de crecimiento y concentraciones de biomoléculas, dependiendo del genotipo y el tiempo de exposición.

El vanadio en las plantas

El (V) fue descubierto en 1802/1803 por el mineralogista español A.M. del Río en México, posteriormente fue redescubierto por el químico sueco Selfstrom y lo nombró vanadio en honor a la diosa germánica Freya. [Priestley and Gamgee \(1876\)](#) informaron sobre la toxicidad de vanadato de sodio en varias especies de animales. Durante los siguientes 50 años se encontró que el vanadato inhibe la ATPasa ([Rifkin, 1965](#)) y en 1980 fue identificado como un agente insulino-mimético ([Shechter and Karlish, 1980](#)). Se estima que el requisito humano normativo de la ingesta de V es de aproximadamente 10 µg por día, lo cual se cumple con la ingesta regular de alimentos que contengan V ([Anke et al., 1998](#)).

El V es un metal de transición y está ampliamente distribuido en la corteza terrestre ([Peterson and Girling, 1981](#)). Las propiedades químicas de V están determinadas por sus diferentes estados de oxidación: +2, +3, +4 y +5 ([Greenwood and Earnshaw, 1984](#)). El V es esencial para varias especies de algas verdes (*Scenedesmus obliquus*, *Chlorella pyrenoidasa*), algas verde-amarillas (*Bumilariopsis filiformis*) y algas pardas (*Fucus spiralis*). Concentraciones bajas de $0.1^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ de V induce el crecimiento de estas algas y a medida que la concentración aumenta, el crecimiento se sigue estimulando especialmente la formación de clorofila. En el alga marrón *Ascophyllum nodosum*, la actividad de la enzima bromoperoxidasa está esencialmente influenciada por el V ([Arnon and Wessel, 1953](#); [De Boer et al., 1986](#); [Vilter, 1984](#)).

Se ha mencionado que los síntomas en plantas por fitotoxicidad de V se pueden manifestar con clorosis y enanismo y pueden aparecer aproximadamente 2 mg kg⁻¹ de V en la biomasa seca ([Arnon and Wessel, 1953](#)). Por ejemplo, se ha indicado que con 30 mg / kg de V en el

suelo, plantas de mostaza verde y soja obtuvieron rendimientos significativamente reducidos y amarillamiento de hojas (Vachirapatama *et al.*, 2011; Wang and Liu, 1999).

Sin embargo, también se han demostrado que V tiene efectos positivos sobre el desarrollo de algunas plantas. Vachirapatama *et al.* (2011) indicaron que las plantas de mostaza verde china experimentaron un crecimiento mayor cuando se les administró vanadio a concentraciones inferiores a 10 mg kg⁻¹ (100 μM). Así mismo, 20 μM de V aumentó la actividad del fotosistema 1 en cloroplastos aislados de espinaca (*Spinacia oleracea* L.). Singh (1971) indicó que con la aplicación de V las plantas de maíz mostraron mayor rendimiento del grano y obtuvieron más N, P, K, Ca y Mg en las hojas.

El silicio en las plantas

El Si es el segundo elemento más abundante en la tierra, comprende más del 25% de la corteza terrestre (Sommer *et al.*, 2006). El Si es absorbido por las raíces en forma de ácido silícico Si(OH₄). Las plantas difieren mucho en su capacidad de acumular Si, el contenido oscila entre 0.1 y 15 % de la biomasa seca, esta variación se debe tanto a las especies vegetales como al ambiente de crecimiento. Las monocotiledóneas muestran niveles más altos de acumulación de Si (10 – 15%), en comparación con las dicotiledóneas (≤0.5%) (Hodson *et al.*, 2005).

Debido a la abundancia del Si en la naturaleza y porque los síntomas de su deficiencia o toxicidad no son evidentes, el estudio de este elemento se ignoró en gran medida. Sin embargo, los monocultivos y la aplicación constante de fertilizantes químicos comenzaron a agotar la cantidad de este elemento en el suelo disponible para las plantas; por lo que el interés sobre el papel del Si en el crecimiento y desarrollo de las plantas tuvo relevancia a principios del siglo XX. Hoy en día, se reconoce que la deficiencia de Si es un factor limitante para la producción de ciertos cultivos como caña de azúcar y arroz (Epstein, 1999; Richmond and Sussman, 2003).

El Si puede considerarse como un elemento “casi esencial” porque su deficiencia puede afectar el crecimiento, desarrollo y reproducción en una variedad de plantas. Los efectos benéficos del Si se suelen expresar más claramente bajo condiciones de estrés, porque es

capaz de proteger a la planta de diversos factores bióticos y abióticos (Pilon-Smits *et al.*, 2009). Al respecto, Marschner (2012) indicó que Si se deposita en las células epidérmicas de las hojas por lo que mejoró la exposición de estas a la luz al mantener las hojas más erguidas, además, se ha reportado disminución a la susceptibilidad a patógenos y parásitos radiculares y mayor tolerancia de las especies vegetales a estrés por factores abióticos como sequía, desequilibrio de nutrientes, altas y bajas temperaturas, rayos UV, toxicidad por metales pesados, salinidad, entre otras (Fauteux *et al.*, 2006; Liang *et al.*, 2007).

Saqib *et al.* (2008) demostró que el Si mitiga el estrés de la planta causado por la salinidad aumentando la exclusión de sodio y disminuyendo la peroxidación de la membrana lipídica mediante la estimulación de moléculas antioxidantes enzimáticas y no enzimáticas. Por otra parte, se ha propuesto que el Si proporciona a las plantas dos mecanismos de resistencia a las enfermedades: i) el Si actúa como una barrera física. Al respecto, Hayasaka *et al.* (2008) señalaron que el Si se polimeriza en las paredes celulares de las plantas, lo cual impide a los hongos penetrar la epidermis, y por lo tanto, previene la infección. Otros autores indican que el Si actúa como un modulador de la resistencia del huésped a patógenos, al participar como señal para el desencadenamiento de la respuesta de la defensa natural de la planta estimulando la actividad de las enzimas como quitinasas, peroxidasas, aumentando la producción de compuestos fenólicos, fitoalexinas, compuestos antimicrobianos, y señales de estrés sistémico. El Si también mejora la resistencia de las plantas a plagas de insectos como barrenadores de tallo o chicharritas. Este efecto se atribuye a la deposición del Si en los tejidos de la planta, lo que proporciona una barrera mecánica contra la succión y masticación de los insectos (Ghanmi *et al.*, 2004; Hayasaka *et al.*, 2008).

Referencias

- Alguacil FJ, Rodríguez F (1997) Proceso de separación de las tierras raras. Revista Metalurgia, 33(3):188-196. <https://doi.org/10.3989/revmetalm.1997.v33.i3.862>
- Anke M, Gleis M, Groppe B, Rother C, Gonzales D (1998) Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelemente in der Nahrungskette. Nova Acta Leopold, 79:57–190.

- Arnon DI, Stout PR (1939) The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiology*, 14(2):371–375. doi: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.14.2.371>
- Arnon DI, Wessel G (1953) Vanadium as an essential element for green plants. *Nature*, 172: 1039-1043. doi: 10.1038/1721039a0
- Asher CJ (1991) Beneficial elements, functional nutrients, and possible new essential elements. In: J.J. Mortvedt, F.R. Cox, L.M. Shuman, R.M. Welch, eds. *Micronutrients in Agriculture*. Madison, Wis. Soil Science Society of America, Book Series No. 4, pp 703–723.
- Ayala GAV, Schwentesius RR, Carrera CB (2012) Hortalizas en México: competitividad frente a EE.UU. y oportunidades de desarrollo. *Journal of Globalization, Competitiveness & Governability / Revista de Globalización, Competitividad y Gobernabilidad / Revista de Globalização, Competitividade e Governabilidade*, 6(3):70-88. doi: 10.3232/GCG.2012.V6.N3.04
- Barker AV, Pilbeam DJ (2007) *Handbook of Plant Nutrition*. Taylor & Francis, Boca Raton, FL, USA.
- Brown PH, Welch RM, Cary EE (1987) Nickel: a micronutrient essential for higher plants. *Plant Physiology*, 85(3):801–803. doi: 10.1104/pp.85.3.801
- Crans DC, Smee JJ, Gaidamauskas E, Yang L (2004) The chemistry and biochemistry of vanadium and the biological activities exerted by vanadium compounds. *Chem. Rev.* 104 (2):849–902. doi: 10.1021/cr020607t
- De boer E, Van Kooyk Y, Tromp MGM, Plat H, Wever R (1986) Bromoperoxidase from *Ascophyllum nodosum*: A novel class of enzymes containing vanadium as a prosthetic group? *Biochimica et Biophysica Acta*, 869(1): 48-53. doi: 10.1016/0167-4838(86)90308-0

- Diatloff E, Asher CJ, Smith FW (1999) Foliar application of rare earth elements to maize and mungbean. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 39(2):189-194. doi: 10.1071/EA98149
- Diatloff E, Smith FW, Asher CJ. 1995. Rare earth elements and plant growth: I. Effects of lanthanum and cerium on root elongation of corn and mungbean. *Journal of Plant Nutrition*, 18(19):1963-1976. <https://doi.org/10.1080/01904169509365037>
- Epstein E (1999) Silicon. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50:641-664. doi: 10.1146/annurev.arplant.50.1.641d
- Epstein E, Bloom AJ (2005) *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives*, 2nd ed. Sunderland, Mass. Sinauer, pp 400.
- FAO-FAOSTAT (2017) Food and Agriculture Organization of the United Nations. Trade. Disponible en: <<http://faostat.fao.org/site/342/default.aspx>>, (consultado: 9 – 01 - 2017).
- Fauteux F, Chain F, Belzile F, Menzies JG, Belanger RR (2006) The protective role of silicon in the *Arabidopsis*-powdery mildew pathosystem. *Proc Natl Acad Sci USA*. 103(46):17554-17559. doi:10.1073/pnas.0606330103
- Feng JM (2004) Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses, *Soil Science and Plant Nutrition*, 50(1):11-18. doi: 10.1080/00380768.2004.10408447
- Ferreira PA, Vallejos NR (2003) Desnutrición oculta: Una nueva forma de desnutrición. *Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina* 124: 14-17.
- Ghanmi D, McNally DJ, Benhamou N, Belanger RR (2004) Powdery mildew of *Arabidopsis thaliana*: a pathosystem for exploring the role of silicon in plant-microbe interactions. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 64(4):189-199. doi: 10.1016/j.pmpp.2004.07.005

- Greenwood DJ (1981) Crop response to agronomic practice. In: *Mathematics and Plant Physiology*. Rose, D. A. and Charles Eduards, D. A. (Eds.). Academic Press, London, 195-216 p
- Greenwood NN, Earnshaw A (1984) *Chemistry of Elements*. (Second Edition) Pergamon Press, Oxford. ELSEVIER. pp. 1283.
- Hayasaka T, Fujii H, Ishiguro K (2008) The role of silicon in preventing appressorial penetration by the rice blast fungus. *Phytopathology* 98(9):1038-1044. doi: 10.1094/PHYTO-98-9-1038
- Hodson MJ, White PJ, Mead A, Broadley MR (2005) Phylogenetic variation in the silicon composition of plants. *Ann Bot.* 96(6):1027-1046. doi:10.1093/aob/mci255
- Kaur S, Kaur N, Siddique KHM, Nayyar H (2015) Beneficial elements for agricultural crops and their functional relevance in defence against stresses. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 62(7):905-920. doi:10.1080/03650340.2015.1101070
- Liang Y, Sun W, Zhu YG, Christie P (2007) Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: a review. *Environmental Pollution*, 147(2):422-428. doi: 10.1016/j.envpol.2006.06.008
- Lyn P (2004) Selenium biochemistry and cancer: a review of the literature. *Altern. Med. Rev.* 9(3):239-258.
- Marschner H (1995) *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Second Edition. Academic Press, Inc. San Diego CA, USA, pp 889
- Marschner H (2012) *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. London: Academic press.
- Matichenkov VV, Bocharnikova EA, Calvert DV (2001) Response of citrus to silicon soil amendments. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 114:94–97.

- Menzies JG, Ehret DL, Glass ADM, Helmer T, Koch C, Seyward F (1991) Effects of soluble silicon on the parasitic fitness of *Sphaerotheca fuliginea* on *Cucumis sativus*. *Phytopathology* 81(1):84-88. doi: 10.1094/Phyto-81-84
- Noctor G, Foyer CH. (1998). Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen under Control. *Annual Review and Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 49:249-279. doi: 10.1146/annurev.arplant.49.1.249
- Pang X, Wang, DH, Xing XY, Peng A, Zhang FS, Li CJ. (2002). Effect of La³⁺ on the activities of antioxidant enzymes in wheat seedlings under lead stress in solution culture. *Chemosphere*, 47(10): 1033–1039.
- Peterson PJ, Girling CA (1981) Vanadium. *In: Effect of Heavy Metal Pollution on Plants*. Lepp NW (ed) London: Applied Science Publishers, New Jersey. pp. 210-277.
- Pilon-Smits EA, Quinn CF, Tapken W, Malagoli M, Schiavon M (2009) Physiological functions of beneficial elements. *Current Opinion Plant Biology*, 12(3):267-274. doi: 10.1016/j.pbi.2009.04.009
- Poschenrieder C, Tolrà R, Barceló J (2006) Can metals defend plants against biotic stress? *Trends Plant Sci*. 11(6):288–295. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.04.007>
- Priestley J, Gamgee A (1876) On the physiological action of vanadium. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 66:495-556.
- Richmond KE, Sussman M (2003) Got silicon? The non-essential beneficial plant nutrient *Current Opinion Plant Biology*, 6(3):268–272. doi: 10.1016/S1369-5266(03)00041-4
- Rifkin RJ (1965) In vitro inhibition of Na⁺ -K⁺ and Mg²⁺ ATPases by mono, di, and trivalent cations. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 120: 802-804.
- Safarinejad MR, Safarinejad S (2009) Efficacy of selenium and/or N-acetyl-cysteine for improving semen parameters in infertile men: a double-blind, placebo controlled, randomized study. *J Urol.* 181(2):741-751. doi: 10.1016/j.juro.2008.10.015

- SAGARPA (Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación) (2015) <http://www.gob.mx/sagarpa/articulos/produccion-del-chile-mexicano> (Consultado: 21-01-17).
- Saqib M, Zorb C, Schubert S (2008) Silicon-mediated improvement in the salt resistance of wheat (*Triticum aestivum*) results from increased sodium exclusion and resistance to oxidative stress. *Functional Plant Biology*, 35(7):633-639. doi:10.1071/FP08100
- Savant NK, Snyder GH, Datnoff LE (1997) Silicon management and sustainable rice production. *Advances Agronomy* 58:151-199. doi: 10.1016/S0065-2113(08)60255-2
- Shechter Y, Karlsh SJD (1980) Insulin-like stimulation of glucose oxidation in rat adipocytes by vanadyl (IV) ions. *Nature*, 284:556-558. doi: 10.1038/284556a0
- Singh BB (1971) Effect of vanadium on the growth, yield and chemical composition of maize (*Zea mays* L.). *Plant and Soil*, 34(1):209-213. doi: 10.1007/BF01372773
- Snyder GH, Matichenkov VV, Datnoff LE (2007) Silicon. In: *Handbook of Plant Nutrition*. Barker, A.V. and Pilbeam, D.J. (eds.). Taylor & Francis Group. CRC Press. Boca Raton, FLA, pp. 121-144.
- Sommer M, Kaczorek D, Kuzyakov Y, Breuer J (2006) Silicon pools and fluxes in soils and landscapes-a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 169(3):310-329. doi: 10.1002/jpln.200521981
- Soveid M, Dehghani GA, Omrani GR (2013) Long- term efficacy and safety of vanadium in the treatment of type 1 diabetes. *Arch Iran Med*. 16(7):408-411. doi: 013167/AIM.009
- Tang YT, Qiu RL, Zeng XW, Ying RR, Yu FM, Zhou XY (2009) Lead, zinc, cadmium hyperaccumulation and growth stimulation in *Arabis paniculata* Franch. *Environmental and Experimental Botany*, 66(1):126-134. doi: 10.1016/j.envexpbot.2008.12.016

- Vachirapatama N, Jirakiattikul Y, Dicinoski G, Townsend AT and Haddad PR (2011) Effect of vanadium on plant growth and its accumulation in plant tissues. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 33(3):255-261.
- Vilter H (1984) Peroxidases from phaeophyceae: A vanadium (V)-dependent peroxidase from *Ascophyllum nodosum*. *Phytochemistry* 23(7):1387-1390. doi:10.1016/S0031-9422(00)80471-9
- Walters D, Walsh D, Newton A, Lyon G (2005) Induced resistance for plant disease control: maximizing the efficacy of resistance elicitors. *Phytopathology*, 95(12):1368-1373. doi: 10.1094/PHYTO-95-1368.
- Wang JF, Liu Z (1999) Effect of vanadium on the growth of soybean seedlings. *Plant and Soil* 216(1-2): 47-51. doi: 10.1023/A: 1004723509113
- Welch RM, Huffman EWD (1973) Vanadium and plant nutrition. *Plant Physiology*, 52(2):183-185. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.52.2.183>
- Zhang L, Zeng F, y Xiao R (2003) Effect of lanthanum ions (La³⁺) on the reactive oxygen species scavenging enzymes in wheat leaves. *Biol. Trace Elem. Res.* 91(3): 243-252. doi: 10.1385/BTER:91:3:243

CAPÍTULO 1. LANTHANUM AFFECTS BELL PEPPER SEEDLING QUALITY DEPENDING ON THE GENOTYPE AND TIME OF EXPOSURE BY DIFFERENTIALLY MODIFYING PLANT HEIGHT, STEM DIAMETER AND CONCENTRATIONS OF CHLOROPHYLLS, SUGARS, AMINO ACIDS, AND PROTEINS

1.1. Abstract

Lanthanum (La) is considered a beneficial element, capable of inducing hormesis. Hormesis is a dose-response relationship phenomenon characterized by low-dose stimulation and high-dose inhibition. Herein we tested the effect of 0 and 10 μM La on growth and biomolecule concentrations of seedlings of four sweet bell pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties, namely Sven, Sympathy, Yolo Wonder, and Zidenka. Seedling evaluations were performed 15 and 30 days after treatment applications (dat) under hydroponic greenhouse conditions. Seedling height was significantly increased by La, growing 20% taller in Yolo Wonder plants, in comparison to the control. Similarly, La significantly enhanced shoot diameter, with increases of 9 and 9.8% in measurements performed 15 and 30 dat, respectively, as compared to the control. Likewise, La-treated seedlings had a higher number of flower buds than the control. An increase in the number of leaves because of La application was observed in Yolo Wonder seedlings, both 15 and 30 dat, while leaf area was augmented in this variety only 30 dat. Nevertheless, La did not affect dry biomass accumulation. La effects on biomolecule concentration were differential over time. In all varieties, La stimulated the biosynthesis of chlorophyll a, b and total 15 dat, though 30 dat only the varieties Sympathy and Yolo Wonder showed enhanced concentrations of these molecules because. Total soluble sugars increased in La-treated seedlings 30 dat. Interestingly, while most varieties exposed to La showed a reduction in amino acid concentration 15 dat, the opposite trend was observed 30 dat. Importantly, in all varieties evaluated, La stimulated soluble protein concentration 30 dat. It is important to note that while chlorophyll concentrations increased in all varieties exposed to La, both 15 and 30 dat, those of soluble sugars and proteins consistently increased only 30 dat, but not 15 dat. Our results confirm that La may improve seedling quality by

enhancing some growth parameters and biomolecule concentrations, depending on the genotype, and time of exposure.

1.2. Introduction

Lanthanum (La) is a metallic element belonging to the rare earth element (REE) group. It is commonly found in combination with cerium (Ce) and other elements of this group. It is a malleable, ductile and soft metal that is easily oxidized when exposed to air. It can be isolated from minerals such as monazite [(Ce, La, Th, Nd, Y)PO₄] and bastnaesite [(Ce, La, Y)CO₃F], in amounts ranging between 25 and 38% of the total lanthanide found (28 mg kg⁻¹ of soil; Tyler, 2004).

In addition to its applications as a catalyst and in medicine, La has been employed in agriculture, where it has shown positive effects on plant physiology and improved some yield indicators in crops when applied at low concentrations (Hu et al., 2004). Nevertheless, this metal triggers hormesis, a dose-response phenomenon characterized by low-dose stimulation, high-dose inhibition. Thus, high La concentrations applied to plants may induce negative responses, instead of beneficial effects. In wheat (*Triticum aestivum*), the application of 0.5–25 mg L⁻¹ La inhibited primary root elongation, reduced root, and shoot biomass accumulation, and disrupted the nutrient balance, especially that of Ca, Mg, K, Cu, and Zn (Hu et al., 2002). In maize (*Zea mays* cv. “Hycorn 82”) and mungbean (*Vigna radiata* cv. “Berken”), La decreased growth, root function, and nutritional status at concentrations >0.2 mM in solution (Diatloff et al., 2008). Moreover, in root tips of faba bean (*Vicia faba*) seedlings, La applied at concentrations higher than 0.5 mg L⁻¹ induced nutrient imbalance of Ca, Fe and K, and DNA-protein crosslink, leading to hormetic response of cell cycle progression (Wang et al., 2012a). In horseradish (*Armoracia rusticana*), dual effects of La on cell growth were observed: low concentration (i.e., 30–35 μM LaCl₃) promoted cell expansion, whereas high concentration (i.e., ≥ 80 μM LaCl₃) inhibited cell expansion or even caused cell damage (Wang et al., 2014). In soybean (*Glycine max*), the application of 5–10 μM La in the nutrient solution improved plant performance, whereas 20–160 μM La drastically reduced photosynthetic rate and biomass accumulation (de Oliveira et al., 2015).

The differences in responses are attributed to the dose and application method, as well as the physical and chemical properties of the growth medium, the pH playing a key role. These responses are also related to the interaction with nutrients, type of crop and its developmental stage (Von Tucher and Schmidhalter, 2005; Zhang et al., 2013; de Oliveira et al., 2015; Turra et al., 2015).

Studies with La at seedling stage have focused on its protective effect against stress factors. For instance, La may mitigate the negative effects of heavy metals present in the growth medium. In fact, La may reduce the stress caused by Cd in common bean (*Phaseolus vulgaris*) and maize by improving the photosynthetic capacity, reducing membrane permeability and malondialdehyde (MDA, an indicator of oxidative stress in cells and tissue) content, and maintaining the activities of the antioxidant enzymes catalase (CAT) and peroxidase (POD) of these two crops (Huang and Zhou, 2006). Moreover, La influences the accumulation of trace elements such as Se, Co, Rb, V, Tc, and Ga in chloroplasts of cucumber (*Cucumis sativus*) seedling leaves by regulating ion transport mechanisms, while chloroplast contents peaks at 0.02 mM La³⁺, thus affecting photosynthesis (Zeng et al., 2000; Shi et al., 2006).

Lanthanum is first anchored on the plasma membrane in the form of nanoscale particles (Wang et al., 2014). Importantly, vitronectin-like protein (VN) is an anchoring site and binding target for La found on the plasma membrane of *Arabidopsis thaliana* leaf cells, and VN may act as a defense mechanism to resist the entry of La into plant cells (Yang et al., 2016). Once anchored on the plasma membrane, La may enter the cell by endocytosis, and a portion of it is released into the cytoplasm, self-assembled, and formed into nanoscale clusters. The endocytosis gradually ceases with the migration of La from leaf cells to leaf stalk, root, and soil (Wang et al., 2014). Furthermore, La affects the expression of calmodulin (CaM) in endocytosis. Low concentration of La could interact with extracellular CaM by electrostatic attraction and is then bound to two Ca-binding sites of CaM, making the molecular structure more compact and orderly, whereas a high concentration of La could be coordinated with cytoplasmic CaM or bound to other Ca-binding sites, making the molecular structure more loose and disorderly (Wang et al., 2016).

In horticultural production systems, seedling quality is a key factor determining an efficient crop performance. In turn, seedling quality is affected by a combination of characteristics of both a physical (i.e., height, diameter, health, root size, and shape, among others) and biochemical nature (i.e., soluble sugars, amino acids, and polyamines, including spermidine, spermine, and putrescine, among others; Ritchie, 1984; Lu et al., 2002; Vidigal et al., 2011). High quality seedlings have a higher survival rate and faster growth in the field than poor quality ones. In turn, fast growth allows crop plants to outcompete weeds and reduces the initial labor costs of establishment, enabling farmers to harvest products sooner and thus increase their return on investment (Resh, 2012). In particular, the initial growth phase in sweet bell pepper seedlings is the most critical stage for the commercial production of this crop species (De Grazia et al., 2004) and beneficial elements such as La may boost its performance. Herein we aimed to evaluate the effect of adding 10 μM LaCl_3 in the nutrient solution on quality components of seedlings obtained from four sweet bell pepper varieties.

1.3. Materials and Methods

1.3.1. Treatment Design and Experimental Design

We germinated seeds of four commercial varieties of sweet bell pepper (*Capsicum annuum* L.), namely Sven, Sympathy, Yolo Wonder, and Zidenka. Some of the main agronomic descriptors of these genotypes are detailed in Supplementary Material 1. Germination was carried out in a mixture of peat-moss and perlite (80/20, v/v).

Fifteen days after emergence, seedlings were transferred to 500 mL pots containing perlite as substrate, and irrigated with Steiner's nutrient solution at 15% of its original strength (Steiner, 1984) for 15 days. Thirty days after emergence, the application of La contained in the nutrient solution was initiated. La was applied at concentrations of 0 and 10 μM and was supplied from LaCl_3 . Nutrient solutions were prepared using distilled water and analytical grade reagents (Sigma Adrich; Darmstadt, Germany) at pH 5.5 and an electrical conductivity of 0.3 dS m^{-1} . Under low pH value, the mobility and subsequent availability of La as cation increases (Von Tucher and Schmidhalter, 2005).

The macronutrient composition of Steiner's nutrient solution (at 15% of its original strength) was (in $\text{cmol}(+) \text{m}^{-3}$): 1.80 NO_3^- , 0.15 H_2PO_4^- , 1.05 SO_4^{2-} , 1.05 K^+ , 1.35 Ca^{+2} , and 0.60 Mg^{+2} . We used the diluted solution (15%) and not the full-strength version (100%) in order to avoid interactions of La with other cations such as Ca and Mg, in accordance with recommendations made by Kinraide (1998). The nutrient solution was supplemented with micronutrients at the following concentrations (in μM): 29.12 Mn, 1.73 Cu, 79.56 B, 0.35 Zn, and 0.50 Mo. Iron was supplied as Fe-EDTA at a concentration of 89.53 μM from a stock solution prepared according to Steiner and van Winden (1970).

Each experimental unit consisted of five seedlings in a 500 mL pot. All units were watered daily using 300 mL of diluted Steiner's nutrient solution. The total amount of the nutrient solution (300 mL) was fractionated in three watering events every 8 h, of 100 mL each.

The experiment was performed under hydroponic greenhouse conditions, testing two treatments on each variety of bell sweet peppers: 0 (control) and 10 μM La in the nutrient solution. The experiment had a completely randomized design. Each experimental unit consisted of five seedlings planted in a 500 mL pot with perlite as substrate. During the experiment, seedlings were grown under a day-length of 12 h, at 28/18°C day/night temperature, 550 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ light intensity, and 70% relative humidity.

1.3.2. Variables Evaluated

Fifteen and 30 days after the application of treatments (dat), the following variables were evaluated: plant height, stem diameter, number of leaves, number of flower buds, leaf area and leaf, root and total biomass dry weight.

A leaf area integrator (LICOR, LI-300, Lincoln, NE, USA) was used for measuring leaf area, which was reported in cm^2 , while the dry weights were determined after drying the plant material for 48 h at 70°C in a forced air oven (Riossa, HCF-125D; Guadalajara, Jalisco, Mexico), using an analytical balance (Adventurer Pro AV213C, Ohaus; Parsippany, NJ, USA).

In all cases, the readings of the biochemical variables were made using a Thermo Scientific Genesys 10 spectrophotometer (Madison, WI, USA).

In fresh leaves the concentrations of chlorophylls a, b and total were determined as described by Harborne (1973) by spectrophotometry at a wavelength of 663 and 645 nm.

The concentration of total soluble sugars was determined in fresh leaves by the anthrone method described by Southgate (1976), and read in the spectrophotometer at 600 nm, using a glucose standard curve as reference.

Determination of free amino acids in fresh leaves was achieved by a triple ethanolic extraction, as described by Geiger et al. (1998). The extracts were read in the spectrophotometer at a 570 nm wavelength, using the ninhydrin method (Moore and Stein, 1954). Leucine was used for the preparation of the calibration curve.

Protein concentrations in leaves were determined according to the procedure described by Höfner et al. (1989). Reading of the samples was performed in the spectrophotometer with 640 nm absorbance. Bovine serum albumin was used to prepare the standard curve.

1.3.3. Statistical Analysis

The variables were analyzed by sampling date (i.e., either 15 or 30 dat) in each variety of bell sweet peppers, according to the treatments established. Analysis of variance and Tukey's range test were performed with a 95% confidence level using Statistical Analysis System (SAS, 2011) software.

1.4. Results

In preliminary experiments, we tested the effect of a number of La concentrations on plant growth, development, and nutrient concentration (Ramírez-Martínez et al., 2009, 2012). The stimulant effect of La on plant growth was observed when this element was applied at concentrations between 10 and 20 μM La. Furthermore, we analyzed the literature on La dosage triggering beneficial effects in some important horticultural crops (Supplementary

Material 2). In tomato (*Solanum lycopersicum*), the application of 40.78 μM La in the nutrient solution increased yield and reduced Cd accumulation in fruits (Xie et al., 2014). Similarly, Hu et al. (2014) demonstrated that the application of 4.08 μM La could efficiently protect pepper seedlings from salinity ($0.75 \text{ g L}^{-1} \text{ NaCl}$) damage by decreasing its death rate, increasing POD activity, and reducing DNA methylation. In cucumber, the application of 10–20 μM La stimulated the antioxidant system and enhanced plant growth. Just recently, Trejo-Téllez et al. (2016) published a review on the effects of beneficial elements in crop plants. Based on those reports and our experience, we decided to perform further analysis by comparing the effect of applying 0 (control) and 10 μM La on plant growth and concentrations of chlorophylls, soluble sugars, amino acids and soluble proteins in sweet pepper seedlings. Commercial sweet pepper varieties Sven, Sympathy, Yolo Wonder and Zidenka were grown in Steiner's nutrient solution at 15% of its original strength under greenhouse conditions. Treatments without and with La (0 and 10 μM LaCl_3 , respectively) were applied to 30-day-old pepper seedlings for either 15 or 30 days. We found that plant height was stimulated by La, though significant effects were only evident in Sympathy, Yolo Wonder, and Zidenka 15 dat, and in Sven, Yolo Wonder, and Zidenka 30 dat (Figure 1.1).

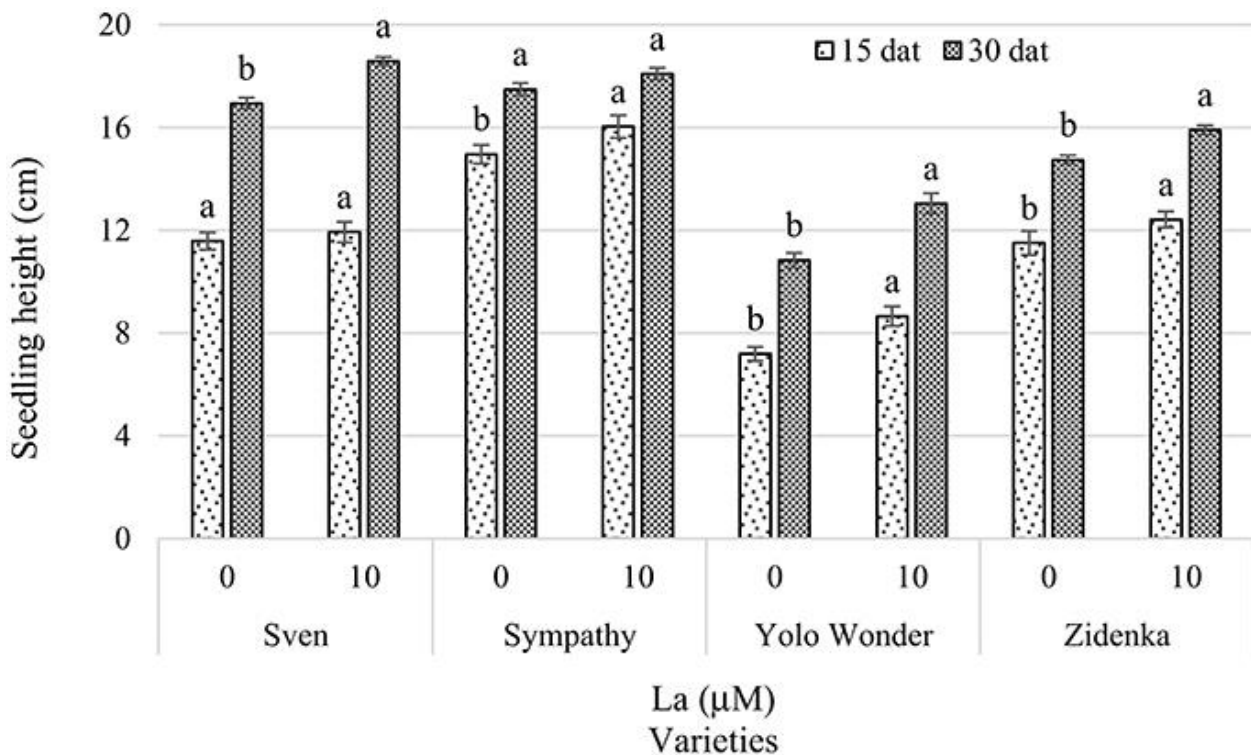


Figure 1.1. Seedling height of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum (0 and 10 μM LaCl₃) in the nutrient solution.

Measurements were carried out 15 and 30 days after treatment (dat). Means ± SD in each time of measurement and in each variety with different letters indicate statistical differences (Tukey, $P \leq 0.05$). $P > F$ -values at 15 dat are 0.2640, 0.0035, <0.0001, and 0.0105; and at 30 dat are <0.0001, 0.0580, 0.0003, and 0.0002, for Sven, Sympathy, Yolo Wonder, and Zidenka varieties, respectively.

Stem diameter evaluated 15 dat was statistically different in all varieties, with La increasing this variable by 9% on average, in comparison to the control. In measurements performed 30 dat, in Sven, Sympathy, Zidenka, but not in Yolo Wonder, La increased stem diameter by 9.8%, as compared to control seedlings (Figure 1.2).

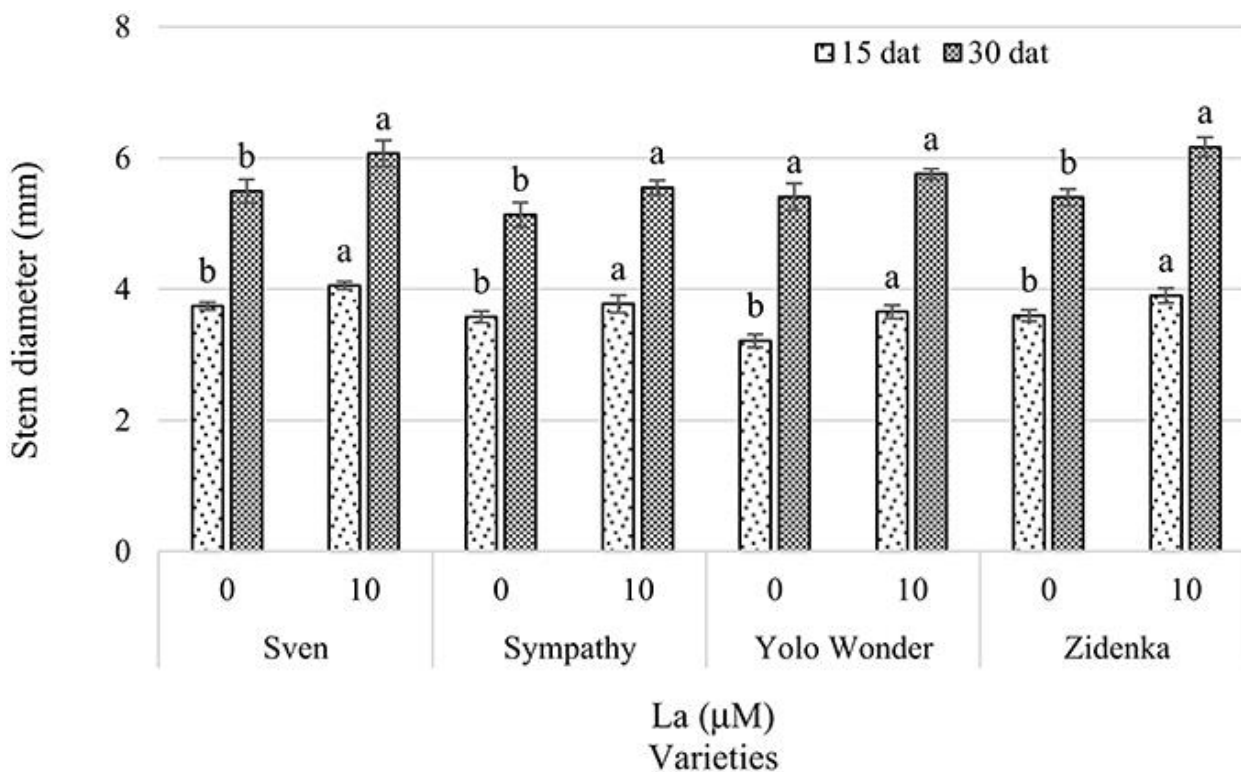


Figure 1.2. Stem diameter of seedlings of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum (0 and 10 μM LaCl₃) in the nutrient solution.

Measurements were carried out 15 and 30 days after treatment (dat). Means ± SD in each time of measurement and in each variety with different letters indicate statistical differences (Tukey, $P \leq 0.05$). $P > F$ -values at 15 dat are <0.0001, 0.0389, <0.0001, and 0.0012; and at 30 dat are 0.0251, 0.0434, 0.0775, and 0.0007, for Sven, Sympathy, Yolo Wonder, and Zidenka varieties, respectively.

Interestingly, flower buds appeared on the seedlings 30 dat. The number of flower buds was significantly increased in the presence of La, with the exception of Sympathy seedlings. In general, a positive effect of La on flower bud induction was observed. In all varieties except Yolo Wonder, La did not affect the number of leaves per plant (Table 1).

Table 1.1. Number of flower buds and leaves per plant of four sweet bell pepper varieties treated with La (0 and 10 μM LaCl_3) in the nutrient solution.

Variety	La (μM)	Number of flower buds per plant, 30 dat	Number of leaves per plant	
			15 dat	30 dat
Sven	0	3.00 \pm 0.41b	11.50 \pm 0.87a	18.75 \pm 1.18a
Sven	10	5.00 \pm 0.41a	12.50 \pm 0.65a	19.75 \pm 1.89a
<i>Pr >F</i>		0.0134	0.3903	0.6691
Sympathy	0	3.00 \pm 0.41a	13.50 \pm 1.04a	18.25 \pm 0.85a
Sympathy	10	4.25 \pm 0.48a	12.50 \pm 0.65a	18.75 \pm 0.75a
<i>Pr >F</i>		0.0941	0.4454	0.6754
Yolo Wonder	0	0.25 \pm 0.25b	9.75 \pm 0.48b	15.00 \pm 0.91b
Yolo Wonder	10	1.75 \pm 0.48a	11.50 \pm 0.29a	19.00 \pm 1.29a
<i>Pr >F</i>		0.0321	0.0203	0.0447
Zidenka	0	1.25 \pm 0.25b	9.25 \pm 0.48a	14.00 \pm 0.71a
Zidenka	10	2.75 \pm 0.48a	9.50 \pm 0.65a	16.25 \pm 1.11a
<i>Pr >F</i>		0.0321	0.7663	0.1379

Means \pm SD in each time of measurement (i.e., 15 and 30 dat) and variety with different letters indicate statistical differences (Tukey, $P \leq 0.05$). dat, days after treatment application.

Concerning leaf area, La did not affect this component 15 dat. However, La did reduce this variable in the variety Sympathy (18.6% in comparison to the control), whereas the variety Yolo Wonder showed an increased leaf area (17.3% as compared to the control) 30 dat in response to La (Figure 1.3).

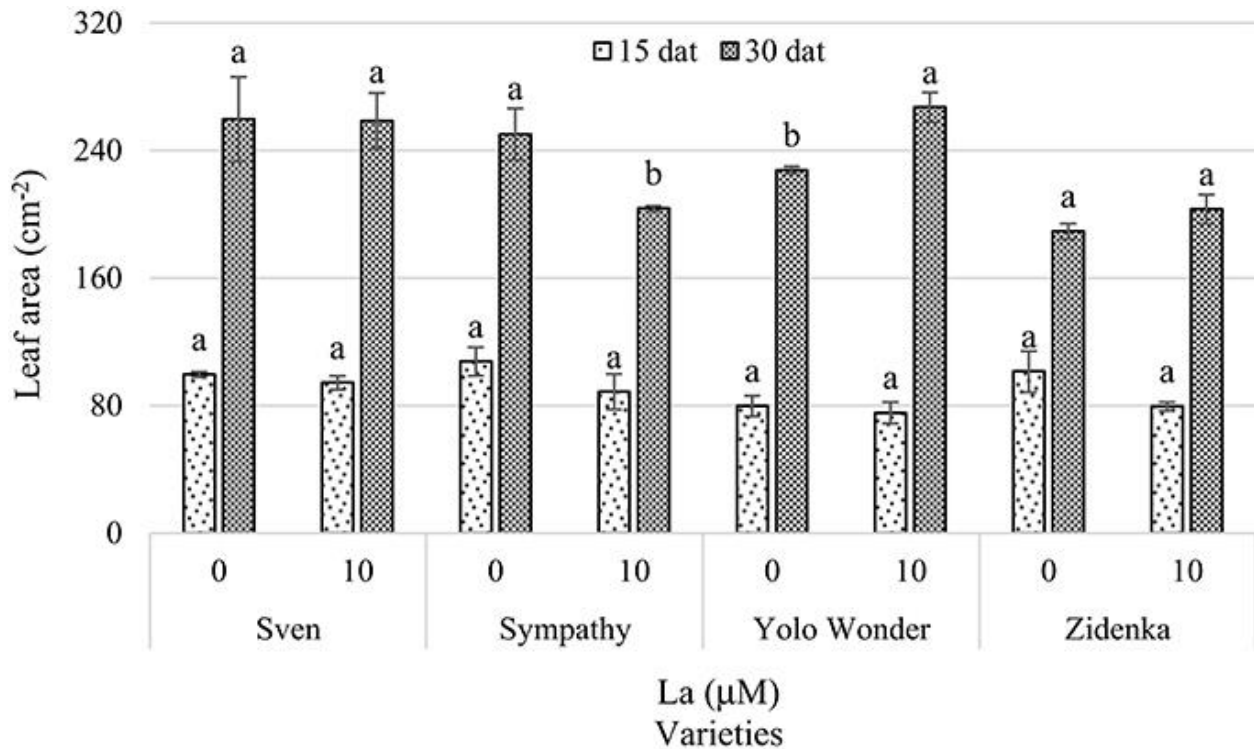


Figure 1.3. Leaf area of seedlings of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum (0 and 10 µM LaCl₃) in the nutrient solution.

Measurements were carried out 15 and 30 days after treatment (dat). Means ± SD in each time of measurement and in each variety with different letters indicate statistical differences (Tukey, $P \leq 0.05$). $P > F$ -values at 15 dat are 0.3135, 0.2306, 0.1483, and 0.6615; and at 30 dat are 0.9694, 0.0280, 0.0067, and 0.2275, for Sven, Sympathy, Yolo Wonder, and Zidenka varieties, respectively.

Leaf dry biomass was enhanced by La application in most varieties evaluated, though significant differences between control and La-treated plants were evident only in the variety Sven 15 dat and Sympathy 30 dat. Although no significant differences were found 30 dat in three of the four varieties evaluated, it is worth noting that La increased leaf dry biomass weight by 11, 36, 24, and 18% in the varieties Sven, Sympathy, Yolo Wonder, and Zidenka, respectively, compared to their respective controls, with Sympathy being the only one showing statistical differences at this time of measurement (Figure 1.4).

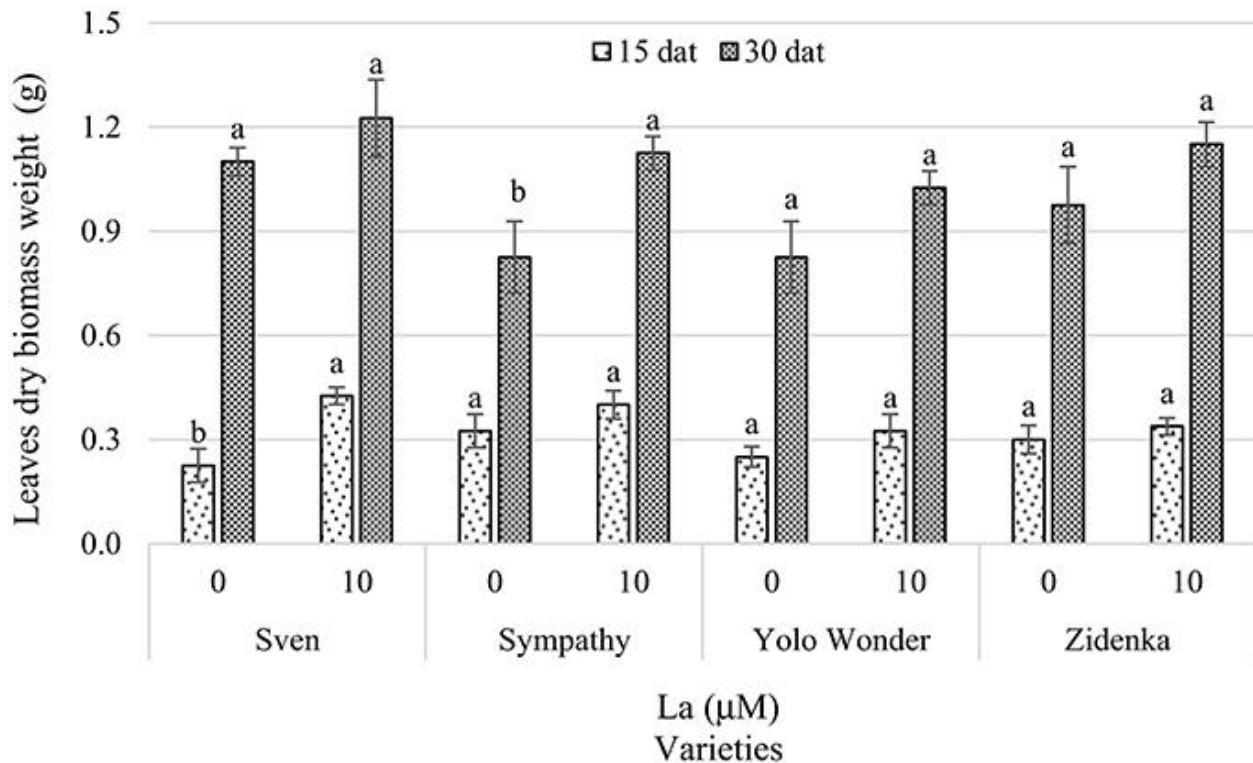


Figure 1.4. Leaf dry biomass weight of seedlings of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum (0 and 10 µM LaCl₃) in the nutrient solution.

Measurements were carried out 15 and 30 days after treatment (dat). Means ± SD in each time of measurement and in each variety with different letters indicate statistical differences (Tukey, $P \leq 0.05$). $P > F$ -values at 15 dat are 0.0100, 0.2782, 0.2283, and 0.4583; and at 30 dat are 0.3308, 0.0386, 0.1289, and 0.2215, for Sven, Sympathy, Yolo Wonder, and Zidenka varieties, respectively.

Interestingly, La did not affect root dry biomass weight in any of the varieties evaluated during both sampling times (i.e., 15 and 30 dat) as compared to the control (Figure 1.5).

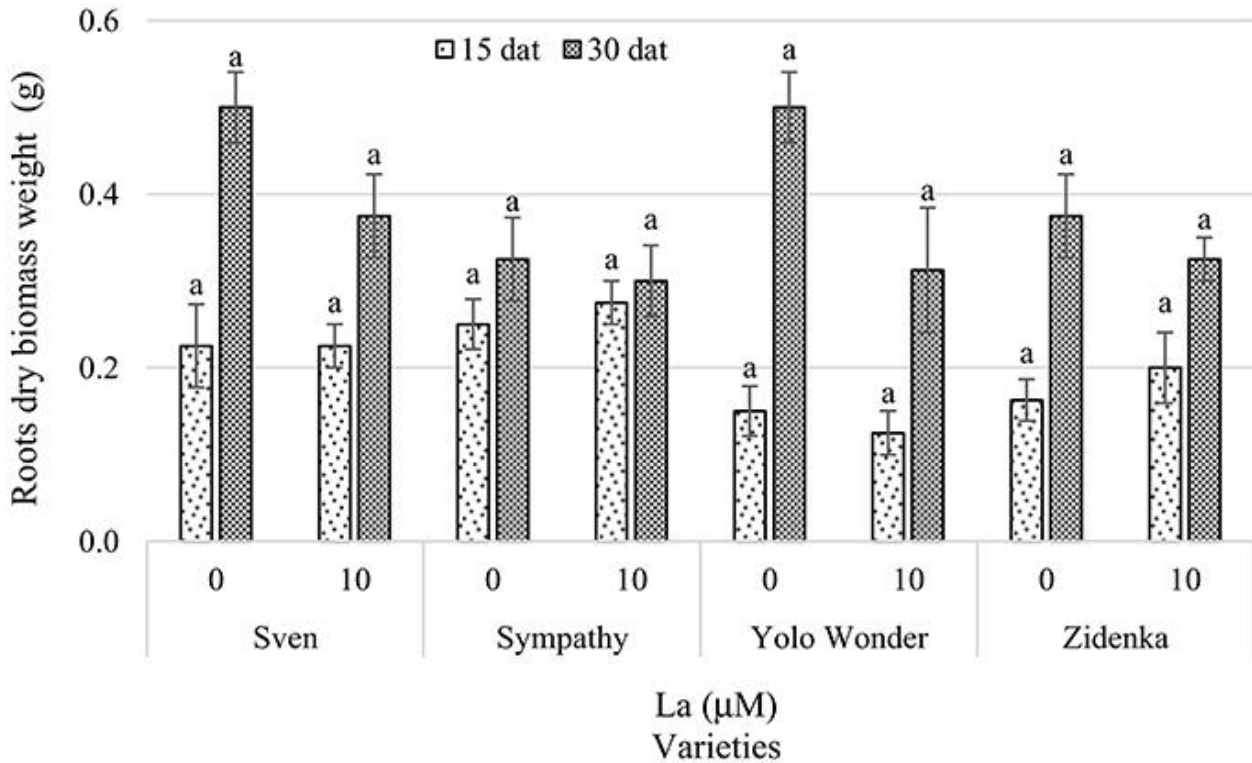


Figure 1.5. Root dry biomass weight of seedlings of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum in the nutrient solution.

Measurements were carried out 15 and 30 days after treatment (dat). Means \pm SD in each time of measurement and in each variety with different letters indicate statistical differences (Tukey, $P \leq 0.05$). $P > F$ -values at 15 dat are 1.0000, 0.5370, 0.5370, and 0.4583; and at 30 dat are 0.0941, 0.7049, 0.0637, and 0.3903, for Sven, Sympathy, Yolo Wonder, and Zidenka varieties, respectively.

Significant effects of La applications on total dry biomass weight were only observed in the Sven variety 15 dat, with an increase of 48% as compared to the control. In the other varieties measured 15 dat, adding La slightly increased total dry biomass weight compared to their respective controls, but these increases were not significant. Thirty days after treatment, we observed a significant increase (26.4%) in total dry biomass weight only in Sympathy, in comparison to the control, whereas the other three varieties did not show any effect of La regarding this variable (Figure 1.6).

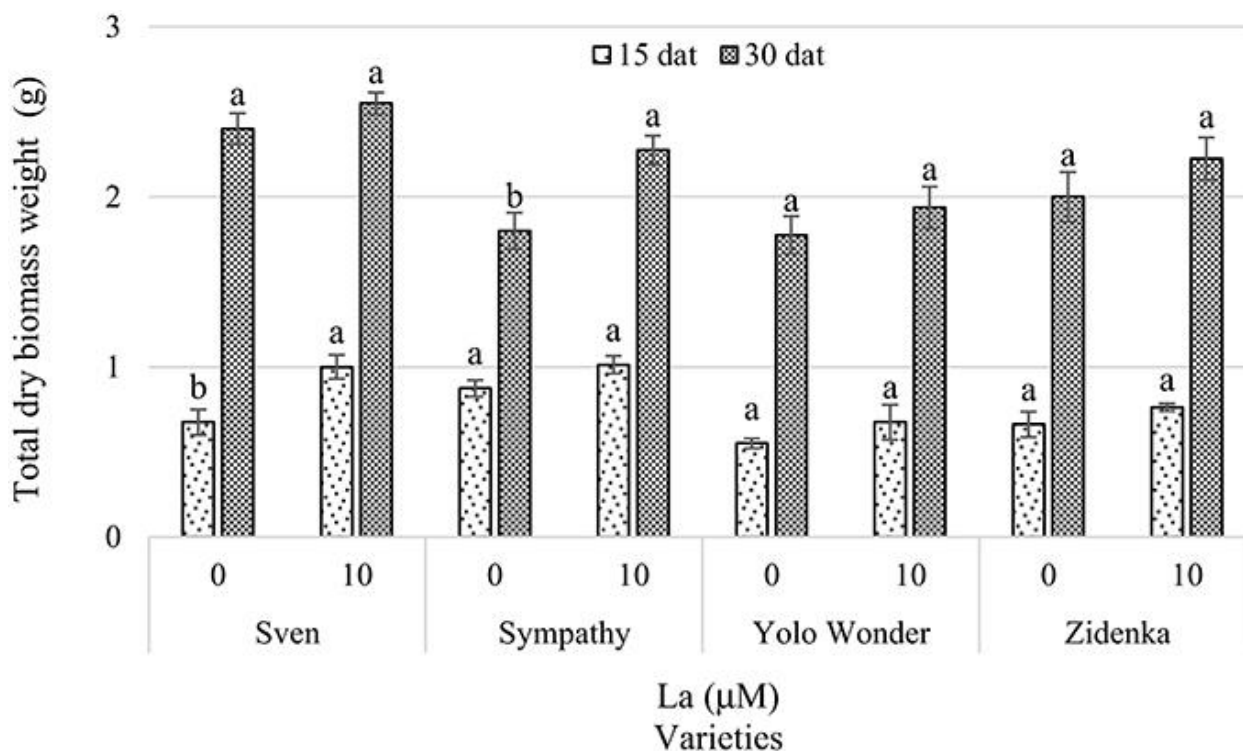


Figure 1.6. Total dry biomass weight of seedlings of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum (0 and 10 µM LaCl₃) in the nutrient solution.

Measurements were carried out 15 and 30 days after treatment (dat). Means ± SD in each time of measurement and in each variety with different letters indicate statistical differences (Tukey, $P \leq 0.05$). $P > F$ -values at 15 dat are 0.0197, 0.0984, 0.2872, and 0.2493; and at 30 dat are 0.2283, 0.0136, 0.3611, and 0.2282, for Sven, Sympathy, Yolo Wonder, and Zidenka varieties, respectively.

Table 1.2 shows the concentration of chlorophylls measured 15 and 30 dat. Fifteen days after treatment, concentrations of chlorophylls a, b and total significantly increased in all four varieties exposed to La. Importantly, in Yolo Wonder seedlings, concentrations of chlorophylls a, b and total were 120, 132, and 119% higher, respectively, in comparison to the control. Conversely, 30 dat we observed different responses. On one hand, Sven and Zidenka seedlings were not affected by La applications. On the other hand, in Sympathy and Yolo Wonder seedlings, La reduced the concentrations of chlorophyll a by 39.3 and 19.6%,

chlorophyll b by 53.5 and 13.1%, and total chlorophylls by 44.4 and 17.7%, respectively, in comparison to the control (Table 1.2).

Table 1.2. Chlorophylls concentration in leaves of four sweet bell pepper varieties as affected by varieties treated with La (0 and 10 μM LaCl_3) in the nutrient solution.

Variety	La (μM)	Chlorophyll a (mg g^{-1} FBW)	Chlorophyll b (mg g^{-1} FBW)	Chlorophyll total (mg g^{-1} FBW)
15 dat				
Sven	0	0.123 \pm 0.004b	0.045 \pm 0.001b	0.170 \pm 0.004b
Sven	10	0.210 \pm 0.006a	0.079 \pm 0.002a	0.293 \pm 0.006a
<i>Pr >F</i>		<0.0001	<0.0001	<0.0001
Sympathy	0	0.190 \pm 0.009b	0.070 \pm 0.001b	0.263 \pm 0.009b
Sympathy	10	0.295 \pm 0.011a	0.136 \pm 0.009a	0.435 \pm 0.008a
<i>Pr >F</i>		0.0004	0.0003	<0.0001
Yolo Wonder	0	0.059 \pm 0.002b	0.025 \pm 0.001b	0.086 \pm 0.002b
Yolo Wonder	10	0.130 \pm 0.004a	0.058 \pm 0.001a	0.189 \pm 0.004a
<i>Pr >F</i>		<0.0001	<0.0001	<0.0001
Zidenka	0	0.063 \pm 0.001b	0.023 \pm 0.001b	0.086 \pm 0.001b
Zidenka	10	0.129 \pm 0.003a	0.053 \pm 0.002a	0.184 \pm 0.003a
<i>Pr >F</i>		<0.0001	<0.0001	<0.0001
30 dat				
Sven	0	0.263 \pm 0.029a	0.154 \pm 0.002a	0.420 \pm 0.030a
Sven	10	0.242 \pm 0.032a	0.164 \pm 0.007a	0.409 \pm 0.039a
<i>Pr >F</i>		0.6464	0.2416	0.8256
Sympathy	0	0.191 \pm 0.018a	0.101 \pm 0.002a	0.295 \pm 0.016a
Sympathy	10	0.116 \pm 0.009b	0.047 \pm 0.001b	0.164 \pm 0.009b
<i>Pr >F</i>		0.0085	<0.0001	0.0005
Yolo Wonder	0	0.225 \pm 0.013a	0.099 \pm 0.002a	0.327 \pm 0.015a
Yolo Wonder	10	0.181 \pm 0.011b	0.086 \pm 0.002b	0.269 \pm 0.012b
<i>Pr >F</i>		0.0413	0.0015	0.0210
Zidenka	0	0.239 \pm 0.033a	0.160 \pm 0.006a	0.402 \pm 0.037a
Zidenka	10	0.285 \pm 0.011a	0.145 \pm 0.006a	0.433 \pm 0.017a
<i>Pr >F</i>		0.2375	0.1115	0.4706

Means \pm SD in each time of measurement (i.e., 15 and 30 dat) and in each variety with different letters indicate statistical differences (Tukey, $P \leq 0.05$). dat, days after treatment; FBW, Fresh Biomass Weight.

In measurements performed 15 dat, La application significantly enhanced total soluble sugars in Yolo Wonder, whereas Zidenka displayed a significant decrease in response to La (Figure 1.7). In the varieties Sven and Sympathy, La had no significant effects on total soluble sugar concentrations 15 dat, though 7 and 1% increases were observed in both varieties, respectively, in comparison to the control. Interestingly, a positive response to La was observed in all four varieties evaluated 30 dat. In this evaluation, the Sven, Sympathy, Yolo Wonder, and Zidenka varieties showed increases of 111, 25, 32, and 50%, respectively, compared to the corresponding controls (Figure 1.7).

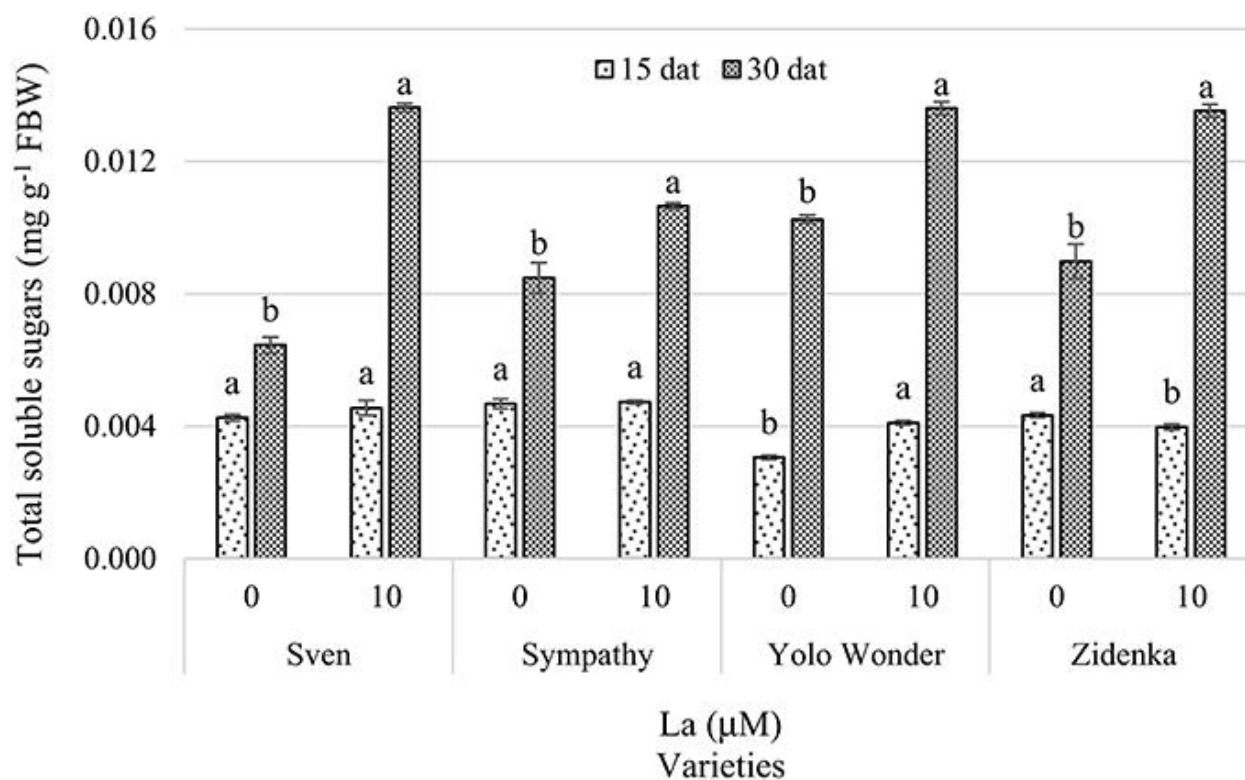


Figure 1.7. Total soluble sugars in leaves of seedlings of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum (0 and 10 μM LaCl₃) in the nutrient solution.

Measurements were carried out 15 and 30 days after treatment (dat). Means ± SD in each time of measurement and in each variety with different letters indicate statistical differences (Tukey, $P \leq 0.05$). $P > F$ -values at 15 dat are 0.2839, 0.7524, <0.0001, and 0.0217; and at 30 dat are <0.0001, 0.0037, <0.0001, and 0.0002, for Sven, Sympathy, Yolo Wonder, and Zidenka varieties, respectively. FBW, Fresh Biomass Weight.

The effects of La on the concentration of total amino acids were differential over time. Fifteen days after treatment, La exerted a negative effect on the Sven, Sympathy, and Zidenka varieties. The average reduction in this variable was 53%, compared to the control. By contrast, 30 dat in Sven, Sympathy, and Zidenka seedlings the application of La increased this variable, especially in Sven and Sympathy, with an ~71.8% increase compared to the control (Figure 1.8).

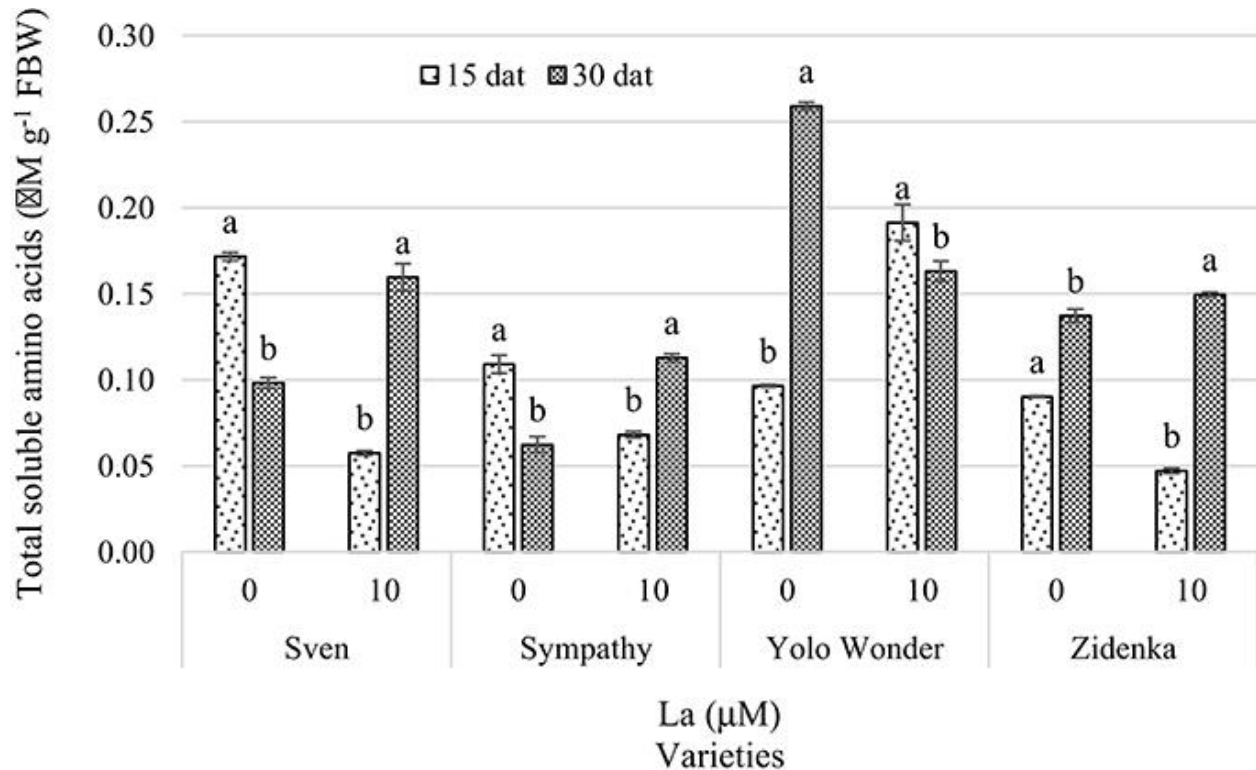


Figure 1.8. Total soluble amino acids in leaves of seedlings of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum (0 and 10 µM LaCl₃) in the nutrient solution.

Measurements were carried out 15 and 30 days after treatment (dat). Means ± SD in each time of measurement and in each variety with different letters indicate statistical differences (Tukey, $P \leq 0.05$). $P > F$ -values at 15 dat are <0.0001, 0.0003, 0.0001, and <0.0001; and at 30 dat are 0.0004, <0.0001, <0.0001, and 0.0226, for Sven, Sympathy, Yolo Wonder, and Zidenka varieties, respectively. FBW, Fresh Biomass Weight.

Fifteen days after treatment, the concentration of soluble proteins increased significantly in all La-treated varieties compared to the control. This trend was still evident in measurements made 30 dat in the Sven and Sympathy varieties. On the other hand, at 30 dat the Yolo Wonder and Zidenka varieties showed a significant reduction in the concentration of soluble proteins due to the effect of La, with 50.3 and 22.4% lower protein concentrations, respectively, as compared to the control (Figure 1.9).

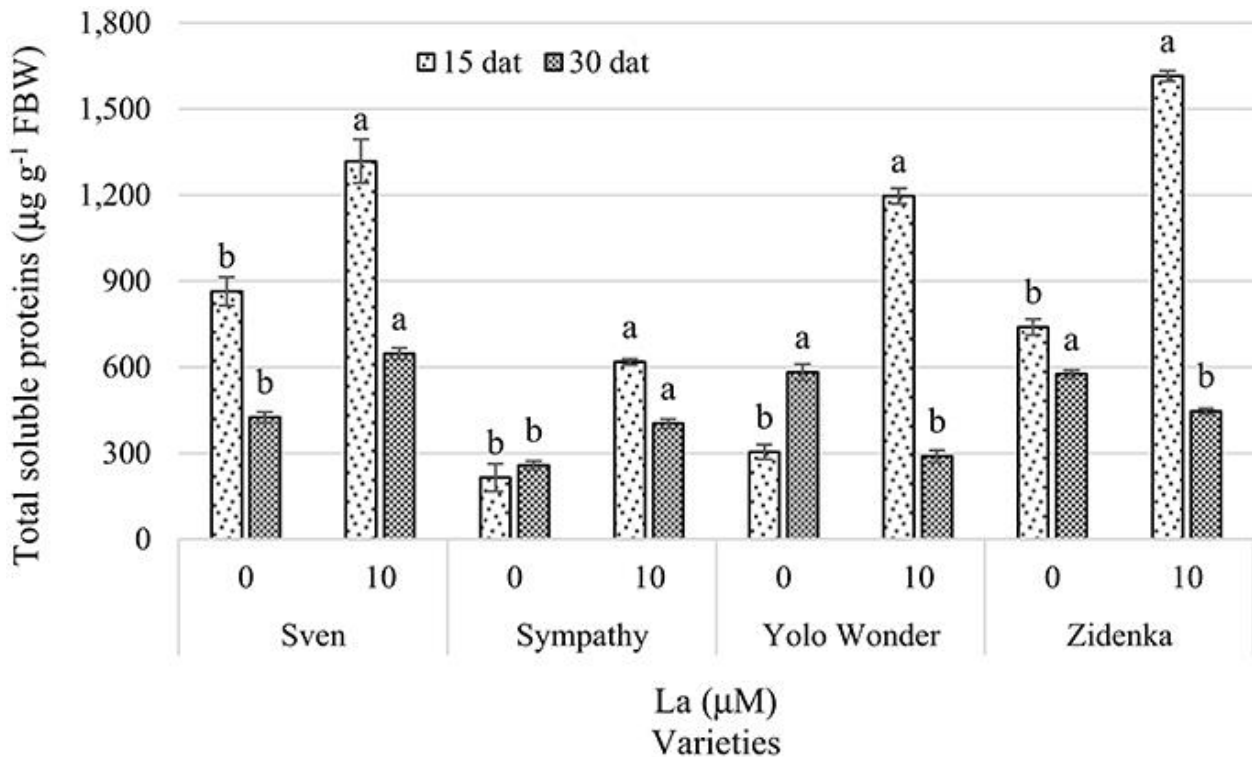


Figure 1.9. Total soluble proteins in leaves of seedlings of four sweet bell pepper varieties treated with lanthanum (0 and 10 µM LaCl₃) in the nutrient solution.

Measurements were carried out 15 and 30 days after treatment (dat). Means ± SD in each time of measurement and in each variety with different letters indicate statistical differences (Tukey, $P \leq 0.05$). $P > F$ -values at 15 dat are 0.0025, 0.0002, <0.0001, and <0.0001; and at 30 dat are 0.0002, 0.0006, 0.0002, and 0.0004, for Sven, Sympathy, Yolo Wonder, and Zidenka varieties, respectively. FBW, Fresh Biomass Weight.

1.5. Discussion

The group of REE consists of 17 elements, including lanthanum. These elements have been widely used in agriculture over the last 30 years and the largest REE producers are China, Russia, and Brazil (Pathan et al., 2013). These elements have not been characterized as essential to life, or as strongly toxic elements in the environment and their use at low concentrations can promote the growth and productivity of various crops (Tyler, 2004). Thus, La may potentially contribute to hormetic effects in various biological parameters in a dose-response manner (Wang et al., 2012a).

In this study we evaluated the effect of lanthanum on growth and biochemical variables in seedlings of four sweet bell pepper varieties, among which significant effects of La were found. The addition of 10 μM La to the nutrient solution positively affected plant height in three of the four varieties evaluated 15 and 30 dat (Figure 1.1). As well, stem diameter was significantly increased in three varieties exposed to La in the two samplings carried out 15 and 30 dat (Figure 1.2). The positive effect of La on plant growth has been reported in other species. For instance, He and Loh (2000) found that the addition of lanthanum nitrate to the growth medium triggered a striking increase in the length of primary roots of *Arabidopsis* during the vegetation stage. In rice (*Oryza sativa*), Zeng et al. (2006) found that supplying La^{3+} to a cambisol soil at 30–300 mg kg^{-1} increased plant height and the number of shoots during the vegetative stage. In mung bean, mungo (*Vigna mungo*), and maize, the application of 5–50 μM La in the nutrient solution enhanced the percentage of germination and increased root length and plant height (Chaturvedi et al., 2014). In tulip (*Tulipa gesneriana*) cv. Ile de France, diameter and length of flowers significantly increased with the supply of 10 μM of $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ (Ramírez-Martínez et al., 2009).

Lanthanum increased the number of flower buds in Sven, Yolo Wonder, and Zidenka varieties 30 dat (Table 1). Accordingly, He and Loh (2000) reported that applications of 0.5 μM La induced flowering in *Arabidopsis*. Subsequently, it was demonstrated that such induction was correlated with increased endogenous concentrations of cytokinins (i.e., isopentenyl adenosine; He and Loh, 2002), which are phytohormones regarded as important

components of floral stimuli in plants. These results indicate that La may have the potential to be developed as non-hormonal flowering promoting agents in certain plant species.

Under our experimental conditions, La did not affect the number of leaves, except in the variety Yolo Wonder. In this variety, La increased the number of leaves by two and four, 15 and 30 dat, respectively, in comparison to the control (Table 1.1). Coincidentally, only this variety showed a positive effect of La on leaf area 30 dat, since this component increased by 17.3% in La-treated plants in comparison to the control (Figure 1.3). Additionally, La did not affect leaf dry biomass weight in most varieties evaluated, with the exception of Sympathy 30 dat (Figure 1.4). Similarly, Xie et al. (2014) reported different growth responses to La in two varieties of tomato (i.e., 4641 and Yufen109). Therefore, it is assumed that La may exert different effects on plant growth depending on the genotype tested.

Although the presence of La in the nutrient solution reduced root biomass in all four pepper varieties evaluated 30 dat, this reduction was not significant (Figure 1.5). In wheat the addition of both La and Ce and their combination at concentrations between 0.5 and 25 mg L⁻¹ in the nutrient solution inhibited the length of the primary root and reduced root and shoot dry biomass (Hu et al., 2002). Conversely, Liu and Hasenstein (2005) found greater root growth in corn treated with La³⁺ due to the stabilization of the cytoskeleton caused by this element when entering the cell. In rice cv. Shengdao 16 seedlings, Liu et al. (2013) reported positive effects of La when applied at 0.05, 0.1, and 0.5 mmol L⁻¹, while by increasing these levels to 1.0 and 1.5 mmol L⁻¹ La³⁺, growth inhibition was observed 13 days after treatment. Furthermore, Zeng et al. (2006) found that the application of 30 mg La³⁺ kg⁻¹ of red soils (haplic acrisols) enhanced shoot biomass and yield, while the highest root weight was found with 150 mg La³⁺ kg⁻¹ of soil. In paddy soils (cambisols), no differences were observed regarding these variables by applying 0–300 mg La³⁺ kg⁻¹ of soil. However, in both types of soil a supply greater or equal to 600 mg kg⁻¹ La decreased rice growth and yield. In Rangpur lime (*Citrus limonia* Osbeck), adding 50 mg of LaCl₃ dissolved in 100 mL of water to each plant increased plant biomass and height, but higher concentrations inhibited growth (Turra et al., 2015). Xiong et al. (2006) found the longest root length in rapeseed (*Brassica napus*) plants when they were treated with 0.25 mg L⁻¹ La³⁺, while the dry matter was greater with 1 and 5 mg L⁻¹ La³⁺. In soybean, low La concentrations (i.e., 5–10 μM) stimulated the

photosynthetic rate and total chlorophyll content and led to a higher incidence of binucleate cells, resulting in a slight increase in root and shoot biomass. At higher La levels (>20 μM), soybean growth was reduced, as a consequence of ultrastructural modifications in the cell wall, thylakoids and chloroplasts, and the appearance of c-metaphases (de Oliveira et al., 2015). Indeed, La affects root growth, at least partially, by modulating ROS levels in roots to induce cell death in primary root tips and subsequent auxin redistribution in roots, leading to remodeling of the root system architecture (Liu et al., 2016). Thus, La may exert different modes of action not only among genotypes but also among the phenological phases and organs evaluated.

Beneficial effects of La on plant growth and biomass accumulation, when applied at low concentrations, may be attributed to the signal cascades it triggers, including an improved performance of PSII, a higher velocity of electron transport during photosynthesis, a higher accumulation of mineral nutrients in the chloroplast, an enhanced activity of ATPases, and higher photosynthetic rates (Hong et al., 2002; Hu et al., 2016a). Conversely, higher doses of La may unbalance cell homeostasis, by causing damage in the external membrane of the chloroplast, decreasing the concentrations of mineral nutrients in this organelle, especially those of P, Mg, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, and Mo, and disrupting chlorophyll biosynthesis. Altogether, such negative effects of high La concentrations may lead to a drastic reduction in photosynthesis, which in turn causes lower growth and negative impacts on plant performance in general (Hu et al., 2016b). In the common freshwater microalga *Desmodesmus quadricauda* subjected to Ca deficit, the addition of La partly alleviated the adverse condition of the macronutrient shortage, probably by a partial substitution of Ca by La. However, with Mg deprivation (and at even lower concentrations), La enhanced the deleterious effect on cellular growth and photosynthetic competence. Hence, La can replace essential elements such as Ca and Mg, but its effects on microalgae depend on the stress and the nutritional state of the organism, raising the possibility of environmental impacts at even low concentrations (Goecke et al., 2015).

With respect to the biomolecule concentrations in the leaves of the sweet bell pepper varieties under study, changes were observed over time (Table 1.2; Figures 1.7–1.9).

Chlorophylls are the predominant pigment in the photosynthetic process. It has been found that the higher their concentration, the better the rate of CO₂ sequestration and thus the higher the growth rate (Rathore and Jasrai, 2013). Under our experimental conditions, La significantly increased chlorophylls concentration in all four varieties evaluated 15 dat. On the contrary, 30 dat, the concentrations of such molecules was reduced or not affected by La (Table 2). According to Chaturvedi et al. (2014), the application of 5–50 µM La in mung bean, mungo, and maize increased the concentrations of chlorophylls a, b and total. This response is explained by the fact that La may substitute Mg²⁺ during the formation of chlorophyll molecules (Hong et al., 2002; Goecke et al., 2015) and therefore more atoms for the formation of the chlorophyll molecule could be available in the growth medium. Furthermore, La may change the morphology of the external membrane of the chloroplast, which improves the structure of the organelle and leads to a higher concentration of functional nutrients such as N in the chloroplast (Hu et al., 2016b). Importantly, N is also a key component in the structure of the chlorophyll molecule. In our study, a slight reduction of chlorophyll a concentration was observed in the variety Sven 30 dat in response to La addition, with a concomitant reduction in the chlorophyll a/b ratio. Nevertheless, this reduction was not statistically significant (Table 1.2). A reduction in the chlorophyll a/b ratio associated with the treatment with high La concentrations in rice may be a response to stress, since the La concentrations $\geq 600 \text{ mg kg}^{-1}$ dry soil increased membrane permeability, proline content and POD activity, all of which are indicators of physiological stress (Zeng et al., 2006). In the green alga *Desmodesmus quadricauda*, the application of 10 µM LaCl₃ enhanced growth by as much as 36% compared to the control, the photosynthetic rate increased by up to 300%, and the total chlorophyll concentration also rose, especially because of a significant increase in chlorophyll b concentration (Řezanka et al., 2016). Nevertheless, the ratio of chlorophyll a/b in the fern *Dicranopteris dichotoma* decreased with increasing content of La in the soil (Wang et al., 2005), which suggests a negative impact of La on plant metabolism and, therefore, a stress signal triggered by this lanthanide.

Plants are integrated systems of photosynthetic carbon sources and non-photosynthetic carbon-consuming sinks, so the increase in the concentration of sugars in leaves represents the source that supplies the requirements for the shoot and roots, supporting vital processes such as growth, development, and reproduction (McCormick et al., 2009). Leaves are the

major photosynthetic sources, with chlorophylls playing a pivotal role during energy absorption from light. Such energy is ultimately used to reduce CO₂ into sugars (i.e., sucrose) during photosynthesis. Sucrose is the main photo-assimilate translocated from source to sinks, via phloem tissues. Our results do not show a direct correlation between chlorophylls and soluble sugars concentrations in leaves. For instance, while chlorophyll concentrations increased 15 dat in La-treated seedlings, sugar concentrations remained unchanged. Conversely, chlorophyll concentrations were unchanged or showed a decrease in response to La 30 dat, whereas total soluble sugars significantly increased (Table 1.2; Figure 1.7). Photosynthesis and source-to-sink transport of sugars are significantly regulated by environmental factors, including mineral deficiencies, and soil pollutants (Lemoine et al., 2013). Furthermore, source and sink can communicate interactively and exert mutual influences on each other (Bobeica et al., 2015). For instance, when the source-to-sink ratio is reduced, the leaves (source) can increase leaf efficiency toward a compensation of their photosynthetic rate to meet the demand of fruit development (sink; Petrie et al., 2003; Kliewer and Dokoozlian, 2005). Bobeica et al. (2015) observed that source limited plants increased their net CO₂ exchange rate per unit of leaf area compared to source sufficient plants, which may also influence leaf chlorophyll contents. Moreover, the amount of sucrose available for export from source leaves depends on key factors such as CO₂ fixation, partitioning between starch synthesis in the chloroplast and triose-phosphates exported from the chloroplast for sucrose synthesis, and transient storage of sucrose in the vacuole. If one of these factors is modified, the amount of sucrose available for export is affected and therefore source/sink relationships can be altered (Lemoine et al., 2013). Hence, the increase in sugar concentration in source leaves despite the reduced chlorophyll concentration observed 30 dat could result from a possible phloem transport decrease. Altogether, those results may consistently explain the responses we observed herein.

The higher foliar protein concentration in treatments with La³⁺ especially observed 15 dat in all four varieties evaluated (Figure 1.9) may be associated with an acceleration of the transformation of inorganic N to organic forms, such as proteins (Pang et al., 2002). Indeed, He et al. (2005) demonstrated that La³⁺ itself may enhance the mRNA and protein accumulation in lettuce, though the exact mechanisms of such enhancement triggered by La still remain unclear. The evident increase in protein concentration in La-treated seedlings 15

dat was negatively correlated with the concentration of amino acids during the same time of measurement in most varieties evaluated (Figure 1.8). Similarly, in soybean seedlings (10-day old), Huang et al. (2013) observed that La led to a 10.39% amino acid decrease, while the content of soluble proteins was increased by 12.93%, compared with those of the control. This response might be attributable to the feedback adjustment of reaction production (glutamine) in the glutamine synthetase (GS)/glutamate synthase (GOGAT) cycle (Mo et al., 2001). Nevertheless, 30 dat, La stimulated the amino acid concentration in three of the four varieties evaluated, while the concentration of proteins was increased in only two of the four varieties exposed to La, which may suggest a possible stress signal induced by La because of the time of exposure and the advanced age of the plants. Indeed, Kawano et al. (2002) found that La may trigger oxidative stress in a time- and dose-dependent manner in tobacco (*Nicotiana tabacum*) BY-2 cells, which is a typical effect of REE inducing hormetic dose-responses in plants. Accordingly, Wang et al. (2012b) reported that La at low concentrations (i.e., 2–8 μM LaCl_3) promoted antioxidation against Cd stress in soybean seedlings, whereas at high concentrations (i.e., 30–480 μM LaCl_3) it resulted in prooxidant effects, implying potential ecological risk. Moreover, Fashui et al. (2000, 2005) found that increasing the synthesis of ROS decreases the protein concentration. Since La may trigger both antioxidant and prooxidant effects depending on the time and concentration to which cells are exposed to it, this REE may modify plant metabolism, including amino acids and protein biosynthesis and turnover. Moreover, La influences N metabolism in soybean seedlings, since pretreatment with the La concentration considered optimal (20 mg L^{-1}) increased the activity of the enzymes nitrate reductase (NR), GS, GOGAT, and glutamate dehydrogenase (GDH), and decreased the accumulation of nitrate and ammonium (Cao et al., 2007). This means that there was an efficient transformation of inorganic N into proteins promoted by the addition of La (Pang et al., 2002). Also, by adding La^{3+} (0.01, 0.1, 1, 10, and 100 mg L^{-1}) to the culture medium to evaluate the development of purple coneflower (*Echinacea angustifolia*) calluses, a positive relationship between growth and soluble protein content was found, with the highest protein content being obtained with the La^{3+} dose of 0.1 mg L^{-1} (Ma et al., 2010).

Our results confirm that the application of a 10 μM La concentration in the nutrient solution, particularly during the first 15 d, increases the quality of sweet bell pepper seedlings. Seedling height, stem diameter, as well as concentrations of total soluble proteins and

chlorophylls a, b and total were all increased in response to La in most if not all varieties evaluated, during our first measurements (i.e., 15 dat). On the other hand, means of plant height, stem diameter, and concentrations of total soluble sugars, soluble amino acids and proteins were in general improved in La-treated seedlings 30 dat. Since the initial growth stage in sweet bell pepper seedlings is the most critical phase for the commercial production of seedlings and fruits (De Grazia et al., 2004), La may play a pivotal role in horticulture. In terms of the stimulation of biomolecule synthesis in La-treated seedlings, it is worth noting that carbohydrate content determines the post-transplant growth rate, and stimulates plant height. Consequently, the enhanced plant height observed with the supply of La also results in increased sweet bell pepper seedling quality (Dufault, 1998). Importantly, La enhanced the number of bud flowers, which may have a great impact on pepper productivity during the reproductive stage employing La as a biostimulant. A biostimulant is by definition “a beneficial substance or compound other than primary, secondary, and micro plant nutrients that can be demonstrated by scientific research to be beneficial to one or more species of plants, when applied exogenously” (www.biostimulantcoalition.org; Colla and Rouphael, 2015). This means that La may trigger adaptive responses, including the boost of physiological, biochemical and molecular mechanisms that helps plants to overcome stresses or improve their performance under optimal conditions. It has been recognized that exposure of plants to a particular stress or stimulus may provide resistance to a stress of another kind or improve plant productive attributes (Puttonen, 1985, 1989), which may be the case in our study. In fact, La may change flavonoid synthesis in soybean seedlings under enhanced UV-B radiation by regulating the activities of phenylalanine ammonia-lyase (PAL), cinnamate-4-hydroxylase (C4H), 4-coumarate:coenzyme A ligase (4CL), and chalcone synthase (CHS), which is an enzymological mechanism governing the effect of La on flavonoid synthesis in plants under enhanced UV-B radiation (Fan et al., 2014).

Altogether, these beneficial effects may be explained, at least partially, by the fact that low doses of La can promote the cell membrane's transportation of nutrients (Zheng et al., 2002; Li et al., 2008). At the same time, plant cells may transport more nutrients that are used to maintain normal cell growth. Thus, as the intracellular nutrient elements' contents increase, both transcriptional and translational levels of molecules (i.e., genes and the corresponding encoded enzymes) involved in nutrient uptake and transport rise too (Xia et al., 2017), which

is consistent with our experimental results in terms of total soluble proteins measured (Figure 8). We are currently investigating the impact of La on the nutrient status of these seedlings.

1.6. Conclusions

The addition of 10 μ M La in the nutrient solution increased plant height, stem diameter, and number of flower buds in most sweet pepper varieties evaluated. The beneficial effects of La were different, depending on the time of measurement (i.e., 15 or 30 dat) and varieties tested. Furthermore, the La treatment enhanced the concentration of biomolecules such as chlorophylls (15 dat), total soluble sugars (30 dat), total soluble amino acids (especially 30 dat), and total soluble proteins in leaves (30 dat) in most if not all varieties evaluated. Thus, La may improve quality parameters of sweet bell pepper seedlings. Since La may trigger hormesis, a dose-response phenomenon characterized by low-dose stimulation and high-dose inhibition, the possible impact of dosages and time of application on the whole metabolism of sweet bell pepper still remains at issue. In terms of horticulture, further research is required to find the right method of application (i.e., hydroponic solution, foliar spray, nanofertilizers, etc.), source, rate and phenological stage of La application for different pepper genotypes. In conclusion, La can provide outright stimulation to pepper and other crop species that might not occur with other beneficial elements. Hence, La is emerging as a potential biostimulator for agricultural purposes, since it can induce desirable plant responses in a hormetic manner. It is expected that the improvement in the quality of La-containing products and the advancement of the understanding of the biological mechanisms underlying the beneficial effects observed, would make the employment of La as biostimulant really beneficial in the near future.

Taking into consideration global trends and the challenges to sustainable development, special attention must be paid to an increasing population demanding more food and the negative impacts of climate change and deterioration of natural resources crucial for agriculture and food security. Deep understanding of the physiological, biochemical, and molecular mechanisms triggered by La as a beneficial element in this and other plants species under stress conditions may be a possible area of further study. Its potential role as a signaling mediator in response to environmental stimuli and stress factors could be of crucial

significance for plants, providing the cell with spatial and transient information to perform better under challenging environmental conditions, or simply to improve plant production and productivity. The discovery and description of the molecular bases of such relationships would be a noteworthy contribution to the field of plant production. The aforementioned global challenges clearly justify further research on rare earth elements such as lanthanum.

1.7. References

- Bobeica, N., Poni, S., Hilbert, G., Renaud, C., Gomès, E., Delrot, S., et al. (2015). Differential responses of sugar, organic acids and anthocyanins to source-sink modulation in Cabernet Sauvignon and Sangiovese grapevines. *Front. Plant Sci.* 6:382. doi: 10.3389/fpls.2015.00382
- Cao, R., Huang, X. H., Zhou, Q., and Cheng, X. Y. (2007). Effects of lanthanum (III) on nitrogen of soybean seedlings under elevated UV-B radiation. *J. Environ. Sci.* 19, 1361–1366. doi: 10.1016/S1001-0742(07)60222-8
- Chaturvedi, N., Gannavarapu, R., and Dhal, N. K. (2014). Effect of Lanthanum on the growth and physiological activities of *Zea mays*, *Vigna radiata* and *Vigna mungo*. *Intal. J. Environ. Sci.* 4, 653–659. doi: 10.6088/ijes.2014040404505
- Colla, G., and Rouphael, Y. (2015). Biostimulants in horticulture. *Sci. Hortic.* 196, 1–2. doi: 10.1016/j.scienta.2015.10.044
- De Grazia, J., Tittonell, P. A., and Chiesa, A. (2004). Growth and quality of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings as affected by substrate properties and irrigation frequency. *Adv. Hortic. Sci.* 18, 181–187. Available online at: <http://www.jstor.org/stable/42883386>
- de Oliveira, C., Ramos, S. J., Siqueira, J. O., Faquin, V., de Castro, E. M., Amaral, D. C., et al. (2015). Bioaccumulation and effects of lanthanum on growth and mitotic index in soybean plants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 122, 136–144. doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.07.020

- Diatloff, E., Smith, F. W., and Asher, C. J. (2008). Effects of lanthanum and Cerium on the growth and mineral nutrition of corn and mungbean. *Ann. Bot.* 101, 971–982. doi: 10.1093/aob/mcn021
- Dufault, R. J. (1998). Vegetable transplant nutrition. *HortTechnology* 8, 515–523.
- Fan, C., Hu, H., Wang, L., Zhou, Q., and Huang, X. (2014). Enzymological mechanism for the regulation of lanthanum chloride on flavonoid synthesis of soybean seedlings under enhanced ultraviolet-B radiation. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 8792–8800. doi: 10.1007/s11356-014-2815-x
- Fashui, H., Weiping, S., Zhigang, W., Mingliang, Y., Jia, Y., Jiajia, L., et al. (2005). Effect of La(III) on the growth and aging of root of loquat plantlet in vitro. *Biol. Trace Elem. Res.* 104, 185–191. doi: 10.1385/BTER:104:2:185
- Fashui, H., Zhenggui, W., and Guiwen, Z. (2000). Effect of lanthanum on aged seed germination of rice. *Biol. Trace Elem. Res.* 75, 205–213. doi: 10.1385/BTER:75:1-3:205
- Geiger, M., Walch-liu, P., Engels, C., Harnecker, J., Schulze, E. D., Ludewing, F., et al. (1998). Enhanced carbon dioxide leads to a modified diurnal rhythm of nitrate reductase activity and higher levels of amino acids in young tobacco plants. *Plant Cell Environ.* 21, 253–268. doi: 10.1046/j.1365-3040.1998.00277.x
- Goecke, F., Jerez, C. G., Zachhleder, V., Figueroa, F. L., Bišova, K., Řezanka, T., and Vítová, M. (2015). Use of lanthanides to alleviate the effects of metal ion-deficiency in *Desmodesmus quadricauda* (Sphaeropleales, Chlorophyta). *Front. Microbiol.* 6:2. doi: 10.3389/fmicb.2015.00002
- Harborne, J. B. (1973). “Chlorophyll extraction,” in *Phytochemical Methods. Recommended Technique*, ed J. B. Harborne (London: Chapman and Hall), 205–207.
- He, Y., and Loh, C. (2000). Cerium and lanthanum promote floral initiation and reproductive growth of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci.* 159, 117–124. doi: 10.1016/S0168-9452(00)00338-1

- He, Y. W., and Loh, C. S. (2002). Induction of early bolting in *Arabidopsis thaliana* by triacontanol, cerium and lanthanum is correlated with increased endogenous concentration of isopentenyl adenosine (iPA_{dos}). *J. Exp. Bot.* 53, 505–512. doi: 10.1093/jexbot/53.368.505
- He, Z., Li, J., Zhang, H., and Ma, M. (2005). Different effects of calcium and lanthanum on the expression of Phytochelatin synthase gene and cadmium absorption in *Lactuca sativa*. *Plant Sci.* 168, 309–318. doi: 10.1016/j.plantsci.2004.07.001
- Höfner, R., Vázquez-Moreno, L., Abou-Mandour, A. A., Bohnert, J. H., and Schmitt, J. (1989). Two isoforms of phosphoenolpyruvate carboxylase in the facultative CAM plant *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant Physiol. Biochem.* 27, 803–810.
- Hong, F., Wei, Z., and Zhao, G. (2002). Mechanism of lanthanum effect on chlorophyll of spinach. *Sci. China C Life Sci.* 45, 166–176. doi: 10.1360/02yc9019
- Hu, H., Wang, L., Li, Y., Sun, J., and Zhou, Q. (2016a). Insight into mechanism of lanthanum (III) induced damage to plant photosynthesis. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 127, 43–50. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.01.008
- Hu, H., Wang, L., Zhou, Q., and Huang, X. (2016b). Combined effects of simulated acid rain and lanthanum chloride on chloroplast structure and functional elements in rice. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 8902–8916. doi: 10.1007/s11356-015-5962-9
- Hu, N., Sui, Y., Cai, Y., Fan, H., and Lin, Y. (2014). Effects of lanthanum on POD expression and DNA methylation of purple pepper under salt stress. *J. Rare Earth.* 32, 467–475. doi: 10.1016/S1002-0721(14)60095-8
- Hu, X., Ding, Z., Chen, Y., Wang, X., and Dai, L. (2002). Bioaccumulation of lanthanum and cerium and their effects on the growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Chemosphere* 48, 621–629. doi: 10.1016/S0045-6535(02)00109-1
- Hu, Z., Richter, H., Sparovek, G., and Schnug, E. (2004). Physiological and biochemical effects of rare earth elements on plants and their agricultural significance: a review. *J. Plant Nutr.* 27, 183–220. doi: 10.1081/PLN-120027555

- Huang, G., Wang, L., and Zhou, Q. (2013). Lanthanum (III) regulates the nitrogen assimilation in soybean seedlings under ultraviolet-B radiation. *Biol. Trace Elem. Res.* 151, 105–112. doi: 10.1007/s12011-012-9528-0
- Huang, X., and Zhou, Q. (2006). Alleviation effect of lanthanum on cadmium stress in seedling hydroponic culture of kidney bean and corn. *J. Rare Earth.* 24, 248–252. doi: 10.1016/S1002-0721(06)60103-8
- Kawano, T., Kawano, N., Muto, M., and Lapeyrie, F. (2002). Retardation and inhibition of the cation-induced superoxide generation in BY-2 tobacco cell suspension culture by Zn^{2+} and Mn^{2+} . *Physiol. Plant.* 114, 395–404. doi: 10.1034/j.1399-3054.2002.1140309.x
- Kinraide, T. B. (1998). Three mechanisms for the calcium alleviation of mineral toxicities. *Plant. Physiol.* 118, 513–520. doi: 10.1104/pp.118.2.513
- Kliewer, W. M., and Dokoozlian, N. K. (2005). Leaf area/crop weight ratios of grapevines: influence on fruit composition and wine quality. *Am. J. Enol. Vitic.* 56, 170–181.
- Lemoine, R., La Camera, S., Atanassova, R., Dédalcéchamp, F., Allario, T., Pourtau, N., et al. (2013). Source-to-sink transport of sugar and regulation by environmental factors. *Front. Plant Sci.* 4:272. doi: 10.3389/fpls.2013.00272
- Li, Z., Zhang, Z., Jiang, W., Yu, M., Zhou, Y., Zhao, Y., et al. (2008). Direct measurement of lanthanum uptake and distribution in internodal cells of *Chara*. *Plant Sci.* 174, 496–501. doi: 10.1016/j.plantsci.2008.01.013
- Liu, D., Wang, X., Zhang, X., and Gao, Z. (2013). Effects of lanthanum on growth and accumulation in roots of rice seedlings. *Plant Soil Environ.* 59, 196–200.
- Liu, M., and Hasenstein, K. H. (2005). La^{3+} uptake and its effect on the cytoskeleton in root protoplasts of *Zea mays* L. *Planta* 220, 658–666. doi: 10.1007/s00425-004-1379-2

- Liu, Y. Y., Wang, R. L., Zhang, P., Sun, L. L., and Xu, J. (2016). Involvement of reactive oxygen species in lanthanum-induced inhibition of primary root growth. *J. Exp. Bot.* 67, 6149–6159. doi: 10.1093/jxb/erw379
- Lu, M., Jiang, F., and Song, X. (2002). Assessing indices of container seedling quality. *Chin. J. Appl. Ecol.* 13, 763–765.
- Ma, L., Zhao, J., Wu, H., Yuan, X., and Hou, D. (2010). Effects of rare earth elements on callus growth, soluble protein content, peroxidase activity and shoot differentiation of *Echinacea angustifolia* cultures in vitro. *J. Afr. Biotechnol.* 9, 2333–2341. doi: 10.5897/AJB2010.000-3039
- McCormick, A. J., Watt, D. A., and Cramer, M. D. (2009). Supply and demand: sink regulation of sugar accumulation in sugarcane. *J. Exp. Bot.* 60, 357–364. doi: 10.1093/jxb/ern310
- Mo, L. y., Wu, L. h., and Tao, Q. n. (2001). Research advances on GS/ GOGAT cycle in higher plants. *Plant Nutr. Fertil. Sci.* 7, 223–231. doi: 10.11674/zwyf.2001.0218
- Moore, S., and Stein, W. H. (1954). A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. *J. Biol. Chem.* 211, 893–906.
- Pang, X., Wang, D. H., Xing, X. Y., Peng, A., Zhang, F. S., and Li, C. J. (2002). Effect of La³⁺ on the activities of antioxidant enzymes in wheat seedlings under lead stress in solution culture. *Chemosphere* 47, 1033–1039. doi: 10.1016/S0045-6535(02)00022-X
- Pathan, A., Schilli, A., Johansson, J., Vehviläinen, I., Larsson, A., and Hutter, A. (2013). Tracking Environmental Impacts in Global Product Chains – Rare Earth Metals and Other Critical Metals Used in the Cleantech Industry. Copenhagen: Nordic Council of Ministers.
- Petrie, P. R., Trought, M. C. T., Howell, G. S., and Buchan, G. D. (2003). The effect of leaf removal and canopy height on whole-vine gas exchange and fruit development of

- Vitis vinifera* L. Sauvignon blanc. *Funct. Plant Biol.* 30, 711–717. doi: 10.1071/FP02188
- Puttonen, P. (1985). “Assessment of seedling vigor attributes: outline for integration,” in *Proceedings of the International Symposium on Nursery Management Practices for the Southern Pines*, ed. D. B. South (Auburn, GA: School of Forestry and Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University), 565–576.
- Puttonen, P. (1989). Criteria for using seedling performance potential tests. *New Forests* 3, 67–87. doi: 10.1007/BF00128902
- Ramírez-Martínez, M., Gómez-Merino, F. C., Trejo-Téllez, L. I., Hernández, I., Osorio, B., Castillo, A. M., et al. (2009). Effect of lanthane on quality of tulip flower “Ile de France”. *Acta Hortic.* 847, 295–300. doi: 10.17660/ActaHortic.2009.847.39
- Ramírez-Martínez, M., Trejo-Téllez, L. I., Gómez-Merino, F. C., Castillo-González, A. M., Hernández-Ríos, I., and Hernández-Acosta, E. (2012). Bioaccumulation of potassium, calcium and lanthanum in tulip treated with lanthanum. *Terra Latin.* 30, 229–238. Available online at: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57325509008>
- Rathore, A., and Jasrai, Y. T. (2013). Growth and chlorophyll levels of selected plants with varying photosynthetic pathways (C3, C4 and CAM). *Int. J. Sci. Eng. Res.* 4, 1–4. Available online at: <http://www.ijser.org/researchpaper/Growth-and-chlorophyll-levels-of-selected-plants-with-varying-photosynthetic-pathways-C3-C4-and-CAM.pdf>
- Resh, H. M. (2012). “Plant culture,” in *Hydroponic Food Production: A Definitive Guidebook for the Advanced Home Gardener and the Commercial Hydroponic Grower*, ed H. M. Resh (Boca Raton, FL: CRC Press), 387–474.
- Řezanka, T., Kaineder, K., Mezricky, D., Řezanka, M., Bišova, K., Zachleder, V., et al. (2016). The effect of lanthanides on photosynthesis, growth, and chlorophyll profile of the green alga *Desmodesmus quadricauda*. *Photosynth. Res.* 130, 335–346. doi: 10.1007/s11120-016-0263-9

- Ritchie, G. A. (1984). "Assessing seedling quality," in *Forest Nursery Manual: Production of Bareroot Seedlings*, eds M. L. Duryea and T. D. Landis (The Hague: Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers), 243–259.
- SAS (2011). *SAS/STAT Users Guide. Version 9.3*. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Shi, P., Huang, Z., and Chen, G. (2006). Influence of lanthanum on the accumulation of trace elements in chloroplasts of cucumber seedling leaves. *Biol. Trace Elem. Res.* 2, 181–188. doi: 10.1385/BTER:109:2:181
- Southgate, D. A. (1976). *Determination of Food Carbohydrates*. London: Applied Science Publishers.
- Steiner, A. A. (1984). "The universal nutrient solution," in *Proceedings International Society for Soilless Culture, Sixth International Congress on Soilless Culture*, ed. M. G. Urrestarazu (Lunten: ISSC), 633–650.
- Steiner, A. A., and van Winden, H. (1970). Recipe for ferric salts of ethylenediaminetetraacetic acid. *Plant Physiol.* 46, 862–863. doi: 10.1104/pp.46.6.862
- Trejo-Téllez, L. I., Gómez-Merino, F. C., and Alcántar-González, G. (2016). "Elementos benéficos: potencialidades y limitantes," in *Nutrición de Cultivos*, eds G. Alcántar, L. I. Trejo-Téllez, and F. C. Gómez-Merino (Mexico City: Colegio de Postgraduados), 59–101.
- Turra, C., De Nadai, F. E. A., Arruda, B. M., Sarriés, G. A., Barbosa, J. F., Teixeira, C. A. L., et al. (2015). Effects of lanthanum on citrus plant. *Int. J. New Technol. Res.* 1, 48–50. Available online at: https://www.ijnr.org/download_data/IJNTR01070026.pdf
- Tyler, G. (2004). Rare earth elements in soil and plant systems. A review. *Plant Soil* 267, 191–206. doi: 10.1007/s11104-005-4888-2

- Vidigal, D. S., Dias, D. C. F. S., Dias, L. A. S., and Finger, F. L. (2011). Changes in seed quality during fruit maturation of sweet pepper. *Sci. Agric.* 68, 535–539. doi: 10.1590/S0103-90162011000500004
- Von Tucher, S., and Schmidhalter, U. (2005). Lanthanum uptake from soil and nutrient solution and its effects on plant growth. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 168, 574–580. doi: 10.1002/jpln.200520506
- Wang, C. R., Xiao, J. J., Tian, Y., Bao, X., Liu, L., Yu, Y., et al. (2012b). Antioxidant and prooxidant effects of lanthanum ions on *Vicia faba* L. seedlings under cadmium stress, suggesting ecological risk. *Environ. Toxicol. Chem.* 31, 1355–1362. doi: 10.1002/etc.1816
- Wang, C., Shi, C., Liu, L., Wang, C., and Qiao, W. (2012a). Lanthanum element induced imbalance of mineral nutrients, HSP 70 production and DNA-protein crosslink, leading to hermetic response of cell cycle progression in root tips of *Vicia faba* L. seedlings. *Dose-Response* 10, 96–107. doi: 10.2203/dose-response.11-041.Wang
- Wang, L., Cheng, M., Chu, Y., Li, X., Chen, D. D. Y., Huang, X., et al. (2016). Responses of plant calmodulin to endocytosis induced by rare earth elements. *Chemosphere* 154, 408–415. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.03.106
- Wang, L.-F., Ji, H.-B., Bai, K.-Z., Li, L.-B., and Kuang, T.-Y. (2005). Photosynthetic characterization of the plant *Dicranopteris dichotoma* Bernh. in a rare earth elements mine. *J. Integr. Plant Biol.* 47, 1092–1100. doi: 10.1111/j.1744-7909.2005.00138.x
- Wang, L., Li, J., Zhou, Q., Yang, G., Ding, X. L., Li, X., et al. (2014). Rare earth elements activate endocytosis in plant cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, 12936–12941. doi: 10.1073/pnas.1413376111
- Xia, B., Sun, Z., Wang, L., Zhou, Q., and Huang, X. (2017). Analysis of the combined effects of lanthanum and acid rain, and their mechanisms, on nitrate reductase transcription in plants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 138, 170–178. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.12.034

- Xie, W., Xiong, S., Xu, W., Chen, R., Zhang, J., and Xiong, Z. (2014). Effect of exogenous lanthanum on accumulation of cadmium and its chemical form in tomatoes. *Wuhan Univ. J. Nat. Sci.* 19, 221–228. doi: 10.1007/s11859-014-1005-5
- Xiong, L. S., Xiong, T. Z., Chen, C. Y., and Huang, H. (2006). Interactive effects of lanthanum and cadmium on plant growth and mineral element uptake in crisped-leaf mustard under hydroponic conditions. *J. Plant Nutr.* 29, 1889–1902. doi: 10.1080/01904160600899485
- Yang, Q., Wang, L., He, J., Li, X., Tong, W., Yang, Z., et al. (2016). Vitronectin-like protein is a first line of defense against lanthanum (III) stress in Arabidopsis leaf cells. *Environ. Exper. Bot.* 130, 86–94. doi: 10.1016/j.envexpbot.2016.05.011
- Zeng, F., An, Y., Ren, L., Deng, R., and Zhang, M. (2000). Effects of lanthanum and calcium on photoelectron transport activity and the related protein complexes in chloroplast of cucumber leaves. *Biol. Trace Elem. Res.* 77, 83–91. doi: 10.1385/BTER:77:1:83
- Zeng, Q., Zhu, J. G., Cheng, H. L., Xie, Z. B., and Chu, H. Y. (2006). Phytotoxicity of lanthanum in rice in haplic acrisols and cambisols. *Ecotox. Environ. Saf.* 64, 226–233. doi: 10.1016/j.ecoenv.2005.03.016
- Zhang, C., Li, Q., Zhang, M., Zhang, N., and Minhui, L. (2013). Effects of rare earth elements on growth and metabolism of medicinal plants. *Acta Pharmaceut. Sin. B* 3, 20–24. doi: 10.1016/j.apsb.2012.12.005
- Zheng, H. L., Zhang, C. G., Zhao, Z. Q., Ma, J. H., and Huang, X. J. (2002). Effects of lanthanum chloride on activity of redox system in plasma membrane of rice seedling roots. *J. Rare Earth.* 20, 156–157. Available online at: https://www.researchgate.net/profile/Hai-Lei_Zheng/publication/32235728_Effects_of_Lanthanum_Chloride_on_Activity_of_Redox_System_in_Plasma_Membrane_of_Rice_Seedling_Roots/links/55b754d508ae9289a08be08f.pdf

CAPÍTULO 2. VANADIUM STIMULATES PEPPER PLANT GROWTH AND FLOWERING, INCREASES CONCENTRATIONS OF AMINO ACIDS, SUGARS AND CHLOROPHYLLS, AND MODIFIES NUTRIENT CONCENTRATIONS

2.1. Abstract

Vanadium (V) can be absorbed by plants and regulate their growth and development, although contrasting effects have been reported among species and handling conditions. The objective of this work was to evaluate the beneficial effect of V on pepper plants (*Capsicum annuum* L.). The plants were grown in a hydroponic system with the application of four V concentrations (0, 5, 10, and 15 μM NH_4VO_3). Four weeks after the beginning of the treatments, growth, flowering, biomass, chlorophyll concentration, total amino acids, total soluble sugars, and nutrients were determined in leaves, stems, and roots. The application of 5 μM V increased plant growth, induced flower bud development, and accelerated flowering. The chlorophyll concentration varied according to the type of tissue analyzed. The concentrations of amino acids and sugars in leaves and roots were higher with 5 μM . With 10 and 15 μM V, the plants were smaller and showed toxicity symptoms. The K concentration in leaves decreased as the V dose increased (0 to 15 μM). However, 5 μM V increased the concentrations of N, P, K, Ca, Mg, Cu, Mn, and B, exclusively in stems. The application of 15 μM V decreased the concentrations of Mg and Mn in leaves, but increased those of P, Ca, Mg, Cu, and B in roots. We conclude that V has positive effects on pepper growth and development, as well as on the concentrations of amino acids and total sugars. V was antagonistic with K, Mg, and Mn in leaves, while in stems and roots, there was synergism with macro and micronutrients. Vanadium is a beneficial element with the potential to be used in biostimulation approaches of crops like pepper.

Keywords: Solanaceae, *Capsicum annuum*, plant nutrition, beneficial elements, biostimulation, hormesis

2.2. Introduction

Vanadium (V) is a transition metal widely distributed in the Earth's crust, where it may be found at a mean concentration of 20 to 120 mg kg⁻¹ [1]; however, it has little mobility in soil, since less than 1% of the total V is extractable and leachable with water [2, 3]. The first studies identified V as an element highly toxic to plants [4], which decreased interest in evaluating its effect on cultivated species. It was not until the 1950s that Bertrand [5] observed that low concentrations of this element (10 ng V g⁻¹ soil) could positively influence plant growth. Later studies indicated that due to the different states of oxidation of this element (which oscillate from -1 to +5), its toxicity to plants is associated with its pentavalent oxidation form (V⁺⁵), while the tetravalent form (V⁺⁴) can contribute to their development [6]. Although V⁺⁴ is the least toxic form of V, it is also considered the least mobile and the most predominant in soil [3].

V is a metal found in low concentrations in all plants, and its absorption is carried out through passive processes [7]. This element can act as a redox catalyzer in electron transportation in photosystems I and II, depending on the environmental conditions [8, 9]. With regard to its positive effects on plants, the application of doses under 0.05 mg L⁻¹ V increased maize (*Zea mays*) production and kernel quality [10]. Moreover, the application of 250 ng mL⁻¹ V increased height, number of leaves and flowers, and chlorophyll concentration in tomato plants (*Solanum lycopersicum*) [11]. In basil (*Ocimum basilicum*), the dry biomass of roots increased linearly with increasing V concentrations from 0 to 40 mg L⁻¹ [12]. It has also been proven that V can counteract the negative effects of certain metals like Cu [13].

Another well-known function of V is its participation as a cofactor of the enzyme nitrogenase. V-dependent nitrogenase, discovered in *Azobacter vinelandii* [14], is found in a wide gamut of diazotrophic microorganisms, catalyzing the conversion of atmospheric dinitrogen into ammonia; and in contrast with molybdenum (Mo)-dependent nitrogenase, it also reduces carbon monoxide (CO) [15]. V interacts with other elements like P and Mo [16], and in the form of monomeric vanadate, it is structurally and electronically similar to phosphate (Pi), which enables it to participate in the inhibition and activation of enzymes that interact with phosphorylated substrates like phosphatases, ATPases, and phosphotransferases [15].

Besides the relevance of V in agriculture, in medicine V has been experimentally used as a treatment against diabetes mellitus [17]. In rats, the application of V decreases the glucose levels in blood [18], while in humans, the intake of V decreases insulin with no significant secondary clinical effects [19]. Apart from its anti-diabetic effect, it has been suggested that V can have pharmacological activity in the treatment of parasitic diseases, malign tumors, as well as bacterial and viral infections [20]. While an average daily diet may provide 5 – 20 μg V, in therapies the safe upper limit is 1.8 mg a day [21,22]. Higher doses could be toxic.

Therefore, the use of V in crop production can favor development as well as contribute to human health. In rice (*Oryza sativa*) treated with 20 mg L⁻¹ V, 7.8 mg kg⁻¹ V was found in the grains and 338.7mg kg⁻¹ in leaves and stems. This indicates that V tends to accumulate in plant tissue [21]. In tomato, the application of 40 mg L⁻¹ V produced fruits with 4.0 mg kg⁻¹ V [23]. Given the different responses to different V concentrations applied, the need for further studies is evident in order to ensure optimum doses of this element as a biostimulant in different genotypes of cultivated plants.

Pepper (*Capsicum annuum*) is one of the most important crops in economic terms worldwide. Mexico is the second main world producer of this crop, besides being one of the centers of origin and diversification of this species. Despite pepper being grown all over the world and its uses as a vegetable, condiment, medicine, coloring, and source of essential vitamins, there are few studies on the use of beneficial elements to increase its productivity. Specifically, the effect of V in pepper production has not been studied to date, and its assessment is strategic in order to test if its application can stimulate some mechanisms that will improve plant performance [24]. The objective of the present work was to evaluate the effect of different V concentrations on growth, flowering, chlorophyll concentration, amino acids, sugars, and nutrients in pepper plants grown in a hydroponic system, in order to identify possible beneficial effects.

2.3. Materials and Methods

2.3.1. Plant material and growth conditions

Pepper cv. *Mysterio F1* seeds were germinated in polypropylene trays with 200 cavities using peat moss substrate (Theriault & Hachey Peat Moss Ltd., Growing Mix; Baie Sainte-Anne, New Brunswick, Canada). At 30 days after sowing, the seedlings were transplanted to 35 L plastic containers with Steiner nutrient solution at 20%, containing 1.8 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.8 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2 mM KH_2PO_4 , 0.6 mM KNO_3 , 0.6 mM K_2SO_4 , 89.31 μM Fe, 42.37 μM Mn, 7.12 μM Zn, 39.98 μM B, 2.93 μM Cu, 1.80 μM Mo) (Tradecorp AZ; Guadalajara, Jalisco, Mexico). After a seven-day adaptation period, the nutrient solution was totally replaced and treatments were applied in the renewed nutrient solution.

Treatments to be tested consisted of 5, 10, and 15 μM V in the form of ammonium vanadate (NH_4VO_3) (Sigma-Aldrich; St. Louis, MO, USA). A control treatment was included which consisted of a nutrient solution without V. The pH of the solution was adjusted to 5.5 using concentrated H_2SO_4 and 1 N NaOH. The nutrient solution was oxygenated every 2 h for 15 min, and along with the treatments, it was replaced every 7 d. A completely randomized experimental design was used where the experimental unit was represented by a single plant, with 12 replicates per treatment. The experiment was done under greenhouse conditions at a mean temperature of 26 °C, 60% relative humidity, and a photoperiod of 12 h light (300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ light intensity) and 12 h darkness.

2.3.2. Growth variables

Plant height and root length were recorded at 7, 14, 21, and 28 d after applying the treatments (dat). In the last evaluation (28 dat), the number of leaves, flower buds, stem diameter, root volume, leaf area, and fresh and dry biomass of roots, stems, leaves, and flowers were determined.

Plant height was measured from the base of the stem to the growth apex, while root length was measured from the base of the stem to the tip of the main root. Stem diameter was

determined at the base using a digital vernier caliper (Truper 14388; Shanghai, China). Root volume was determined through the water displacement method, using a 15 mL graduated test tube. Leaf area was determined with a leaf area integrator (LI-CORLI-3000A; Lincoln, NE, USA). To determine the fresh and dry biomass weight, the plants were divided into roots, stems, leaves, and flowers and then weighed separately in an analytic scale (Adventurer Ohaus Pro AV213C; Parsippany, NJ, USA). The samples were subsequently placed in a forced air oven (Riossa HCF-125D; Guadalajara, Jalisco, Mexico) at 70 °C. The weight of the dry biomass was determined 48 h later with the analytic scale.

2.3.3. Concentration of chlorophylls *a*, *b*, and total in leaves and stems

Concentrations of chlorophylls (Chl *a*, Chl *b*, and Chl tot) were determined through the method described by Geiger *et al.* [25]. To do this, 60 mg of macerated plant material was mixed with 1500 µL ethanol at 80% (v/v). The samples were incubated in a water bath (Thermo Fisher Precision; Waltham, M, USA) at 80 °C for 20 min, centrifuged at 14000 rpm in an Eppendorf 5424 centrifuge (Eppendorf, Germany) for 5 min, and the liquid phase was collected. This procedure was done twice more using ethanol at 80 and 50%, respectively. From the mixture collected from the triple ethanol extraction, 488 µL were taken and mixed with 1275 µL ethanol at 98% (v/v); this extract was subsequently read in a spectrophotometer (Jenway 6715 UV/Vis; Staffordshire, UK) at 645 and 665 nm. Four independent biological replicates were done per treatment with two technical replicates. Chlorophylls *a* and *b* were determined with the following formulas:

$$\text{Chlorophyll } a \text{ (}\mu\text{g/mg fresh weight)} = (5.46 \times \text{Abs}_{665}) - (2.16 \times \text{Abs}_{645})$$

$$\text{Chlorophyll } b \text{ (}\mu\text{g/mg fresh weight)} = (9.67 \times \text{Abs}_{645}) - (3.04 \times \text{Abs}_{665})$$

2.3.4. Total amino acids in leaves, stems, and roots

The concentration of amino acids was quantified according to the ninhydrin method [26]. From the triple ethanol extraction, 500 µL were taken and mixed with 500 µL sodium citrate – ascorbic acid buffering solution (0.2% w/v), where the sodium citrate contained 16 mM

citric acid and 34 mM sodium citrate at a pH of 5.2. Furthermore, 1000 μ L ninhydrin (1% w/v) in ethanol at 70% (v/v) was added. The samples were incubated in a water bath at 95 °C for 20 min and left to cool at room temperature. At the same time, the standard curve was prepared using leucine (10 mM in ethanol 70%). The samples were read in a spectrophotometer (Jenway 6715 UV/Vis) at 570 nm. Four replicates were done per treatment with three technical replicates.

2.3.5. Total soluble sugars in leaves, stems, and roots

The total sugar concentration was determined in 0.5 g fresh plant material. The extraction was done in 50 mL ethanol 80% at constant boiling with occasional stirring, using a stirring hot plate with digital display (Corning PC-400D; New York, NY, USA) at 125 °C. Subsequently, the extracts were filtered and filled to a final volume of 20 mL. From this, 500 μ L were taken and mixed with 500 μ L ethanol 80%. The samples were placed on ice and 5 mL anthrone (Meyer; Queretaro, Mexico) was added, then they were placed in a water bath (Thermo Fisher Precision) at 95 °C for 15 min; to finish the reaction, samples were placed on ice. The samples were read at 620 nm in a spectrophotometer (Jenway 6715 UV/Vis). To make the standard curve, glucose (Sigma-Aldrich; St. Louis, MO, USA) was used. Four replicates were done per treatment with two technical replicates.

2.3.6. Nutritional analysis

The concentrations of N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, B, and V were determined in the dry biomass of leaves, stems, and roots. The N concentration was done through the semimicro-Kjeldahl method [27], while the concentrations of P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, B, and V were determined through wet digestion of the dry material with a mixture of perchloric and nitric acid [28]. The obtained extracts were read in an inductively coupled plasma optical emission spectrometry equipment (Agilent 725 ICP-OES; Mulgrave, Victoria, Australia).

2.4. Statistical analysis

The data were subject to a Shapiro-Wilk and Bartlett test ($P \leq 0.05$) to prove normality and homogeneity of the variances. A logarithmic transformation was done when necessary; the data are shown without transformation. Once these assumptions were proven, a one-way analysis of variance (ANOVA) was done. Additionally, when there were differences, a mean separation was done through the Duncan method at a significance level of 0.05 ($\alpha=0.05$). All the analyses were done with the SAS software [29].

2.5. Results

2.5.1. Pepper plant growth and development are stimulated by vanadium

The experiment started with 37-d-old Pepper cv. Mysterio F1 plants. They were treated with 0, 5, 10, and 15 μM V. Seven days after the application of the treatments (dat), plant height was greater in the plants treated with 5 and 10 μM V than with the other treatments. After 14 dat, the plants treated with 5 μM V were taller than those of all the other treatments; at 28 dat, these plants were 21.7% taller than those in the control. Control plants were also shorter than those treated with 10 and 15 μM V up to the third evaluation after applying the treatments (21 dat). At 28 dat, the plants treated with 15 μM V were shorter than those in the control (Figure 2.1a). Vanadium had a different effect on root length and stem height. In all the measurements taken, control plants showed a higher value of these variables, while the plants treated with 5 μM V generally showed lower means. Plants treated with 10 and 15 μM V showed intermediate values (Figure 2.1b). In general, as the V concentration increased, root growth increased, although V did not stimulate greater growth than the control. This could be due to a hormetic effect of V (Figure 2.2a, b, c, d).

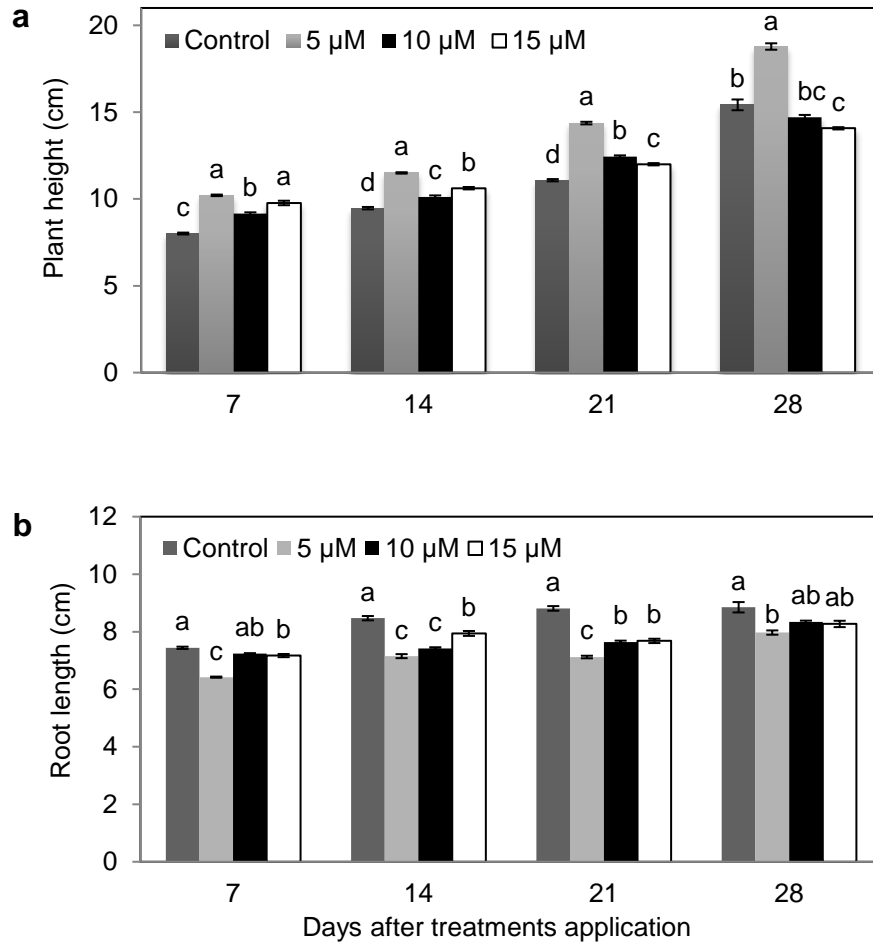


Figure 2.1. Effect of vanadium (0, 5, 10 and 15 μM V) on pepper plant growth. Plant height (a) and root length (b). Values are means \pm standard error (SE) from at least five individual plants. Different letters above the column indicate significant differences (Duncan, $\alpha = 0.05$).

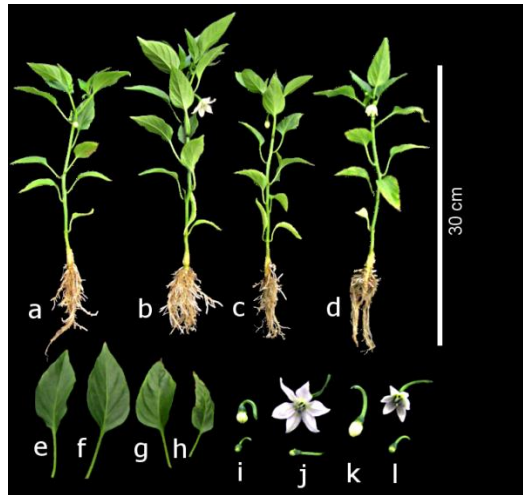
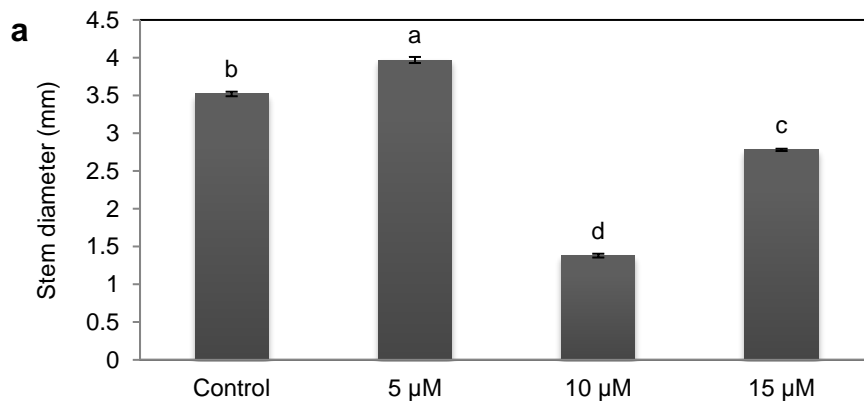


Figure 2.2. Growth and development displayed by pepper plants 28 days after treatment with different concentrations of vanadium (0, 5, 10 and 15 μM V). Control: a, e, i; 5 μM V: b, f, j; 10 μM V: c, g, k; and 15 μM V: d, h, l.

Stem diameter was greater in plants treated with 5 μM V, while those treated with 10 and 15 μM recorded the lowest values (Figure 2.3a). Likewise, the number of leaves per plant was higher with the application of 5 μM V, surpassing the control by 33.9%. Plants treated with 10 μM V showed no statistical differences with the control; however, the application of 15 μM V did decrease the number of leaves per plant by 18.6% with respect to the control. In general, there was a tendency of the number of leaves to decrease as the V concentration in the growth medium increased (Figure 2.3b).



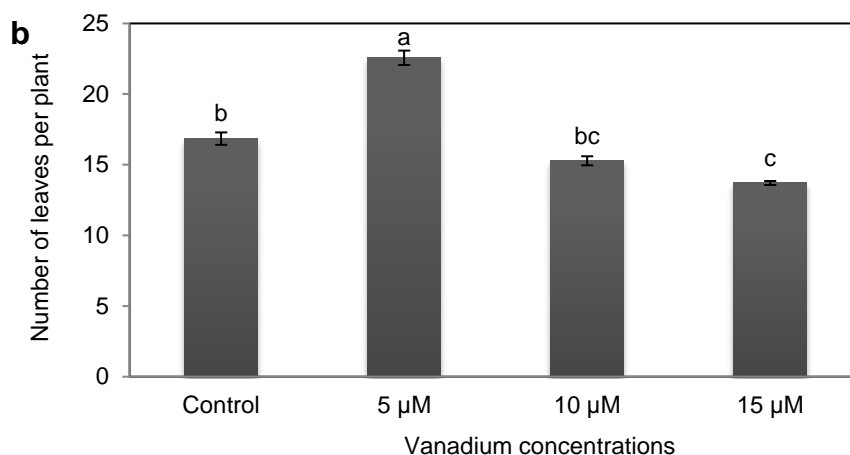


Figure 2.3. Stem diameter (a) and number of leaves (b) of pepper plants grown in nutrient solutions containing different concentrations of vanadium (0, 5, 10 and 15 µM V) during 28 d. Values are means \pm standard error (SE) from at least five individual plants. Different letters above the column indicate significant differences (Duncan, $\alpha = 0.05$).

The treatments with 5 and 10 µM V increased root volume by 40.9 and 54.5%, respectively, with regard to the control plants. The plants treated with 15 µM V showed a root volume similar to that of the control (Table 2.1). Despite the roots of the plants treated with 5 µM V being shorter than those of the control, there was a greater number of secondary roots, thus obtaining greater volume. The same tendency was observed with 10 µM V. However, when the V dose reached 15 µM, the root volume decreased (Table 2.1; Figure 2.2a, b, c, d).

Leaves of plants treated with 15 µM V were smaller than those of control plants (Figure 2.2e, f, g, h). This finding was reflected in leaf area, since plants treated with 15 µM V obtained the lowest value of this variable. Although with the application 5 and 10 µM V the leaves showed an increase in size and area with respect to the control, there were no significant statistical differences between these treatments. The number of flower buds per plant and the weight of fresh and dry flower biomass were higher with the application of 5 µM V than with the other treatments. The treatments with 10 and 15 µM showed statistically similar means as the control (Table 2.1). It is important to note that at 24 dat, plants treated with V flowered faster than control plants. At 28 dat, the flowers of the 5 µM V treatment were larger and the number of flower buds higher. With the application of 10 µM V the flower buds were larger

than those of control plants, although there was no flower opening. The application of 15 μM V also promoted flower budding, but these were fewer and smaller than those of the plants treated with 5 μM V. In the control plants, some flower buds appeared, but no flower opening was detected (Figure 2.2.i, j, k, l).

Table 2.1. Effect of different concentrations of vanadium (V) on root volume, leaf area, flower buds, and weight of fresh and dry flower biomass in pepper plants grown for 28 d in the treatments.

Concentration of V	Root volume (mL)	Leaf area (cm ²)	Number of flower buds	Weight of fresh flower biomass (mg)	Weight of dry flower biomass (mg)
Control	2.2 ± 0.06b	50.85 ± 1.19a	3.5 ± 0.11b	131.25 ± 8.41b	17.72 ± 1.67b
5 μM	3.1 ± 0.11a	52.92 ± 3.51a	7.6 ± 0.19a	351.25 ± 6.40a	55.10 ± 4.11a
10 μM	3.4 ± 0.15a	54.73 ± 3.87a	4.1 ± 0.18b	148.75 ± 12.95b	22.67 ± 1.90b
15 μM	2.4 ± 0.13b	29.19 ± 0.99b	3.6 ± 0.2 b	158.50 ± 9.85b	33.35 ± 2.60b
<i>P</i>	0.0034	0.0206	<0.0001	<0.0001	<0.0020

Values are means ± standard error (SE) from at least five individual plants. Different letters above the column indicate significant differences (Duncan, $\alpha = 0.05$).

The weight of fresh leaf biomass in plants treated with 5 and 10 μM V was numerically higher but statistically similar to that of the control plants; with 15 μM V, a lower weight was observed. Similarly, the application of 5 μM V caused the highest weight in fresh stem biomass with respect to the rest of the treatments, including the control. On the other hand, there were no differences between the control, 10, and 15 μM V in the weight of fresh stem biomass. A similar behavior was observed in the weight of fresh root biomass, except that in this case there were no statistical differences between 5 μM V and the control. In general, there was a similar tendency in the three plant organs, since the weight of the fresh biomass decreased as the applied V concentration increased (Figure 2.4a). A similar effect was observed in the weight of dry biomass, where the application of 5 μM caused the highest means in the weight of leaves, stems, and roots, while there were no statistical differences between the control and plants treated with 10 and 15 μM V (Figure 2.4b). It is important to

note that the weight of fresh and dry stem biomass showed the greatest differences between the control plants and the plants treated with 5 μM V; the treatment with 5 μM V more than doubled the control.

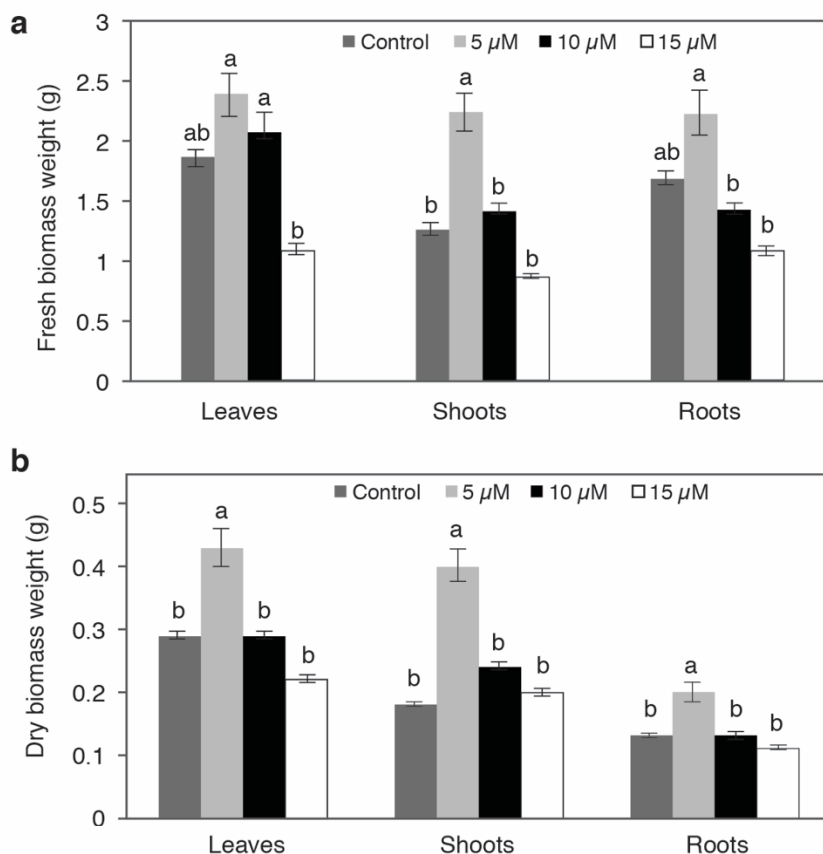


Figure 2.4. Fresh (a) and dry (b) biomass weight of leaves, shoots and roots of pepper plants grown in nutrient solutions containing different concentrations of vanadium (0, 5, 10 and 15 μM V) measured 28 days after treatment application. Values are means \pm standard error (SE) from at least five individual plants. Different letters above the column indicate significant differences (Duncan, $\alpha = 0.05$).

2.5.2. Concentrations of chlorophylls in leaves and stems

The concentration of chlorophyll *a* in leaves was higher in plants treated with 5 μM V, followed by the control and in lower proportion by plants treated with 10 and 15 μM V. Contrarily, in stems, the highest concentration of chlorophyll *a* was found with the application of 15 μM V, followed by 5 μM V and in lower concentration by the 10 μM V and control treatments. The concentration of chlorophyll *b* in leaves and stems was the highest in the plants treated with 15 μM V. Particularly, the concentration of chlorophyll *b* was similar in the leaves of the control plants and those treated with 15 μM V. In stems, the lowest concentration of this pigment was observed with 5 μM V. The concentration of total chlorophylls in leaves was highest in the plants treated with 5 μM V, while the control and 15 μM were not statistically different. The lowest concentration of these molecules was found in plants treated with 10 μM V. In stems, the concentration of total chlorophylls was higher in the treatment with 15 μM , while the rest of the treatments were statistically similar. Additionally, the chlorophyll *a/b* ratio in leaves was the highest with 5 μM V, and decreased as the V concentration increased. Similarly, the chlorophyll *a/b* ratio in stems was the highest in plants treated with 5 μM , and the lowest ratio was obtained in the control and in plants treated with 10 μM V (Table 2.2).

Table 2.2. Concentration of chlorophyll (mg g^{-1} fresh biomass) in leaves and stems of pepper plants 28 d after the application of vanadium (V).

Chlorophyll	Plant organ	Vanadium concentration (μM)				<i>P</i>
		Control	5	10	15	
Chlorophyll <i>a</i>	Leaves	1513.73 \pm 8.5b	1670.79 \pm 6.1a	1455.36 \pm 11.9c	1495.70 \pm 6.0bc	<0.0001
	Stems	348.95 \pm 3.7c	416.85 \pm 5.5b	358.50 \pm 3.5c	481.88 \pm 3.5a	<0.0001
Chlorophyll <i>b</i>	Leaves	291.82 \pm 6.2a	236.12 \pm 4.1b	248.11 \pm 4.7b	297.63 \pm 3.2a	0.001
	Stems	112.65 \pm 1.7b	49.44 \pm 0.5c	107.33 \pm 1.8b	127.55 \pm 1.2a	<0.0001
Total Chlorophylls	Leaves	1805.55 \pm 12.9b	1906.91 \pm 8.3a	1703.47 \pm 11.2c	1793.32 \pm 9.0b	0.0002
	Stems	461.60 \pm 4.3b	466.30 \pm 5.9b	465.84 \pm 5.0b	609.43 \pm 4.6a	<0.0001
Chlorophyll <i>a/b</i> ratio	Leaves	5.21 \pm 0.1c	7.10 \pm 0.04a	5.89 \pm 0.10b	5.03 \pm 0.03c	<0.0001
	Stems	3.10 \pm 0.05c	8.43 \pm 0.06a	3.34 \pm 0.04c	3.77 \pm 0.01b	<0.0001

Values are means \pm standard error (SE) from at least five individual plants. Different letters above the column indicate significant differences (Duncan, $\alpha = 0.05$).

2.5.3. Concentration of total free amino acids and total soluble sugars

The concentration of amino acids in leaves and roots was higher in plants treated with 5 μM V, surpassing the control by 28.9% and 74.2%, respectively. The application of 10 and 15 μM V yielded statistically similar means to those of the control, in these variables. A contrary effect was observed in stems, since the highest amino acids concentration was observed when applying 15 μM V, surpassing the control by 24.1%; with 5 and 10 μM V, the concentration of amino acids was lower than the control (Figure 2.5a).

In leaves, the highest concentration of sugars was obtained in plants treated with 5 and 10 μM V, followed by those treated with 15 μM ; the lowest concentration of these molecules was observed in control plants. In stems, the application of 5 and 15 μM increased sugar content, surpassing the control by 51.9% and 61.6%, respectively. The application of 5 μM V favored the concentration of sugars in the roots, although there were no significant differences with respect to the control. Conversely, the treatments with 10 and 15 μM V had lower means than the control (Figure 2.5b).

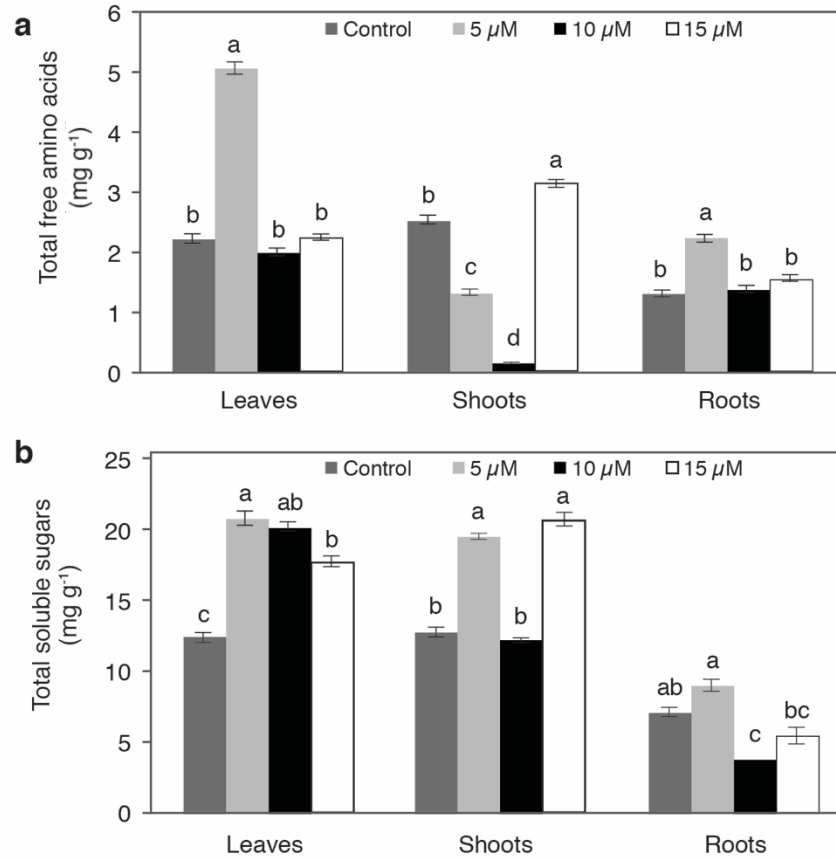


Figure 2.5. Concentrations of total free amino acids (a) and total soluble sugars (b) in leaves, shoots and roots of pepper plants grown in nutrient solutions containing different concentrations of vanadium (0, 5, 10 and 15 μM V) during 28 d. Values are means ± standard error (SE) from at least five individual plants. Different letters above the column indicate significant differences (Duncan, $\alpha = 0.05$).

2.5.4. Nutrient concentration in leaves, stems, and roots

In leaves, V did not affect the concentrations of N, P, Ca, Fe, Cu, Zn, and B. However, the concentrations of K, Mg, and Mn decreased as the level of V increased. The K concentration was lower in all three treatments with V in comparison to the control. On the other hand, the Mg and Mn concentrations were only statistically lower in plants treated with 15 μM V in comparison to the control (Table 2.3).

In stems, the N concentration was higher with the application of 5 μM V, while 10 and 15 μM yielded statistically similar means as the control. The P and Mg concentrations were higher in plants treated with 5 μM V, and decreased as the V dose increased, until being similar to the control. The K, Ca, Cu, Mn, and B concentrations were higher with the application of 5 and 10 μM V, while there were no significant differences between plants treated with 15 μM and the control. V did not alter the concentrations of Fe and Zn in this plant organ (Table 2.3).

In roots, the application of V did not affect the N concentration, but the P, Ca, Mg, Cu, and B concentrations were highest with 15 μM V. Interestingly, we observed a tendency for the concentrations of these nutrients to increase as the V dose in the nutrient solution increased. The concentrations of K, Fe, Zn, and Mn were similar between the control and the three V treatments, especially in plants treated with 5 and 15 μM V. Moreover, there was a clear tendency of these last nutrients to increase as the applied V dose increased (Table 2.3).

Table 2.3. Effect of vanadium (V) on the nutrient concentrations in leaves, shoots and roots of pepper plants exposed to different concentrations of V.

Vanadium (mM)	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn	Mn	B
Leaves	g kg⁻¹					mg kg⁻¹				
0	34.9 ± 1.4a	4.4 ± 0.1a	12.8 ± 0.2a	12.6 ± 0.8a	6.6 ± 0.1a	158.6 ± 3.8a	36.0 ± 1.5a	48.1 ± 0.8a	662.2 ± 10.0a	67.6 ± 1.1a
5	50.2 ± 9.5a	3.7 ± 0.1a	9.8 ± 0.2b	12.4 ± 0.6a	6.4 ± 0.1a	142.2 ± 6.3a	45.6 ± 3.5a	41.7 ± 0.1a	711.2 ± 16.1a	59.9 ± 1.8a
10	25.2 ± 1.5a	3.6 ± 0.2a	8.5 ± 0.4b	11.1 ± 0.6a	5.9 ± 0.2ab	145.1 ± 9.6a	48.4 ± 1.5a	40.0 ± 1.9a	688.2 ± 35.4a	58.0 ± 2.2a
15	25.6 ± 0.7a	3.4 ± 0.3a	6.3 ± 0.5c	9.4 ± 0.8a	4.9 ± 0.4b	164.9 ± 17.6a	43.0 ± 5.9a	39.0 ± 3.8a	443.7 ± 34.9b	57.0 ± 4.3a
Stems	g kg⁻¹					mg kg⁻¹				
0	12.7 ± 0.6b	1.0 ± 0.1c	3.5 ± 0.2b	2.1 ± 0.1b	1.4 ± 0.1c	196.7 ± 17.0a	3.1 ± 0.3b	12.6 ± 0.9a	79.2 ± 2.8b	16.3 ± 1.1b
5	26.3 ± 2.90a	2.4 ± 0.1a	8.0 ± 0.2a	3.8 ± 0.1a	2.4 ± 0.1a	58.5 ± 1.9a	14.8 ± 1.2a	16.7 ± 1.9a	185.4 ± 4.4a	28.5 ± 0.9a
10	12.7 ± 0.9b	1.9 ± 0.1b	6.5 ± 0.4a	3.6 ± 0.2a	2.1 ± 0.1ab	99.3 ± 11.9a	13.9 ± 2.8a	14.6 ± 0.5a	171.3 ± 12.0a	32.5 ± 0.3a
15	12.6 ± 0.9b	1.3 ± 0.1c	4.0 ± 0.5b	2.5 ± 0.2b	1.6 ± 0.2bc	62.9 ± 5.5a	6.4 ± 0.9ab	13.1 ± 0.7a	103.5 ± 9.1b	21.2 ± 1.3b
Roots	g kg⁻¹					mg kg⁻¹				
0	29.4 ± 1.8a	1.4 ± 0.2b	3.0 ± 0.4ab	0.9 ± 0.1b	0.6 ± 0.1b	159.8 ± 13.9ab	7.9 ± 0.9b	20.2 ± 3.0ab	174.6 ± 25.9ab	9.7 ± 1.1b
5	26.7 ± 1.0a	0.7 ± 0.1b	1.3 ± 0.6b	0.8 ± 0.1b	0.4 ± 0.1b	76.2 ± 4.9b	4.8 ± 0.5b	13.4 ± 0.6b	77.7 ± 9.4b	5.3 ± 0.4b
10	38.6 ± 5.6a	1.4 ± 0.1b	2.3 ± 0.2ab	1.0 ± 0.1b	0.6 ± 0.1b	126.7 ± 13.7ab	7.3 ± 0.5b	19.9 ± 1.4ab	73.0 ± 5.1b	8.8 ± 0.8b
15	30.6 ± 1.0a	3.0 ± 0.5a	5.5 ± 0.9a	2.1 ± 0.3a	1.4 ± 0.2a	220.5 ± 21.5a	18.4 ± 3.1a	42.0 ± 6.0a	234.1 ± 39.1a	21.4 ± 2.7a

Values are means ± standard error (SE) from at least five individual plants. Means with different letters indicate significant differences (Duncan, $\alpha = 0.05$).

The concentration of V in leaves oscillated between 20.62 and 23.58 mg kg⁻¹ dry biomass, with no observable significant statistical differences among treatments. In stems, the V concentration was higher in the treatments with 5 and 10 μM, while in the case of 15 μM the V concentration was similar to the control. The concentration of V in roots was significantly higher in plants treated with V than in the control; as the V dose increased, the V concentration increased from 8 to 13 times higher than the control (Figure 2.6).

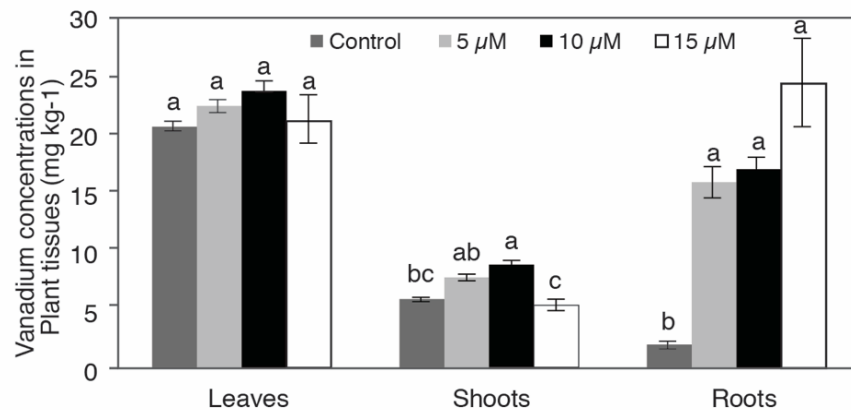


Figure 2.6. Vanadium (V) concentrations in leaves, shoots and roots of pepper plants grown in nutrient solutions containing different concentrations of vanadium (0, 5, 10 and 15 μM V) during 28 days. Values are means ± standard error (SE) from at least five individual plants. Different letters above the column indicate significant differences (Duncan, $\alpha = 0.05$).

2.6. Discussion

2.6.1. Vanadium stimulates pepper plant growth and development

Beneficial elements can positively influence plant growth, development, and production, even though they are not considered essential [30]. Each beneficial element can have specific functions and its effect can vary depending on different factors, including chemical form, dose, frequency of application, and genotypes in which they are applied. In general, beneficial elements can cause hormesis, a dose response phenomenon characterized by the stimulation of favorable mechanisms at low concentrations and inhibition or toxicity at high

concentrations [31]. In the present work, we observed that during the first stages of plant growth, the application of 5 μM V stimulated plant height with respect to the control. However, at the end of the study (28 dat), plant height was similar between treatments with 10 and 15 μM V and the control (Figure 2.1a). In triticale (x *Triticosecale* Wittm.), the application of a high V dose (i.e. 120 μM) inhibited shoot growth [32], which coincides with our studies. The application of 5 μM V stimulated plant growth, with taller plants in all samplings. This could indicate that V is conferring greater elasticity to the tissue, providing greater water volume, which would be associated with cell expansion, giving plants greater growth [33]. Vanadium acts as a growth factor and influences reproduction, and it is metabolized utilizing the iron transport and the storage proteins transferrin and ferritin [34]. Vanadium's primary mode of action is as a cofactor that enhances or inhibits the enzymatic activity of vital proteins such as kinases and phosphatases [35], thus regulating plant growth and development.

Unlike plant height, root length was lower in plants treated with V in the measurements done at 7, 14, and 21 d, in comparison to the control. However, at 28 d, the root length of plants treated with 10 and 15 μM V was similar to the control (Figure 2.1b).

This variable showed a tendency to increase in value as the V concentration increased and time passed. Similar results are reported in cuphea (*Cuphea viscosissima* x *C. lanceolata* 'PSR 23') [36], onion (*Allium cepa*) [37], and common bean (*Phaseolus vulgaris*) [38,39] when V was applied. Contrarily, root growth in rice was drastically decreased when 1 mM V was applied, while with 10 and 20 mM V, there was cell death in this organ [40]. In chickpea (*Cicer arietinum*), the application of 60 to 120 mg L^{-1} V resulted in root growth inhibition because of the stress caused by the doses [41]. The application of V in swamp morning glory (*Ipomoea aquatic*) caused the roots to decrease their growth and turn thicker and darker [42], which could be due to an accumulation of toxic pentavalent vanadium (V^{+5}). This is the most toxic form of V, being more reactive with a number of essential enzymes [43], and affecting reproductive traits [44]. Vanadium acts as a phosphate analog and, as such, interferes with various vital enzymatic systems involved in phosphorus metabolism. Indeed, V may inhibit the activity of different ATPases, protein kinases, ribonucleases and phosphatases. Conversely, it may induce the activity of tyrosine kinase phosphorylase,

NADPH oxidase, and adenylatecyclase [45]. Since V inhibits or stimulates the activity of many DNA or RNA enzymes, it may induce several genotoxic and mutagenic effects [46]. Hence, the effects of vanadium on various enzymes may be responsible for the diverse effects observed in living organisms exposed to this element. However, little information is available regarding the mechanism of V toxicity *in vivo*.

The application of 5 μM V gave off thicker stems as well as a greater number of leaves per plant with respect to the control. Meanwhile, the application of 10 and 15 μM V decreased the values of these variables (Figs. 3a, b). In rice, the application of 1, 10, 20, and 40 mg L^{-1} V did not affect plant height or stem diameter, although with the application of 80 mg L^{-1} V, growth was restricted [21]. In Chinese green mustard (*B. campestris* ssp. *chinensis* var. *parachinensis*), the application of 1-80 mg L^{-1} V decreased plant height and number of leaves as the V level increased [22]. In lettuce (*Lactuca sativa*), root and leaf growth was inhibited by doses of 0.2 to 1.0 mg kg^{-1} V, while yields decreased with increasing rates of V. Toxicity symptoms in roots consisted of color darkening, club shape of the main roots, reduction of secondary root number and length, and necrosis. Leaves from plants treated with 0.5 and 1.0 mg kg^{-1} V also showed loss of turgidity [47]. Furthermore, lettuce plants treated with V displayed decreased growth, necrosis, and mild chlorosis, while at the lowest nutrient level (1 kg ha^{-1} 20-20-20 N-P-K), leaf discoloration, abnormal leaf growth (e.g., twisting and wrinkling), and lightened veins were observed in some plants [48]. The decrease in leaf growth might be related with the decrease in activity of the enzymes nitrate reductase and transaminase, involved in the synthesis of amino acids [49]. Moreover, V interferes in the activity of other enzymes, vital in the metabolism of living organisms [45], which could cause delayed growth. In the present study, the plants treated with 10 and 15 μM V (the highest doses tested) had smaller stem diameter and lower number of leaves in comparison to the other treatments.

Although root length was shorter in the treatments with V (Figure 2.1b), the root volume was greater with 5 and 10 μM V (Table 1), which could be because there was a higher number of secondary roots than in the control plants (Figure 2.2a, b, c, d). This phenomenon may be attributed to a possible hormetic effect of the element on mechanisms controlling plant growth. In *Arabidopsis thaliana* plants treated with 25 μM V, root length was similar to the

control, but there was greater formation and density of root hairs [50]. On the other hand, the application of 15 to 153 μM V inhibited the formation of secondary roots in cuphea [36]. Furthermore, the application of 160 to 400 μM V in bean plants grown hydroponically caused lesser growth of the main root and a lower number of secondary roots [39]. In the present study, the plants treated with the highest V concentration (15 μM) had a lower number of secondary roots, resulting in a lower root volume, in comparison to the rest of the treatments (Table 2.1). Leaf area showed no significant effects from the treatments with 5 and 10 μM V (Table 2.1), but with 15 μM V, the leaves were clearly smaller (Figure 2.2e, f, g, h). In common bean, the leaf length and leaf area decreased significantly as the V concentration increased starting at 240 μM V [39]. In chickpea, the application of 170 to 1180 μM V caused leaf deformities and size decrease as the level of applied V increased [51].

Besides increasing plant height, stem diameter, and number of leaves, the application of 5 μM V stimulated both the formation of flower buds (Table 1) and flower opening (Figure 2.2 i, j, k, l). When applying 10 and 15 μM V, there were no statistical differences with the control. Similar results are reported in tomato, since the application of 250 ng V mL^{-1} caused taller plants, more leaves, and more flowers [11]. Furthermore, the higher production of fresh and dry biomass was also obtained with 5 μM V in leaves, stems, and roots, with no differences observed in plants treated with 10 and 15 μM , and the control. Contrasting results were obtained in the weight of dry biomass of soybean plants (*Glycine max*) stems and roots, since these plants significantly decreased when V concentration exceeded 30 mg kg^{-1} in the soil solution [52]. In Chinese green mustard, the weight of fresh root biomass decreased with the increase in the concentration of the applied V [23]. In chickpea, the weight of fresh root biomass decreased significantly with the application of 25 mg L^{-1} V [53]. Other studies have also reported a decrease in fresh and dry plant biomass with the application of V [3,32,36]. On the contrary, in soybean plants, the application of V in soils amended with manure caused an increase in fresh and dry biomass, since the reaction with the soil organic matter was capable of reducing V^{+5} to V^{+4} [54]. In rice, the higher weight of fresh and dry stem biomass was found in plants treated with 10 mg L^{-1} V [21]. In basil, the fresh and dry biomass of leaves and stems was not affected by the application of up to 40 mg L^{-1} V, while the root biomass increased linearly with increasing concentrations of vanadium (5-40 μM V) [55].

These results partly back up the role of V as a beneficial element in the growth and development of cultivated species, using different doses.

2.6.2. Vanadium differentially stimulates chlorophyll biosynthesis in leaves and stems

The concentrations of chlorophyll *a* and total chlorophylls in leaves were higher with 5 μM V and lower with 10 and 15 μM V, with respect to the control. In stems, the concentrations of chlorophyll *a*, *b*, and total chlorophylls were higher in plants treated with 15 μM V; the concentrations of chlorophylls in the other treatments were lower or equal to the control (Table 2.2). Some of these results are similar to those obtained in swamp morning glory with the application of 0.5 to 2.5 mg L^{-1} V in a hydroponic medium, since as the V concentrations increased, the concentrations of chlorophyll *a* and *b* decreased [42]. Likewise, in chickpea, the concentrations of chlorophyll *a* and *b* decreased as the levels increased (15 to 120 mg L^{-1} V) [41]. In common bean, a decrease in the number of chloroplasts was reported in cells treated with V at concentrations of 240 and 320 μM [39]. In the unicellular green algae *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa*, the application of 20 $\mu\text{M L}^{-1}$ V stimulated growth and the formation of protoporphyrin-IX, essential precursor of chlorophylls [56]. Likewise, in maize leaves, the contents of chlorophyll *a* and *b* increased notably when the V concentration increased from 0 to 6.25 mg L^{-1} [10]. Similarly, the application of 250 ng mL^{-1} V increased the concentration of chlorophyll in tomato, which improved the Hill reaction in the chloroplasts and accelerated photosynthesis and plant development [11]. The increase in the concentration of chlorophylls in the present study could have been one of the mechanisms that induced greater plant growth, possibly due to a higher photosynthetic rate.

2.6.3. Low concentrations of vanadium enhance the biosynthesis of amino acids and sugars in leaves, stems, and roots

The concentration of amino acids in leaves and roots was higher in plants treated with 5 μM V, while with 10 and 15 μM there were no significant differences with respect to the control. In stems, the free amino acids were more abundant in plants treated with 15 μM V, while with 5 and 10 μM V they were less so than the control (Figure 2.5a). In sugar beet (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* var. *altissima*), the application of 10 mM V caused toxic effects,

decreasing leaf growth and the concentrations of chlorophylls and amino acids [48]. In Arabidopsis, it has been proven that a single amino acid is enough to promote (i.e. histidine) or repress (i.e. tyrosine) flowering [57], thus the fluctuations in the metabolism of these molecules could have determining effects on this reproductive process. In the present study, plants treated with 5 μM V flowered more quickly and produced a higher concentration of total free amino acids in leaves and roots. In leaves, the concentration of total soluble sugars was higher in all the treatments with V. In stems, control plants and those treated with 10 μM had the same concentration of sugars; these values were statistically lower than those found in plants treated with 5 and 15 μM (Figure 2.5b). In sugar beet, the sucrose content increased by 28% in plants treated with 10 mM V, compared with the control [48]. A higher sucrose content could come from a higher fixation ratio of carbon dioxide, which could have stimulated growth.

2.6.4. Vanadium differently affects the nutrient status of pepper plants

Vanadium did not affect the N concentration in leaves and roots, while in stems the N concentration was two times higher in the treatment with 5 μM V, as compared to the control and the rest of the treatments. In common bean, the application of 3 and 6 mg kg^{-1} V increased N concentration in roots and leaves [38]. Likewise, soybean plants treated with 0.5 and 1.0 mg kg^{-1} V showed a higher N content [54]. The P concentration was differentially affected by V. In leaves, there were no observable changes in the different treatments tested. In stems, P was statistically higher with 5 μM V, and decreased as the V concentration increased until it was similar to the control. The opposite behavior was observed in roots, where the P concentration increased as the level of V was increased, until reaching double that of the control. Partially similar results were reported in common bean leaves and roots, as there were no differences in the P concentration under the evaluated V treatments [39]. Conversely, in soybean plants, increasing levels of V (0-2.0 mg kg^{-1}) decreased the P concentrations [52]. In swamp morning glory, the P concentration decreased in leaves, stems, and roots as the V concentration in the nutrient solution increased [39]. In chickpea, low concentrations of V promoted P absorption, while high levels of V inhibited the absorption of this element [53]. In the present study, there was a positive relation between V and P, since by increasing the V dose in the nutrient solution, the P concentration in roots increased, and the lowest level

of V (5 μM) yielded the highest P concentration in stems. The relation between P absorption and V is important due to their chemical analogy, since V inhibits the activity of enzymes where P is an important component, like phosphatases, liases, synthases, and ATPases [58,59]. Moreover, the absorption of vanadates is determined by phosphate transports in the root [51]. Nevertheless, the union of V in a P union site does not always inhibit the enzymatic activity, and the identification of the V unions to different enzymatic groups has been of great use in comprehending, recognizing, and evaluating new protein structures [15].

Increasing levels of V decreased the concentration of K in pepper leaves, while in stems the concentration of K was more than double with the 5 μM V treatment than in the control, which subsequently decreased as V increased until it was statistically equal to the control. In roots, there were no statistical differences with the control. In other crops like rice [10], soybean [38,54], and basil [55], no significant effects of V on K concentrations in leaves, stems or roots have been documented. However, in the present study, plants treated with 15 μM V were shorter and leaves displayed some necrosis (Figure 2.2), which is a typical symptom of K deficiency. This coincides with the decrease in the K concentration found herein.

Calcium concentration in leaves was not affected by the application of V. In stems, 5 and 10 μM V favored Ca concentration. In roots, the application of 15 μM V increased Ca while in the rest of the treatments it remained similar to the control. In soybean roots, the application of 3 and 6 mg kg^{-1} increased the Ca concentration; however, in leaves, the application of V decreased this variable [38]. In basil, the Ca concentration was not affected by V in leaves and stems; in roots, the application of 5 to 40 mg L^{-1} V decreased the Ca levels [55].

Magnesium concentration decreased significantly with 15 μM V in leaves, while in stems the concentration of this macronutrient increased by 70 and 50% with the application of 5 and 10 μM V, respectively. In roots, the application of 15 μM V increased Mg concentration by over 130%. Opposite results were found in soybean, as V decreased the Mg concentration in roots and did not affect the leaves [38]. In basil, V did not affect the Mg concentration in leaves and stems, but like in soybean, the Mg concentration in roots decreased [55], which is contrary to what was found in the present study.

The concentrations of micronutrients like Fe and Zn were not affected by V in leaves or stems, compared to the control. Likewise, no differences among treatments were observed in roots, though the application of 10 μM V favored the concentrations of Fe and Zn. Similarly, V did not exert any effect on micronutrient concentrations in soybean [38]. In pennyroyal (*Mentha pulegium*), the concentrations of Fe and Zn decreased in leaves and stems with the application of V, while in roots the Fe concentration increased and Zn concentration was not altered [12]. In basil leaves, the Fe concentration decreased as the level of V increased, but the Zn concentration was not changed. No effects were reported in stems with regard to Fe or Zn, while in roots increasing V doses gradually decreased the Fe and Zn concentrations [55].

Vanadium concentrations tested in the present study did not affect the concentrations of Cu and B in leaves. In stems, the concentration of these two elements increased with the application of 5 and 10 μM V. In roots, the concentrations of Cu and B only increased with 15 μM V. Similar results were observed in the B concentration in higher leaves of soybean, while the Cu concentration was not affected by V in roots and leaves [54].

In the present study, the Mn concentration in leaves decreased by 33% with 15 μM V. In stems, this variable increased by more than double with the 5 and 10 μM V treatments. In roots, there were no significant differences between treatments. In soybean roots and leaves, there were also no significant changes in Mn concentrations from the application of V [38]. In pennyroyal, the application of 5 mg L^{-1} decreased the Mn concentrations in both leaves and stems, but there were no effects from V in roots [12]. In basil leaves, stems, and roots, no changes were reported in the Mn concentrations as a result of V applications [55].

The V concentration in leaves was statistically similar in all treatments, including the control. In stems, the V concentration increased as the applied dose increased, while in roots the V concentration was drastically superior, compared to the control. In pennyroyal [12] and basil [56], V concentrations in leaves were similar to those of the control with the application of 5, 10, and 20 mg L^{-1} V. In stems, V concentration decreased as the applied V dose increased, contrary to what happens in the roots. In general, there was a higher V concentration in leaves, followed by roots, and less so in stems (leaves>roots>stems). These results differ

from those reported in pennyroyal (roots>stems>leaves) [12], soybean (roots>leaves) [38], common bean (roots>leaves) [39], swamp morning glory (roots>leaves>stems) [42], and basil (roots>leaves>stems) [55], where a higher concentration of V was reported in roots in comparison to leaves. These findings indicate that different plant species have different V absorption and mobilization capacities, as well as diverse response mechanisms to the same stimulus (V). However, further studies are still required in order to elucidate the physiological, biochemical, and molecular mechanisms that are activated in response to the application of different V concentrations and sources, in different plant genotypes. As a biostimulant that can cause hormetic effects in plant and animal cells, it is important to study the levels of accumulation that this element can reach in edible organs and determine the thresholds between its beneficial and toxic properties. Moreover, given its therapeutic, metabolic, and enzymatic importance, future studies should focus their efforts on assessing its potential in biofortification processes of important agricultural crops. In any case, the impact of V on the environment and the levels of accumulation that it can reach in soil and water must be determined to ensure its proper use.

2.7. Conclusions

The application of 5 μM V increased plant height, stem diameter, number of leaves and flower buds, root volume, and weight of fresh and dry biomass of pepper plants. However, at higher applied concentrations (i.e. 10 and 15 μM V), this element had negative effects on the plant. Moreover, the application of this element at low concentrations stimulated the concentration of chlorophylls in the leaves, as well as amino acids and sugars in leaves and roots. Negative effects of V were only found in the K concentrations in leaves, while high levels of V (15 μM) negatively modified the concentrations of Mg and Mn in leaves. Other nutrients, like Fe and Mn, were not changed in any of the organs evaluated. The rest of the essential nutrients analyzed in the different plant organs had a synergic effect with V, especially with 5 μM in stems and 15 μM in roots. Also, the low concentration of V (5 μM) accelerated the flowering process and increased the number of flower buds. Given the stimulating effect of V on pepper plant growth and development during the vegetative stage and beginning of flowering, the present study proves that V can function as a beneficial

element and have potential use improving the production of agricultural crops. Physiological, biochemical, and genomic approaches would further elucidate novel mechanisms of action and support the extensive use of V in plants, as well as its potential use in biostimulation and biofortification strategies. These possibilities await further studies.

2.8. References

1. Baken S, Larsson MA, Gustafsson JP, Cubadda F, Smolders E. Ageing of vanadium in soils and consequences for bioavailability. *Eur J Soil Sci.* 2012; 63: 839–847. doi: 10.1111/j.1365-2389.2012.01491.x
2. Yang J, Tang Y, Yang K, Rouff AA, Elzinga EJ, Huang JH. Leaching characteristics of vanadium in mine tailings and soils near a vanadium titanomagnetite mining site. *J Hazard Mater.* 2014; 264: 498–504
3. Tian L-Y, Yang J-Y, Huang JH. Uptake and speciation of vanadium in the rhizosphere soils of rape (*Brassica juncea* L.) *Environ Sci Pollut Res.* 2015; 22: 9215–9223. doi: 10.1007/s11356-014-4031-0
4. Witz G, Osmond F. Essai sur l'application des propriétés de l'oxycellulose au dosage du vanadium. *Bull Soc Chim.* 1886; 2: 309–314
5. Bertrand G. The biogeochemistry of vanadium. *Bull Am Museum Nat Hist.* 1950; 94: 409–455
6. Larsson MA, Baken S, Gustafsson JP, Hadialhejazi G, Smolders E. Vanadium bioavailability and toxicity to soil microorganisms and plants. *Environ Toxicol Chem.* 2013; 32: 2266–2273. doi: 10.1002/etc.2322
7. Welch RM. Vanadium uptake by plants. Absorption kinetics and the effects of pH, metabolic inhibitor, and other anions and cations. *Plant Physiol.* 1973; 51: 828–832
8. Delfert DM, McDonald JM. Vanadyl and vanadate inhibit Ca^{2+} transport systems of the adipocyte plasma membrane and endoplasmic reticulum. *Arch Biochem Biophys.* 1985; 241: 665–672. doi: 10.1016/0003-9861(85)90593-4
9. Bode HP, Friebel C, Furhmann F. Vanadium uptake by yeast cells. *BBA-Biomembranes.* 1990; 1022: 163–170. doi: 10.1016/0005-2736(90)90110-A

10. Singh BB. Effect of vanadium on the growth, yield and chemical composition of maize (*Zea mays* L.). *Plant Soil*. 1971; 34: 209–212. doi: 10.1007/BF01372773
11. Basiouny FM. Distribution of vanadium and its influence on chlorophyll formation and iron metabolism in tomato plants. *Plant Nutr*. 1984; 7: 1059–1073. doi: 10.1080/01904168409363265
12. Akoumianaki-Ioannidou A, Barouchas PE, Kyramariou A, Iliia E, Moustakas NK. Effect of vanadium on dry matter and nutrient concentration in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.). *Bull UASVM Hort*. 2015; 72: 295–298
13. Wang H, Wang T, You L, Zhong G, Shi G. Effects of vanadate supply on plant growth, Cu accumulation, and antioxidant capacities in *Triticum aestivum* L. *Environ Geochem Health*. 2013; 35:585–592. doi: 10.1007/s10653-013-9541-z
14. Hu Y, Lee CC, Ribbe WM. Vanadium nitrogenase: a two-hit wonder? *Dalton Trans*. 2012; 28: 41: doi:10.1039/c1dt11535a
15. Akabayov SR, Akabayov B. Vanadate in structural biology. *Inorg Chim Acta*. 2014; 420: 16–23. doi: 10.1016/j.ica.2014.02.010
16. Venkataraman BV, Sudha S. Vanadium toxicity. *Asian J Exp Sci*. 2005; 19: 127–134
17. Thompson KH, Orvig C. Vanadium in diabetes: 100 years from Phase 0 to Phase I. *J Inorg Biochem*. 2006; 100: 1925–1935. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2006.08.016
18. Heyliger CE, Tahiliani AG, McNeill JH. Effect of vanadate on elevated blood glucose and depressed cardiac performance of diabetic rats. *Science*. 1985; 227: 1474–1477. doi: 10.1126/science.3156405
19. Soveid M, Dehghani GA, Omrani GR. Long-term efficacy and safety of vanadium in the treatment of type 1 diabetes. *Arch Iran Med*. 2013; 16: 408–411. doi: 013167/AIM.009
20. Rehder D. The role of vanadium in biology. *Metallomics*. 2015; 7: 730–742. doi: 10.1039/c4mt00304g
21. Chongkid B, Vachirapatama N, Jirakiattikul Y. Effects of V on rice growth and vanadium accumulation in rice tissues. *Kasetsart J (NatSci)*. 2007; 41: 28–33
22. Vincent JB. Beneficial effects of chromium (III) and vanadium supplements in diabetes. In: Bagchi D, Sreejayan N, editors. *Nutrition and therapeutic interventions*

- for diabetes and metabolic syndrome. San Diego: Academic Press; 2012. pp. 381–392
23. Vachirapatama N, Jirakiattikul Y, Dicinoski G, Townsend AT and Haddad PR. Effect of vanadium on plant growth and its accumulation in plant tissues. *Songklanakarini J Sci Technol.* 2011; 33: 255–261
 24. Azofeifa A, Moreira M. Absorción y distribución de nutrimentos en plantas de chile dulce (*Capsicum annuum* cv. UCR 589) en Alajuela, Costa Rica *Agron Costar.* 2005; 29: 77–84
 25. Geiger M, Walch-Liu P, Engels C, Harnecker J, Schulze ED, Ludewig F, Sonnewald U, Scheible WR, and Stitt M. Enhanced carbon dioxide leads to a modified diurnal rhythm of nitrate reductase activity in older plants, and a large stimulation of nitrate reductase activity and higher levels of amino acids in young tobacco plants. *Plant Cell Environ.* 1998; 21: 253–268. doi:10.1046/j.1365-3040.1998.00277.x
 26. Moore S, Stein WH. A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. *J Biol Chem.* 1954; 211: 907–913
 27. Bremner J M. Total nitrogen. *Agronomy.* 1965; 9: 1149–1178
 28. Alcántar GG, Sandoval MV. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Publicación Especial. Núm. 10. SMCS. 1999. Chapingo, Mexico
 29. SAS. Institute Inc. SAS/STAT Users Guide. Version 9.3. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA. 2011
 30. Pilon-Smits AHE, Quinn FC, Tapken W, Malagoli M, Schiavon M. Physiological functions of beneficial elements. *Curr Opin Plant Biol.* 2009; 12: 267–274. doi: 10.1016/j.pbi.2009.04.009
 31. Tang YT, Qiu RL, Zeng XW, Ying RR, Yu FM, Zhou XY. Lead, zinc, cadmium hyperaccumulation and growth stimulation in *Arabis paniculate* Franch. *Environ Exp Bot.* 2009; 66: 126–134. doi: 10.1016/j.envexpbot.2008.12.016
 32. Garau G, Palma A, Lauro PG, Mele E, Senette C, Manunza B, Deianal S. Detoxification processes from vanadate at the root apoplasm activated by caffeic and polygalacturonic acids. *PLOS ONE.* 2015; 10: e0141041. doi: 10.1371/journal.pone.0141041

33. Emadian SF, Newton RJ. Growth enhancement of loblolly pine (*Pinus taeda* L.) seedlings by silicon. *Plant Physiol.* 1989; 134: 98–103. doi: 10.1016/S0176-1617(89)80209-3
34. Gresser MJ, Tracey AS. Vanadates as phosphate analogs in biochemistry. In: Chasteen ND, editor. *Vanadium in biological systems. Physiology and biochemistry.* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1990. pp. 63–80.
35. Harland BF, Harden-Williams BA. Is vanadium of human nutritional importance yet? *J Am Diet Assoc.* 1994; 94: 891–894
36. Olness A, Gesch R, Forcella F, Archer D, Rinke J. Importance of vanadium and nutrient ionic ratios on the development of hydroponically grown cuphea. *Ind Crop Prod.* 2005; 21: 165–171
37. Marcano L, Carruyo I, Fernández Y, Montiel X, Torrealba Z. Determination of vanadium accumulation in onion root cells (*Allium cepa* L.) and its correlation with toxicity. *Biocell.* 2006; 30: 259–267
38. Kaplan DI, Adriano DC, Carlson CL, Sajwan KS. Vanadium: toxicity and accumulation by beans. *Water Air Soil Poll.* 1990; 49: 81–91. doi: 10.1007/BF00279512
39. Saco D, Martin S, San Jose P. Vanadium distribution in roots and leaves of *Phaseolus vulgaris*: Morphological and ultrastructural effects. *Biol Plant.* 2013; 57: 128–132. doi: 10.1007/s10535-012-0133-z
40. Lin C-Y, Trinh NN, Lin C-W, Huang H-J. Transcriptome analysis of phytohormone, transporters and signaling pathways in response to vanadium stress in rice roots. *Plant Physiol Bioch.* 2013; 66: 98–104. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.02.007
41. Imtiaz M, Mushtaq MA, Rizwan MS, Arif MS, Yousaf B, Ashraf M, Shuanglian X, Rizwan M, Mehmood S, Tu S. Comparison of antioxidant enzyme activities and DNA damage in chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes exposed to vanadium. *Environ Sci Pollut Res.* 2016; 23: 19787–19796. doi 10.1007/s11356-016-7192-1
42. Chen T, Li TQ, Yang JY. Damage suffered by swamp morning glory (*Ipomoea aquatic* Forsk) exposed to vanadium (V). *Environ Toxicol Chem.* 2016; 35: 695–701. doi: 10.1002/etc.3226

43. Thompson KH, McNeill JH, Orvig C. Vanadium compounds as insulin mimics. *Chem Rev.* 1999; 99: 2561–2571. doi: 10.1021/cr980427c
44. Domingo JL. Vanadium: A review of the reproductive and developmental toxicity. *Reprod Toxicol.* 1996; 10: 175–182. doi: 10.1016/0890-6238(96)00019-6
45. Mukherjee B, Patra B, Mahapatra S, Banerjee P, Tiwari A, Chatterjee M. Vanadium: An element of atypical biological significance. *Toxicol Let.* 2004; 150: 135–143. doi: 10.1016/j.toxlet.2004.01.009
46. Stemmler AJ, Burrows CJ. Guanine versus deoxyribose damage in DNA oxidation mediated by vanadium (IV) and vanadium (V) complexes. *J Biol Inorg Chem.* 2001; 6: 100–106
47. Gil J, Alvarez CE, Martinez MC, Pérez N. Effect of vanadium on lettuce growth, cationic nutrition, and yield. *J Environ Sci Health.* 1994; 30: 73–87. doi: 10.1080/10934529509376186
48. Singh B, Wort DJ. Effect of vanadium on growth, chemical composition, and metabolic processes of mature sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants. *Plant Physiol.* 1969; 44: 1321–1327. doi: 10.1104/pp.44.9.1321
49. Smith PG, Boutin C, Knopper L. Vanadium Pentoxide phytotoxicity: effects of species selection and nutrient concentration. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2013; 64: 87–96. doi:10.1007/s00244-012-9806-z
50. Lin C-Y, Huang L-Y, Chi W-C, Huang T-L, Kakimoto T, Tsai C-R, Huang H-J. Pathways involved in vanadate-induced root hair formation in *Arabidopsis*. *Physiol Plant.* 2015; 153: 137–148. doi: 10.1111/ppl.12229
51. Imtiaz M, RizwanMS, Mushtaq MA, Yousaf B, Ashraf M, Ali M, Yousuf A, Rizwana M, Din M, Dai Z, Xiong S, Mehmood S, Tu S. Interactive effects of vanadium and phosphorus on their uptake, growth and heat shock proteins in chickpea genotypes under hydroponic conditions. *Environ Exp Bot.* 2017; 134: 72–81. doi: 10.1016/j.envexpbot.2016.11.003
52. Wang JF, Liu Z. Effect of vanadium on the growth of soybean seedlings. *Plant Soil.* 1999; 216: 47–51. doi: 10.1023/A:1004723509113

53. Imtiaz M, Tu S, Xie Z, Han D, Ashraf M, Rizwan MS. Growth, V uptake, and antioxidant enzymes responses of chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes under vanadium stress. *Plant Soil*. 2015; 390: 17–27. doi: 10.1007/s11104-014-2341-0
54. Sozudogru S, Kutuk AC, Halilova H. Effects of vanadium on the growth, chlorophyll, and mineral content of soybean (*Glycine max* [L.] Merr). *Ciencia*. 2001; 9: 88–95
55. Akoumianaki-Ioannidou A, Barouchas PE, Ilia E, Kyramariou A, Moustakas NK. Effect of vanadium on dry matter and nutrient concentration in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Austral J Crop Sci*. 2016; 10: 199–206
56. Meisch H-U, Bielig H-J. Effect of vanadium on growth, chlorophyll formation and iron metabolism in unicellular green algae. *Arch Microbiol*. 1975; 105: 77–82. doi: 10.1007/BF00447117
57. Hanzawa Y, Money T, Bradley D. A single amino acid converts a repressor to an activator of flowering. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102: 7748–7753. doi: 10.1073/pnas.0500932102
58. Bishayee A, Waghay A, Patel MA, Chatterjee M. Vanadium in the detection, prevention and treatment of cancer: The *in vivo* evidence. *Cancer Lett*. 2010; 294: 1–12. doi: 10.1016/j.canlet.2010.01.030
59. Aureliano M, Henao F, Tiago T, Duarte RO, Moura JJ, Baruah B, Crans DC. Sarcoplasmic reticulum calcium ATPase is inhibited by organic vanadium coordination compounds: pyridine-2,6-dicarboxylatodioxovanadium(V), BMOV, and an amavadine analogue. *Inorg Chem*. 2008; 47: 5677–56784. doi: 10.1021/ic702405d

CAPÍTULO 3. EL SILICIO ESTIMULA EL CRECIMIENTO Y LA BIOSÍNTESIS DE ALGUNAS BIOMOLÉCULAS VITALES EN PIMIENTO

3.1. Resumen

El silicio (Si) es un elemento benéfico que ha mostrado influir positivamente en el desarrollo de plantas monocotiledóneas que crecen en condiciones normales, en tanto que en dicotiledóneas su efecto ha sido evidente cuando éstas están expuestas a algún tipo de estrés de naturaleza biótica o abiótica. En este estudio evaluamos el efecto del Si en el crecimiento, concentración de clorofilas, aminoácidos totales, azúcares totales y el estatus nutrimental de plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Se hizo un experimento en un diseño completamente al azar en un sistema hidropónico, en el que se aplicaron tres concentraciones de Si: 60, 125 y 250 mg L⁻¹ en forma de silicato de calcio (CaSiO₃). La aplicación de Si mejoró el crecimiento de la parte aérea de la planta de pimiento con los tres niveles evaluados, mientras que en raíz disminuyó conforme incrementó la concentración de Si. El peso de biomasa fresca y seca de hojas y raíces no fue afectado por los tratamientos probados, como tampoco lo fue la concentración de nutrientes en hojas. La relación de clorofila *a/b* en hojas y tallos fue mayor en el tratamiento de 250 mg L⁻¹ Si. La concentración de aminoácidos en hojas disminuyó a medida que aumentó la concentración de Si. En raíces el contenido de aminoácidos en los tratamientos con 60 y 250 mg L⁻¹ Si registraron los mayores valores. La aplicación de 125 mg L⁻¹ Si estimuló el desarrollo de hojas y flores, así como la concentración de clorofila *a* en hojas, y el contenido de clorofila *b* y aminoácidos en tallos. Aunado a lo anterior, este elemento es considerado benéfico para bioestimular el desarrollo y rendimiento del pimiento.

Palabras clave: Dicotyledons, Solanaceae, *Capsicum annuum*, plant nutrition, beneficial elements, Si, biostimulation, plant growth.

3.2. Introducción

El silicio (Si) es el segundo elemento más abundante en la corteza terrestre, solo después del oxígeno (O). En la naturaleza el Si se encuentra en formas combinadas como los silicatos y minerales siliconados, en los cuales el silicio está combinado con oxígeno o elementos como Al, Mg, Ca, Na, Fe, K, principalmente, en más del 95% de las rocas terrestres, los meteoritos, las aguas y en la atmósfera [1]. En las plantas el Si sólo puede ser absorbido en forma de ácido monosilícico $[\text{Si}(\text{OH})_4]$, y es transportado y depositado principalmente en el apoplasto de la célula. Generalmente las concentraciones de Si en plantas oscilan entre 0.1-10 % de la materia seca total [2].

La absorción del Si puede ocasionar efectos benéficos para algunas especies vegetales, principalmente de las familias Cyperaceae y Gramineae, y 7 de los 10 cultivos más importantes son considerados acumuladores de Si, entre ellos están arroz (*Oryza sativa*), trigo (*Triticum aestivum*), remolacha azucarera (*Brassica vulgaris*), cebada (*Hordeum vulgare*), tomate (*Solanum lycopersicum*), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y soya (*Glycine max*). [3]. Los principales efectos positivos del Si son evidentes cuando las plantas son sometidas a condiciones de estrés de tipo biótico o abiótico, durante las cuales el Si podría detonar diversas rutas de señalización de defensa [4], lo que ha promovido su uso en sistemas hidropónicos y aplicaciones foliares [5]. De hecho, está bien demostrado que el Si puede atenuar o incluso suprimir el estrés por salinidad y sequía [6]. Además, el Si puede incrementar la absorción de elementos esenciales en condiciones de deficiencias nutrimentales [7], e inhibir la acumulación de sustancias tóxicas como putrescinas y especies reactivas de oxígeno, las cuales se incrementan en respuesta a deficiencias nutrimentales [8]. El Si también puede incrementar la resistencia al ataque de insectos plagas, hongos y bacterias fitopatógenas; evita la toxicidad metálica, el daño por radiación y el desequilibrio de nutrientes [9]. De forma general, el Si puede detonar mecanismos de resistencia o tolerancia a condiciones de estrés a través de la regulación de genes involucrados en procesos fotosintéticos, absorción y uso del agua, transcripción, metabolismo secundario, y biosíntesis de poliaminas [5], e incluso aquellos encargados de la absorción de ácido silícico [10].

Es común encontrar contenidos elevados de Si en las plantas [11], pero muchas no tienen la capacidad de acumular suficientes cantidades que le permita cumplir sus funciones fisiológicas, esto debido a la falta de un sistema eficiente de transporte [12].

En diversos cultivos hortícolas se ha reportado el efecto positivo del Si como bioestimulante [13], aunque a la fecha no se conocen a detalle los mecanismos por los que este elemento puede estimular el metabolismo vegetal en plantas que crecen en condiciones normales, con estar éstos sometidos a estrés [14, 15]. En el presente trabajo se tuvo como objetivo evaluar el efecto de niveles crecientes de Si vía solución nutritiva en plantas de pimiento.

3.3. Materiales y métodos

3.3.1. Material vegetal y condiciones de crecimiento

El experimento fue conducido en un invernadero en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, México, con temperatura promedio de 26 °C, 60% de HR y un fotoperiodo de 12h/12 h (luz/oscuridad). Se germinaron semillas de pimiento (*Capsicum annuum* L. cv Misterio F1) en charolas de polipropileno de 200 cavidades con sustrato peat moss (Growing Mix, Theriault & Hachey Peat Moss Ltd; Baie-Sainte-Anne, NB, Canadá). Plántulas de 30 d fueron trasplantadas en contenedores de plástico de 35 L. Los nutrimentos se aplicaron con la solución nutritiva de Steiner al 20 %, misma que contenía: 1.8 mM Ca(NO₃)₂ 4H₂O, 0.8 mM MgSO₄ 7H₂O, 0.2 mM KH₂PO₄, 0.6 mM KNO₃, 0.6 mM K₂SO₄, 89.31 µM Fe, 42.37 µM Mn, 7.12 µM Zn, 39.98 µM B, 2.93 µM Cu, 1.80 µM Mo) (Tradecorp AZ; Guadalajara, Jalisco, México).

A los siete días después del trasplante la solución nutritiva fue renovada completamente y los tratamientos evaluados fueron agregados. Los tratamientos consistieron en 60, 125 y 250 mg L⁻¹ Si (CaSiO₃) (Sigma-Aldrich; St. Louis, MO, USA); además de un control (solución nutritiva sin Si).

Se utilizó un sistema de oxigenación de la solución nutritiva con periodicidad de 2 h y duración de 15 min. El pH de la solución fue ajustado a 5.5 utilizando NaOH 1N y H₂SO₄ concentrado. Cada siete días la solución nutritiva fue remplazada completamente.

Las unidades experimentales representadas por una planta fueron aleatorizadas en un diseño experimental completamente al azar, donde cada tratamiento fue repetido 12 veces.

3.4. Mediciones fisiológicas y bioquímicas

3.4.1. Evaluación del crecimiento y desarrollo de la planta

La altura de la planta y la longitud de raíces fueron evaluadas a los 7, 14, 21 y 28 d después de la aplicación de los tratamientos. La altura de la planta fue evaluada desde la base del tallo hasta el ápice de crecimiento y para la longitud de la raíz se midió desde la base del tallo hasta la punta de la raíz principal. El número de hojas, botones florales, diámetro de tallo, volumen de raíces, área foliar, peso de la biomasa fresca y seca de raíces, tallos, hojas y flores se evaluaron a los 28 d después del inicio de los tratamientos. El diámetro de tallo se midió en la base con un vernier electrónico. Para determinar el volumen de raíces se utilizó el método de desplazamiento de agua. El área foliar se midió con un integrador de área foliar (LI-3000A, LI-COR; Lincoln, NE, USA). El peso de la biomasa fresca y seca se obtuvo al fraccionar los órganos de cada planta (raíces, tallos, hojas y flores) y posteriormente fueron pesados por separado en una balanza analítica Pro AV213C (Adventurer Ohaus; Parsippany, NJ, USA). El peso de la biomasa seca se obtuvo al secar los órganos en una estufa de circulación de aire forzado (HCF-125D, Riossa; Monterrey, Nuevo León, México) a 70 °C por 48 h, y pesarlos en la balanza analítica Pro AV213C.

3.4.2. Evaluación de la concentración de clorofila *a*, *b* y total de hojas y tallos

La concentración de clorofila se determinó por el método de Harborne [16]. Se pesaron 60 mg de material vegetal macerado y se mezcló una primera vez con 1500 µL de etanol al 80% (v/v), una segunda vez con etanol al 80% y una tercera con etanol al 50%. Las muestras obtenidas se incubaron en baño maría a 80 °C durante 20 min. Posteriormente se centrifugaron a 14000 rpm durante 5 min para obtener la separación de fases. De la fase líquida colectada de la triple extracción etanólica se tomaron 488 µL, se mezclaron con 1275 µL de etanol al 98% (v/v) y se leyeron en un espectrofotómetro 6715 UV/Vis (Jenway;

Staffordshire, UK) a 645 y 665 nm. Para esta medición se realizaron cuatro réplicas biológicas independientes por tratamiento con dos réplicas técnicas. Las fórmulas utilizadas para determinar las clorofilas *a* y *b* fueron las siguientes:

$$\text{Clorofila } a \text{ (}\mu\text{g/mg peso fresco)} = (5.46 \times \text{Abs}_{665}) - (2.16 \times \text{Abs}_{645})$$

$$\text{Clorofila } b \text{ (}\mu\text{g/mg peso fresco)} = (9.67 \times \text{Abs}_{645}) - (3.04 \times \text{Abs}_{665})$$

3.4.3. Evaluación de aminoácidos totales en hojas, tallos y raíces

Para la concentración de aminoácidos se utilizó el método de ninhidrina [17]. Se tomaron 500 μL de la triple extracción etanólica y se mezclaron con 500 μL de solución amortiguadora de citrato de sodio - ácido ascórbico (0.2% w/v) donde el citrato de sodio contenía 16 mM de ácido cítrico y 34 mM de citrato de sodio a un pH de 5.2, además se agregó 1000 μL de ninhidrina (1% w/v) en etanol al 70% (v/v), las muestras se incubaron en baño María a 95 °C durante 20 min y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Se utilizó leucina (10 mM en etanol 70%) para obtener la curva de calibración. Para la lectura se utilizó el espectrofotómetro 6715 UV/Vis a 570 nm. Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento con dos réplicas técnicas.

3.4.4. Azúcares solubles totales en hojas, tallos y raíces

Las concentraciones de azúcares solubles totales se determinaron de acuerdo al protocolo descrito por Southgate [18]. Se pesaron 0.5 g de material vegetal fresco y la extracción se realizó en 50 mL de etanol 80 % en ebullición (125 °C), utilizando una plancha de calentamiento (Corning; Nueva York, USA). El extracto obtenido se filtró y aforó a un volumen de 20 mL. Posteriormente se tomó 500 μL de las muestras aforadas y se mezcló con 500 μL de etanol al 80%. Se añadieron 5 mL de Antrona (Meyer; Querétaro, México) estando las muestras en hielo, posteriormente se pusieron en baño María a 95 °C, transcurridos 15 min se colocaron en hielo nuevamente. Se realizó una curva estándar con glucosa (Sigma-Aldrich) y se leyeron las muestras a 620 nm en un espectrofotómetro (6715 UV/Vis, Jenway, Staffordshire, UK). Para esta determinación se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento con dos réplicas técnicas.

3.4.5. Análisis nutrimental

La concentración nutrimental (N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, B, y Si) se determinó en la biomasa seca de hojas, tallos y raíces. Para N se utilizó el método de semimicro-Kjeldahl [19]. Para la determinación de P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, B, y Si se utilizó una digestión húmeda con la mezcla de ácido perclórico y nítrico [20], posteriormente las muestras fueron analizadas en un equipo de espectroscopia de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES, Agilent 725-OES, Australia).

3.5. Análisis estadístico

Se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Bartlett ($P > 0.05$), respectivamente. Cuando alguno de estos supuestos no se cumplió se realizó una transformación logarítmica, aunque los datos son mostrados sin transformar. Posteriormente se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA). Cuando se presentaron diferencias estadísticas se realizó una separación de medias con el método de Duncan con significancia de $\alpha = 0.05$. Para todos los análisis se utilizó el programa SAS 9.0 (SAS Institute; Cary, NC, USA).

3.6. Resultados

3.6.1. Crecimiento y desarrollo de planta

Plantas de 37 d de edad fueron sometidas a 60, 125 y 250 mg L⁻¹ Si. A los siete días posteriores a la aplicación de los tratamientos, la altura de la planta fue significativamente mayor al control con la aplicación de 60 y 250 mg L⁻¹ Si, mientras que a los 14 d no hubo diferencias significativas entre tratamientos. A los 21 d se observó que la altura se incrementó significativamente en los tratamientos con las concentraciones mayores de Si (125 y 250 mg L⁻¹), en cambio entre el control y el tratamiento con 60 mg L⁻¹ no hubo diferencias significativas (Figura 3.1 a). En la última evaluación las plantas crecidas con 125 mg L⁻¹ Si obtuvieron la mayor altura, sin presentarse diferencias significativas con los demás

tratamientos con Si (Figure 3.2 a, b, c, d), mientras que con en el control se registró la menor altura pero sin ser estadísticamente diferente a 60 y 250 mg L⁻¹ Si (Figura 2.1 a).

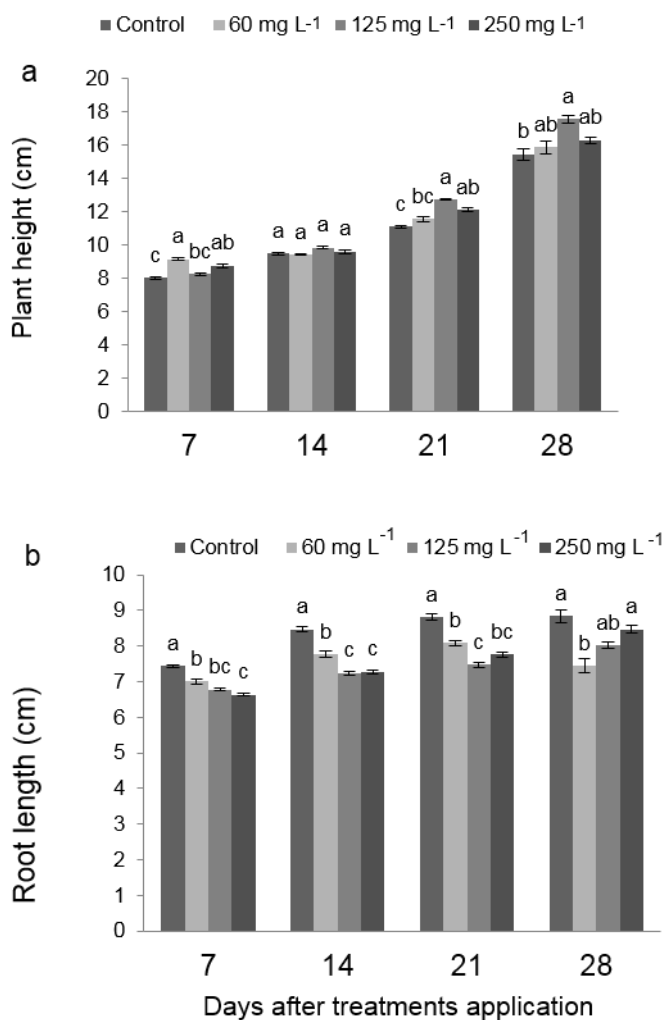


Figura 3.1. Altura de la planta (a) y longitud de raíz (b) de plantas de pimiento crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de Si. Barras de error indican desviación estándar. Columnas con diferente letra son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$).

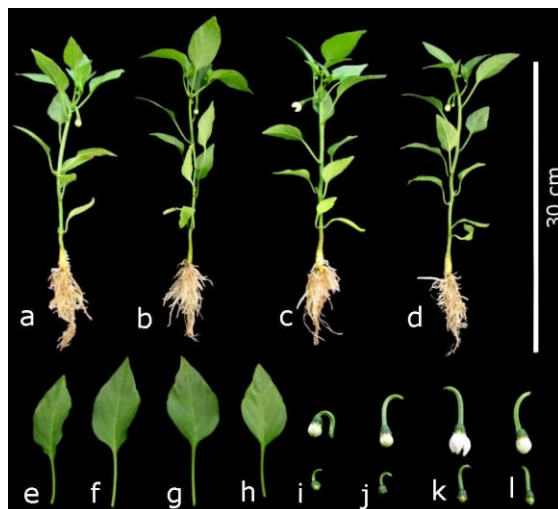


Figura 3.2. Imagen representativa del desarrollo de plantas de pimienta a los 28 d después del inicio de los tratamientos: (a, e, i) control, (b, f, j) 60 mg L⁻¹, (c, g, k) 125 mg L⁻¹, (d, h, l) 250 mg L⁻¹ Si.

A diferencia de la altura, la longitud de la raíz de las plantas control fue superior al resto de los tratamientos a los 7, 14 y 21 d del inicio de tratamientos. A los 28 d con la aplicación de 125 y 250 mg L⁻¹ se obtuvieron raíces significativamente más largas que con 60 mg L⁻¹, pero tal incremento no fue estadísticamente significativo, con respecto al control (Figura 3.1 b).

A medida que aumentó la concentración de Si, disminuyó el diámetro del tallo, obteniéndose el máximo valor con 60 mg L⁻¹, sin ser diferente estadísticamente al efecto de 125 mg L⁻¹ y del control (Figura 3.3 a). El número de hojas por planta no fue afectado de forma significativa por los tratamientos estudiados (Figura 3.3 b); no obstante, el tratamiento con 125 mg L⁻¹ tuvo 9% más hojas que el control.

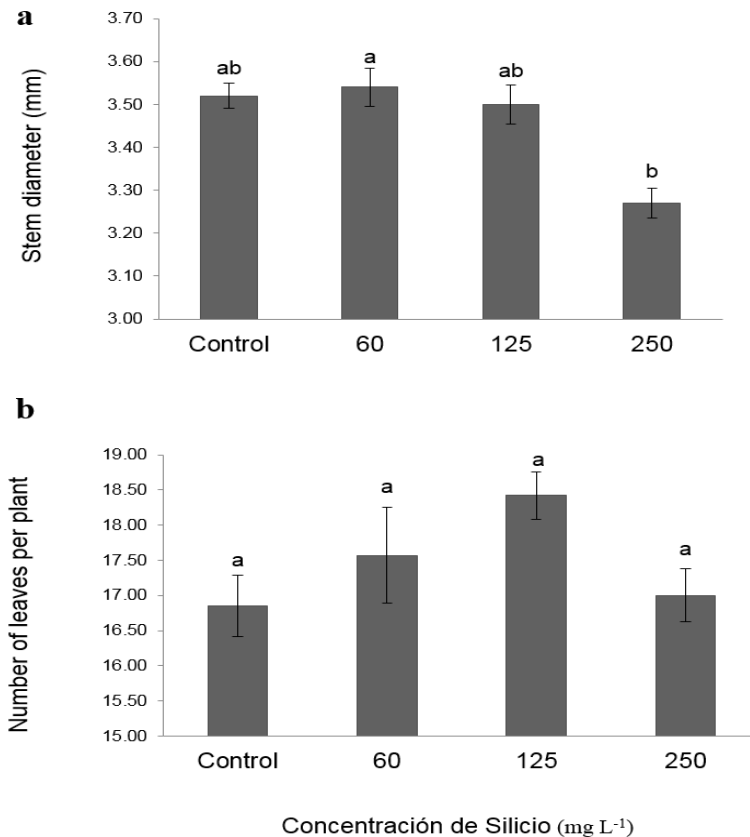


Figura 3.3. Diámetro del tallo (a) y número de hojas (b) en plantas de pimienta crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de Si (mg L⁻¹) durante 28 d. Barras de error indican desviación estándar. Columnas con diferente letra son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$).

No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos con Si y el control en el volumen de raíces, número de botones florales por planta, peso de biomasa fresca y seca de flores (Tabla 3.1). Por otro lado, con la aplicación de 125 mg L⁻¹ Si, las plantas desarrollaron hojas más grandes que en los demás tratamientos incluido el control (Figuras 3.2 e, f, g, h), dicho resultado se expresó en el área foliar, ya que las hojas de este tratamiento obtuvieron la mayor área pero sin ser significativamente diferente al compararse con 250 mg L⁻¹ Si, mientras que las hojas del control y 60 mg L⁻¹ Si presentaron un área similar entre ellas, y menor que los tratamientos con 125 y 250 mg L⁻¹ Si (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Efecto de diferentes concentraciones de Si sobre volumen de raíces, área foliar, botones florales, peso de biomasa fresca y seca de flores en plantas de pimiento crecidas durante 28 d en los tratamientos.

Tratamiento	Volumen de raíces (mL)	Área foliar (cm ²)	Botones florales	Peso de biomasa fresca de flores (mg)	Peso de biomasa seca de flores (mg)
Control	2.20 ± 0.06 a	50.85 ± 1.19 b	3.50 ± 0.11 a	131.25 ± 8.41 a	17.73 ± 1.67 a
60 mg L ⁻¹	1.80 ± 0.10 a	50.80 ± 1.32 b	4.80 ± 0.34 a	210.25 ± 23.39 a	36.90 ± 5.65 a
125 mg L ⁻¹	2.00 ± 0.06 a	66.03 ± 3.61 a	4.50 ± 0.25 a	183.25 ± 5.31 a	32.43 ± 3.51 a
250 mg L ⁻¹	1.75 ± 0.06 a	54.73 ± 1.99 ab	4.10 ± 0.22 a	173.25 ± 8.38 a	32.65 ± 2.90 a
<i>P</i>	0.1792	0.1046	0.2991	0.2645	0.3305

Medias con letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Duncan, $\alpha = 0.05$).

Así mismo, a los 28 d después de la aplicación de tratamientos se observó que en 125 mg L⁻¹ Si el desarrollo de la floración fue más rápido que en los demás tratamientos; y aunque en los tratamientos 60 y 250 mg L⁻¹ Si aún no había flores, los botones florales tenían mayor tamaño que los del control (Figuras 3.2i, j, k, l).

El peso de biomasa fresca y seca de hojas y raíces no fue significativamente diferente entre tratamientos. Contrario a la biomasa fresca y seca de tallos donde el mayor peso se obtuvo en los tratamientos con Si, en tanto que en el control registró el menor peso, pero sin ser significativamente diferente a 60 y 250 mg L⁻¹ Si (Figura 3.4a, b). Con 125 mg L⁻¹ Si se obtuvo el mayor valor de biomasa fresca y seca de tallos, el cual mostró ser diferente estadísticamente al control. Este mismo tratamiento mostró los mayores valores en hojas y raíces, aunque en estos los incrementos no fueron estadísticamente significativos (Figura 3.4 a, b).

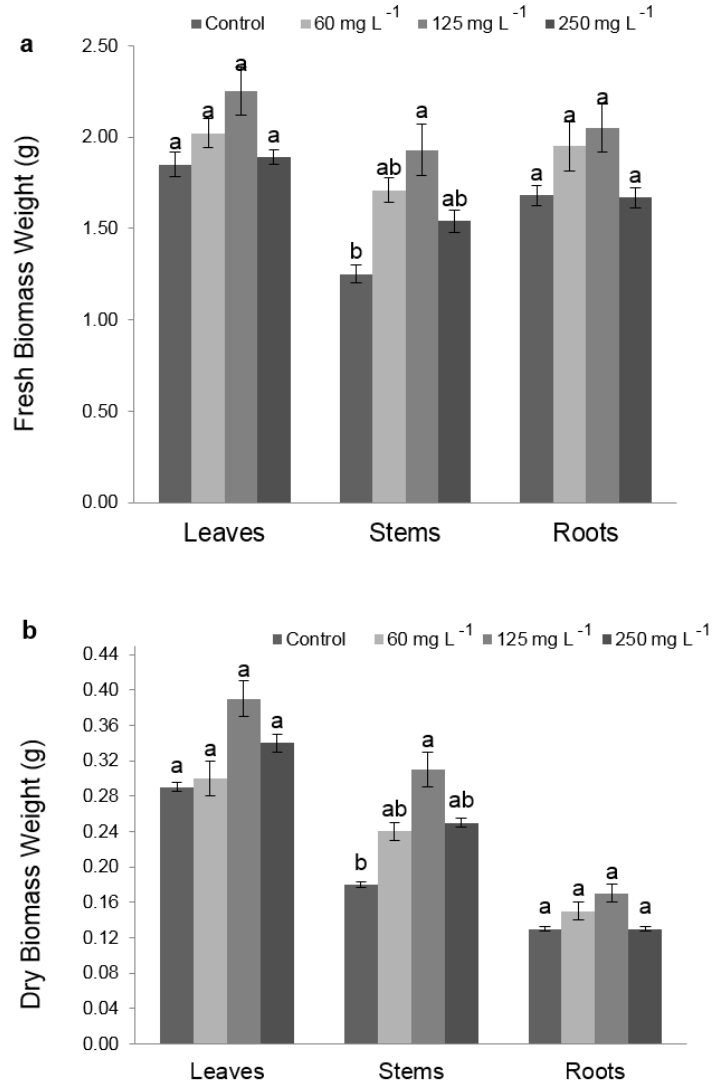


Figura 3.4. Peso de biomasa fresca (a) y seca (b) de hojas, tallos y raíces de plantas de chile de 65 d de edad, crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de Si, a los 28 d después del inicio de los tratamientos. Barras de error indican desviación estándar. Columnas con diferente letra son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$).

3.6.2. Concentración de clorofila en hojas y tallos

La clorofila *a* en hojas fue mayor con la aplicación de 125 mg L⁻¹ Si, y menor en el control y 250 mg L⁻¹ Si, los cuales no fueron diferentes entre sí. Resultados similares se encontraron en tallos, donde la aplicación de 125 mg L⁻¹ Si aumentó la concentración de clorofila, seguido del control y 250 mg L⁻¹ Si, mientras que 60 mg L⁻¹ Si redujo la concentración de este

pigmento. El contenido de clorofila *b* en hojas no fue significativamente diferente entre 60, 125 mg L⁻¹ Si y el control, y fue con la aplicación de 250 mg L⁻¹ Si que se obtuvo la menor concentración de clorofila. En tallos, la clorofila *b* fue mayor con la aplicación de 125 mg L⁻¹ Si, y nuevamente en el tratamiento 250 mg L⁻¹ Si se redujo la concentración de este pigmento aún más que el control. La clorofila total en hojas fue mayor con 125 mg L⁻¹ Si, mientras que la menor concentración se obtuvo con 250 mg L⁻¹ Si. Resultados similares se observó en el contenido de clorofila *b* en tallos, excepto que en esta ocasión el control fue el que presentó el menor contenido de este pigmento. Por otra parte, la relación clorofila *a/b* en hojas fue mayor en el tratamiento con la concentración más alta de Si (250 mg L⁻¹), y se observó que a medida que disminuyó la concentración de Si, también disminuyó el contenido de clorofila; del mismo modo, en tallos el mayor valor de la relación de clorofila *a/b* se obtuvo con 250 mg L⁻¹ Si, en tanto que en el resto de los tratamientos con Si y el control no se presentaron diferencias significativas (Tabla 3.2).

Tabla 3.2. Concentración de clorofila (mg g⁻¹ de biomasa fresca) en hojas y tallos de plantas de pimiento, después de 28 d de la aplicación de los tratamientos con silicio.

Clorofila	Órgano de la planta	Concentración de Si (mg L ⁻¹)				P
		Control (0)	60	125	250	
Clorofila <i>a</i>	Hojas	1513.73 ± 8.5c	1611.05 ± 3.2b	1691.16 ± 10.4a	1478.39 ± 7.7c	<0.0001
	Tallos	348.95 ± b	318.29 ± c	429.15 ± a	371.84 ± b	<0.0001
Clorofila <i>b</i>	Hojas	291.82 ± 6.2a	284.21 ± 5.5a	284.05 ± 7.7a	171.79 ± 2.6b	<0.0001
	Tallos	112.65 ± 1.7b	100.09 ± 3.9 bc	144.20 ± 1.3a	85.09 ± 2.1c	<0.0001
Clorofila total	Hojas	1805.55 ± 12.9c	1895.25 ± 8.2b	1975.21 ± 12.4a	1650.17 ± 10.1d	<0.0001
	Tallos	461.60 ± 4.3b	418.38 ± 4.0c	573.36 ± 7.5a	456.93 ± 2.3b	<0.0001
Clorofila <i>a/b</i>	Hojas	5.21 ± 0.09c	5.69 ± 0.2bc	6.0 ± 0.1b	8.62 ± 0.1a	<0.0001
	Tallos	3.10 ± 0.05b	3.24 ± 0.13b	2.97 ± 0.02b	4.40 ± 0.11a	0.0004

Medias ± EE. Medias con letras distintas en la misma fila indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Duncan, $\alpha = 0.05$).

3.6.3. Concentración de aminoácidos libres totales y azúcares solubles totales

La concentración de aminoácidos en hojas fue 42.9% mayor con 60 mg L⁻¹ Si respecto al control. Además, se observó que a medida que aumentó la concentración de Si disminuyó la concentración de aminoácidos, ya que los valores más bajos se registraron con 250 mg L⁻¹

de Si. Por el contrario, en tallos la concentración de aminoácidos disminuyó drásticamente con la aplicación de 60 mg L⁻¹ Si, en tanto que el control y 125 mg L⁻¹ Si obtuvieron los mayores valores sin presentar diferencias significativas entre sí. En las raíces, las plantas control obtuvieron el menor contenido de aminoácidos, mientras que en los tratamientos con 60 y 250 mg L⁻¹ Si se registraron los mayores valores (Figura 3.5a).

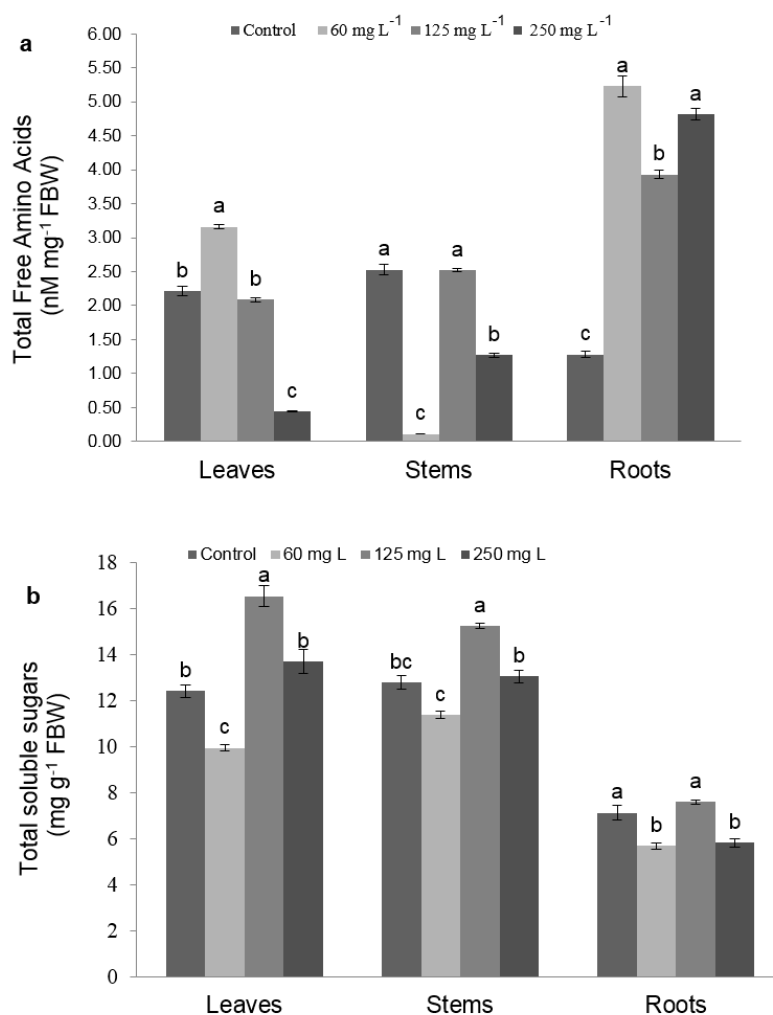


Figura 3.5. Concentración de aminoácidos libres totales (a) y azúcares solubles totales (b) en hojas, tallos y raíces de plantas de pimiento crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de Si durante 28 d. Barras de error indican desviación estándar. Columnas con diferente letra son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$). FBW: Fresh Biomass Weight.

Por otra parte, la concentración de azúcares de las plantas tratadas con 125 mg L⁻¹ Si, fueron superiores a las del control en 33.1%, en tanto que el tratamiento 250 mg L⁻¹ Si y el control no fueron diferentes entre sí. Del mismo modo, en tallos la concentración de azúcares en el tratamiento 125 mg L⁻¹ Si fue 19.5% superior al control, mientras que 60 y 250 mg L⁻¹ no fueron significativamente diferentes a este último. En las raíces, las plantas tratadas con 125 mg L⁻¹ Si registraron el mayor contenido de azúcares, sin ser significativamente diferente al control (Figura 3.5b).

3.6.4. Concentración de nutrimentos en hojas, tallos y raíces

La concentración de N, P, Ca, Fe, Cu y Co en hojas no fue significativamente diferente al control; por el contrario, la aplicación de 250 mg L⁻¹ Si, disminuyó el contenido de Mg en hojas, mientras que los demás tratamientos con Si no tuvieron diferencias con el control. De igual modo, se observó que en los tratamientos con Si disminuyó el contenido de Zn, y que la concentración de este elemento disminuyó a medida que aumentó la concentración de Si. El mismo efecto se observó en el contenido de Mn, siendo el control y 60 mg L⁻¹ Si, los tratamientos que obtuvieron el mayor contenido de este micro elemento en hojas. Así también, la menor concentración de B se registró en el tratamiento con la concentración más elevada de Si (Tabla 3.3).

En tallos, se observó que las concentraciones de P, K, Ca, Mg y B aumentaron con la aplicación de Si. En tanto, la concentración de N, Fe, Cu, Zn y Co no se alteró por el suministro de Si, es decir, no hubo diferencias estadísticas entre tratamientos. En cambio, la concentración de Mn fue superior con la aplicación de 60 mg L⁻¹ Si, y disminuyó conforme incrementó la dosis de Si. Al contrario, el B fue más abundante con 125 y 250 mg L⁻¹ Si, en tanto que 60 mg L⁻¹ Si no fue diferente al control (Tabla 3.3).

Por otra parte, la aplicación de Si no afectó los niveles de ninguno de los macronutrimentos ni los micronutrientes en raíces (Tabla 3.3).

Tabla 3.3. Efecto del silicio (Si) en la concentración de macro y micronutrientos en hojas, tallos y raíces de pimiento después de 28 d de la aplicación de los tratamientos.

Si (mg L ⁻¹)	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn	Mn	B
Hojas	g kg ⁻¹					mg kg ⁻¹				
0	34.91 ± 1.39a	4.35 ± 0.05a	12.82 ± 0.19a	15.66 ± 0.79a	6.60 ± 0.12ab	158.58 ± 3.76a	35.56 ± 1.52a	48.07 ± 0.82a	662.19 ± 9.96a	67.60 ± 1.12a
60	32.89 ± 1.87a	4.51 ± 0.11a	12.60 ± 0.36a	14.10 ± 0.34a	6.73 ± 0.14a	123.12 ± 0.76a	33.36 ± 0.60a	40.59 ± 0.48ab	587.70 ± 15.66a	64.28 ± 0.98ab
125	31.50 ± 1.53a	3.77 ± 0.18a	10.53 ± 0.52a	14.07 ± 0.44a	5.76 ± 0.21ab	144.69 ± 19.95a	30.61 ± 3.49a	34.67 ± 0.71b	442.75 ± 14.84b	50.65 ± 2.66c
250	29.05 ± 1.79a	4.56 ± 0.29a	11.63 ± 0.76a	12.56 ± 0.35a	5.56 ± 0.13b	110.51 ± 6.22a	36.83 ± 2.50a	35.14 ± 2.67b	263.68 ± 7.10c	53.58 ± 1.99bc
Tallos	g kg ⁻¹					mg kg ⁻¹				
0	12.71 ± 0.58a	1.04 ± 0.05b	3.53 ± 0.17b	2.08 ± 0.06b	1.39 ± 0.03b	96.67 ± 17.01a	3.14 ± 0.26a	12.63 ± 0.93a	79.24 ± 2.77bc	16.31 ± 1.07b
60	17.46 ± 1.05a	2.07 ± 0.18a	8.92 ± 0.76a	3.32 ± 0.25a	2.17 ± 0.16a	54.67 ± 5.42a	5.03 ± 0.46a	15.70 ± 0.57a	121.50 ± 11.22a	24.77 ± 2.29ab
125	14.71 ± 0.28a	2.37 ± 0.11a	7.83 ± 0.35a	3.87 ± 0.1a	2.10 ± 0.06a	81.83 ± 8.48a	12.18 ± 2.81a	13.96 ± 0.78a	111.16 ± 5.33ab	29.46 ± 0.70a
250	16.03 ± 0.66a	1.75 ± 0.06ab	6.90 ± 0.51a	3.33 ± 0.13a	1.93 ± 0.04ab	53.38 ± 2.47a	5.01 ± 0.56a	12.86 ± 0.36a	54.22 ± 2.56c	25.84 ± 0.91a
Raíces	g kg ⁻¹					mg kg ⁻¹				
0	29.37 ± 1.82a	1.41 ± 0.18a	2.98 ± 0.39a	0.88 ± 0.08a	0.63 ± 0.07a	159.80 ± 13.85a	7.91 ± 0.87a	20.23 ± 3.03a	174.64 ± 25.89a	9.65 ± 1.11a
60	33.95 ± 1.37a	2.05 ± 0.29a	4.01 ± 0.61a	1.17 ± 0.16a	0.82 ± 0.11a	201.16 ± 27.78a	10.53 ± 1.49a	29.12 ± 2.41a	222.77 ± 20.87a	14.01 ± 1.97a
125	25.63 ± 2.36a	2.48 ± 0.37a	4.47 ± 0.68a	1.48 ± 0.21a	1.04 ± 0.15a	226.66 ± 14.08a	13.93 ± 2.43a	31.20 ± 4.39a	320.02 ± 27.24a	15.66 ± 2.14a
250	33.04 ± 1.62a	1.34 ± 0.06a	2.57 ± 0.18a	0.90 ± 0.03a	0.65 ± 0.03a	228.94 ± 8.97a	6.67 ± 0.37a	19.42 ± 1.32a	263.59 ± 20.37a	9.11 ± 0.8a

Medias con letra distinta en cada columna y para cada órgano de la planta, indican diferencias significativas entre tratamientos (Duncan, $\alpha = 0.05$).

La concentración de Si en hojas no fue significativamente diferente entre tratamientos. En tallos, las plantas del control obtuvieron menor cantidad de Si, mientras que en los demás tratamientos, la concentración de Si osciló entre 25.1 y 26.54 mg kg⁻¹ de biomasa seca sin presentar diferencias significativas entre sí. La concentración de Si en raíces fue significativamente más alta en las plantas a las que se les suministró Si, y se observó que a mayor concentración de Si aumentaron los niveles de Si en raíces (Figura 3.6).

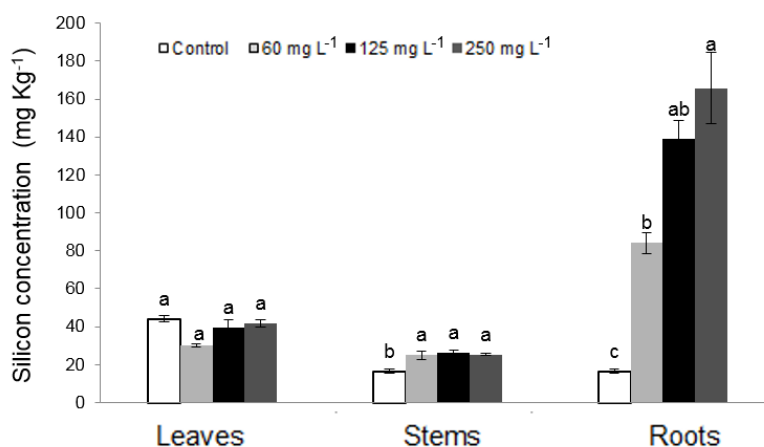


Figura 3.6. Concentración de silicio (Si) en hojas, tallos y raíces de plantas de pimiento crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de Si durante 28 d. Barras de error indican desviación estándar. Columnas con diferente letra son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$).

3.7. Discusión

3.7.1. Crecimiento y desarrollo de planta

El silicio no es reconocido como un elemento esencial para el crecimiento de las plantas, a pesar de que han sido reportados diversos mecanismos fisiológicos y bioquímicos en los que este elemento se ve involucrado para sobrellevar condiciones de estrés abiótico y biótico [5]. La ausencia de silicio ocasiona debilitamiento estructural de las plantas, menor tamaño, desarrollo y viabilidad, así como mayor susceptibilidad a daños por metales tóxicos. Por el

contrario, la presencia de Si evita la pérdida del agua por transpiración cuticular e incrementa la elasticidad de la pared celular durante el crecimiento de la planta al interactuar con pectinas y polifenoles [21] y conferir mayor resistencia mecánica en general [22]. En este estudio se observó que a los siete días después de la aplicación de tratamientos con Si, la altura de la planta fue mayor con dosis de 60 y 125 mg L⁻¹ y después de 21 días se observó que la altura se incrementó en los tratamientos con las concentraciones altas con 125 y 250 mg L⁻¹. Estos resultados coinciden con la mayor altura observada en plantas de arroz con dosis altas de SiO₂ [23]. Sin embargo, en café (*Coffea arabica* L.) las plantas control presentaron mayor altura comparadas con las plántulas que aplicaron 2 mmol L⁻¹ Si [24], lo cual confirma que la aplicación de Si puede tener diferentes efectos entre genotipos evaluados.

Con la adición de Si la longitud de raíz disminuyó significativamente a los 7, 14 y 21 días después de su aplicación, siendo a los 28 días el efecto de los niveles de 125 y 250 mg L⁻¹ similar al control. En clavel (*Dianthus caryophyllus*) los mayores valores de longitud de tallos y longitud de raíz en plantas con y sin estrés salino fueron obtenidos con la aplicación de 50 mg L⁻¹ Si, al duplicar la dosis el efecto es similar al del control [25]. En Chile niveles crecientes de Si (0, 50, 75 y 100 mg L⁻¹) no tuvieron efectos significativos en la longitud de tallos y raíces [26].

El diámetro de tallo, el número de hojas, volumen de raíces, número de botones florales por planta, peso de biomasa fresca y seca de flores no fueron significativos entre tratamientos en adición con Si, en comparación con el control. Los botones florales fueron de mayor tamaño en los tratamientos con Si. A pesar de no haber efectos significativos en el número de hojas, el desarrollo de hojas (área foliar) fue más evidente para el tratamiento con 125 mg L⁻¹ Si, pero no fue significativamente diferente con el tratamiento de 250 mg L⁻¹ Si. De manera similar, la aplicación de dosis crecientes de Si (1 y 2 mM Si) en plantas de tomate cherry no afectó el volumen de raíces y diámetro de tallo, pero al aplicar las mismas dosis con un nanofertilizante de silicio, estas variables disminuyen de forma significativa [27]. Por tanto, además de la dosis, es importante considerar la forma química en que el Si es aplicado. En plantas de Chile picante la adición de Si en la solución nutritiva en niveles crecientes (0, 50, 75 y 100 mg L⁻¹ Si) no tuvo efecto alguno sobre la longitud de tallo y raíz, ni en el número de hojas por planta, mismos efectos se observaron al aplicar el nivel intermedio (75 mg L⁻¹)

en diferentes etapas de crecimiento [28]. Lo anterior se puede deber a que no todos los cultivos reaccionan positivamente a la aplicación de Si, como se ha observado en indicadores de calidad de remolacha azucarera tratada con aplicaciones foliares de Si [29]. La aplicación de 200 y 400 g Si por planta en chile habanero estimuló crecimiento, número de flores y frutos, en tanto que al aumentar la dosis a 600 g, el número de flores disminuyó y la altura fue similar al testigo [28]. En plántulas de café, el número de hojas y entrenudos no mostraron diferencia estadística entre tratamientos de Si y el testigo [24]. Por lo tanto, la aplicación de altas concentraciones de Si puede afectar el crecimiento y desarrollo de las plantas, dependiendo de los mecanismos internos que el genotipo disponga para el metabolismo de este elemento [30]. El Si puede tener efectos positivos, pero tales efectos son dependientes varios factores como la dosis y la forma aplicada, así como el potencial genético del cultivo para responder a la adición de este elemento.

El peso de biomasa fresca y seca de hojas y raíces no fue significativamente diferente entre tratamientos, contrario a la biomasa fresca y seca de tallos donde se registró mayor peso en los tratamientos con Si, en tanto que en el control se registró el menor peso, pero sin ser significativamente diferente a 60 y 250 mg L⁻¹ Si (Figura 4a, b). Estudiaron el efecto de niveles crecientes de Si (0, 25, 50, 100, 200, 400 y 800 mg L⁻¹) en plantas de cebada, obteniendo como resultado incrementos de 19.6, 23.8, 36.5 y 32.6% en la biomasa seca de tallos con los niveles de 25, 50, 100 y 200 mg L⁻¹, con respecto al control (0 mg L⁻¹ Si), mientras que con los niveles de 400 y 800 mg L⁻¹ se obtuvieron valores menores al del control [29]. Sin embargo, la aplicación de Si en etapas tempranas de la elongación celular puede conducir al endurecimiento de la pared celular, lo que afecta el crecimiento y desarrollo vegetal [31]. En dos cultivares de maíz (*Zea mays*), en condiciones normales, a pesar de que el Si no tuvo efecto significativo en la biomasa seca de hojas, tallos y raíces, hubo ligeros incrementos al añadir este elemento, posiblemente por el mejoramiento del aparato fotosintético y el incremento del uso eficiente del agua [32]. Del mismo modo, en plántulas de café en ausencia de Si mostraron mayor peso fresco y seco en hojas, tallos y raíces comparado con plántulas con aplicaciones de 2 mmol L⁻¹ de este elemento [24]. Así la aplicación de 1-10 g Si por planta incrementó la biomasa aérea, pero conforme aumentó la dosis, disminuyó la biomasa en trigo [33]. Por el contrario, en algodón (*Gossypium hirsutum* L.), trigo y canola (*Brassica napus* L.), la aplicación de Si de 1.5 mmol L⁻¹ incrementó en un

8, 30 y 30% su peso seco y un 10, 33 y 16% en peso fresco, respectivamente [7]. Así también, el pretratamiento en semillas de maíz con 1.5 mM Si, aumentó significativamente el peso seco, fresco y área foliar [34]. En dos cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) establecidos en suelos convencionales y suelos salinos, la aplicación de Si, incrementó la biomasa seca de la parte aérea y raíz, lo que se relacionó una mayor actividad de enzimas antioxidantes [35]. En plantas de Aloe (*Aloe vera* L.) crecidas en condiciones normales y salinas, el peso fresco de hojas aumentó con la adición de Si, siendo significativo únicamente para las plantas sometidas a estrés, lo cual estuvo asociado con una mayor concentración de K⁺ en hojas, tallos y raíces y una menor concentración de Na⁺, debido a la estabilización de la actividad de la bomba de protones [36]. Además, la aplicación de K₂SiO₃ ocasionó mayor concentración de Si en tejido mejor desarrollo de plantas de clavel *in vitro*, comparados con la aplicación de CaSiO₃ [37], lo cual demuestra que la fuente de Si utilizada también influye en la respuesta observada en la planta.

3.7.2. Concentración de clorofila en hojas y tallos

Los mecanismos para explicar los efectos benéficos del Si relacionados con acciones indirectas causadas por la deposición de este elemento en las hojas, lo que resulta una mayor rigidez tisular y hojas más erectas. Estas condiciones favorecen la incidencia de luz, estimulan mayor absorción de CO₂, y disminuyen la transpiración en exceso, lo que permite una mayor tasa fotosintética y mayores rendimientos [24]. En clavel, la aplicación de Si aumentó la actividad de las enzimas PsaA y PsbA que estimularon la eficiencia del fotosistema II (PSII) y la velocidad de transferencia de electrones [37], con esto demuestra que este elemento puede mejorar la fotosíntesis. De hecho, en arroz, el Si estimuló indicadores fotosintéticos y la expresión de genes relacionados con la fotosíntesis tales como *PsbY*, *PsaH*, *PetC*, y *PetH* [38]. En madreselva (*Lonicera japónica* L.), la aplicación de Si ayudó a mantener la ultraestructura del cloroplasto ejecutando las funciones fisiológicas de la planta [39]. En esta investigación los mayores valores de clorofila *a*, *b* y total, en hojas y tallos, fueron obtenidos con la aplicación de 125 mg L⁻¹ Si. Por lo tanto las dosis elevadas y bajas de Si no aumentaron la concentración de clorofila. De manera similar, la adición de 1.5 mg mL⁻¹ SiO₂ en cacao (*Theobroma cacao*) incrementa la tasa fotosintética, y mitiga el estrés oxidativo [40]. La aplicación de 100 mg L⁻¹ Si a plantas de clavel disminuye

significativamente la concentración de clorofila total, mientras que la dosis de 50 mg L⁻¹ no tuvo efecto diferente al control [25]. Aplicaciones de Si de 150 mg kg⁻¹ al suelo incrementan significativamente la concentración de clorofilas en hojas de trigo, mientras que aplicar niveles de 50 y 100 mg no tuvieron efecto significativo en comparación al control [41]. Dosis bajas de Si (1 mM) incrementan la concentración de clorofila *a* y *b* de hojas de trigo en hidroponía, en comparación con el control, pero al incrementar el nivel de Si a 4 mM Si la concentración de clorofila disminuye [42]. Así también, la aplicación de 150 kg ha⁻² Si en maíz establecido en suelo aluvial incrementó la concentración de clorofilas totales y la tasa fotosintética en comparación con el testigo [43]. Un estudio más específico en maíz determinó que al aplicar 2 mM Si, hubo incrementos del 22, 43 y 26% en la concentración de las clorofilas *a*, *b* y total, respectivamente, en comparación con el control [44], lo cual también ha sido observado en trigo expuesto a estrés por sequía [45]. Un incremento significativo en las concentraciones clorofila *a* y *b* en el cultivar Vermelho gigante en pimiento fue atribuido a la estimulación de la actividad del aparato fotosintético combinado con la arquitectura de la planta promovido por la aplicación de Si [46]. La adicción de 0.25, 1.00 y 1.75 μmol Si, en los cultivares de tomate Super Marmante y Santa Cruz expuestos a déficit hídrico aumentó los niveles de clorofila *a*, *b* y total, lo que se relacionó con una protección más eficiente del aparato fotosintético [47]. En maíz crecido en condiciones de alcalinidad, la aplicación de 1.5 mM Si incrementó significativamente la concentración de pigmentos fotosintéticos y redujo el impacto negativo del estrés [34]. En nuestro estudio, las relaciones de clorofila *a/b* en hojas y tallos fueron mayores en el tratamiento de 250 mg L⁻¹, en tanto que la menor concentración de clorofila *b* en tallos se presentó en el control y en el resto de los tratamientos no hubo diferencias significativas. Se sabe que los cultivos agrícolas presentan marcadas diferencias respecto a su capacidad para absorber Si, lo que les permite clasificarles en tres grupos: 1) gramíneas de tierras inundadas; 2) gramíneas de tierra seca; y dicotiledóneas en su mayoría [48]. Dependiendo de la capacidad de absorción de Si por las plantas, este elemento puede aumentar la absorción de agua por las raíces, mantener el balance de nutrientes, disminuir la pérdida de agua por las hojas y promover una mayor tasa fotosintética [6].

3.7.3. Concentración de aminoácidos libres totales y azúcares solubles totales

La mayor concentración de aminoácidos libres en hojas se encontró con el tratamiento de 60 mg L⁻¹. El efecto del nivel de 125 mg L⁻¹ fue similar al del control, mientras que con el nivel más alto (250 mg L⁻¹) la concentración de aminoácidos fue disminuido significativamente. En tallos ninguno de los tratamientos con Si superó al observado en plantas control. Por el contrario, en raíces todos los tratamientos con Si fueron mayores al control. Los aminoácidos libres se concentraron en mayor manera en raíces y hojas con el tratamiento de 60 mg L⁻¹. La aplicación de Si (0.25, 1 y 1.75 μM) en los cultivares de chile Ikeda y Vermelho Gigante expuestos a estrés hídrico aumentó las concentraciones de aminoácidos solubles, aunque solo se encontraron diferencias significativas en el cultivar Ikeda tratado con 0.25 μM Si [49]. A nivel bioquímico, el Si mejora la capacidad antioxidante de los cultivos y contribuye también al ajuste osmótico y aumento de la actividad fotosintética, lo que puede estimular la síntesis de algunos aminoácidos [5]. En plántulas de maíz bajo condiciones normales el Si no afecta el contenido de aminoácidos libres, pero al someter a las plantas a estrés alcalino, los aminoácidos son incrementados de forma significativa, y tal incremento es aún mayor con la adición de Si [36]. En los cultivares de arroz Shengdao 14 y Huaidao 11, las aplicaciones de Si incrementaron las concentraciones de Asp, Glu, Ser, Ala, Tyr, Arg y Pro en 12, 3.55, 9.15, 5.06, 28.77, 13.24 y 10.83%, respectivamente y de Thr, Ile, Leu en 11.50, 8.82 y 4.75%, respectivamente comparados con el control, y también aumentaron el rendimiento de grano y la concentración de proteínas comparado con el control [50]. Del mismo modo en maíz bajo estrés alcalino, el contenido total de aminoácidos libres se observó en plantas tratadas con 25 mM de Na₂CO₃ y 1.5 mM Si [35].

La concentración de azúcares fue más elevada en tratamientos con 125 mg L⁻¹ Si, tanto en hojas como en tallos y raíces. Es evidente que Si aumenta el contenido de azúcares, sin embargo depende de la dosis aplicada. Por ejemplo, plantas de tomate tratadas con Si aumentaron las concentraciones de azúcares en tejido y el rendimiento [51]. Además, la aplicación de Si (1.5 mM) mitiga los efectos causados por el estrés alcalino incrementando la acumulación de azúcares solubles en plantas estresadas con 75 mM de NaCO₃ [35]. En la presente investigación el incremento de azucars solubles totales con el tratamiento de 125 mg L⁻¹ puede relacionarse con el incremento de clorofila *a* y total con este mismo tratamiento

(Tabla 3.2). El incremento de clorofila por efecto del Si favorece la absorción de luz por las hojas, incrementando consigo la actividad fotosintética y el contenido de azúcares solubles [35, 52]. Sin embargo, puede haber diferentes respuestas entre genotipos, como se observó en la variedad Vermelho Gigante de Chile pimiento en la que el Si aumentó las concentraciones de azúcares solubles, mientras que en la variedad Ikeda esta concentración de azúcares disminuyó [46]. Del mismo modo la aplicación de Si redujo los niveles de azúcares solubles totales en tomate expuesto a déficit hídrico [47].

3.7.4. Concentración de nutrimentos en hojas, tallos y raíces

El papel del Si en las plantas puede incrementar la cantidad de nutrientes esenciales [53]. Una vez absorbidos por las raíces, los elementos esenciales se transportan a la parte superior por transpiración y posteriormente se distribuyen a los diferentes órganos y tejidos [54]. En nuestro estudio, la concentración de nutrientes en hojas no fue significativamente diferente al control, aunque conforme aumentó la dosis de Si disminuyó la concentración de Mg, Zn, Mn, y B. En tallos la concentración de N, Fe, Cu, y Zn se mantuvo estable, pero la de P, K, Ca, Mg y B aumentó con la aplicación de Si. Se ha demostrado que la disponibilidad de K y P en diversas especies de gramíneas puede mejorar con la aplicación de Si [51], lo mismo que la absorción de Ca [7]. En algodón y trigo, la aplicación de dosis bajas de Si aumentó la concentración de Mn, en tanto que las dosis altas disminuyen, lo cual puede ser debido a que el Si soluble en el apoplasto puede afectar el estado de oxidación de Mn, promoviendo su precipitación, siendo una manera de proteger las plantas contra la toxicidad por Mn [53]. Se ha demostrado que la adición de Si inhibe la absorción de Fe y Mn en plantas de arroz comparados con el control [50]. La aplicación de 125 y 250 mg L⁻¹ aumentó la concentración de B, lo cual también ha sido observado en plantas de algodón al aplicar 1.5 mmol L⁻¹ [7]. En nuestro estudio, el incremento de la concentración de K en tallos fue significativo con la adición de los tres niveles de Si, y se ha propuesto la aplicación de Si a cultivos hortícolas para mejorar la nutrición de los mismos [13]. En canola, trigo y algodón la aplicación de Si ha originado incrementos en la concentración de K en la parte aérea, lo cual se debió al mejoramiento de la absorción de elementos transportados vía transcelular, lo cual también puede aplicar para P y Zn [7]. En pepino la adición de Si a la solución nutritiva mejoró el crecimiento, mitigando el desequilibrio nutrimental ocasionado por la aplicación excesiva de

P y Zn [55]. De manera similar, en arroz la aplicación de Si mejoró significativamente la absorción de N, P y K [23]. Además, la aplicación de fertilizantes con Si mejoró significativamente las concentraciones de Zn, Ca y Mg en arroz integral y molido en los cultivares Shengdao 14 y Huaidao 11 [50]. En trigo, el Si mejora la eficiencia del uso de N y la disponibilidad de P [34]. En contraste, la concentración de macronutrientes en las plántulas de café no fue significativo con el suministro de Si en ningún órgano de la plántula, pero en los micronutrientes sí mostraron diferencias significativas en Zn (raíces), Cu (hojas), Mn (hojas y tallos) [24].

En pepino, el Si influye en particular en la compartimentación de Zn, B y Mn dentro de la célula vegetal [56]. Sin embargo, en tomate las hojas que se fertilizaron con Si, contenían menor Zn en comparación con el testigo [51].

En nuestro estudio, la concentración de Si en hojas no fue significativamente diferente entre tratamientos. En tallos, el control presentó la menor cantidad de Si, mientras que en los demás tratamientos no hubo diferencias significativas. Para el caso de las raíces, a mayor suministro de Si aumentó la concentración de Si. De esta manera se observa que el pimiento retiene Si en raíces y es poco eficiente para transportarlo a tejido aéreo, siendo esta una limitante biológica a la cual se le puede atribuir que muchas plantas no respondan a aplicaciones de Si [57]. Sin embargo, especies cultivadas como arroz pueden acumular Si en parte aérea al incrementar su dosis de aplicación, incluyendo granos, paja y biomasa total [23]. Del mismo modo, el trigo puede transferir aproximadamente el 90% del Si de raíces a brotes, y de hecho la concentración de Si en raíces mostró niveles bajos [33]. Aunado a lo anterior, existe una amplia variación en la concentración de Si en la parte aérea en las diferentes especies de plantas, que van del 0.1% al 10% del peso seco, y estas diferencias se han atribuido a la capacidad de las raíces para absorber Si [12]. Mientras tanto en plántulas de café con aplicaciones de Si de 2 mmol L⁻¹, la concentración de este elemento fue significativamente mayor en hojas y raíces [24].

3.8. Conclusiones

La altura de la planta de pimiento fue mayor con la aplicación de 125 mg L⁻¹ Si en el último muestreo. Con esa misma dosis también incrementó la concentración de clorofila *a* y total en hojas y tallos respectivamente y clorofila *b* en tallos. Mientras que, con 250 mg L⁻¹ aumento la relación de clorofila *a/b* en hojas y tallos. La mayor concentración de aminoácidos se presentó en raíces con 60 mg L⁻¹. La concentración de azúcares se favoreció con 125 mg L⁻¹ en hojas. El Si presento efectos negativos en la concentración de Zn y Mn con 125 y 250 mg L⁻¹ Si respectivamente en hojas. Mientras que con 60 y 125 mg L⁻¹ incrementó la concentración de los macronutrientes K y Ca respectivamente en tallos. La mayor concentración de este elemento fue en raíces con la dosis más alta de Si. Por lo tanto, este elemento es considerado benéfico para el desarrollo y rendimiento de los cultivos, sin embargo se requieren de más investigaciones para definir las dosis y etapas a las cuales debe ser aplicado, y definir las diferentes respuestas que pueden presentar los genotipos.

3.9. Referencias

1. Castellanos-González L, de Mello-Prado R, Silva-Campos CN. Silicon in the crop resistance to agricultural pest. *Cultivos Tropicales* 2015; 36: 16–24
2. Epstein M. The anomaly of silicon in plant biology. *Proc Natl Acad Sci.* 1994; 91: 11–17
3. Gunzer F, Keller C, Meunier JD. Benefits of silicon for crops: A review. *Agron. Sustain.* 2012; 32: 201-213
4. Debona D, Rodrigues FA, Datnoff LE. Silicon's role in abiotic and biotic plant stresses. *Annu Rev Phytopathol.* 2017; 55:85–107. doi: 10.1146/annurev-phyto-080516-035312
5. Manivannan A, Ahn YK. Silicon regulates potential genes involved in major physiological processes in plants to combat stress. *Front Plant Sci.* 2017; 8: 1346. doi: 10.3389/fpls.2017.01346
6. Zhu Y, Gong H. Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. *Agron Sustain Dev.* 2014; 34: 455–472. doi: 10.1007/s13593-013-0194-1
7. Mehrabanjoubani P, Abdolzadeh A, Sadeghipour HR, Aghdasi M. Silicon affects transcellular and apoplastic uptake of some nutrients in plants. *Pedosphere* 2015; 25: 192–201. doi: 10.1016/S1002-0160(15)60004-2
8. Chen D, Cao B, Qi L, Yin L, Wang S, Deng X. Silicon-moderated K-deficiency-induced leaf chlorosis by decreasing putrescine accumulation in sorghum. *Ann Bot.* 2016; 118: 305–315. doi: 10.1093/aob/mcw111
9. Ma JF. Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. *Soil Sci Plant Nutr.* 2004; 50: 11–18. doi:10.1080/00380768.2004.10408447
10. Abdel-Haliem MEF, Hegazy HS, Hassan NS, Naguib DM. Effect of silica ions and nano silica on rice plants under salinity stress. *Ecol Eng.* 2017; 99: 282–289. doi: 10.1016/j.ecoleng.2016.11.060
11. Epstein M. Silicon. *Annu Rev Plant Phys.* 1999; 50: 641–664. doi: 10.1146/annurev.arplant.50.1.641
12. Ma JF, Yamaji N. A cooperative system of silicon transport in plants. *Trends Plant Sci.* 2015; 20: 435–442. doi: 10.1016/j.tplants.2015.04.007
13. Savvas D, Ntatsi G. 2015. Biostimulant activity of silicon in horticulture. *Sci Hortic.* 2015; 196: 66–81. doi: 10.1016/j.scienta.2015.09.010

14. Muneer S, Park YG, Kim S, Jeong BR. Foliar or subirrigation silicon supply mitigates high temperature stress in strawberry by maintaining photosynthetic and stress-responsive proteins. *J Plant Growth Regul.* 2017; 36: 836–845. doi: 10.1007/s00344-017-9687-5
15. Luyckx M, Hausman JF, Lutts S, Guerriero G. Silicon and plants: current knowledge and technological perspectives. *Front Plant Sci.* 2017; 8: 411. doi: 10.3389/fpls.2017.00411
16. Harborne JB. Chlorophyll extraction. In: Harbone JB, editor. *Phytochemical Methods. Recommended Technique.* London: Chapman and Hall; 1973. pp. 205–207
17. Moore S, Stein WH. A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. *J Biol Chem.* 1954; 211: 907–913
18. Southgate DA. *Determination of Food Carbohydrates.* London: Applied Science Publishers; 1976
19. Bremner J M. Total nitrogen. *Agronomy* 1965; 9: 1149–1178
20. Alcántar GG, Sandoval MV. *Handbook of chemical analysis of plant tissues Special Publication No. 10.* Chapingo: Mexican Society of Soil Science; 1999
21. Raya PJC, Aguirre MCL. El papel del silicio en los organismos y ecosistemas. *Conciencia Tecnológica* 2012; 43: 42–46
22. Wang M, Gao L, Dong S, Sun Y, Shen Q, Guo S. Role of silicon on plant-pathogen interactions. *Front Plant Sci.* 2017; 8: 701. doi: 10.3389/fpls.2017.00701
23. Cuong TX, Ullah H, Datta A, Hanh TC. Effects of silicon-based fertilizer on growth, yield and nutrient uptake of rice in tropical zone of Vietnam. *Rice Science* 2017; 24: 283–290. doi: 10.1016/j.rsci.2017.06.002
24. Cunha ACMCM, Oliveira ML, Caballero EC, Martínez HEP, Fontes PCR, Pereira PRG. Growth and nutrient uptake of coffee seedlings cultivated in nutrient solution with and without silicon addition. *Rev Ceres* 2012; 59: 392–398. doi: 10.1590/S0034-737X2012000300015
25. Soundararajan P, Manivannan A, Park YG, Muneer S, Jeong BR. Silicon alleviates salt stress by modulating antioxidant enzyme activities in *Dianthus caryophyllus* ‘Tula’. *Hortic Environ Biotechnol.* 2015; 56: 233–239. doi: 10.1007/s13580-015-0111-4
26. Jayawardana HARK, Weerahewa HLD, Saparamadu MDJS. Enhanced resistance to anthracnose disease in chili pepper (*Capsicum annuum* L.) by amendment of the nutrient

- solution with silicon. *J Hort Sci Biotech.* 2015; 90: 557–562. doi: 10.1080/14620316.2015.11668714
27. Haghghi M, Pessarakli M. Influence of silicon and nano-silicon on salinity tolerance of cherry tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) at early growth stage. *Sci Hortic.* 2013; 161: 111–117. doi: 10.1016/j.scienta.2013.06.034
 28. Cárdenas-Cágal A, García-Pestaña JD, Delgado-Blancas MI, Gutiérrez-Rivera B. Effect of silicon at different concentrations added to the soil in a cultivation of Habanero hot pepper, in outdoor conditions. *Rev. Cient. Biol. Agropec. Tuxpan* 2014; 2: 92–96
 29. Artyszak A, Gozdowski D, Kucińska K. The effect of calcium and silicon foliar fertilization in sugar beet. *Sugar Tech.* 2016; 18: 109. doi: 10.1007/s12355-015-0371-4
 30. Mali M, Aery NC. Influence of silicon on growth, relative water contents and uptake of silicon, calcium and potassium in wheat grown in nutrient solution. *J Plant Nutr.* 2008; 31: 1867–1876. doi: 10.1080/01904160802402666
 31. Yeo AR, Flowers SA, Rao G, Welfare K, Senanayake N, Flowers TJ. Silicon reduces sodium uptake in rice (*Oryza sativa* L.) in saline conditions and this is accounted for by a reduction in the transpirational bypass flow. *Plant Cell Environ.* 1999; 22: 559–565. doi: 10.1046/j.1365-3040.1999.00418.x
 32. Khan W, Aziz T, Hussain I, Adnan Ramzanic PM, Reichenauer TG. Silicon: a beneficial nutrient for maize crop to enhance photochemical efficiency of photosystem II under salt stress. *Arch Agron Soil Sci.* 2017; 63: 599–611. doi: 10.1080/03650340.2016.1233322
 33. Neu S, Schaller J, Dudel EG. Silicon availability modifies nutrient use efficiency and content, C:N:P stoichiometry, and productivity of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Sci Rep.* 2017; 7: 40829. doi: 10.1038/srep40829
 34. Abdel Latef AA, Tran L-SP. Impacts of priming with silicon on the growth and tolerance of maize plants to alkaline stress. *Front Plant Sci.* 2016; 7: 243. doi: 10.3389/fpls.2016.00243
 35. Khoshgoftarmanesh AH, Khodarahmi S, Haghghi M. Effect of silicon nutrition on lipid peroxidation and antioxidant response of cucumber plants exposed to salinity stress. *Arch Agron Soil Sci.* 2014; 60: 639–653. doi: 10.1080/03650340.2013.822487
 36. Xu CX, Ma YP, Liu YL. Effects of silicon (Si) on growth, quality and ionic homeostasis of aloe under salt stress. *S Afr J Bot.* 2015; 98:26–36. doi: 10.1016/j.sajb.2015.01.008

37. Manivannan A, Soundararajan P, Cho YS, Park JE, Jeong BR. Sources of silicon influence photosystem and redox homeostasis-related proteins during the axillary shoot multiplication of *Dianthus caryophyllus*. *Plant Biosyst.* 2017; doi: 10.1080/11263504.2017.1320312
38. Song A, Li P, Fan F, Li Z, Liang Y. The effect of Silicon on photosynthesis and expression of its relevant genes in rice (*Oryza sativa* L.) under high-zinc stress. *PLoS One.* 2014; 26: e113782. doi: 10.1371/journal.pone.0113782
39. Gengmao Z, Shihui L, Xing S, Yizhou W, Zipan C. The role of silicon in physiology of the medicinal plant (*Lonicera japonica* L.) under salt stress. *Sci Rep.* 2015; 5: 1–11. doi: 10.1038/srep12696
40. Zanetti LV, Milanez CRD, Gama VN, Aguilar MAG, Souza CAS, Campostrini E, Ferraz TM, Figueiredo FAMMA. Leaf application of silicon in young cacao plants subjected to water deficit. *Pesqui Agropecu Bras.* 2016; 51: 215–223. doi: 10.1590/S0100-204X2016000300003
41. Saleh J, Najafi N, Oustan S. Effects of silicon application on wheat growth and some physiological characteristics under different levels and sources of salinity. *Commun Soil Sci Plant Anal.* 2017; 48: 1114–1122. doi: 10.1080/00103624.2017.1323090
42. Hajiboland R, Cherghvareh L, Dashtebani F. Effects of silicon supplementation on wheat plants under salt stress. *J Plant Proc Func.* 2017; 5: 1–11
43. Xie Z, Song F, Xu H, Shao H, Song R. Effects of silicon on photosynthetic characteristics of maize (*Zea mays* L.) on alluvial soil. *Sci World J.* 2014; 1–6. doi:10.1155/2014/718716
44. Barbosa MAM, da Silva MHL, Viana GDM, Ferreira TR, de Carvalho SCLF, Lobato EMSG, da Silva LAK. Beneficial repercussion of silicon (Si) application on photosynthetic pigments in maize plants. *Aust J Crop Sci.* 2015; 9: 1113–1118
45. Maghsoudi K, Emam Y, Ashraf M. Influence of foliar application of silicon on chlorophyll fluorescence, photosynthetic pigments, and growth in water-stressed wheat cultivars differing in drought tolerance. *Turk J Bot.* 2015; 39: 625–634. doi: 10.3906 / bot-1407-11
46. Pereira ST, Lobato ASK, da Silva LMH, Lobato GSEM, da costa DV, Uchôa BE, do Nascimento FR, dos Santos PE, dos Santos FGB, da Costa LRC, de Oliveira NC,

- Okamura SR. Differential responses produced by silicon (Si) on photosynthetic pigments in two pepper cultivars exposed to water deficiency. *Aust J Crop Sci.* 2015; 9: 1265–1270
47. Silva ON, Lobato AKS, Ávila FW, Costa RCL, Oliviera NCF. Silicon-induced increase in chlorophyll is modulated by the leaf water potential in two water- deficient tomato cultivars. *Plant Soil Environ.* 2012; 58: 481–486
48. Marschner, H. 2012. *Marschner’s Mineral Nutrition of Higher Plants*. 3rd ed. Cambridge: Academic Press. 672 p.
49. Pereira ST, Lobato AKS, Tan YDK, da Costa DV, Uchôa BE, Ferreira NR, Pereira SE, Ávila WF, Marques DJ, Guedes SEM. Positive interference of silicon on water relations, nitrogen metabolism, and osmotic adjustment in two pepper (*Capsicum annuum*) cultivars under water deficit. *Aust J Crop Sci.* 2013; 7: 1064–1071
50. Liu Q, Zhou X, Sun Z. Application of silicon fertilizer affects nutritional quality of rice. *Chil J Agr Res.* 2017; 77: 163–170. doi:10.4067/S0718-58392017000200163
51. Jarosz Z. The effect of silicon application and type of medium on yielding and chemical composition of tomato. *Acta Sci Pol-Hortoru.* 2014; 13: 171–183.
52. Bybordi A. Influence of Zeolite, selenium and silicon upon some agronomic and physiologic characteristics of canola grown under salinity. *Commun Soil Sci Plant Anal.* 2016; 47: 832–850. doi: 10.1080/00103624.2016.1146898
53. Etesami H, Jeong BR. Silicon (Si): Review and future prospects on the action mechanisms in alleviating biotic stresses in plants. *Ecotox Environ Safe.* 2018; 147: 881–896. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.09.063
54. Sakurai G, Yamaji N, Mitani-Ueno N, Yokozawa M, Ono K, Ma JF. A model of silicon dynamics in rice: an analysis of the investment efficiency of Si transporters. *Front Plant Sci.* 2017; 8: 1187. doi: 10.3389/fpls.2017.01187
55. Marschner H, Oberle H, Cakmak I, Römheld V. Growth enhancement by silicon in cucumber (*Cucumis sativus*) plants depends on imbalance in phosphorus and zinc supply. *Plant Soil*, 1990; 124: 211–219. doi: 10.1007/BF00009262
56. Wiese H, Nikolic M, Römheld V. Silicon in plant nutrition. Effects on zinc, manganese and boron leaf concentrations and compartmentation. In: Sattelmacher B, Horst WJ, editors. *The Apoplast of Higher Plants: Compartment of Storage, Transport and Reactions*. Dordrecht: Springer. 2007; pp. 33-47

57. Deshmukh R, Bélanger RR. Molecular evolution of aquaporins and silicon influx in plants. *Funct Ecol.* 2016; 30: 1277–1285. doi: 10.1111/1365-2435.12570

CAPÍTULO 4. EFECTO DEL VANADIO EN EL DESARROLLO DE TOMATE (*Solanum lycopersicum*)

4.1. Resumen

El vanadio (V) puede ser absorbido por las plantas e influenciar su desarrollo, aunque se han reportado efectos contrastes en el crecimiento y morfología en diversos cultivos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto benéfico de la aplicación de diferentes concentraciones de V en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*). Se cultivaron plantas de 37 días de edad de tomate F1 en un sistema hidropónico con la aplicación de cuatro concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μM NH_4VO_3). La altura de la planta en la última evaluación se favoreció con 5 μM superando al control. La biomasa fresca de hojas, tallos y raíces disminuyen significativamente con la aplicación de 15 μM de V. La concentración de clorofila se obtuvo valores altos a una concentración de 15 μM de V tanto en hojas como en tallos comparados con el control pero no con diferencias significativas. La concentración de aminoácidos y azúcares en los tres órganos de la planta, no tuvieron diferencias superiores al control, a diferencia de los demás tratamientos con Vanadio. La aplicación de V de los nutrimentos en las hojas N, P, K, Zn y B disminuyó la concentración de esos elementos a medida que aumento la dosis de Vanadio, Fe aumento la concentración con 15 μM de V y Mn con la concentración de 10 μM . Por otro lado, en tallos solo en Ca la concentración de V de 10 μM aumento. En las raíces aumento la concentración a una dosis de 10 μM de V, marcando una diferencia estadística. En los tres órganos de la planta, se encontraron sinergismos con macro y micronutrimentos de 5 y 10 μM de V. Concluimos que el V es un elemento benéfico con un potencial muy importante para ser utilizado en la nutrición de cultivos hortícolas.

Palabras clave: *Solanum lycopersicum*, REE, elementos benéficos, floración, desarrollo vegetal.

4.2. Introducción

El vanadio (V) es un metal ampliamente distribuido tanto en la naturaleza como en los sistemas biológicos. En la corteza terrestre, el V ocupa el lugar 22 entre los elementos más abundantes con una presencia de 0.014 a 0.02%. En la tabla periódica es el primer elemento de la serie de transición y puede formar compuestos generalmente con valencias III, IV y V. En el ambiente intracelular el estado de oxidación IV es el más común. La información sobre el efecto de los compuestos de vanadio es muy poca y controversial, además de que participa en la síntesis de clorofila en organismos fotosintéticos y es un micronutriente para varias especies marinas y terrestres (Rodríguez and Altamirano, 2006) [1]. Sin embargo, es poco móvil en el suelo, ya que menos del 1% del V total es extraíble y lixiviable con agua (Yang *et al.*, 2014; Tian *et al.*, 2015) [2,3]. Diferentes estados de oxidación del V, que oscilan de -1 a +5, su toxicidad en plantas está asociada con su forma de oxidación 5, mientras que la forma 4 puede contribuir a su desarrollo (Thompson *et al.*, 1999) [4], y aunque esta última es la forma menos tóxica del V también es considerada la menos móvil y la más predominante en el suelo (Tian *et al.*, 2015) [3]. Además, este elemento puede actuar como catalizador redox en el transporte de electrones en los fotosistemas I y II, dependiendo de las condiciones ambientales (Delfert and McDonald, 1985; Bode *et al.*, 1990) [5,6]. En plantas cultivadas existen reportes sobre los efectos positivos de V, aunque su investigación se detuvo debido a que los primeros estudios identificaron al V, como un elemento altamente tóxico para las plantas, lo que provocó el desinterés de evaluar su efecto en especies cultivadas. Posteriormente se descubrió que el V juega un papel apreciable en la nutrición de las plantas. De hecho, la aplicación de 0.056 kg ha⁻¹ V a plantas de algodón (*Gossypium hirsutum* L.), incrementó significativamente los rendimientos de fibra (Wendt, 1992) [7]. En cambio, en soya (*Glycine max*) la aplicación de este elemento no presentó diferencias estadísticas entre las dosis utilizadas (Muzlera Klappenbach *et al.*, 2015) [8].

El V es un metal que se encuentra a bajas concentraciones en todas las plantas, y su absorción se lleva a cabo mediante procesos pasivos (Welch, 1973) [9]. Respecto a efectos positivos de este elemento en plantas cultivadas, la aplicación de hasta 0.05 mg L⁻¹ V incrementó la producción y la calidad del grano de maíz (*Zea mays*) (Singh, 1971) [10]. En tomate (*Solanum lycopersicum*), la aplicación de 250 ng mL⁻¹ V produjo mayor altura, más hojas y

flores, y mayor concentración de clorofila (Basiouny, 1984) [11]. En albahaca dulce (*Ocimum basilicum*) la biomasa seca de la raíz aumentó linealmente con concentración crecientes de V de 0 a 40 mg L⁻¹ (Akoumianaki-Ioannidou *et al.*, 2016) [12]. Además, este elemento puede contrarrestar efectos negativos de ciertos metales como el Cu (Wang *et al.*, 2013) [13].

Otra función bien conocida del V es su participación como cofactor de las nitrogenasas en procariotes. La nitrogenasa dependiente de V es la segunda en ser descubierta en *Azobacter vinelandii* Hu *et al.* (2012) [14], misma que se encuentra en una amplia gama de microorganismos diazotróficos y cataliza la conversión del dinitrógeno atmosférico en amoníaco y, en contraste con la nitrogenasa dependiente de molibdeno, también muestran actividad reductora del CO (Akabayov and Acabayov, 2014) [15]. El V también interactúa con otros elementos como P y Mo Venkataraman and Sudha (2005) [16] y en forma vanadato monomérico es estructural y electrónicamente similar al fosfato, por lo que puede participar en la inhibición y activación de enzimas que interactúan con sustratos fosforilados como fosfatasas, ATPasas generales y fosfotransferasas (Akabayov and Acabayov, 2014) [15].

Aparte de la relevancia que tiene el V en la agricultura, en el campo de la medicina este elemento se utiliza en el tratamiento contra la diabetes mellitus (Thompson and Orvig, 2006) [17]. En ratas el V reduce los niveles de glucosa en la sangre Heyliger *et al.* (1985) [18] y en pacientes diabéticos el V redujo 30% la concentración de insulina sin presentar efectos secundarios (Soveid *et al.*, 2013) [19]. Además del efecto antidiabético, el V puede tener actividad farmacológica en el tratamiento de enfermedades parasitarias, tumores malignos, así como infecciones bacterianas y virales (Rehder, 2015) [20].

En este contexto, el uso del V en la producción de alimentos cotidianamente consumidos, además de favorecer el desarrollo de los cultivos también puede contribuir a la salud humana. De hecho, este elemento tiende a acumularse en el tejido vegetal, ya que al aplicar 20 mg L⁻¹ V en arroz (*Oryza sativa*) se generan 7.8 mg kg⁻¹ V en el grano y 338.7 mg kg⁻¹ en hojas y tallos (Chongkid *et al.*, 2007) [21]. Del mismo modo, al aplicar 40 mg L⁻¹ V al cultivo se encontraron 4 mg kg⁻¹ V en frutos de tomate (Vachirapatama *et al.*, 2011) [22]. Por lo tanto, para asegurar dosis óptimas de este elemento que detonen efectos positivos en las plantas y a su vez generen concentraciones adecuadas del mismo en tejidos comestibles, se requiere hacer estudios más precisos.

Con una producción global de más de 233 millones de toneladas métricas de frutos frescos al año FAO (2018) [23], el tomate es uno de los cultivos más importantes en el mundo. Su uso no se limita solo al consumo de frutos frescos, sino que también es utilizado como condimento, medicamento, fuente de colorantes y de vitaminas esenciales. A pesar de ello, son pocos los estudios sobre el manejo de elementos benéficos para incrementar la productividad de esta hortaliza, mientras que el uso del V en la producción de este cultivo aún es escaso. Ante esta situación, es indispensable generar conocimientos sobre cómo mejorar las técnicas de producción, haciendo énfasis en la fertilización para propiciar una óptima calidad e inocuidad de los productos agrícolas (Azofeifa and Moreira, 2005) [24]. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue evaluar diferentes concentraciones de V sobre el crecimiento, concentración de clorofilas, aminoácidos totales, azúcares totales y el estatus nutrimental de plantas de tomate cultivadas en hidroponía para identificar su posible efecto benéfico en el desarrollo de hortalizas y generar así una mejor producción.

4.3. Materiales y métodos

4.3.1. Material vegetal y condiciones de crecimiento

Semillas de tomate variedad DRD8561[®] (Seminis) se germinaron en charolas de polipropileno de 200 cavidades con sustrato peatmoss (Growing Mix[®], Theriault & Hachey Peat Moss Ltd, Canada). A los 30 d después de la siembra las plántulas se trasplantaron a contenedores de plástico de 35 L con solución nutritiva de Steiner al 20% que contenía: 1.29 mM Ca(NO₃)₂, 0.81 mM MgSO₄•7H₂O, 0.19 mM K₂PO₄, 0.60 mM KNO₃, 0.30 mM K₂SO₄, 184.86 μM de microelementos (89.97 μM Fe, 42.68 μM Mn, 7.17 μM Zn, 40.28 μM B, 2.95 μM Cu, 1.81 μM Mo) (Tradecorp AZ[®], Guadalajara, México). Después de un periodo de siete días de adaptación la solución nutritiva se reemplazó y se aplicaron los tratamientos.

Los tratamientos evaluados fueron agregados a la solución nutritiva y consistieron en agregar 5, 10 y 15 μM de V en forma de NH₄VO₃ (Sigma-Aldrich, Misuri, USA); además de un control, consistente en la solución nutritiva sin V. El pH de la solución se ajustó a 5.5 utilizando H₂SO₄ concentrado o NaOH 1N. La solución nutritiva se mantuvo con oxigenación cada 2 h durante 15 min y junto con los tratamientos se reemplazó cada 7 d. Se

utilizó un diseño experimental completamente al azar, en donde la unidad experimental estuvo representada por una planta, con 4 repeticiones por tratamiento. El experimento se realizó en condiciones de invernadero a una temperatura promedio de 26 °C, 60% de humedad relativa y un fotoperiodo de 12h/ 12 h (luz/oscuridad).

4.4. Mediciones fisiológicas y bioquímicas

4.4.1. Crecimiento y desarrollo de la planta

Se realizaron análisis la altura de la planta a los 7, 14, 21 y 28 d después de la aplicación de los tratamientos. En la última evaluación (28 d) se determinó el número de hojas, diámetro de tallo, volumen de raíces, área foliar, peso de la biomasa fresca y seca de raíces, tallos, hojas y flores.

La altura de la planta se midió desde la base del tallo hasta el ápice de crecimiento. El diámetro de tallo se determinó en la base con apoyo de un vernier electrónico. El volumen de raíces se determinó con el método de desplazamiento de agua. Por último, para determinar el peso de la biomasa fresca y seca, las plantas se fraccionaron en raíces, tallos, hojas y flores, después se pesaron por separado en una balanza analítica (Pro AV213C, Adventurer Ohaus, Nueva Jersey, USA); finalmente, se colocaron en una estufa de circulación de aire forzado (HCF-125D, Riossa, Ciudad de México) a 70 °C. El peso de la biomasa seca se determinó 48 h después.

4.4.2. Clorofila *a*, *b* y total

La concentración de clorofila se determinó por el método de [Geiger *et al.* \(1998\) \[25\]](#). Para ello, se utilizaron 60 mg de material vegetal macerado que se mezclaron con 1500 µL de etanol al 80% (v/v). Las muestras se incubaron en baño maría a 80 °C durante 20 min, se centrifugaron a 14,000 rpm durante 5 min y se colectó la fase líquida. Este procedimiento se realizó dos veces más, empleando etanol al 80 y 50% respectivamente. De la mezcla colectada de la triple extracción etanólica se tomaron 488 µL, se mezclaron con 1275 µL de etanol al 98% (v/v) y se leyeron en un espectrofotómetro (6715 UV/Vis, Jenway;

Staffordshire, UK) a 645 y 665 nm. Se realizaron cuatro réplicas biológicas independientes por tratamiento con dos réplicas técnicas. Las clorofilas *a* y *b* se determinaron con las siguientes fórmulas:

$$\text{Clorofila } a \text{ (}\mu\text{g/mg peso fresco)} = (5.46 \times \text{Abs665}) - (2.16 \times \text{Abs645})$$

$$\text{Clorofila } b \text{ (}\mu\text{g/mg peso fresco)} = (9.67 \times \text{Abs645}) - (3.04 \times \text{Abs665})$$

4.4.3. Aminoácidos totales

Se cuantificó en base al método de ninhidrina (Moore and Stein, 1954) [26]. De la triple extracción etanólica se tomaron 500 μL y se mezclaron con 500 μL de solución amortiguadora de citrato de sodio - ácido ascórbico (0.2% w/v) donde el citrato de sodio contenía 16 mM de ácido cítrico y 34 mM de citrato de sodio a un pH de 5.2. Además se agregaron 1000 μL de ninhidrina (1% w/v) en etanol al 70% (v/v). Las muestras se incubaron en baño María a 95 °C durante 20 min y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Al mismo tiempo se preparó la curva estándar usando leucina (10 mM en etanol 70%). Las muestras se leyeron en un espectrofotómetro 6715 UV/Vis a 570 nM. Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento con dos replicas técnicas.

4.4.4. Azúcares solubles totales

Los azúcares solubles totales se determinaron en 0.5 g de material vegetal fresco. La extracción se realizó en 50 mL de etanol 80% a ebullición constante con agitación ocasional, en una plancha caliente (Corning, Nueva York, USA) a 125 °C. Posteriormente, los extractos se filtraron y se llevaron a un volumen final de 20 mL. Se tomaron 500 μL que se mezclaron con 500 μL de etanol al 80%. Las muestras se colocaron en hielo y se agregó 5 mL de Antrona (Meyer, Querétaro, México), mismas que se pusieron en baño María a 95 °C por 15 min, y para terminar la reacción se colocaron en hielo. Las muestras se leyeron a 620 nm en un espectrofotómetro 6715 UV/Vis. Para la elaboración de la curva estándar se utilizó glucosa (Sigma-Aldrich, Misuri, USA). Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento con dos replicas técnicas.

4.4.5. Análisis nutrimental

Se determinó la concentración de los nutrimentos N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, B y V en la biomasa seca de hojas, tallos y raíces. La concentración de N se realizó con el método de semimicro-Kjeldahl [Bremner \(1996\) \[27\]](#), y las concentraciones de P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, B y V, se determinaron mediante digestión húmeda del material seco con una mezcla de ácido perclórico y nítrico ([Alcántar y Sandoval, 1999\) \[28\]](#). Los extractos obtenidos se leyeron en un equipo de espectroscopia de emisión óptica de inducción por plasma acoplado (ICP-OES, Agilent 725-OES, Australia).

4.4.6. Análisis estadístico

Los datos se sometieron a una prueba de Shapiro-Wilk y Bartlett ($P < 0.05$) para comprobar la normalidad y homogeneidad de varianzas. Se realizó transformación logarítmica cuando fue necesario, aunque los datos son mostrados sin transformar. Una vez que se comprobaron estos supuestos se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y las medias fueron comparadas con el método de Duncan a una significancia de $\alpha = 0.05$. Todos los análisis se realizaron en el programa SAS 9.0 (System Analytic Statistical Institute, Cary NC, USA).

4.5. Resultados

4.5.1. La aplicación de V tiende a estimular la germinación de tomate

Dos días después de la aplicación de los tratamientos (0, 5, 10 y 15 μM NH_4VO_3), el control fue superior a los tratamientos con V, pero en las mediciones hechas en los días 3 y 4 después de aplicados los tratamientos el porcentaje de germinación fue mayor con la aplicación de 5 μM de V, en comparación con resto de los demás tratamientos, superando al control en más del 4%. Al día 5 después de aplicados los tratamientos las semillas tratadas con 10 μM V mostraron el porcentaje de germinación más alto, en tanto que los demás tratamientos fueron muy similares entre sí (Figura 4.1).

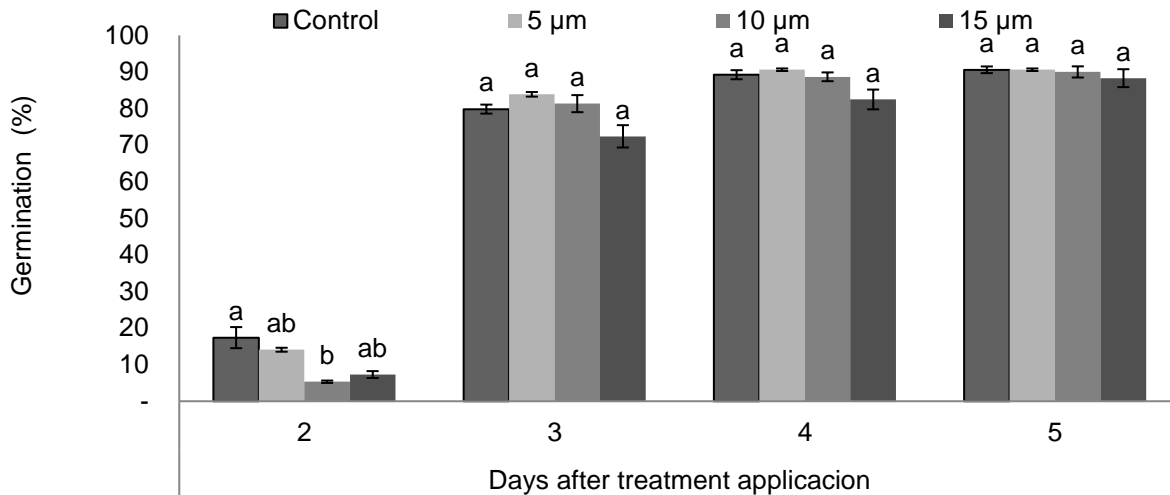


Figura 4.1. Porcentaje de germinación de semillas de tomate tratadas con diferentes concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μM V) 2, 3, 4 y 5 días después de aplicados los tratamientos. Medias con letras distintas sobre las columnas de cada medición indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$). Medias \pm Error Estándar ($n = 100$).

4.5.2. El V estimula el crecimiento y desarrollo de la planta

4.5.2.1. Altura de planta

Siete días después de la aplicación de los tratamientos, la altura de la planta fue mayor en el control que el resto de los tratamientos, aunque estadísticamente similar al tratamiento donde se aplicaron 15 μM V. Al día 14, la altura de planta no mostró diferencia entre tratamientos. A los 21 días después de la aplicación de V, la mayor altura de planta se observó en el tratamiento con 10 μM V, y los demás tratamientos fueron estadísticamente similares. Al día 28, la altura de planta fue mayor en el tratamiento con 5 μM V, pero similar al control y al tratamiento con 10 μM V. Resulta importante notar que en las mediciones efectuadas a los 21 y 28 días, la menor altura se obtuvo en el tratamiento con 15 μM V (Figura 4.2).

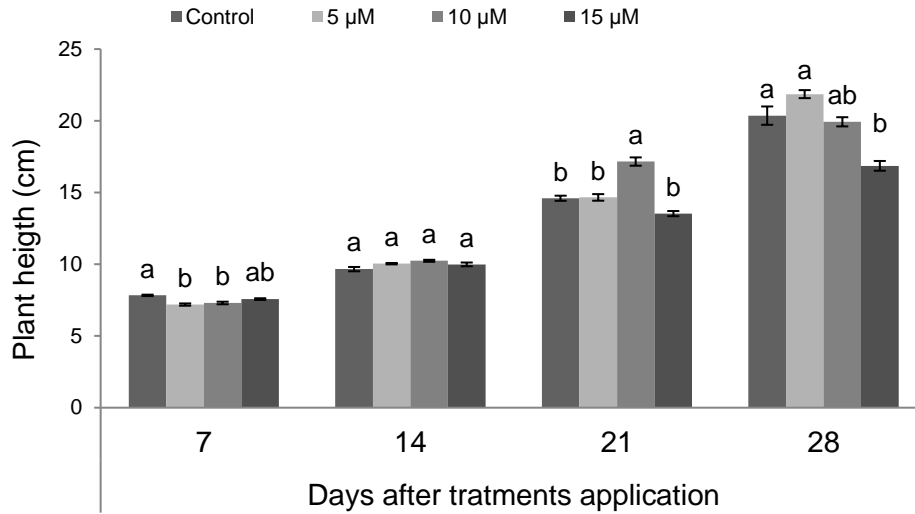


Figura 4.2. Altura de plantas de tomate crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μM V) 7, 14, 21 y 28 días después de aplicados los tratamientos. Medias con letras distintas sobre las columnas de cada medición indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$). Medias \pm Error Estándar ($n = 10$).

4.5.2.2. Volumen de raíces

El volumen de raíces se midió al finalizar el experimento, a los 28 días después de aplicados los tratamientos. La media más alta para esta variable se observó en plantas tratadas con 10 μM de V. Los demás tratamientos, incluyendo el, fueron similares entre ellos e inferiores al tratamiento con 10 μM de V (Figura 4.3). Fue importante notar que en las plantas tratadas con 5 y 15 μM se observaron mayor número de raíces secundarias en comparación con las plantas tratadas con 10 μM V.

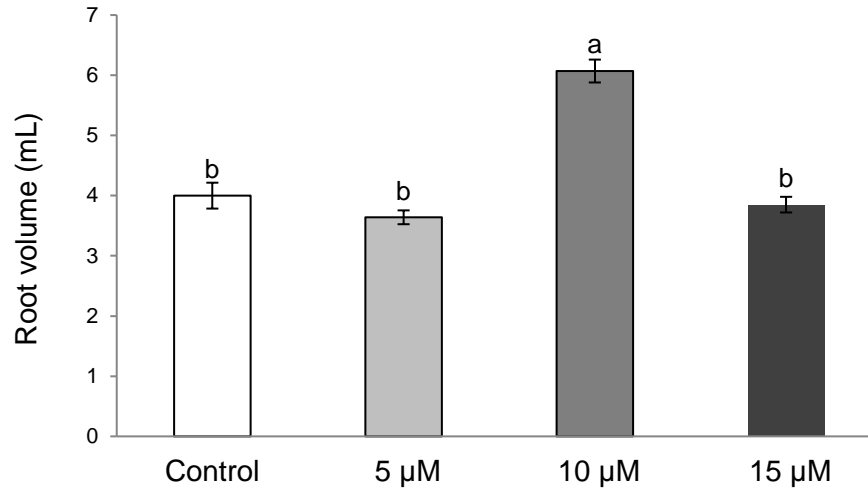


Figura 4.3. Volumen de raíces de plantas de tomate crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μ M V) durante 28 días. Medias con letras distintas sobre las columnas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$). Medias \pm Error Estándar (n = 10).

4.5.2.3. Diámetro de tallos, número de hojas, número de botones florales, peso de materia fresca y seca de flores

El diámetro del tallo de las plantas de tomate tratadas con 10 μ M V, fue superior a los demás tratamientos y al control. Sin embargo, con una concentración de 15 μ M V, el diámetro disminuyó incluso más que el control (Tabla 4.1).

Las plantas tratadas con 5 y 10 μ M V presentaron el mayor número de hojas, en tanto que las tratadas con 15 μ M V mostraron los valores más bajos para esta variable. Las plantas control presentaron un número intermedio de hojas (Tabla 4.1).

El número de botones florales por planta fue superior con la aplicación de 5 y 10 μ M V, en tanto la aplicación de 15 μ M V disminuyó el valor de esta variable. El valor más bajo de esta variable se observó en las plantas control (Tabla 4.1).

El peso de la biomasa fresca y seca de flores fue superior con la aplicación de 5 μ M V. Las medias en los demás tratamientos no observaron diferencias estadísticas significativas entre ellos, y fueron inferiores a la media observada con el tratamiento de 5 μ M V (Tabla 4.1). Fue

interesante observar que la aplicación de 5 μM V aceleró la floración y generó flores de mayor tamaño. La aplicación de 15 μM V también aceleró la floración, pero las flores fueron de menor tamaño que las que produjeron las plantas tratadas con 5 μM V. En cambio, en el control solo se observó la presencia de botones florales.

Tabla 4.1. Diámetro de tallos, número de hojas, número de botones florales, y peso de la materia fresca y seca de flores de plantas de tomate expuestas a diferentes concentraciones de vanadio (V) en la solución nutritiva.

Concentración de V	Diámetro de tallos (mm)	Número de hojas	Número de botones florales	Peso de materia fresca de flores (g)	Peso de materia seca de flores (g)
Control	5.72 \pm 0.09 b	8.87 \pm 0.20 b	7.50 \pm 0.71 b	0.32 \pm 0.03 b	0.03 \pm 0.004 b
5 μM	5.67 \pm 0.12 b	9.14 \pm 0.13 a	9.00 \pm 0.55 ab	0.50 \pm 0.07 a	0.06 \pm 0.005 a
10 μM	6.15 \pm 0.11 a	9.14 \pm 0.13 a	9.14 \pm 0.36 a	0.34 \pm 0.01 b	0.04 \pm 0.002 b
15 μM	4.31 \pm 0.11 c	7.66 \pm 0.10 c	8.14 \pm 0.27 b	0.31 \pm 0.04 b	0.04 \pm 0.005 b
<i>P</i>	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0072	0.0061

Medias con letra distinta, en cada columna, indican diferencias estadísticas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha=0.05$). Medias \pm Error Estándar ($n = 10$).

4.5.2.4. Peso de biomasa fresca y seca de hojas, tallos y raíces

Respecto al peso de la biomasa fresca y seca de hojas, los niveles bajo y medio de V (i.e. 5 y 10 μM V) produjeron medias similares al control, en tanto que al aplicar 15 μM V el valor de esta variable fue estadísticamente inferior que el resto de los tratamientos. El mismo comportamiento se observó en la variable peso fresco de tallos y raíces. Sin embargo, en estos últimos dos tejidos, se observó una tendencia a incrementar el valor de esta variable al aplicar 5 y 10 μM V. (Figuras 4.4 y 4.5).

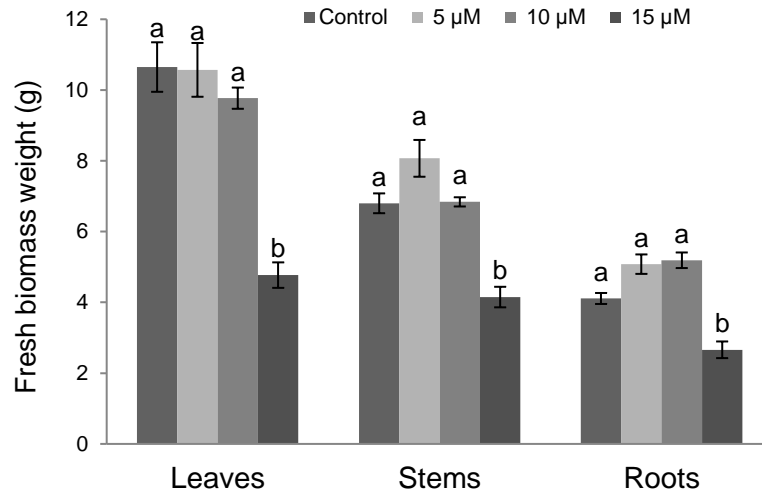


Figura 4.4. Peso de biomasa fresca de hojas, tallos y raíces de plantas de tomate crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μ M V) durante 28 días. Medias con letras distintas sobre las columnas de cada tejido indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$). Medias \pm Error Estándar (n = 10).

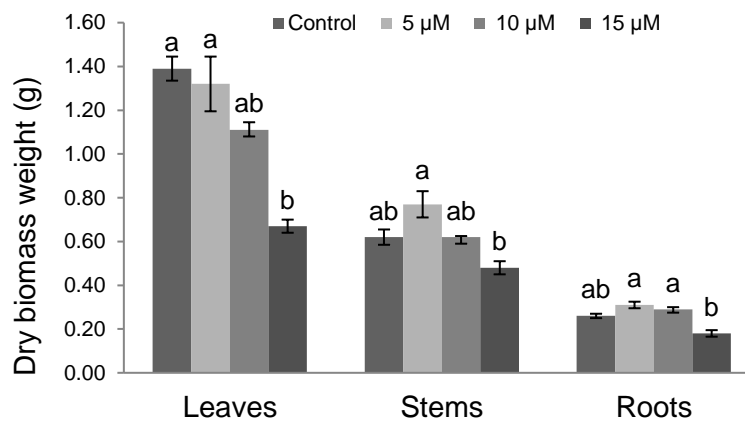


Figura 4.5. Peso de biomasa seca de hojas, tallos y raíces de plantas de tomate crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μ M V) durante 28 días. Medias con letras distintas sobre las columnas de cada tejido indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$). Medias \pm Error Estándar (n = 10).

4.5.2.5. Concentración de clorofila en hojas y tallos

Plantas control y tratadas con 5 μM V mostraron concentraciones más altas de clorofila *a* en hojas, en tanto que las tratadas con 10 y 15 μM V disminuyeron este valor. Un comportamiento opuesto se observó en tallos, ya que la mayor concentración de clorofila *a* se encontró con la aplicación de 15 μM V, seguido de 10 μM V y con menor concentración en los tratamientos con 5 μM V y el control.

El contenido de clorofila *b* en hojas y tallos fue superior en las plantas tratadas con 15 μM V. En todos los casos, la aplicación de V estimuló la concentración de clorofila *b* en ambos tejidos, aunque en hojas dicho aumento fue 2.16 a 2.56 veces mayor en plantas expuestas a V en comparación con plantas control. Las plantas control de hecho presentaron los valores más bajos para clorofila *b* en los tejidos.

Respecto a la concentración de clorofila total, los valores más altos en hojas se observaron en plantas tratadas con 5 μM V, y en tallos de plantas expuestas a 15 μM V. El valor más bajo en hojas se observó en plantas tratadas con 10 μM y 15 μM V, y en tallos en plantas control.

La relación de clorofila *a/b* en hojas y tallos fue mayor en los testigos. En hojas, la aplicación de 10 μM V presentó el valor más bajo comparado con el resto de los tratamientos. En tallos, el valor más bajo de esta variable se observó en plantas tratadas con 10 y 15 μM V (Tabla 4.2).

Tabla 4.2. Concentración de clorofilas en hojas y tallos de plantas de tomate expuestas a diferentes concentraciones de vanadio (V) en la solución nutritiva.

Clorofila	Órgano de la planta	Concentración de NH_4VO_3			
		Control	5 μM	10 μM	15 μM
Clorofila <i>a</i>	Hojas	1200.06±20.45ab	1284.83±11.5a	922.02±3.76c	1141.1±9.94b
	Tallos	140.93±2.41b	145.59±2.261b	182.85±2.39a	187.26±0.67a
Clorofila <i>b</i>	Hojas	85.43± 2.95c	182.18±2.87b	195.78± 5.49ab	215.64± 6.46a
	Tallos	37.96±1.21c	43.83± 2c	69.66±2.82b	82.02±1.35a
Clorofila total	Hojas	1285.49±19.6b	1467.01±9.19a	1117.8±7.51c	1356.73±15.1b
	Tallos	178.89±2.68b	189.42±3.91b	252.51±5.19a	269.28±2.03a
Clorofila <i>a/b</i>	Hojas	14.28± 0.6a	7.13±0.16b	4.76±0.15c	5.33±0.12bc
	Tallos	3.75±0.13a	3.38±0.11a	2.66±0.07b	2.29±0.03b

Medias con letras distintas en cada fila para cada tejido vegetal analizado son estadísticamente diferentes de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha=0.05$). Medias \pm Error Estándar ($n = 4$).

4.5.2.6. Concentración de aminoácidos libres totales y azúcares solubles totales en hojas, tallos y raíces

La concentración de aminoácidos en los tres tejidos de la planta analizados fue mayor en plantas control en comparación con las tratadas con V. En general, las mayores concentraciones de aminoácidos libres se observaron en tallos, y las menores en hojas, en tanto que las raíces mostraron concentraciones intermedias (Figura 4.6).

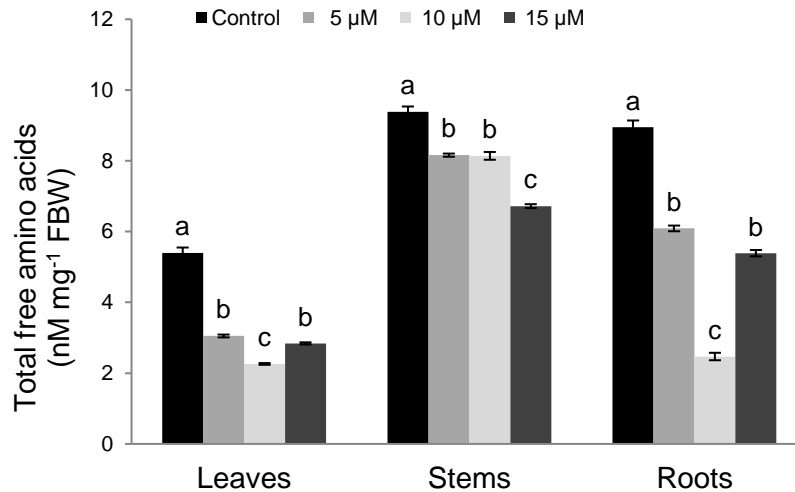


Figura 4.6. Concentración de aminoácidos libres totales en hojas, tallos y raíces de plantas de tomate crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μM V) durante 28 días. Medias con letras distintas sobre las columnas de cada tejido indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha=0.05$). Medias \pm Erros Estándar ($n=4$). FBW: Fresh Biomass Weight.

En hojas, la mayor concentración de azúcares solubles totales se obtuvo en plantas control y seguidas con las plantas tratadas con 15 μM V, en tanto que los valores de esta variable en hojas de plantas expuestas a 5 y 10 μM V fue inferior a los otros dos tratamientos. En tallos se presentó un comportamiento similar al observado en hojas, dado que la mayor concentración de azúcares se obtuvo en plantas control seguido de la concentración de 15 μM V, y el valor más bajo se obtuvo en la dosis de 5 μM V. En raíces, las mayores concentraciones de azúcares solubles se obtuvieron en plantas control y tratadas con 5 μM V; plantas expuestas a 10 y 15 μM V mostraron medias inferiores a los otros tratamientos respecto a esta variable. Independientemente de los tratamientos a que fueron expuestas las plantas, las concentraciones más elevadas de azúcares solubles totales se observaron en los tallos, en tanto que en raíces se observaron las concentraciones más bajas (Figura 4.7).

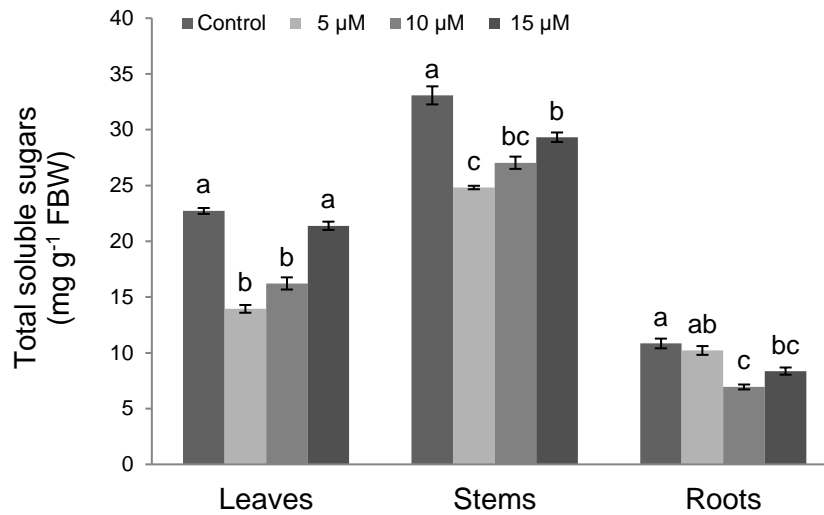


Figura 4.7. Concentración de azúcares solubles totales en hojas, tallos y raíces de plantas de tomate crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μ M V) durante 28 días. Medias con letras distintas sobre las columnas de cada tejido indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$). Medias \pm Error Estándar (n = 4). FBW: Fresh Biomass Weight.

4.5.2.7. Concentración de nutrimentos en hojas, tallos y raíces

En hojas y tallos, la aplicación más alta de V en la solución nutritiva (i.e. 15 μ M V) disminuyó las concentraciones de N, P y K en tejido, mientras que las de Ca y Mg no fueron afectadas por ninguno de los tratamientos de V. En raíces, la aplicación de 10 μ M V aumentó las concentraciones de N y K, pero la aplicación de 15 μ M V disminuyó la concentración de los cinco macronutrientes evaluados en este tejido (Tabla 4.3).

Tabla 4.3. Concentración de macronutrientos en hojas, tallos y raíces de plantas de tomate expuestas a diferentes concentraciones de vanadio (V) en la solución nutritiva.

Concentración de V	Concentración de macronutrientos en tejido vegetal (g kg ⁻¹ DBW)				
	N	P	K	Ca	Mg
Hojas					
Control	35.7 ± 3.82 a	6.78 ± 0.71 a	12.6 ± 1.56 a	16.97 ± 1.39 a	5.47 ± 0.51 a
5 µM	34.83 ± 0.95 a	5.19 ± 0.12 ab	10.47 ± 0.44 a	14.57 ± 0.27 a	4.82 ± 0.14 a
10 µM	30.28 ± 6.67 a	4.82 ± 0.14 ab	10.44 ± 0.27 a	16.74 ± 0.45 a	5.15 ± 0.16 a
15 µM	22.93 ± 0.48 b	3.81 ± 0.09 b	7.2 ± 0.17 b	14.61 ± 0.25 a	4.53 ± 0.05 a
Tallos					
Control	20.65 ± 1.58 a	6.51 ± 0.2 a	11.94 ± 0.83 a	5.09 ± 0.27 a	2.79 ± 0.15 a
5 µM	17.50 ± 1.87 a	4.89 ± 0.49 ab	10.56 ± 0.94 a	4.65 ± 0.26 a	2.04 ± 0.17 a
10 µM	18.20 ± 0.95 a	4.99 ± 0.04 ab	9.93 ± 0.80 a	5.76 ± 0.06 a	2.40 ± 0.03 a
15 µM	14.18 ± 0.54 b	4.12 ± 0.07 b	6.68 ± 0.67 b	5.37 ± 0.21 a	2.23 ± 0.06 a
Raíces					
Control	32.81 ± 1.05 ab	8.54 ± 0.36 a	7.71 ± 0.25 b	3.35 ± 0.15 a	3.25 ± 0.14 a
5 µM	28.13 ± 1.86 ab	8.35 ± 0.46 a	8.76 ± 0.4 ab	3.64 ± 0.13 a	3.53 ± 0.14 a
10 µM	36.47 ± 0.83 a	8.37 ± 0.10 a	10.2 ± 0.26 a	3.55 ± 0.06 a	3.21 ± 0.10 a
15 µM	22.91 ± 2.29 b	2.79 ± 0.27 b	2.38 ± 0.23 c	1.76 ± 0.12 b	0.98 ± 0.07 b

Medias con letras distintas en las columnas de cada tejido en los macronutrientos indican diferencias estadísticas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$). Medias \pm Error Estándar ($n = 4$).

Respecto a los micronutrientos, en hojas, el V no ejerció ningún efecto sobre las concentraciones de Fe, Cu ni Mn. Resulta interesante notar que la concentración más elevada de V probada en la solución nutritiva (i.e. 15 µM V) aumentó las concentraciones de Zn y B en este tejido. En tallos, la aplicación de V no afectó las concentraciones de Mn ni B, pero disminuyó las de Fe, Cu y Zn. En raíces, el nivel más elevado de V aplicado en la solución nutritiva disminuyó las concentraciones de todos los micronutrientos cuantificados, aunque los mayores efectos se observaron en Mn en todas las concentraciones de V evaluadas (Tabla 4.4).

Tabla 4.4. Concentración de micronutrientos en hojas, tallos y raíces de plantas de tomate expuestas a diferentes concentraciones de vanadio (V) en la solución nutritiva.

Concentración de V	Concentración de micronutrientos en tejido vegetal (mg kg ⁻¹ DBW)				
	Fe	Cu	Zn	Mn	B
Hojas					
Control	175.21 ± 14.32 a	7.58 ± 0.73 a	46.61 ± 4.23 b	973.74 ± 73.66 a	37.04 ± 2.55 b
5 µM	139.62 ± 4.75 a	6.22 ± 0.26 a	38.12 ± 0.44 b	880.07 ± 21.77 a	38.72 ± 1.53 b
10 µM	154.29 ± 2.66 a	6.15 ± 0.13 a	39.96 ± 1.58 b	1002.36 ± 24.54 a	33.82 ± 0.46 b
15 µM	183.08 ± 11.66 a	5.51 ± 0.38 a	57.72 ± 2.35 a	878.97 ± 22.39 a	47.81 ± 0.16 a
Tallos					
Control	324.09 ± 54.77 a	27.98 ± 5.12 a	58.6 ± 1.2 a	305.65 ± 40.75 a	26.44 ± 0.65 a
5 µM	64.04 ± 4.82 b	5.6 ± 0.56 b	40.88 ± 2.37 c	210.00 ± 18.59 a	21.39 ± 1.98 a
10 µM	67.68 ± 2.12 b	9.3 ± 1.76 b	49.60 ± 0.54 b	260.20 ± 4.31 a	25.20 ± 1.10 a
15 µM	95.06 ± 5.2 b	5.94 ± 0.26 b	49.53 ± 0.7 b	265.63 ± 6.29 a	24.85 ± 0.43 a
Raíces					
Control	605.87 ± 70.84 a	47.19 ± 2.26 a	81.05 ± 2.85 a	568.3 ± 14.51 a	23.89 ± 0.81 a
5 µM	545.56 ± 82.80 a	36.11 ± 4.78 a	79.55 ± 4.04 a	469.06 ± 19.48 b	33.46 ± 0.45 a
10 µM	558.84 ± 39.53 a	33.86 ± 1.62 a	85.63 ± 2.59 a	353.13 ± 15.64 c	35.67 ± 1.27 a
15 µM	352.06 ± 48.29 b	12.08 ± 1.32 b	54.17 ± 5.26 b	154.47 ± 13.61 d	13.81 ± 0.99 b

Medias con letras distintas en las columnas de cada tejido en los micronutrientos indican diferencias estadísticas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$). Medias ± Error Estándar ($n = 4$).

La concentración de V en hojas fue estadísticamente similar en todos los tratamientos, incluyendo el control, aunque se observa una tendencia de incrementar la concentración de V conforme incrementa las concentraciones aplicadas de este elemento. En tallos, las plantas control y tratadas con 5 µM V presentaron medias estadísticamente similares pero inferiores a las que mostraron las plantas expuestas a 10 y 15 µM V. En raíces, la máxima concentración de V se observó en plantas expuestas a 10 µM V, en tanto que las plantas control presentaron las medias más bajas. (Figura 4.8).

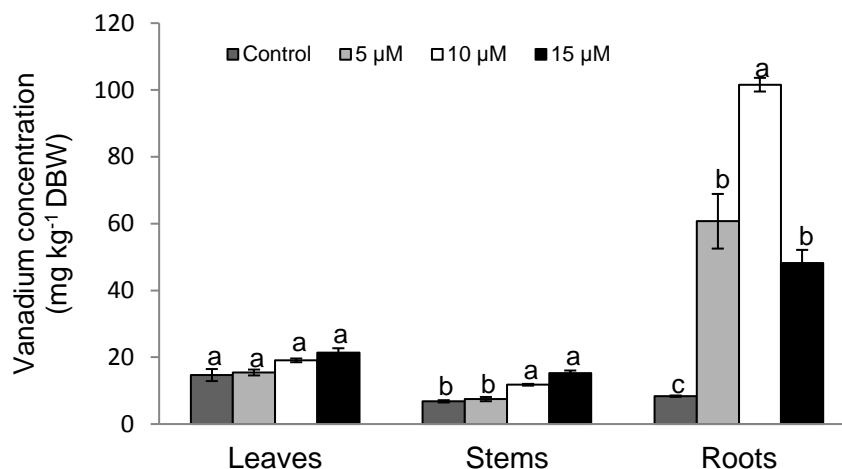


Figura 4.8. Concentración de vanadio (V) en hojas, tallos y raíces de plantas de tomate crecidas en solución nutritiva con diferentes concentraciones de V (0, 5, 10 y 15 μM V) durante 28 días. Medias con letras distintas sobre las columnas de cada tejido indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$). Medias \pm Error Estándar ($n = 4$). DBW: Dry Biomass Weight.

4.6. Discusión

4.6.1. Efecto del V en el crecimiento y desarrollo de la planta

Los elementos benéficos son aquellos que influyen positivamente en el crecimiento, desarrollo y producción de las plantas, aunque no son considerados esenciales (Pilon-Smits *et al.*, 2009) [29]. La función y la concentración a la cual un determinado elemento beneficia la fisiología de la planta varían de acuerdo a varios factores, incluyendo la forma de aplicación, el manejo agronómico del cultivo, la fuente del elemento benéfico, la especie vegetal y la etapa fenológica durante la cual se aplica. Por lo general, un determinado elemento benéfico aplicado a bajas concentraciones puede estimular el crecimiento, mientras que a altas concentraciones pueden ser perjudicial (Tang *et al.*, 2009) [30]. En este trabajo se observó que la aplicación de V no afectó la germinación de semillas de tomate a los 3, 4 y 5 días después de aplicados los tratamientos (dat), aunque a los 2 dat disminuyeron los valores de esta variable al aplicar V (Figura 4.1). En las variables de crecimiento, si se observaron

efectos positivos. Por ejemplo, a los 21 días, la altura de planta fue superior al control con la aplicación de 10 μM V; sin embargo, a los 28 días se encontró una tendencia a reducir la altura de la planta con esa concentración de V, mientras que con 5 μM V las plantas presentaron la mayor altura en términos absolutos, aunque la media fue estadísticamente similar al control y al tratamiento con 10 μM V (Figura 4.2). En triticale (*x Triticosecale* Wittm) se encontró que la aplicación de 120 μM V inhibió el crecimiento de brotes después de siete días de tratamiento (Garau *et al.*, 2015) [31]. En nuestro estudio, la aplicación de 5 μM V estimuló el crecimiento de las plantas de tomate, observándose mayor altura en el último muestreo, lo cual puede estar asociado a la capacidad del V para conferir mayor elasticidad al tejido, proporcionando mayor volumen de agua, mayor expansión celular y mayor crecimiento de las plantas (Emadian and Newton, 1989) [32].

La aplicación de 10 μM V produjo tallos con mayor diámetro, así como mayor número de hojas por planta respecto al control; mientras que la concentración con 15 μM V produjeron tallos de menor diámetro y menor cantidad de hojas (Tabla 4.1). En arroz, la aplicación de 1, 10, 20 y 40 mg L^{-1} V no afectó ni altura ni diámetro de tallo, aunque al aplicar 80 mg L^{-1} V hubo reducción del crecimiento de los órganos vegetativos (Chongkid *et al.*, 2007) [21]. En mostaza verde china (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*), la altura de planta y número de hojas disminuyó a medida que aumentó la concentración de V de 1 a 80 mg L^{-1} (Vachirapatama *et al.*, 2011) [22]. En lechuga (*Lactuca sativa*), la presencia de V produjo crecimiento anormal y decoloración de hojas (Smith *et al.*, 2013) [33]. Se ha sugerido que la reducción en el crecimiento de hojas está relacionado con la disminución de la actividad de las enzimas involucradas en la producción de aminoácidos (Sing and Wort, 1969) [34]. El V también podría actuar como barrera en la transferencia de la ATPasa que es necesaria para la absorción de minerales esenciales Wuilloud *et al.* (2000) [35], lo que podría estar provocando un crecimiento retardado de la planta, como sucedió en este trabajo, donde las plantas crecidas con 15 μM V tuvieron menor diámetro de tallo y menor número de hojas.

En nuestro estudio, la aplicación de 10 μM V estimuló el volumen de raíces (Figura 4.3), lo cual pudo deberse a que hubo mayor número de raíces secundarias en comparación con el control. Coincidentemente, en plantas de *Arabidopsis thaliana* expuestas a 25 μM se observó mayor formación y densidad de pelos radiculares (Lin *et al.*, 2015) [36]. Por el contrario, la aplicación de 15 a 153 μM V inhibió la formación de raíces secundarias en cuphea (*Cuphea viscosissima* \times *C. lanceolata* 'PSR 23') (Olness *et al.*, 2005) [37]. Asimismo, la aplicación de 160 a 400 μM V a plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) crecidas en hidroponía desarrollaron menor raíz principal y menor número de raíces secundarias (Saco *et al.*, 2013) [38].

Un fenómeno importante en nuestro estudio fue la observación de que la aplicación de 10 μM V estimuló la formación de botones florales (Tabla 4.1). Coincidentemente, en otro estudio con esta misma especie se encontró que la aplicación de 250 ng mL^{-1} V aumentó la producción de flores (Basiouny, 1984) [11]. Aunque en tallos y raíces la aplicación de 5 y 10 μM V tendió a aumentar la producción de biomasa fresca y seca, las diferencias con el control no fueron significativas. Por el contrario, al aplicar 15 μM V las medias de las variables peso de biomasa fresca y seca disminuyeron en los tres tejidos analizados. Resultados similares fueron obtenidos en el peso de la biomasa seca de brotes y raíces de soya, ya que éstos se redujeron significativamente cuando la concentración de V excedió 30 mg kg^{-1} de suelo (Wang and Liu, 1999) [39]. De igual manera, en mostaza verde china el peso de biomasa fresca de la raíz disminuyó con el aumento de la concentración de V aplicado (Vachirapatama *et al.*, 2011) [22]. Así mismo, el peso de biomasa fresca de las raíces de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) disminuyó significativamente con la aplicación de 25 mg L^{-1} V (Imtiaz *et al.*, 2015) [40]. Otros estudios también han reportado disminución de la biomasa vegetal fresca y seca con la aplicación de V (Tian *et al.*, 2015; Garau *et al.*, 2015; Olness, 2005) [3, 31, 37]. Por el contrario, la aplicación de V en suelos con estiércol, aumentó el peso de biomasa fresca y seca de soya debido a que la materia orgánica del suelo redujo el nivel de la forma tóxica de V (+5) a V (+4) (Sozudogru *et al.* 2001) [41]. También se ha reportado que el mayor peso de biomasa fresca y seca de tallos de arroz se encontró en plantas tratadas con 10 mg L^{-1} V (Chongkid *et al.*, 2007) [21]. En albaca dulce la biomasa fresca y seca de hojas y tallos no fue afectada por la aplicación hasta 40 mg L^{-1} V, mientras que la biomasa seca de la raíz aumentó linealmente con la concentración de V aplicada (Akoumianaki-Ioannidou *et al.*,

2016) [12]. Estos resultados sugieren un efecto hormético del V, al promover el crecimiento y desarrollo de diferentes especies vegetales con la aplicación de bajas concentraciones, mientras que altas concentraciones resultan tóxicas para las plantas e inhiben su crecimiento; este efecto también ha sido reportado en otros elementos benéficos como el Co, Se y Al (Poschenrieder *et al.*, 2013; Trejo-Téllez *et al.*, 2016; Moreno-Alvarado *et al.*, 2017) [42, 43, 44].

4.6.2. La clorofila en hojas y tallos de tomate crecido en diferentes dosis de V

La concentración de clorofila *a* y clorofila total, en hojas, fue superior con 5 μM V e inferior con 10 y 15 μM V, con respecto al control. En tallos, la concentración de clorofila *a*, *b* y total fue mayor en el tratamiento con 15 μM V; el resto de los tratamientos fueron menores o iguales al control (Tabla 4.2). Parte de estos resultados son semejantes a los obtenidos en swamp morning glory (*Ipomoea aquatica*) con la aplicación de 0.5 a 2.5 mg L^{-1} V, en un medio hidropónico, ya que a medida que aumentaron las concentraciones de V disminuyó la clorofila *a* y *b* (Chen *et al.*, 2016) [45]. Del mismo modo, en garbanzo la concentración de clorofilas *a* y *b* disminuyó al aplicar niveles crecientes de V (de 15 a 120 mg L^{-1} V) (Imtiaz *et al.*, 2016) [46]. En frijol se reportó reducción en el número de cloroplastos en células tratadas con V a concentraciones de 240 y 320 μM Saco *et al.* (2013) [38] y se ha reportado que este elemento afecta la formación de protoporfirina-IX, precursor esencial para la síntesis de clorofila (Meisch and Bielig, 1975) [47]. Por el contrario, el contenido de clorofilas *a* y *b* en hojas de maíz aumentó notablemente al incrementar la concentración de V de 0 a 6.25 mg L^{-1} V (Singh, 1971) [10]. También se ha reportado que la aplicación de 250 ng mL^{-1} V incrementa la concentración de clorofila en tomate, lo que mejora la reacción de Hill en los cloroplastos y puede acelerar la fotosíntesis y favorecer el desarrollo de la planta (Basiouny, 1984) [11]. En tallos, las concentraciones de clorofila *a*, *b* y total tendieron a aumentar a medida de que se incrementó la concentración de V en la solución nutritiva.

4.6.3. Aminoácidos libres y azúcares totales en hojas, tallos y raíces de tomate

La concentración de aminoácidos libres en hojas, tallos y raíces fue mayor en el control, y disminuyó con la aplicación de V (Figura 4.6). La aplicación de 10 μM V, en remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris*), redujo el crecimiento de hojas, la concentración de clorofila y aminoácidos debido a un efecto tóxico del V (Singh and Wort, 1969) [34]. En nuestro estudio, se obtuvo mayor concentración de aminoácidos libres totales en tallos, y menor en hojas.

La concentración de azúcares solubles totales fue superior en las plantas control en los tres tejidos analizados, siendo mayor la concentración en tallos, seguido de hojas y por último en raíces. Fue interesante observar que las menores concentraciones de V probadas disminuyeron las concentraciones de azúcares solubles en hojas y tallos, en tanto que al aumentar los niveles de V así también se aumentó la concentración de estas biomoléculas en estos tejidos (Figura 4.7). Resultados contrastantes se reportaron en remolacha azucarera donde el contenido de sacarosa aumentó 28% en las plantas tratadas con 10 mM V, comparado con el control (Singh and Wort, 1969) [34]. Un mayor contenido de sacarosa podría estimular la fijación de CO_2 e incrementar la actividad de las enzimas de la biosíntesis de sacarosa, lo que aumenta la eficiencia fotosintética que resulta una mayor fuente de energía, y por lo tanto, contribuye en el desarrollo de la planta, y estimula la floración. Se ha indicado que azúcares como sacarosa promueven la transición floral en varias especies vegetales Ohto *et al.* (2001) [48], por lo que el V podría ser un factor externo importante para activar las vías de regulación de la transición floral en tomate.

4.6.4. El V y su efecto en la concentración nutrimental de plantas de tomate

La concentración más alta de V probada (i.e. 15 μM V) disminuyó significativamente las concentraciones de N en hojas, tallos y raíces. Por el contrario, la aplicación de 3 y 6 mg kg^{-1} V aumentó las concentraciones de este macronutriente en raíces y hojas en frijol (Kaplan *et al.*, 1990) [49]. Del mismo modo, en soya se reportó un aumento en el contenido de este mineral con la aplicación de 0.5 y 1.0 mg kg^{-1} V (Sozudogru *et al.*, 2001) [41]. La concentración de P disminuyó en hojas, tallos y raíces de plantas tratadas con 15 μM V,

mientras que con aplicaciones de 5 y 10 μM V las concentraciones de este elemento fueron similares al control en hojas, tallos y raíces. Resultados parcialmente similares fueron reportados hojas y raíces de frijol, ya que no se encontraron diferencias, en la concentración de P, bajo los tratamientos evaluados de V (Kaplan *et al.*, 1990) [49]. Así también, en plantas de soya, la concentración de P se redujo al incrementar los tratamientos con V (0-2.0 mg kg⁻¹) (Sozudogru *et al.*, 2001) [41]. En swamp morning glory, la concentración de P se redujo exponencialmente en hojas, vástago y raíces al aumentar la concentración de V en la solución nutritiva (Chen *et al.*, 2016) [45]. Bajas concentraciones de V promueven la absorción de P en plantas de garbanzo, mientras que niveles altos de V inhiben su absorción (Imtiaz *et al.*, 2017) [50]. En el presente estudio los resultados son parcialmente similares donde se encontró una relación negativa entre P y V, ya que al aumentar la dosis de V, se redujo la concentración de P en hojas, tallos y raíces y con dosis de 5 μM V se obtuvo la máxima concentración en hojas y con 10 μM V se obtuvo la máxima concentración de P en tallos y raíces. La relación entre la absorción de P y V resulta importante debido a su analogía química, ya que se ha indicado que el V inhibe las reacciones enzimáticas donde el P es un componente importante, como fosfatasa, liasa, sintasa y ATPasa. Además, la absorción de vanadatos está dada por transportadores de fosfato en raíces (Imtiaz *et al.*, 2017) [50]. También se ha mencionado que la unión de V en un sitio de unión del P no siempre inhibe la actividad enzimática, y la identificación de las uniones de V a diferentes grupos enzimáticos ha sido de gran utilidad en la comprensión, reconocimiento y evaluación de nuevas estructuras proteicas (Akabayov and Acabayov, 2014) [15].

Niveles crecientes de V disminuyeron la concentración de K en hojas, tallos y raíces de tomate; en hojas y tallos no presentaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos y control, mientras que en raíces si fue significativo con respecto al control. Parcialmente similar a nuestro estudio con hojas y tallos, en otros cultivos como maíz Singh (1971) [10], soya Sozudogru *et al.* (2001; Kaplan *et al.* (1990) [41, 49] y albahaca Akoumianaki-Ioannidou *et al.* (2016) [12] no se reportaron efectos significativos por la aplicación de V en las concentraciones nutrimentales en hojas, vástago o raíces.

Las concentraciones de Ca y Mg no fueron afectadas por la aplicación de V ni en hojas ni en tallos, aunque en raíces, la concentración más alta de V disminuyó las concentraciones de

estos macronutrientes en este tejido. Por el contrario, en raíces de soya, la aplicación de 3 y 6 mg kg⁻¹ V incrementaron la concentración de Ca. Sin embargo, en hojas la concentración de Ca se redujo (Kaplan *et al.*, 1990) [49]. En albahaca, la concentración de Ca no fue afectada por el V en hojas y tallos, pero en raíz se redujo con la aplicación de 5 a 40 mg L⁻¹ V Akoumianaki-Ioannidou *et al.* (2016) [12], lo cual coincide con nuestros estudios. En soya, el V redujo la concentración de Mg en raíz pero no afectó las concentraciones de este macronutriente en hojas (Kaplan *et al.*, 1990) [49]. En albahaca, el V no afectó la concentración de Mg en hojas y tallos, pero igual que en soya, se redujo la concentración de Mg en raíz (Akoumianaki-Ioannidou *et al.*, 2016) [12].

En hojas, las concentraciones de Fe, Cu y Mn no fueron afectadas por la aplicación de V. De forma interesante se observó que el nivel más elevado de V aplicado en la solución nutritiva, aumentó las concentraciones de Zn y B en este tejido. Por otra parte, en tallos, la aplicación de V no afectó las concentraciones de Mn ni B, pero disminuyó las de Fe, Cu y Zn. En raíces, las concentraciones de Cu, Zn y Mn disminuyen, en tanto que las de Fe no fueron afectadas por V en este tejido. Resultó interesante observar que los niveles bajos V aumentaron las concentraciones de B en raíces, en tanto que el nivel más elevado (i.e. 15 µM V) disminuyó la concentración de B en este tejido. En soya, el V tampoco afectó las concentraciones de Fe, Mn, ni Cu, pero disminuyó las de B, Zn y Mo (Kaplan *et al.*, 1990) [49]. En menta poleo (*Mentha pulegium*), la aplicación de V redujo las concentraciones de Fe y Zn en hojas y tallos, en tanto que en raíz, la concentración de Fe incrementó y la de Zn no fue alterada Akoumianaki-Ioannidou *et al.* (2015) [51]. En albahaca, la concentración de Fe, en hojas, se redujo conforme incrementó el nivel de V, pero no se modificó la concentración de Zn; en tallos no se reportaron efectos ni en Fe tampoco en Zn; en raíces, dosis crecientes de V redujeron gradualmente las concentraciones de Fe y Zn (Akoumianaki-Ioannidou *et al.*, 2016) [12].

La concentración de V en hojas fue estadísticamente similar en todos los tratamientos, incluyendo el control, aunque se observa una tendencia de incrementar la concentración de V conforme incrementa las concentraciones aplicadas de este elemento. En tallos, las plantas control y tratadas con 5 µM V presentaron medias estadísticamente similares pero inferiores a las que mostraron las plantas expuestas a 10 y 15 µM V. En raíces, la máxima

concentración de V se observó en plantas expuestas a 10 μM V, en tanto que las plantas control presentaron las medias más bajas. Resultados parcialmente semejantes han sido reportados en menta poleo y albahaca [Akoumianaki-Ioannidou et al. \(2015, 2016\)](#) [51,12], ya que la concentración de V en hojas fue estadísticamente similar al control con la aplicación de 5, 10 y 20 mg L^{-1} , mientras en raíces la concentración de V aumentó conforme se incrementó el nivel de este elemento en solución. En general, se obtuvo mayor concentración de V en raíces, seguido por hojas y en menor medida en tallos (raíces>hojas>tallos). Estos resultados son similares a los reportados en soya (raíces>hojas) [Kaplan et al. \(1990\)](#) [49], frijol (raíces>hojas) [Saco et al. \(2013\)](#) [38], menta poleo (raíces>tallos>hojas), albahaca (raíces>hojas>tallos) [Akoumianaki-Ioannidou et al. \(2015, 2016\)](#) [51, 12] y swamp morning glory (raíces>hojas>tallos) [Chen et al. \(2016\)](#) [45], donde se ha reportado mayor concentración de V en raíces que en hojas. Es posible observar que las distintas especies de plantas tienen similares capacidades de absorción y movilización del V, así como diversos mecanismos de respuesta a este elemento. Para tener un conocimiento más profundo sobre el tema en esta especie, será necesario realizar estudios fisiológicos, bioquímicos y moleculares en este y otros cultivares, incluyendo diferentes etapas fenológicas, dosis y formas de aplicación, fuentes químicas del elemento, entre otros factores. Además, será necesario identificar las rutas de absorción, transporte y asimilación en tejido vegetal, su acumulación en frutos, sus potenciales efectos bioestimulantes y tóxicos, y sus impactos en la planta, en el ambiente y la salud humana de forma integral.

4.7. Conclusiones

El V no afectó la germinación en tomate. La aplicación de 5 μM V incrementó altura de planta en el último muestreo, el volumen de raíces aumento con 10 μM V. Además, la aplicación de este elemento estimuló la concentración de clorofilas en hojas con aplicaciones de 5 μM V y en tallos con 15 μM V. Efectos negativos del V fueron encontrados en macronutrientes con 15 μM V debido a que disminuye su concentración de N, P y K en los tres órganos de la planta y Ca y Mg en raíces; caso contrario con esa aplicación de V se favorecieron los micronutrientes Fe, Zn y B en hojas y Zn en tallos. Nuestros resultados

demuestran que el V puede ser usado como un elemento benéfico para mejorar el cultivo del tomate en etapas tempranas de desarrollo.

4.8. Referencias

1. Rodríguez-Mercado JJ, Altamirano-Lozano MA. Vanadio: Contaminación, Metabolismo y Genotoxicidad. *Rev Int Contam Ambient.* 2006; 22: 173–189
2. Yang J, Tang Y, Yang K, Rouff AA, Elzinga EJ, Huang JH. Leaching characteristics of vanadium in mine tailings and soils near a vanadium titanomagnetite mining site. *J Hazard Mater.* 2014; 264: 498–504
3. Tian L-Y, Yang J-Y, Huang JH. Uptake and speciation of vanadium in the rhizosphere soils of rape (*Brassica juncea* L.) *Environ Sci Pollut Res.* 2015; 22: 9215–9223. doi: 10.1007/s11356-014-4031-0
4. Thompson KH, McNeill JH, Orvig C. Vanadium compounds as insulin mimics. *Chem Rev.* 1999; 99: 2561–2571. doi: 10.1021/cr980427c
5. Delfert DM, McDonald JM. Vanadyl and vanadate inhibit Ca²⁺ transport systems of the adipocyte plasma membrane and endoplasmic reticulum. *Arch Biochem Biophys.* 1985; 241: 665–672. doi: 10.1016/0003-9861(85)90593-4
6. Bode HP, Friebel C, Furhmann FG. Vanadium uptake by yeast cells. *BBA-Biomembranes.* 1990; 1022: 163–170. doi: 10.1016/0005-2736(90)90110A
7. Wendt C. Informaciones agronómicas. *INPOFOS.* 1992; 8: 1–12
8. Muzlera Klappenbach A, Bustingorri C, Lavado RS. Respuesta de la soja a elementos tóxicos (cloruros, arseniatos, fluoruros y vanadatos) presentes naturalmente en aguas y suelos. *Rev. Agronomía & Ambiente.* 2015; 35: 59–70
9. Welch RM. Vanadium uptake by plants. Absorption kinetics and the effects of pH, metabolic inhibitor, and other anions and cations. *Plant Physiol.* 1973; 51: 828–832. doi: 10.1104/pp.51.5.828

10. Singh BB. Effect of vanadium on the growth, yield and chemical composition of maize (*Zea mays* L). *Plant Soil*. 1971; 34: 209–212. doi: 10.1007/BF01372773
11. Basiouny FM. Distribution of vanadium and its influence on chlorophyll formation and iron metabolism in tomato plants. *J Plant Nutr*. 1984; 7: 1059–1073. doi: 10.1080/01904168409363265
12. Akoumianaki-Ioannidou A, Barouchas PE, Iliá E, Kyramariou A, Moustakas NK. Effect of vanadium on dry matter and nutrient concentration in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Aust J Crop Sci*. 2016; 10: 199–206
13. Wang H, Wang T, You L, Zhong G, Shi G. Effects of vanadate supply on plant growth, Cu accumulation, and antioxidant capacities in *Triticum aestivum* L. *Environ Geochem Hlth*. 2013; 35: 585–592. doi: 10.1007/s10653-013-9541-z
14. Hu Y, Lee CC, Ribbe WM. Vanadium nitrogenase: A two-hit wonder? *Dalton Trans*. 2012; 41: 1118–1127. doi:10.1039/c1dt11535a
15. Akabayov SR, Akabayov B. Vanadate in structural biology. *Inorg Chim Acta*. 2014; 420: 16–23. doi: 10.1016/j.ica.2014.02.010
16. Venkataraman BV, Sudha S. Vanadium toxicity. *Asian J Exp Sci*. 2005; 19: 127–134
17. Thompson KH, Orvig C. Vanadium in diabetes: 100 years from Phase 0 to Phase I. *J Inorg Biochem*. 2006; 100: 1925–1935. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2006.08.016
18. Heyliger CE, Tahiliani AG, McNeill JH. Effect of vanadate on elevated blood glucose and depressed cardiac performance of diabetic rats. *Science*. 1985; 227: 1474–1477. doi: 10.1126/science.3156405
19. Soveid M, Dehghani GA, Omrani GR. Long- term efficacy and safety of vanadium in the treatment of type 1 diabetes. *Arch Iran Med*. 2013; 16: 408–411. doi: 013167/AIM.009
20. Rehder D. The role of vanadium in biology. *Metallomics*. 2015; 7: 730–742. doi: 10.1039/c4mt00304g

21. Chongkid B, Vachirapatama N, Jirakiattikul Y. Effects of V on rice growth and vanadium accumulation in rice tissues. *Kasetsart J (Nat Sci)*. 2007; 41: 28–33
22. Vachirapatama N, Jirakiattikul Y, Dicinoski G, Townsend AT and Haddad PR. Effect of vanadium on plant growth and its accumulation in plant tissues. *Songklanakarin J Sci Technol*. 2011; 33: 255–261
23. FAO. FAOSTATS. Crops. Tomato. World. Production Quantity. 2016. Statistics on tomato. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> C
24. Azofeifa A, Moreira M. Absorción y distribución de nutrimentos en plantas de chile dulce (*Capsicum annuum* CV. UCR 589) en Alajuela, Costa Rica. *Agron Costarric*. 2005; 29: 77–84
25. Geiger M, Walch-Liu P, Engels C, Harnecker J, Schulze ED, Ludewig F, Sonnewald U, Scheible WR, and Stitt M. Enhanced carbon dioxide leads to a modified diurnal rhythm of nitrate reductase activity in older plants, and a large stimulation of nitrate reductase activity and higher levels of amino acids in young tobacco plants. *Plant Cell Environ*. 1998; 21: 253–268. doi:10.1046/j.1365-3040.1998.00277.x
26. Moore S Stein WH. A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. *J Biol Chem*. 1954; 211: 907–913
27. Bremner JM. Total nitrogen. *Agronomy*. 1965; 9: 1149–1178
28. Alcántar GG, Sandoval MV. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Publicación Especial. Núm. 10. SMCS. 1999. Chapingo, México, 150 p
29. Pilon-Smits AHE, Quinn FC, Tapken W, Malagoli M, Schiavon M. Physiological functions of beneficial elements. *Curr Opin Plant Biol*. 2009; 12: 267–274. doi: 10.1016/j.pbi.2009.04.009
30. Tang Y-T, Qiu R-L, Zeng X-W, Ying R-R, Yu F-M, Zhou X-Y. Lead, zinc, cadmium hyperaccumulation and growth stimulation in *Arabis paniculata* Franch. *Environ Exp Bot*. 2009; 66: 126–134. doi: 10.1016/j.envexpbot.2008.12.016

31. Garau G, Palma A, Lauro PG, Mele E, Senette C, Manunza B, Deiana S. Detoxification processes from Vanadate at the root apoplasm activated by caffeic and polygalacturonic acids. *Plos one*. 2015; 10: e0141041. doi:10.1371/journal.pone.0141041
32. Emadian SF, Newton RJ. Growth enhancement of loblolly pine (*Pinus taeda* L.) seedlings by Silicon. *J Plant Physiol*. 1989; 134: 98–103. doi: 10.1016/S0176-1617(89)80209-3
33. Smith PG, Boutin C, Knopper L. Vanadium pentoxide phytotoxicity: Effects of species selection and nutrient concentration. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2013; 64: 87–96. doi:10.1007/s00244-012-9806-z
34. Singh B, Wort DJ. Effect of vanadium on growth, chemical composition, and metabolic processes of mature sugar beet (*Beta vulgaris* L.) Plants. *Plant Physiol*. 1969; 44: 1321–1327. doi: 10.1104/pp.44.9.1321
35. Wuilloud RG, Salonia JA, Gásquez JA, Olsina RA, Martinez LD. On-line pre-concentration system for vanadium determination in drinking water using flow injection-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Anal Chim Acta*. 2000; 420: 73–79
36. Lin C-Y, Huang L-Y, Chi W-C, Huang T-L, Kakimoto T, Tsai C-R, Huang H-J. Pathways involved in vanadate-induced root hair formation in *Arabidopsis*. *Physiol Plantarum*. 2015; 153: 137–148. doi: 10.1111/ppl.12229
37. Olness A, Gesch R, Forcella F, Archer D, Rinke J. Importance of vanadium and nutrient ionic ratios on the development of hydroponically grown cuphea. *Ind Crop Prod*. 2005; 21: 165–171. doi: 10.1016/j.indcrop.2004.02.005
38. Saco D, Martin S, San Jose P. Vanadium distribution in roots and leaves of *Phaseolus vulgaris*: morphological and ultrastructural effects. *Biol Plantarum*. 2013; 57: 128–132. doi: 10.1007/s10535-012-0133-z
39. Wang JF, Liu Z. Effect of vanadium on the growth of soybean seedlings. *Plant Soil*. 1999; 216: 47–51. doi: 10.1023/A:1004723509113

40. Imtiaz M, Tu S, Xie Z, Han D, Ashraf M, Rizwan MS. Growth, V uptake, and antioxidant enzymes responses of chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes under vanadium stress. *Plant Soil*. 2015; 390: 17–27. doi: 10.1007/s11104-014-2341-0
41. Sozudogru S, Kutuk AC, Halilova H. Effects of Vanadium on the growth, chlorophyll, and mineral content of Soybean (*Glycine max* L.) Merr). *Ciencia*. 2001; 9: 88–95
42. Poschenrieder C, Tolrà R, Barceló J. Can metals defend plants against biotic stress? *Trends Plant Sci*. 2006; 11: 288–295. doi: 10.1016/j.tplants.2006.04.007
43. Trejo-Téllez LI, Gómez-Merino FC, Alcántar-González G. “Elementos benéficos: potencialidades y limitantes,” in *Nutrición de Cultivos*, eds G. Alcántar, LI. Trejo-Téllez, FC. Gómez-Merino (Mexico City: Colegio de Postgraduados). 2016; 59–101.
44. Moreno-Alvarado M, García-Morales S, Trejo-Téllez LI, Hidalgo-Contreras V, Gómez-Merino FC. Aluminum enhances growth and sugar concentration, alters macronutrient status and regulates the expression of NAC transcription factors in rice. *Front. Plant Sci*. 2017; 8: 1–16. doi: 10.3389/fpls.2017.00073
45. Chen T, Li T-Q, Yang J-Y (2016) Damage suffered by swamp morning glory (*Ipomoea aquatic* Forsk) exposed to vanadium (V). *Environ Toxicol Chem*. 2016; 35: 695–701. doi: 10.1002/etc.3226
46. Imtiaz M, Mushtaq MA, Rizwan MS, Arif MS, Yousaf B, Ashraf M, Shuanglian X, Rizwan M, Mehmood S, Tu S. Comparison of antioxidant enzyme activities and DNA damage in chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes exposed to vanadium. *Environ Sci Pollut. Res*. 2016; 23: 19787–19796. doi 10.1007/s11356-016-7192-1
47. Meisch H-U, Bielig H-J. Effect of vanadium on growth, chlorophyll formation and iron metabolism in unicellular green algae. *Arch Microbiol*. 1975; 105: 77–82. doi: 10.1007/BF00447117
48. Ohto M, Onai K, Furukawa Y, Aoki E, Araki T, Nakamura K. 2001. Effects of sugar on vegetative development and floral transition in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*. 2001; 127: 252–261. doi: 10.1104/pp.127.1.252

49. Kaplan DI, Adriano DC, Carlson CL, Sajwan KS. Vanadium: toxicity and accumulation by beans. *Water Air Soil Poll.* 1990; 49: 81–91. doi: 10.1007/BF00279512
50. Imtiaz M, RizwanMS, Mushtaq MA, Yousaf B, Ashraf M, Ali M, Yousuf A, Rizwana M, Din M, Dai Z, Xiong S, Mehmood S, Tu S. Interactive effects of vanadium and phosphorus on their uptake, growth and heat shock proteins in chickpea genotypes under hydroponic conditions. *Environ Exp Bot.* 2017; 134: 72–81. doi: 10.1016/j.envexpbot.2016.11.003
51. Akoumianaki-Ioannidou A, Barouchas PE, Kyramariou A, Iliia E, Moustakas NK. Effect of vanadium on dry matter and nutrient concentration in pennyroyal (*Mentha pulegium* L). *Bull Univ Agric Sci.* 2015; 72: 295–298. doi: 10.15835/buasvmcn-hort:11348

CONCLUSIÓN GENERAL

Los elementos beneficiosos lantano (La), silicio (Si) y vanadio (V) usados en esta investigación favorecieron algunas respuestas de estudio, estas respuestas variaron con respecto a la especie, la variedad, el tiempo de exposición, etapa fenológica, condiciones climáticas, la dosis aplicada entre otros factores.

El efecto beneficioso de La en plantas de pimiento dulce, se observó en las variables morfológicas al aplicar 10 μM de La, incrementó la altura de la planta, el diámetro de tallo y número de botones florales en la mayoría de las variedades de pimiento evaluadas. En los parámetros de calidad en función al tiempo de exposición, aumentó la concentración de clorofilas (15 dat), azúcares totales, aminoácidos solubles totales y proteínas solubles totales en hojas en la mayoría de las variedades utilizadas a los (30 dat).

Por otra parte, el efecto benéfico de V en pimiento cv. *Mysterio F1*, con la aplicación de 5 μM aumentó la altura de la planta, el diámetro de tallo, el número de hojas y botones florales, el volumen de raíces, el peso de la biomasa fresca y seca en las plantas de pimiento. A bajas concentraciones de V estimuló la concentración de pigmentos en hojas, así también la concentración de aminoácidos y azúcares en las hojas y raíces de pimiento, aceleró el proceso de floración y la cantidad de botones florales. Con altas concentraciones de este elemento 15 μM disminuyeron las concentraciones de Mg y Mn en las hojas; el resto de los nutrientes esenciales analizados en los diferentes órganos de la planta tuvo un efecto sinérgico con V principalmente con 5 μM V en tallos y 15 μM V en raíces.

Mientras tanto, el Si en pimiento cv. *Mysterio F1* con la aplicación de 125 mg L^{-1} aumentó la altura de la planta en el último muestreo, la concentración de clorofilas en hojas y tallos, la concentración de azúcares en hojas y la concentración de Ca en tallos. Con la dosis de 250 mg L^{-1} Si incrementó la relación a/b en hojas y tallos. Con 60 mg L^{-1} favoreció la concentración de aminoácidos en raíces y la concentración de K en tallos. Los efectos negativos de Si en plantas de pimiento se presentaron con la aplicación de 125 y 250 mg L^{-1} Si en la concentración de Zn y Mn respectivamente en hojas.

Por último la aplicación de V en tomate incrementó la altura de la planta con 5 μM V en el último muestreo, con 10 μM V aumentó el volumen de raíces. Además con aplicaciones de 5 μM V en hojas y 15 μM V en tallos estimuló la concentración de pigmentos fotosintéticos. En relación a los nutrientes el V mostró efectos negativos en la concentración de N, P y K en los tres órganos de la planta con aplicaciones de 15 μM V, Ca y Mg en raíces. Contrariamente en micronutrientes Fe, Zn y B en hojas y Zn en tallos, se favorecieron con la aplicación alta de este elemento.

El La, mostró muchos efectos positivos en la mayoría de las variables tanto de crecimiento como bioquímicas en las diferentes variedades de pimiento, con estos antecedentes se pueden aplicar esas dosis en otras hortalizas de mayor consumo.

Por otra parte el Si, las concentraciones de este elemento fueron inconsistentes en todas las variables de estudio en pimiento, sería conveniente aplicar estas dosis con otras hortalizas.

El V en las dos hortalizas de estudio, presentaron respuestas similares, con respecto en las variables de crecimiento, con dosis bajas incremento esta variable respuesta, con mayor frecuencia en pimiento comparados con tomate y con dosis altas inhibieron la concentración de macro y micronutrientes, en las dos hortalizas.

Aunado a lo anterior, con aplicaciones bajas o altas de estos elementos, presentaron efectos positivos o negativos en las variables respuesta, dado que el La, V y Si presentan el fenómeno de hormesis caracterizado por dosis bajas estimula y dosis altas inhibe. Estos elementos benéficos son bioestimuladores en pimiento y tomate, que pueden ser aplicados en otras hortalizas principalmente donde la información es casi nula. Los enfoques fisiológicos, bioquímicos y genómicos presentaran nuevos enfoques de acción y respaldarán el uso extensivo de estos elementos en las plantas.

En términos de Horticultura, se requieren más investigaciones para encontrar el método correcto de aplicación (es decir, solución hidróponica, aspersiones foliares, nanofertilizantes, etc) y la etapa fenológica para la aplicación en diferentes genotipos de pimiento y tomate.