



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS**

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

FISIOLOGÍA VEGETAL

**EFFECTO DEL OZONO EN EL DESARROLLO DE LECHUGA (*Lactuca
sativa L.*) Y PIMIENTO MORRÓN (*Capsicum annuum L.*) EN
HIDROPONÍA**

JORGE ALEJANDRO VAZQUEZ IBARRA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

La presente tesis titulada: "EFECTO DEL OZONO EN EL DESARROLLO DE LECHUGA (*Lactuca sativa*) Y PIMIENTO MORRON (*Capsicum annum*) EN HIDROPONIA" realizada por el alumno Jorge Alejandro Vázquez Ibarra, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

FISIOLOGÍA VEGETAL


CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO: 

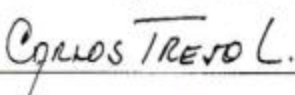
Dra. Cecilia Beatriz Peña Valdivia

ASESOR: 


MC. Albino Villegas Bastida

ASESOR: 

Dr. Gerardo Sergio Benedicto Valdés

ASESOR: 

Dr. Carlos Trejo López

ASESOR: 

Dr. Prometeo Sánchez García

CONTENIDO

EFFECTO DEL OZONO EN EL DESARROLLO DE LECHUGA (<i>Lactuca sativa</i> L.) Y PIMIENTO MORRÓN (<i>Capsicum annuum</i> L.) EN HIDROPONIA	1
Resumen	1
EFFECT OF OZONE IN THE DEVELOPMENT OF LETTUCE (<i>Lactuca sativa</i> L.) and PIMIENTO (<i>Capsicum annuum</i> L.) in hydroponics	2
Abstract.....	2
1. Introducción.....	3
1.1. Literatura citada.....	6
2. REVISION DE LITERATURA.....	8
2.1. El ozono	8
2.1.1. Efectos del O ₃ en las plantas	10
2.1.2. Mecanismos de acción del O ₃	12
2.1.3. Efecto del O ₃ en la solución nutritiva	13
2.1.4. Mecanismos de protección contra O ₃	14
2.1.5. El generador de O ₃	15
2.2 Importancia del oxígeno en las plantas superiores.....	16
2.3 Aireación de las soluciones nutritivas para cultivo.....	16
2.4 Cultivos sin suelo	17
2.5 Pimiento morrón (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	18
2.5.1 Descripción botánica del pimiento	18
2.5.2 Variedades	19
2.5.3 Importancia económica del pimiento	20
2.6 Lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.).....	21
2.6.1 Descripción botánica de la lechuga	22
2.6.2 Clasificación de la lechuga	23
2.7 Literatura citada.....	25
CAPITULO 3. IDENTIFICACIÓN DE DOSIS SUBLETALES DE OZONO EN EL CULTIVO DE LECHUGA (<i>Lactuca sativa</i> L.).....	29
3.1. Resumen.....	29
3.2Abstract	31

3.3. INTRODUCCION	32
3.4. Materiales y Métodos.....	33
3.4.1. Primera etapa	33
3.4.2. Segunda etapa.....	37
3.4.3. Tercera etapa	39
3.5. Resultados y Discusión	41
3.5.1. Primera etapa	41
3.5.2. Segunda etapa.....	45
3.5.3. Tercera etapa.....	59
3.6. Literatura Citada.....	68
CAPITULO 4. EFECTO DE DOSIS SUBLETALES DE OZONO AL MEDIO DE CULTIVO EN EL CRECIMIENTO DE PLANTAS LECHUGA (Lactuca sativa L.)	70
4.1. Resumen.....	70
4.2. Abstract	71
4.3. Introducción	72
4.4. Materiales y Métodos.....	74
4.5 Resultados y discusión	79
4.5.1 Diámetro del tallo	81
4.5.2. Longitud del tallo	83
4.5.3. Longitud de la hoja	84
4.5.4. Número de hojas	86
4.5.5. Longitud de raíz.....	87
4.5.6. Biomasa total de raíz	89
4.5.7. Biomasa seca de raíz	90
4.5.8. Biomasa total del vástago	93
4.5.9. Biomasa seca del vástago.....	94
4.6. Conclusiones.....	98
4.7. Literatura citada	99
CAPITULO 5. EVALUACIÓN PRELIMINAR DE DOSIS SUBLETALES DE OZONO EN CHILE PIMIENTO (Capsicum annum L.)	102
5.1. Resumen.....	102
5.2. Abstract.....	103
5.3. INTRODUCCION	104
5.4. Materiales y Métodos.....	105
5.5 Resultados y discusión	109
5.5.1. Longitud del tallo 1 y 2	112
5.5.2. Diámetro del tallo y número de hojas.....	114

5.5.3. Numero de yemas, flores y frutos.....	115
5.6. Conclusiones	118
5.7 Literatura citada.....	119
CAPITULO 6. CRECIMIENTO DE PLANTAS DE CHILE PIMIENTO (Capsicum annuum L.) EN HIDROPONÍA CON OZONO EN EL MEDIO DE CULTIVO	120
6.1. Resumen.....	120
6.2. Abstract	121
6.3. Introducción	122
6.4. Materiales y métodos	124
6.5 Resultados y discusión	128
6.5.1. Longitud del tallo	130
6.5.2. Diámetro del tallo	131
6.5.3. Número de hojas	132
6.5.4. Biomasa total del vástago y biomasa total de frutos.....	133
6.5.5. Número de yemas y número de flores	136
6.5.6. Número de frutos totales y número de frutos maduros	137
6.5.7 Longitud de raíz.....	140
6.7 Literatura citada.....	143
Capítulo 7. Conclusiones Generales	145

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Efecto de la concentración de O ₃ ambiental en el rendimiento de algunos cultivos.....	11
Figura 3. 1 Arreglo de las plantas de lechuga en los recipientes, para cuantificar dosis subletales de O ₃	34
Figura 3. 2 Aplicación de O ₃ (A), producido por un ozonificador (AQUA – EQUIPOS DE MEXICO) (B), al medio de cultivo de plantas de lechuga.	35
Figura 3. 3 Arreglo de las plantas de lechuga en los recipientes, para cuantificar dosis subletales de O ₃ , en la segunda etapa del estudio.	37
Figura 3. 4. Necrosis en la base y los bordes de las hojas en plantas de lechuga (Lactuca sativa L.) de 5 semanas de edad (a, b y c), causada por aplicación de 19.9 mg de O ₃ L ⁻¹ en el medio de cultivo.....	42
Figura 3. 5. Necrosis en tres cuartas partes de las hojas de plantas de lechuga (Lactuca sativa L.) de 5 semanas de edad (a, b y c), causada por aplicaciones de 39.9 mg de O ₃ L ⁻¹ en el medio de cultivo.....	43
Figura 3. 6 Hojas de plantas de lechuga (Lactuca sativa L.) de 5 semanas de edad (a, b y c) con zonas completamente necrosadas por la aplicación de 59.4 mg de O ₃ L ⁻¹ en el medio de cultivo.	44
Figura 3. 7 Daño del borde foliar en plantas de lechuga (Lactuca sativa L.) causado por dosis de 5.94 mg de O ₃ L ⁻¹ aplicado en la solución nutritiva.....	45
Figura 3. 8. Incremento del número de hojas en plantas de lechuga (Lactuca sativa L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante. (A) y (B) Testigo y dosis de O ₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva después de 2 h; (C) testigo y diferentes dosis de O ₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva una semana después de aplicado el O ₃	48
Figura 3. 9 Incremento de la longitudinal de la hoja basal en plantas de lechuga (Lactuca sativa L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante. (A) y (B) Testigo y diferentes dosis de O ₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva después de 2 h; (C) testigo y diferentes dosis de O ₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva una semana después de aplicado el O ₃	50

Figura 3. 10 Incremento del diámetro del tallo en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante. (A) y (B) Testigo y diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva después de 2 h; (C) testigo y diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva una semana después de aplicado el O₃. 52

Figura 3. 11 Incremento longitudinal de la raíz de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante. (A) y (B) Testigo y diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva después de 2 h; (C) testigo y diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva una semana después de aplicado el O₃. 54

Figura 3. 12 Incremento de biomasa seca de raíz en plantas de lechuga (*Lactuca sativa*) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante. (A) y (B) Testigo y diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva después de 2 h; (C) testigo y diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva una semana después de aplicado el O₃. 56

Figura 3. 13 Incremento de biomasa seca del vástago en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante. (A) y (B) Testigo y diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva después de 2 h; (C) testigo y diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva una semana después de aplicado el O₃. 58

Figura 3. 14 Incremento en longitud de la hoja basal (A), del tallo (B) y la raíz (C) de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante con diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente, + el error estándar. 61

Figura 3. 15 Incremento en el diámetro del tallo (A) y número de hojas (B) de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante con diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente, + el error estándar. 62

Figura 3. 16 Incremento en el peso total de la raíz (A) y vástago (B) de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante con diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente, + el error estándar. 64

Figura 3. 17 Incremento en biomasa seca de la raíz (A) y del vástago (B) de plantas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante con diferentes dosis de O ₃ aplicadas semanalmente, + el error estándar.	65
Figura 4. 1 Organización de las plantas de lechuga cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante y aireación al medio.	76
Figura 4. 2 Ozonificador utilizado en plantas de lechuga cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante.	76
Figura 4. 3 Forma de aplicación de O ₃ en plantas de lechuga cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante.	77
Figura 4. 4 Arreglo de las unidades experimentales (macetas) en el estudio realizado con plantas de lechuga cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante. T: testigo sin O ₃ ; con 2.66 o 3.96 mg L ⁻¹	79
Figura 4. 5 Incremento del diámetro del tallo de plantas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) durante 10 semanas, sin y con seis aplicaciones semanales de O ₃ cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.	82
Figura 4. 6 Crecimiento longitudinal acumulado del tallo de plantas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) durante 10 semanas, sin y con seis aplicaciones semanales de O ₃ y cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.	84
Figura 4. 7 Crecimiento acumulado en longitud de las hojas de plantas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) durante varias semanas, sin y con seis aplicaciones semanales de O ₃ , en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.	85
Figura 4. 8 Acumulación en número de hojas por planta de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) durante 10 semanas, sin y con aplicación semanal de O ₃ en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.	87
Figura 4. 9 Crecimiento acumulado en longitud de raíz de plantas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.), cultivadas durante 10 semanas, sin y con seis aplicaciones semanales de O ₃ en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.	88

Figura 4. 10 Acumulación de biomasa total de raíz de plantas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.), cultivadas durante 10 semanas, sin y con seis aplicaciones semanales de O ₃ en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.	90
Figura 4. 11 Acumulación de biomasa seca de raíz de plantas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.), sin y con seis aplicaciones semanales de O ₃ cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.....	92
Figura 4. 12 Acumulación de biomasa total del vástago de plantas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.), sin y con seis aplicaciones semanales de O ₃ cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.....	94
Figura 4. 13 Acumulación de biomasa seca del vástago de plantas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.), sin y con seis aplicaciones semanales de O ₃ cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.....	96
Figura 5. 1 Arreglo de los tratamientos en el invernadero. T: testigo, D1-D3: dosis 1 a 3 de O ₃	106
Figura 5. 2 Aplicación de O ₃ en la base de las macetas.	107
Figura 5. 3 Ozonificador utilizado en plantas de chile pimienta cultivadas en invernadero en sistema hidropónico.....	108
Figura 5. 4 Crecimiento acumulado en altura del tallo 1 (A) y altura del tallo 2 (B) de plantas de chile morrón (<i>Capsicum annuum</i> L.) al inicio de la etapa de floración sin (testigo) y con diferentes dosis de O ₃ (aplicadas durante seis semanas (de 0 a 6), + el error estándar.....	113
Figura 5. 5 Crecimiento acumulado en diámetro del tallo (A) y número de hojas (B) de plantas de chile morrón (<i>Capsicum annuum</i> L.) al inicio de la etapa de floración, sin (testigo) y con diferentes dosis de O ₃ (aplicadas durante seis semanas (de 0 a 6), + el error estándar.....	114
Figura 5. 6 Incremento en número de yemas (A), inflorescencias (B) y frutos (C) en plantas de chile morrón (<i>Capsicum annuum</i> L.) al inicio de la etapa de floración, sin (testigo) y con diferentes dosis de O ₃ (aplicadas en las primeras seis semanas), + el error estándar.	117
Figura 6. 1 Organización y sistema de cultivo de las plantas de chile pimienta (<i>Capsicum annuum</i> L.) dentro del invernadero.	124

Figura 6. 2 Arreglo de las unidades experimentales en el estudio realizado con plantas de chile pimienta (<i>Capsicum annuum</i> L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico, sin y con O ₃ aplicado a la solución nutritiva; los extremos B representan las orillas del cultivo.	126
Figura 6. 3 Ozonificador utilizado en el estudio con plantas de chile pimienta en sistema hidropónico.	127
Figura 6. 4 Crecimiento acumulado en altura del tallo uno (6.4 A) y altura del tallo dos (6.4 B) de plantas de chile morrón (<i>Capsicum annuum</i> L.) durante 13 semanas, con aplicación semanal de O ₃ por el sistema de riego, + el error estándar.	131
Figura 6. 5 Crecimiento acumulado en diámetro del tallo de plantas de chile morrón (<i>Capsicum annuum</i> L.) durante 13 semanas, con aplicación semanal de O ₃ por el sistema de riego, + el error estándar.....	132
Figura 6. 6 Incremento en número de hojas en plantas de chile morrón (<i>Capsicum annuum</i> L.) durante 13 semanas, con aplicación semanal de O ₃ por el sistema de riego, + el error estándar.....	133
Figura 6. 7 Acumulación de biomasa total de parte aérea (A) biomasa total de frutos (B) de plantas de chile morrón (<i>Capsicum annuum</i> L.) durante 13 semanas, con aplicación de O ₃ por el sistema de riego, + el error estándar.	135
Figura 6. 8 Incremento acumulado en número total de yemas (A) y número total de flores (B) de plantas de chile morrón (<i>Capsicum annuum</i> L.) durante 13 semanas, con aplicación de O ₃ por el sistema de riego, + el error estándar.	137
Figura 6. 9 Incremento acumulado en número de frutos totales durante las 13 semanas (A) y número de frutos maduros de la semana 10 a la 13 (B) de plantas de chile morrón (<i>Capsicum annuum</i> L.), con aplicación de O ₃ por el sistema de riego, + el error estándar.	139
Figura 6. 10 Crecimiento acumulado en longitud de raíz de plantas de chile morrón (<i>Capsicum annuum</i> L.) durante 13 semanas, con aplicación de O ₃ por el sistema de riego, + el error estándar.	140
Figura 6. 11 Acumulación de biomasa total de raíz (A) y biomasa seca de raíz (B) de plantas de chile morrón (<i>Capsicum annuum</i> L.) durante 13 semanas, con aplicación de O ₃ por el sistema de riego, + el error estándar.....	141

Lista de cuadros

Cuadro 3. 1. Valor de significancia ($Pr > F$), media y agrupamiento de Tukey, obtenidos del análisis de datos de la aplicación de tres dosis de O_3 a plantas de lechuga.....	46
Cuadro 3. 2 Valor de significancia, media y agrupamiento de Tukey, obtenidos del análisis de datos de la aplicación de cuatro dosis de O_3 a plantas de lechuga.....	60
Cuadro 4. 1. Valor de significancia ($Pr > F$), media y agrupamiento de Tukey, obtenidos del análisis de datos de la aplicación de dos dosis de O_3 a plantas de lechuga.....	80
Cuadro 5. 1 Valor de significancia ($Pr > F$), media y agrupamiento de Tukey, obtenidos del análisis de datos de la aplicación de tres dosis de O_3 a pimiento morrón.....	110
Cuadro 6. 1 Valor de significancia ($Pr > F$), media y agrupamiento de Tukey, obtenidos del análisis de datos de la aplicación de una dosis de O_3 a pimiento morrón.....	129

EFFECTO DEL OZONO EN EL DESARROLLO DE LECHUGA (*Lactuca sativa* L.) Y PIMIENTO MORRÓN (*Capsicum annuum* L.) EN HIDROPONIA

Resumen

En respuesta a los cambios ambientales de O₃ las plantas han desarrollado un conjunto de mecanismos morfológicos, bioquímicos y fisiológicos. El objetivo de este estudio fue evaluar si ciertas dosis de O₃ aplicadas exógenamente al medio de cultivo en el crecimiento de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) pueden ser subletales y generar un efecto hormético en estas. Con base en el fenómeno de dosis: respuesta, denominado hormesis, la hipótesis fue que ciertas dosis de O₃ modifican positivamente el metabolismo de las plantas e incrementan su crecimiento y productividad.

En lechuga (*Lactuca sativa* L.) en un sistema hidropónico de plantas en flotación se evaluaron dosis de entre: 0.53 a 59.4 mg de O₃ L⁻¹ y se incluyó un testigo sin O₃. Las variables del crecimiento que se evaluaron fueron: diámetro del tallo, altura del tallo, altura de hoja, número total de hojas, longitud de raíz, peso fresco de raíz, biomasa seca de raíz, peso fresco y biomasa del vástago. Las plantas toleraron dosis de entre 0.53 y 5.33 mg L⁻¹, aplicadas semanalmente durante el ciclo completo de crecimiento (11 semanas) y las dosis de 2.66 y 3.96 mg L⁻¹ generaron cierto efecto hormético.

En pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) en un sistema hidropónico en condiciones de invernadero se evaluaron dosis de: 0.4, 1.2 y 2.66 mg L⁻¹ y se incluyó un testigo sin O₃, las dosis fueron aplicadas semanalmente al sustrato. Las variables de crecimiento evaluadas fueron: longitud del tallo, diámetro del tallo, número de hojas, número de yemas, número de inflorescencias, biomasa total del vástago y biomasa total de los frutos. Los resultados mostraron que las dosis aplicadas son subletales y generaron cierto efecto hormético.

Palabras clave: lechuga, chile pimiento, ozono, subletal, hormesis.

EFFECT OF OZONE IN THE DEVELOPMENT OF LETTUCE (*Lactuca sativa* L.) AND WEEKLY PEPPER (*Capsicum annuum* L.) IN HYDROPONICS.

Abstract

In response to environmental changes O₃ plants have developed a set of morphological, biochemical and physiological mechanisms. The objective of this study was to evaluate if a certain dose of exogenously applied O₃ to the culture medium in the growth of lettuce plants (*Lactuca sativa* L.) and chili pepper (*Capsicum annuum* L.) and may generate a sublethal effect on these hormetic. Based on the phenomenon of dose: response, called hormesis, the hypothesis was that certain dosages of O₃ positively alter metabolism and increase plant growth and productivity.

In lettuce (*Lactuca sativa* L.) in a hydroponic system in flotation plants were evaluated doses ranging from 0.53 to 59.4 mg of O₃ L⁻¹ and an untreated O₃ was included. Growth variables evaluated were: stem diameter, stem height, leaf height, total number of leaves, root length, fresh weight of root, root dry biomass, fresh weight and shoot biomass. The plants tolerate doses of between 0.53 and 5.33 mg L⁻¹, applied weekly during the entire growth cycle (11 weeks) and doses of 2.66 and 3.96 mg L⁻¹ generated some hormetic effect.

In chili pepper (*Capsicum annuum* L.) in a hydroponic system under greenhouse conditions were evaluated doses: 0.4, 1.2 and 2.66 mg L⁻¹ and a control was included without O₃, doses were applied weekly to the substrate. Growth variables evaluated were: stem length, stem diameter, number of leaves, number of buds, number of inflorescences, total biomass of the stem and total biomass of the fruits. The results showed that doses are applied and generated some hormetic effect.

Keywords: lettuce, chili pepper, ozone, sublethal, hormesis.

1. Introducción

En la estratosfera (aproximadamente a 20 km sobre la superficie terrestre) existe una capa de ozono (O_3) que, junto con el oxígeno, absorbe la radiación ultravioleta proveniente del sol. Así, este gas en la atmósfera protege a los seres vivos de la radiación UV extremadamente nociva. En contraste, el O_3 en la troposfera (capa de la atmósfera en contacto con la superficie terrestre) es el contaminante atmosférico más fitotóxico, por su capacidad oxidante mayor que la del O_2 (PNUMA, 2000).

A mediados del siglo XX se iniciaron estudios de los efectos del O_3 contaminante del aire en los cultivos y otros tipos de vegetación. Con ellos se demostró que el efecto fitotóxico es mayor que en los humanos (Fenger *et al.*, 1999). Los síntomas debidos a concentraciones elevadas durante periodos cortos son: clorosis y necrosis en una o ambas caras de las hojas. Los síntomas crónicos se deben a la exposición frecuente, periódica e intermitente de las plantas a concentraciones altas de O_3 y mayores a las ambientales, es decir, superiores a $160 \mu\text{g m}^{-3}$ (Olszyk, 1990), que afectan negativamente el crecimiento, la productividad y la calidad de los cultivos (Biswas *et al.*, 2008). La pérdida de la producción global por este contaminante se ha calculado en 72 a 121 Mt y 11 a 18 billones de dólares (Avnery *et al.*, 2011).

En los sistemas hidropónicos con recirculación de solución nutritiva, es común transportar hongos como: *Phytium*, *Phitoptora*, *Colletotrichum*, *Verticillum* ó

Fusarium. Bacterias como: *Pseudomonas*, *Clavibacter* ó *Erwinia*. Virus como: virus mosaico del tabaco (ToMV) ó Virus de la necrosis del tabaco (TNV) (Marlow, 2006).

Las dosis menores que 0.1 mg de O₃ m⁻³ no tienen efectos secundarios en organismos superiores, no se consideran contaminantes y son poderosas bactericidas, fungicidas y viricidas, por lo que puede ser utilizado en desinfección de soluciones nutritivas (Margulis, 2011; Burleson *et al.*, 1975).

El término “hormesis” proviene de la palabra griega horme que significa impulso, que a su vez deriva del término griego hormaein, que significa estimular. El término fue utilizado al describir el efecto estimulador que tenía una sustancia antibiótica extraída de cedro rojo (*Thuja plicata* L.), al aplicarla sobre algunos hongos lignícolas (Southam y Ehrlich, 1943).

Los efectos del O₃ en los organismos vivos han sido relacionados con el fenómeno de hormesis. La hormesis es definida como la respuesta bifásica en la que ciertos agentes químicos y físicos afectan a los seres vivos (reacción dosis – respuesta), es caracterizada por un efecto de estimulación por dosis bajas e inhibición por dosis altas, también ha sido descrita como un proceso de reparación adaptativa (Pérez *et al.*, 2009).

Los primeros reportes aparecen a mediados de la década de 1880 por Hugo Schulz y Rudolph Arndt, quienes documentaron el fenómeno de respuesta estimuladora debida a sustancias tóxicas. Schulz fue uno de los primeros en

observarlo al estudiar los efectos de algunas sustancias químicas en la fermentación por levaduras, observando que agentes tóxicos estimulaban la producción de CO₂ al ser aplicarse en dosis bajas (Schulz, 1887).

El objetivo de la presente investigación fue comprobar o descartar la hormesis del O₃ en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y chile pimiento (*Capsicum annuum* L.), durante su crecimiento y productividad. La hipótesis planteada es que las dosis bajas (menores que las ambientales) de O₃, aplicadas exógenamente al sustrato, estimulan la fisiología de las plantas y promueven el incremento del crecimiento y de la productividad.

1.1. Literatura citada

- Avnery, S; D.L. Mauzerall; J. Liu; L.W. Horowitz. 2011. Global crop yield reductions due to surface ozone exposure: 1. Year 2000 crop production losses and economic damage. *Atmospheric Environment* 45: 2284–2296.
- Biswas, D. K; M. H. Xu; Y.G. Li; M. Z. Liu; Y. H. Chen; J. Z. Sun; G.M. Jiang. 2008. Assessing the genetic relatedness of higher ozone sensitivity of modern wheat to its wild and cultivated progenitors/relatives. *Journal of Experimental Botany* 59: 951–963.
- Burleson, G. R; T.M. Murray; M. Pollard. 1975. Inactivation of viruses and bacteria by ozone with and without sonication. *Applied Microbiology*. 29: 340-344.
- Fenger, J; O. Hertel; F. Palmgren. 1999. *Urban Air Pollution – European Aspects*. Cluver Academic Publishers, Dordrecht, Holand.
- Margulis, J. 2011. Efecto del ozono sobre el crecimiento de bacterias y hongos de importancia avícola. XXII Latin American Poultry Congress. 4 p.
- Marlow, D. 2006. A review of the literature concerning the disinfection of recirculation water in closed greenhouse hydroponic systems. *The Science of Growing*.
- Olszyk, D.M. 1990. Valencia orange fruit yield with ambient oxidant or sulfur-dioxide exposures. *Journal of the American Society for Horticulture Science* 115: 878- 883.

- Pérez, D. G; R.M. Ricardo; M.S. Gregorio. 2009. Hormesis: antecedentes e implicaciones en los sistemas biológicos. *Latin American Journal of Pharmacy* 6: 954-60.
- PNUMA (Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente). 2000. Acción por el ozono. D. Black. 4ª. ed. ONUM. Nairobi, Kenya. 22 p.
- Schulz, H. (1887). Zur lehre von der arzneiwirdung. *Virchows Arch. F. Pathol. U. Physiol*, 108, 423-445.
- Southam, C; J. Ehrlich. 1943. Effects of extracts of western red-cedar heartwood on certain wood-decaying fungi in culture. *Phytopathology* 33: 517-524.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1. El ozono

El O₃ fue descubierto en el año 1785 por Von Marum que apreció su olor característico. En el año 1840, Shümbein lo llamó 'OZONO'. El nombre proviene del griego que significa 'olor'. Varios años después, en 1863 se descubrió su verdadera naturaleza y se comprobó que no se trataba de peróxido de hidrógeno. Posteriormente, en 1865 el científico Jacques - Louis Soret confirmó que la molécula estaba formada por tres átomos de oxígeno (Ricaurte, 2006).

El O₃ es una de las formas en las que el oxígeno está en la naturaleza; la molécula con tres átomos de oxígeno es considerada inestable y correspondiente a una variedad alotrópica (estructura química diferente) del oxígeno (Loayza, 2006).

La abundancia del O₃ es variable en la cubierta gaseosa del planeta, desde el nivel del suelo hasta una altura aproximada de 60 km. La proporción mayor (cerca de 90 % del total) se encuentra entre los 15 y 50 km sobre la superficie terrestre (estratosfera), que es la región fría de la atmósfera, y el otro 10% se localiza en los primeros 10 km de altitud (troposfera) (Seinfeld y Pandis, 2006).

La cantidad total de O₃ atmosférico, se mide en unidades dopson (UD), esta unidad equivale a un espesor de 0.01mm³ de O₃ puro, si se encontrara a la presión del nivel del suelo (1 atm) atmósfera y a una temperatura de 0 ° C (Domenech, 2004).

La molécula del O_3 tiene un peso molecular de 48 g/mol y presenta una solubilidad en agua de 490 cc L^{-1} a 25°C. El O_3 se encuentra en su fase líquida a una temperatura de (-112°C) es de color azul intenso y es explosivo, a una temperatura de (-193°C) se encuentra en su fase sólida y posee un color negro violáceo (Sala *et al.*, 1992).

La descomposición de la molécula de O_3 genera oxígeno molecular (O_2) y naciente (O), éste al reaccionar químicamente con otro átomo de oxígeno naciente forma O_3 molecular. El O_3 tiene un característico olor acre, generalmente asociado a tormentas eléctricas. El olor es perceptible por la nariz del humano en concentraciones ente 0.02 y 0.05 mg L^{-1} . Es corrosivo, tóxico y altamente soluble en agua, por lo que es capaz de oxidar compuestos orgánicos e inorgánicos en el agua (Ricaute, 2006).

Por su inestabilidad, el O_3 no puede ser almacenado en recipientes o tanques, como el O_2 (Hilde, 2008). Por esto, el O_3 que se usa como germicida es producido a partir de O_2 por equipos manufacturados con este fin. Debido a su efecto oxidante, el O_3 ha sido utilizado con fines terapéuticos desde hace varias décadas (Hilde, 2008) bajo los principios de la hormesis.

A mediados de siglo XX se iniciaron los estudios de los efectos de la contaminación por O_3 del aire en los cultivos y otros tipos de vegetación. Así, se demostró que el O_3 es tóxico para la plantas y que éstas son más sensibles que los humanos (Fenger *et al.*, 1999).

2.1.1. Efectos del O₃ en las plantas

El O₃ como contaminante en el aire afecta a las plantas. Sus efectos en la bioquímica y fisiología celular son variados y repercuten en todos los niveles de organización biológica, población y ecosistema. En general sus efectos pueden dividirse en agudos y crónicos.

1. ·Los efectos agudos son producidos por concentraciones altas de O₃ (mayores a las ambientales), los síntomas generalmente son visibles, como punteaduras o bandeado de color marrón o pardo-rojizo sobre las hojas.
2. ·Los efectos crónicos son provocados por concentraciones moderadas de O₃ que alteran el metabolismo de las plantas y conducen a la senescencia prematura de las hojas, reducciones del crecimiento, de la productividad o ambas.

Los efectos del O₃ en la planta en parte dependen de su absorción a través de los estomas, ya que ellos son la vía principal de entrada a la planta. Debido a esto, las concentraciones elevadas de O₃ al estar en contacto con los tejidos provocan muerte celular e incrementa la destrucción del tejido visible; además, causa cambios en las funciones de las membranas celulares, con lo que se afectan las concentraciones intercelulares de Ca²⁺, cambia el potencial osmótico del citoplasma y se reducen los procesos fotosintéticos (Who, 2000).

Las respuestas variables entre las plantas y especies al O₃ se deben a la capacidad de los mecanismos de detoxificación y reparación de cada una

(Massman, 2004); los efectos directos en la fisiología y el crecimiento de las plantas se presentan cuando la concentración es suficientemente elevada para superar los mecanismos de protección intrínsecos. Sin embargo, concentraciones moderadas también afectan indirectamente los tejidos, debido al gasto energético que se genera al activar y mantener los procesos de detoxificación y reparación (Margulis, 2011). Los mecanismos por los que el O₃ afecta los tejidos vegetales son complejos y se conocen parcialmente.

Se han descrito los efectos que tiene el O₃ ambiental sobre diferentes cultivos, también así se ha demostrado que el efecto en rendimiento que este genera es diferente en cada especie, lo que nos muestra que existe diferencia entre el grado de sensibilidad de cada especie (Heck et al, 1983).

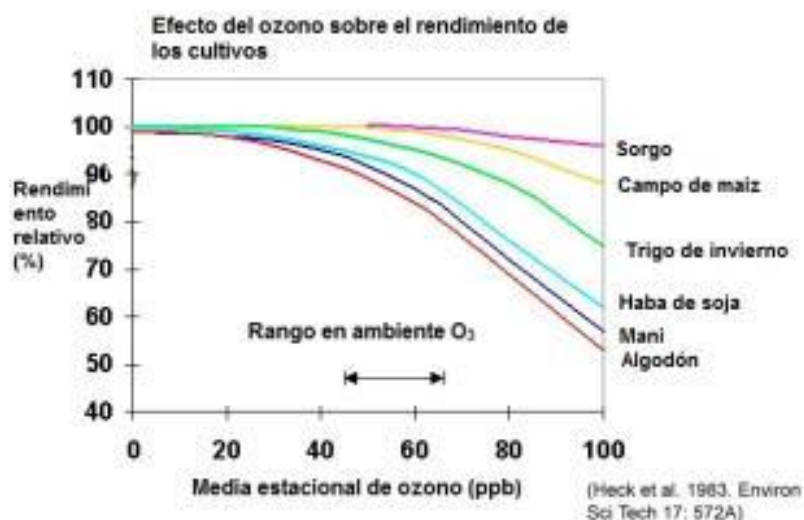


Figura 2.1 Efecto de la concentración de O₃ ambiental en el rendimiento de algunos cultivos.

Las dosis pequeñas de O_3 ($<0.1 \text{ mg/m}^3$) no afectan el crecimiento de la planta, no contaminan, y porque es un agente sanitizante poderoso puede reducir y limitar el uso tradicional de sustancias contaminantes como fungicidas y bactericidas (Margulis, 2011). Por esto, el O_3 se usa como desinfectante en la agricultura. La aplicación de dosis de 10 g de O_3 durante 1 h es suficientes para conseguir la desinfección de 1 m^3 de agua para riego (Runia, 1994). Esta dosis es efectiva contra virus, bacterias y hongos. Otras experiencias señalan que un tiempo medio de 80 min de exposición es suficiente con dosis de 6 g/h/m^3 (Monserrat, 2000).

2.1.2. Mecanismos de acción del O_3

El O_3 inyectado en el agua puede ejercer su poder oxidante mediante dos mecanismos de acción:

1. Oxidación directa de los compuestos por el O_3 molecular.
2. Oxidación por radicales libres hidroxilo.

Los radicales libres, generados en el agua por su combinación con las moléculas de O_3 , son algunos de los oxidantes más potentes y la oxidación que llevan a cabo es varias veces más rápida que la oxidación directa por el O_3 . El predominio de una u otra vía de oxidación depende de las condiciones del medio; con pH bajo predomina la oxidación molecular, y en condiciones que favorecen la producción de radicales hidroxilo, como con pH elevado o en presencia de peróxido de hidrógeno, domina la oxidación mediante hidroxilos (Pérez, 2006).

2.1.3. Efecto del O_3 en la solución nutritiva

El proceso redox que produce el O_3 no afecta a los macronutrientes, ni a la mayoría de los micronutrientes, presentes en la solución nutritiva, pero sí podría oxidar al Fe y al Mg. En el primer caso, el contenido de quelato férrico (Fe-DTPA; sal amonioférrica de ácido dietilentriaminopentaacético) puede disminuir 34 % a pH 6 y 15 % a pH 4 después de 1 h de tratamiento con O_3 , aplicado con un generador de ozono de 10 g (Runia, 1994 a, b). En el caso del Mg en la solución nutritiva la precipitación puede ser de 20 a 50 % (Monserrat, 2000).

2.1.4. Mecanismos de protección contra O₃

La formación de radicales libres y de formas activas de oxígeno, como los radicales superóxido (O²⁻) o el ion peróxido (O₂²⁻), peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y radicales hidroxilo (OH⁻), tiene lugar durante los procesos del metabolismo vegetal normal, por lo que las plantas disponen de sistemas de protección para evitar que esos radicales dañen a los componentes celulares. En condiciones normales existe un equilibrio entre la formación y la destrucción de los radicales libres y formas activas de oxígeno, este puede ser alterado por factores estresantes, como temperaturas altas, sequías y la acción de contaminantes atmosféricos, como el O₃ (Alonso *et al.*, 2001).

Los sistemas conocidos de protección contra radicales libres y formas activas de oxígeno son:

a) Protección enzimática. Las especies vegetales presentan una serie de actividades enzimáticas que retardan la actividad de los radicales oxidantes. Las enzimas superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa catalizan la destrucción del superóxido y del H₂O₂ (Alonso *et al.*, 2001).

b) Protección por moléculas antioxidantes. El ácido ascórbico y la vitamina C, son antioxidantes que además de reaccionar directamente con radicales libres contribuyen con la formación de ascorbato peroxidasa y glutatión, que reaccionan directamente con el oxígeno y los iones hidroxilo (Alonso *et al.*, 2001).

Estos sistemas de protección están ligados a las condiciones ambientales y el estado fisiológico de la planta, por lo que la actividad y eficiencia de los mecanismos de protección pueden presentar variaciones diarias y estacionales (Alonso *et al.*, 2001).

2.1.5. El generador de O₃

En 1993 se inició el estudio para implementar un sistema que incorpora O₃ al agua para riego; consiste es un generador de O₃, que lo inyecta al agua a través de un conducto (Ricaurte, 2006).

El O₃ puede producirse artificialmente con luz uv o con descargas eléctricas de voltaje alto al O₂ del aire o de mezclas gaseosas en las que su concentración sea alta. La luz uv es menos efectiva para producir O₃ que las descargas eléctricas. Las descargas de voltaje alto se aplican al O₂ que se encuentra en un contenedor, disocian al O₂, que se asocian a otras dos moléculas de O₂, y se crea el O₃ (Bernard *et al.*, 1991).

El O₃ es un oxigenante mayor que el O₂, por lo que podría mejorar el proceso respiratorio celular (Ricaurte, 2006), pero esto en cierta forma puede representar un gasto de energía extra en la planta.

2.2 Importancia del oxígeno en las plantas superiores

El O₂ es vital para las plantas superiores, en la mayoría de las raíces la ausencia del elemento podría resultar fatal al causar en el peor de los casos la muerte radical (Lynette, 2001).

Las raíces requieren entre 3 y 5 mg L⁻¹, para mantener su actividad biológica continua, día y noche. La optimización del contenido de O₂ en la raíz es crítica para la absorción eficiente de nutrientes. Las raíces que crecen en un ambiente con más de 85 % de humedad o menos de 30 % sufren estrés y presentan actividades bioquímica-fisiológicas extremadamente bajas y en consecuencia, un ritmo bajo de absorción de nutrientes y de agua (Marlow, 2011).

2.3 Aireación de las soluciones nutritivas para cultivo

El O₂ en la solución nutritiva es indispensable para el desarrollo de la planta y el crecimiento de las raíces. Para el crecimiento normal de las plantas se requieren valores mínimos de 7 mg de O₂ por L de solución nutritiva (Gilsanz, 2007).

La falta de oxígeno en la solución nutritiva puede afectar la absorción de minerales y agua por parte de la planta, esto afecta el crecimiento y acumulación de biomasa aérea y radicular, en consecuencia se reduce el rendimiento final del cultivo (Tesi et al., 2003).

Las concentraciones adecuadas de O_2 pueden mantenerse con sistemas de aireación de la solución nutritiva, como agitación, recirculación de la solución o inyección de oxígeno directamente al sistema. Tanto la temperatura de la solución como el tamaño del contenedor afectan los contenidos de O_2 de la solución nutritiva. El incremento de la temperatura disminuye la solubilidad del O_2 en la solución (Gilsanz, 2007).

La disponibilidad del O_2 está estrechamente relacionada con la temperatura, ya que en la solución nutritiva; entre mayor sea la temperatura menor será la cantidad de oxígeno disuelto en ella, esta relación hace que la cantidad de oxígeno disuelto en la solución nutritiva disminuya en las horas medias del día (Morard y Silvestre, 1996).

2.4 Cultivos sin suelo

La hidroponía es parte de los sistemas de producción de los cultivos sin suelo. En estos sistemas el cultivo de las plantas se realiza con soluciones acuosas nutritivas y generalmente en algún soporte sólido, que son sustancias inorgánicas u orgánicas inertes o con tasa variable de aporte nutrimental para las plantas. Algunos soportes de los considerados inertes son perlita, vermiculita, arena y grava, entre los soportes orgánicos están las turbas, corteza de árboles en virutas y cáscara de arroz (Burés, 1997).

2.5 Pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.)

El pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) es originario de la zona de Bolivia y Perú, donde además de esta especie se cultivaban al menos otras cuatro. El cultivo de pimiento en invernadero tiene gran potencial en México, ya que es un cultivo generalmente destinado a la exportación (Long *et al.*, 1998).

2.5.1 Descripción botánica del pimiento

-Planta: herbácea perenne de porte variable, con ciclo de cultivo anual, entre 0.5 m (algunas variedades que crecen en campo) y más de 2 m (la mayoría de los híbridos cultivados en invernadero) (Long *et al.*, 1998).

-Sistema radicular: pivotante y profundo (dependiente de la profundidad y textura del suelo), con longitud entre 0.5 y 1 m, con raíces adventicias numerosas.

-Tallo principal con crecimiento limitado y erecto. A partir de cierta altura emite dos o tres ramificaciones y continúa ramificándose en forma dicotómica hasta el final de su ciclo, los tallos secundarios se bifurcan después de brotar varias hojas, y así sucesivamente (Long *et al.*, 1998).

-Hoja: la hoja es lanceolada, con un ápice muy pronunciado y pecíolo largo. El haz es liso de color verde intenso. La inserción de las hojas en el tallo es alterna y su tamaño depende de la variedad. La nervadura principal parte de la base al borde de la hoja (Long *et al.*, 1998).

-Flor: se produce una flor en cada nudo del tallo, son pequeñas y su corola es blanca. Con polinización autógama, aunque puede presentarse alógama en un porcentaje menor al 10% (Long *et al.*, 1998).

-Fruto: es una baya hueca, de color variable (verde, rojo, amarillo, anaranjado, violeta o blanco); algunas variedades cambian de color con la maduración. Su peso puede variar desde unos gramos hasta más de 500 g. Las semillas se encuentran en una placenta y son redondeadas, de color amarillo pálido y longitud variable, de aproximadamente 3 – 5 mm (Long *et al.*, 1998).

2.5.2 Variedades

Las variedades de pimiento se clasifican según las características del fruto que pueden ser dulces o picantes, tamaño grande o pequeño; de forma cuboides, cónica, piramidal; alargada o corta, coloración verde, naranja, amarillo y roja (Turchi, 1999).

Existen tres grupos de los cuales surgen las variedades de pimiento existentes:

1. Variedades dulces: Cultivadas principalmente en los invernaderos. De frutos de gran tamaño para consumo en fresco e industria de conservera.
2. Variedades de sabor picante: suelen ser variedades de fruto largo y delgado.
3. Variedades para la obtención de pimentón: son un subgrupo de las variedades dulces (Turchi, 1999).

Variedades comerciales de pimiento:

Tipo California: frutos cortos (7 – 10 cm), anchos (6 – 9 cm), con tres o cuatro cascotes marcados, con carne más o menos gruesa (3 – 7 mm).

Tipo Lamuyo: frutos de 13 - 15 cm de largo y 8 – 10 cm ancho, 3 – 4 lóculos. Suelen ser vigorosos (de mayor porte) estos suelen ser más tolerantes al frío que los de tipo California.

Tipo Italiano: frutos de 16 – 17 cm de longitud y 4 – 5 cm en la base, alargados, estrechos, acabados en punta, de carne fina, se cultivan normalmente en ciclo único, con plantación tardía en septiembre u octubre.

Tipo Marconi: frutos pendulares de 13 a 18 cm de longitud y 8 cm de ancho, 3 – 4 lóculos bien marcados, pulpa muy buena de sabor dulce, se consume verde y rojo (Turchi, 1999).

2.5.3 Importancia económica del pimiento

El chile (*Capsicum* sp.) es uno de los principales cultivos hortícolas en México y de gran consumo por la población. Su importancia económica nacional se debe a que es el décimo producto agrícola por su valor de su producción, que se eleva a 709 148 miles de pesos y su producción es de 2 055 miles de ton, obtenidas de 133 mil ha cosechadas con rendimiento promedio de 15.5 ton por ha (FAO, 2011).

El pimiento se destina para su consumo como hortaliza fresca en México, pero la mayor parte se exporta hacia Estados Unidos de América. La producción de chile fresco osciló de 1734 a 2055 miles de ton entre los años 2000 y 2008 (SAGARPA, 2010).

2.6 Lechuga (*Lactuca sativa* L.)

La lechuga es una hortaliza de gran importancia en el mercado nacional e internacional; México es el décimo productor mundial, con una superficie sembrada de 17 313 ha en el año 2012 (SIAP, 2012).

Olszyk evidencio a la lechuga como un cultivo tolerante al O₃, después de no encontrar daños ni efectos negativos durante el desarrollo de las plantas al incrementar las concentraciones ambientales del gas (Olszyk, 1986).

2.6.1 Descripción botánica de la lechuga

La lechuga es una planta herbácea anual, dicotiledónea y autógama, perteneciente a la familia Compositae (Asteraceae), que es una de las más grandes y diversas, su nombre latino (*Lactuca*) deriva de la palabra “*lac*” que significa “leche”, mientras que el término (*sativa*) hace referencia a la semilla. Es una de las familias más diversas de plantas con flores, ya que representa una décima parte de todas las especies conocidas de angiospermas (Romani *et al.*, 2002).

La raíz de la lechuga es pivotante y con ramificaciones laterales, se desarrolla en la capa superior del suelo y raramente sobrepasa los 25 cm de profundidad.

El tallo es cilíndrico, muy corto y ramificado. Sus hojas se disponen en forma de roseta, desplegadas al principio. En algunas variedades, las hojas siguen así durante todo su desarrollo (variedades romanas), y en otras forman un cogollo (o cabeza) más o menos compacto.

Las hojas pueden ser de formas y texturas diversas y con borde liso, ondulado o aserrado, dependiendo de la variedad. En estadios vegetativos avanzados (en pre-floración), la cabeza o el manojo de hojas central se abre y el tallo cilíndrico y ramificado portador de hojas y capítulos foliares avanza (Benedetto, 2005).

2.6.2 Clasificación de la lechuga

Existe una gran variedad de tipos y variedades de lechuga, en general estas pueden clasificarse en grupos de acuerdo a la organización que adoptan las hojas (si forma o no cogollo), cuando la planta llega a su estado de madurez (Ryder y Whitaker, 1995).

Las variedades de lechuga pueden ser agrupadas por la forma de la planta (Benedetto, 2005). Así, los grupos botánicos principales son:

- Romanas (Cos o *Romaine lettuce* L.): tienen hojas erectas, alongadas, con bordes enteros y nervadura central ancha. En este grupo están la lechuga romana, la lechuga “Baby”, la lechuga criolla de invierno (Benedetto, 2005) y acogolladas (*Lactuca sativa* L.). Esta puede clasificarse en dos grupos:
 - Lechuga mantecosa o troncadero (*Butterhead lettuce* L.): forman una cabeza floja con hojas de textura suave, de aspecto aceitoso (Benedetto, 2005).
 - Lechuga Iceberg (*Crisphead lettuce* L.): forman una cabeza compacta con hojas apretadas de textura quebradiza que se asemejan al repollo y su consumo mayor es en Estados Unidos de América (Benedetto, 2005).
- Lechuga de hojas sueltas: (*Lactuca sativa* L.). Esta variedad se caracteriza por presentar hojas sueltas de color verde amarillento, textura y sabor regular y su crecimiento es rápido (Benedetto, 2005).

- Lechugas rizadas: de cabeza firme con hojas de textura frágil, nervaduras laterales de textura áspera y nervaduras centrales prominentes. La cabeza de tamaño variable de unos 15 cm o más (Montesdeoca, 2009).

2.7 Literatura citada

- Alonso, R; S. Elvira; F.J. Castillo; B.S. Gimeno. 2001. Interactive effects of ozone and drought stress on pigments and activities of antioxidative enzymes in *Pinus halepensis* Mill. *Plant Cell and Environment* 24: 905-916.
- Benedeto, A. 2005. Manejo de cultivos hortícolas: bases eco fisiológicas y tecnológicas. Primera edición. Buenos Aires. 384 p.
- Bernard, J. 1991. *Chapter 22: Treatment of drinking water, 1 General processes, UV radiation. Water Treatment Handbook.* pp. 1196-1197.
- Burés, S. 1997. Sustratos. Ediciones Agrotécnicas, S.L. 342 p.
- Domenech, A. X. 2004. Química Ambiental, Editorial Reverte, segunda edición.98 p.
- FAO, 2011. Food and Agriculture Organization of the United Nations. In.<http://www.faostat.fao.org>. (14-03-2011).
- Fenger, J; O. Hertel; F. Palmgren. 1999. Urban Air Pollution – European Aspects. Cluver Academic Publishers, Dordrecht, Holand.
- Gilsanz, J. C. 2007. Hidroponia. Prontografica. Uruguay. 33 p.
- Heck, W. W. A; M; C. Richard; W. William; A. S. Heagle; H. E. Heggstad; R. J. Kohut; L. W. Kress; J. O. Rawlings; O. C. Taylor. 1983. A reassessment of crop loss from ozone. *Environmental Science and Technology* 17:572A-581A.
- Hilde, S. 2008. El lado oscuro del oxígeno. *Scientifica* 6: 57-61.

- Lynette, M. 2001. La importancia del oxígeno en hidroponía. Practica de hidropinia y viveros. N° 52.
- Loayza, S. M. 2006. La capa de ozono. Revista Electrónica Ecomundo p. 5.
- Long, S. J; M. Álvarez; A. Camarena. 1998. El placer del chile. Editorial Clio, Libros y videos, S.A.de C.V. México D.F. 93 p.
- Margulis, J. 2011. Efecto del ozono sobre el crecimiento de bacterias y hongos de importancia avícola. XXII Latin American Poultry Congress. 4 p.
- Marlow, D. 2011. Importancia del O₂ en el substrato. Productores de Hortalizas. 6 p.
- Massman, W.J. 2004. Towards an ozone standard to protect vegetation based on effective dose: a review of deposition resistances and a possible metric. Atmospheric Environment 38: 2323-2337.
- Montserrat, J. 2000. Desinfección de lixiviados por métodos físicos, químicos y biológicos. En: Recirculación de cultivos sin suelo. Horticultura 14. Ediciones de Horticultura. Reus (España). pp. 53-62.
- Montesdeoca, P. N. 2009. Caracterización química y funcional de la lechuga rizada (*Lactuca sativa* L.), para la creación de una norma técnica ecuatoriana, por parte del instituto ecuatoriano de normalización. Universidad Tecnológica Equinoccial, Facultad de Ciencias de la Ingeniería. El Ecuador.
- Morard, E; J. Silvestre. 1996. Plant injury due to oxygen deficiency in the root environment of soilless culture: a review. Plant and Soil 184: 243-254.

- Olszyk, D.M. 1986. Effects of Sulfur- dioxide and ambient ozone on winter- wealth and lettuce. *Journal of Environmental Quality* 15: 363-369.
- Perez, C. M. 2006. Tratamiento avanzado de aguas residuales para riego mediante oxidación con ozono: una alternativa ecológica. Congreso Nacional del Medio Ambiente. España.
- Ricaurte Galindo S. L. 2006. Ozonoterapia una opción para el sector agropecuario. *REDVET* 7:1-16.
- Ryder, E. J; T. W. Whitaker. 1995. Lettuce. In: *Evolution of crop plants*. Smartt. J. Simmonds. N. W. Longman Scientific and Technical, Londres. 57.
- Romani, A; P. Pinelli; C. Galaedi; G. Sani; A. Cimato; D. Heimler. 2002. Polyphenols in greenhouse and open air-grown lettuce. *Food Chemistry* 79: 337 – 342.
- Runia, W. 1994 a. Elimination of root-infecting pathogens in recirculation water from closed cultivation systems by ultra-violet radiation. *Acta Horticulturae* 361: 361 – 371.
- Runia, W. 1994 b. Disinfection of recirculation water from closed cultivation systems with ozone. *Acta Horticulturae* 361: 388 – 396.
- SAGARPA (Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2010. SIACON (Sistema de información agroalimentaria de consulta). Sistema de información estadística agropecuaria de México. Versión 1.1. www.sagarpa.gob.mx y www.siap.sagarpa.gob.mx (17- 02- 2011).

- Sala, R; F. Rafael; L. Giuseppe. 1992. El ozono como oxidante de lípidos biológicos: causas y efectos. *Revista de Química* VI. 97 – 108. 2.
- Seinfeld, J.H; S. N. Pandis. 2006. *Atmospheric chemistry and physics. From air pollution to climate change.* John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 1203 p.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2012. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. www.siap.gob.mx/index.php. 07/11/2012
- Tesi, R; A. Lenzi. And P. Lombardi. 2003. Effect of different O₂ levels on spinach (*Spinacia oleracea* L.) grown in a floating system. *Acta Horticulturae* 614: 631-637.
- Turchi, A. 1999. *Biblioteca práctica del horticultor. Guía práctica de horticultura.* Perú. Ceac. S.A. 236 p.
- WHO (Regional Office for Europe) 2000. Effects of ozone on vegetation: critical levels. In: *Air Quality Guidelines- Second Edition.* Who Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark. pp. 1-21.

CAPITULO 3. IDENTIFICACIÓN DE DOSIS SUBLETALES DE OZONO EN EL CULTIVO DE LECHUGA (*Lactuca sativa* L.)

3.1. Resumen

A la respuesta o conjunto de procesos por los que la dosis baja de un agente oxidante o algún estímulo estresante es capaz de activar una respuesta adaptativa, que incremente la resistencia de una célula u organismo frente al estrés se le conoce como hormesis. El O_3 es un oxidante fuerte que causa efectos perjudiciales en plantas y animales. El objetivo de este estudio fue determinar dosis subletales de O_3 en el cultivo de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L). Las dosis fueron aplicadas semanalmente durante el ciclo completo de crecimiento (11 semanas). Con base en el fenómeno de dosis: respuesta, denominado hormesis, la hipótesis planteada fue que ciertas dosis de ozono alteran favorablemente el metabolismo de las plantas a un nivel tal que les permite continuar su crecimiento y productividad. En un sistema hidropónico de plantas en flotación se evaluaron distintas dosis de O_3 aplicado al medio de cultivo. Las dosis evaluadas fueron de 0.53 a 59.4 mg de $O_3 \text{ L}^{-1}$ y se incluyó un testigo sin O_3 . Las plantas toleraron dosis entre 0.53 y 5.33 mg L^{-1} , aplicadas semanalmente durante el ciclo completo de crecimiento (11 semanas). Se evaluó: la longitud de la raíz (cm), el diámetro del tallo, el número de hojas y la longitud de las hojas, biomasa total de raíz, biomasa seca de raíz (g), biomasa total del vástago y biomasa seca del vástago en plantas cosechadas semanalmente. Con las dosis de 2.66 y 3.99 mg L^{-1} se observó cierta tendencia a incrementar número de hojas, diámetro del tallo, biomasa total de

raíz, biomasa total de tallo, biomasa seca de raíz y biomasa seca de tallo. La aplicación controlada de ozono durante el desarrollo de plantas de lechuga en hidroponía modifica favorablemente el crecimiento.

Palabras clave: lechuga, crecimiento, ozono, dosis subletal.

3.2 Abstract

A response or set of processes by which the low dose of an oxidizing agent or a stressor is able to activate an adaptive response, which increases the resistance of a cell or organism to stress is known as hormesis. The O_3 is a strong oxidant that causes harmful effects on plants and animals. The objective of this study was to determine sublethal doses of O_3 in growing lettuce plants (*Lactuca sativa* L.). Based on the phenomenon of dose:response, called hormesis. The hypothesis was that certain doses of ozone alter the metabolism of plants at a level that allows them to continue their growth and productivity. In a hydroponic system in flotation plants O_3 different doses applied to the culture medium were evaluated. The evaluated doses were 0.53 to 59.4 mg L⁻¹ of O_3 and a control was included without O_3 . The plants tolerate doses between 0.53 and 5.33 mg L⁻¹, applied weekly during the entire growth cycle (11 weeks). Among the parameters evaluated, were evaluated: the root length, stem diameter, leaf number and leaf length, root total biomass, root dry biomass, total biomass of the stem and the stem dry biomass in plants harvested weekly. With doses of 2.66 and 3.99 mg L⁻¹ a tendency to increase number of leaves, stem diameter, total biomass of root, total biomass of stem, root dry biomass and stem dry biomass was observed. Ozone controlled during development of lettuce plants in hydroponics application modifies growth.

Keywords: lettuce, growth, ozone, sublethal dose.

3.3. INTRODUCCION

A la respuesta o conjunto de procesos por los que la dosis baja de un agente oxidante o algún estímulo estresante es capaz de activar una respuesta adaptativa, que incremente la resistencia de una célula u organismo frente al estrés se le conoce como hormesis (López-Diazguerrero *et al.*, 2013).

Las especies vegetales son más sensibles que los humanos al efecto oxidativo del O₃, ya que exposiciones a concentraciones relativamente bajas (100 µg m⁻³) causan efectos perjudiciales sobre algunas especies (Fenger *et al.*, 1999). La variabilidad en la tolerancia a O₃ ha sido documentada entre las especies vegetales. Entre las especies sensibles a exposiciones relativamente bajas de O₃ están algunas cucurbitáceas, como pepinos (*Cucumis sativus* L.), melones (*Cucumis melo* L.) y calabazas (*Cucurbita pepo* L.) (Eason *et al.*, 1987). En contraste, se ha señalado que el O₃ en dosis relativamente bajas no provoca ningún efecto negativo ni en el crecimiento ni en la cosecha de lechuga (*Lactuca sativa* L.) (Olszyk *et al.*, 1986).

La lechuga es una hortaliza importante en el mercado nacional e internacional. México es el décimo productor mundial de esta hortaliza, por la siembra del cultivo, con superficie de 17313 ha en el año 2012 (SIAP, 2012).

El presente estudio tuvo como objetivo determinar dosis subletales de O₃ en el cultivo de plantas de lechuga.

Con base en el fenómeno de hormesis la hipótesis fue que ciertas dosis de O₃ alteran el metabolismo de las plantas a un nivel tal que les permite continuar su crecimiento y productividad.

3.4. Materiales y Métodos

El estudio se desarrolló en tres etapas, que difirieron en las dosis de O₃ aplicadas al medio de cultivo y fecha de ensayo.

3.4.1. Primera etapa

El objetivo de esta etapa fue conocer las dosis mínima y máxima de O₃ que podrían aplicarse para que las plantas permanecieran viables y mantuvieran el desarrollo adecuado para evaluar los efectos del O₃.

La etapa se inició el 30 de junio de 2012 y se utilizaron 96 plántulas de lechuga de 30 d de edad, con seis o siete hojas. El material fue obtenido de un invernadero para producción comercial de hortalizas (Plántulas del Valle SC DE RL DE CV).

El estudio se realizó en un invernadero del Posgrado en Botánica, del Colegio de Postgraduados, en Montecillo, México (19°27' N, 98°54' W). El clima de la región es subhúmedo templado, con lluvias en verano, precipitación y temperatura anual media de 636.5 mm y 15.2 °C (García, 2004).

Las plantas se cultivaron en un sistema hidropónico con raíz flotante. Se usaron recipientes con tapa de material plástico, con capacidad de 4 L y su tapa, con cuatro perforaciones equidistantes, que sirvieron de soporte a las plantas. En cada perforación se colocó una plántula (Figura 3.1).



Figura 3. 1 Arreglo de las plantas de lechuga en los recipientes, para cuantificar dosis subletales de O_3 .

Las plantas crecieron en solución nutritiva universal de Steiner, preparada con fertilizantes comerciales. Se preparó la solución nutritiva al inicio del ciclo del cultivo, a partir de una solución Steiner al 25 % de su concentración total, durante 4 semanas se incrementó hasta llegar al 100% y así se concluyó el ciclo del cultivo. El pH y la conductividad eléctrica de la solución nutritiva se reguló con un potenciómetro (Hanna modelo: HI 99300) entre 5.5 y 6.5.

La temperatura dentro del invernadero se monitoreó con un HOBO datalogger (Onset, modelo U12-001).

Después del trasplante, a los recipientes en el invernadero, se permitió que las plántulas se aclimataran a las condiciones de cultivo durante una semana. Después, el O_3 , se aplicó semanalmente con un equipo generador de O_3 , proporcionado por la empresa AQUA – EQUIPOS DE MEXICO. El equipo generó 4 mg de O_3 , por minuto. Las aplicaciones se hicieron burbujeando la solución nutritiva con la corriente de O_3 , (Figura 3.2 A y B).



Figura 3. 2 Aplicación de O_3 (A), producido por un ozonificador (AQUA – EQUIPOS DE MEXICO) (B), al medio de cultivo de plantas de lechuga.

Las variables evaluadas fueron la presencia de tejido necrosado y la supervivencia de las plantas. La primera etapa del estudio se desarrolló con un modelo experimental completamente al azar, con cuatro tratamientos, testigo (sin O₃), 19.9, 39.9 y 59.4 mg de O₃ L⁻¹, cada uno con cuatro repeticiones y una planta como unidad experimental.

3.4.2. Segunda etapa

La segunda etapa se inició el 12 de julio de 2012. Los resultados de la primera etapa fueron la base para realizar la segunda.

Tres lotes de plantas similares a las empleadas en la primera etapa fueron evaluados en la segunda. Las plantas fueron aclimatadas y se cultivaron en las mismas condiciones a las descritas en la primera etapa (Figura 3.3).



Figura 3. 3 Arreglo de las plantas de lechuga en los recipientes, para cuantificar dosis subletales de O_3 , en la segunda etapa del estudio.

Los tratamientos estuvieron representados por un testigo y tres grupos con concentraciones variables de O_3 :

- a. Aplicación de 1.98, 3.96 y 5.94 mg de $O_3 L^{-1}$ semanalmente y cambio de la solución nutritiva después de 2 horas.

b. Aplicación de 0.53, 1.06, y 1.58 mg L⁻¹ semanalmente y cambio de la solución nutritiva después de 2 horas.

c. Aplicación de 1.98, 3.96 y 5.94 mg L⁻¹ semanalmente y cambio de la solución nutritiva previo a la aplicación de O₃.

El cambio de la solución nutritiva en los tratamientos (a) y (b) se realizó 2 h después de haberse ozonizado, se hizo porque en otros ensayos se ha visto que el O₃ en ciertas concentraciones, usado para purificar el medio de cultivo, precipita algunas sales como el Hierro y el Manganeso afectando la composición del medio (Pierna y Díaz, 2001).

Las variables evaluadas semanalmente, durante 6 semanas, fueron la longitud de la raíz, el diámetro del tallo, el número de hojas y la longitud de la hoja de la base, biomasa total de raíz, biomasa seca de raíz, biomasa total del vástago y biomasa seca del vástago en plantas cosechadas semanalmente.

La longitud de la raíz se separó del vástago y se obtuvo la longitud total de la base al ápice. El diámetro del tallo se midió en la base. El número total de hojas se contabilizó después de desprenderlas del tallo. Para cuantificar el crecimiento de la hoja de la base, se marcaron con etiquetas y se midieron semanalmente. El crecimiento foliar se evaluó en las mismas hojas, debido a que la exposición de hojas en la planta es continua. Longitud del tallo se midió del ápice a la base. Las longitudes y diámetro se midieron con un vernier con pantalla digital (Truper, modelo: Caldi – 6mp).

La biomasa total de la raíz y del vástago se obtuvieron en balanza granataria (Scientech, modelo: SA 120) después de separarlas y lavar ambas secciones de las plantas. La biomasa seca se obtuvo después de deshidratarlas en una estufa de secado, a 70 °C, por 68 h. El peso se registró en una balanza granataria (Scientech, modelo: Sa 120). La biomasa del vástago fue la suma de los valores independientes del tallo y las hojas previamente muestreadas y secadas por separado.

Cada grupo fue evaluado de acuerdo con un modelo experimental completamente al azar, con cuatro tratamientos o concentraciones de O₃, cada uno con cuatro repeticiones y una planta como unidad experimental.

3.4.3. Tercera etapa

La tercera etapa se realizó durante 11 semanas, del día 11 de septiembre al 19 de noviembre de 2013. Las plantas fueron aclimatadas y se cultivaron en las mismas condiciones a las descritas en la primera etapa (Figura 3.3). Cinco lotes de plantas similares a las empleadas en la primera etapa fueron evaluados en la presente etapa.

Los resultados de la segunda etapa fueron usados para seleccionar las concentraciones de O₃ en esta etapa. El O₃ se aplicó semanalmente durante 12 semanas. La solución nutritiva se renovó 2 h después de aplicar el ozono. El ozonizador fue el mismo utilizado en las dos etapas anteriores y el ozono (4 mgL⁻¹) se aplicó burbujeando la solución nutritiva

Los tratamientos seleccionados fueron los siguientes:

1. Testigo
2. 1.33 mg L⁻¹
3. 2.66 mg L⁻¹
4. 3.96 mg L⁻¹
5. 5.33 mg L⁻¹

La tercera etapa del estudio se desarrolló con un modelo experimental completamente al azar, con cinco tratamientos o concentraciones de O₃, cada uno con cinco repeticiones y una planta como unidad experimental.

3.5. Resultados y Discusión

3.5.1. Primera etapa

Las tres concentraciones de O₃ (19.9, 39.9 y 59.4 mg L⁻¹) evaluadas en la primera etapa causaron daños drásticos y acelerados a las plantas. Éstos se observaron 20 min después de la aplicación (Figuras 3.4, 3.5 y 3.6). Estos resultados de las variables evaluadas demostraron la sensibilidad que las plantas de lechuga jóvenes (edad de 5 semanas) presentaron a esas dosis de O₃. Por tal motivo se consideran estas concentraciones de O₃ como altas y tóxicas para las plantas de lechuga, lo que coincide con lo señalado por Mill (Mill *et al.*, 2003). Los daños ocasionados por la concentración menor (19.9 mgL⁻¹) se presentaron en la base y en los bordes de las hojas. En contraste, los daños causados por las concentraciones mayores (39.9 y 59.4 mg L⁻¹) se observaron en la hoja completa (Figuras 3.4, 3.5 y 3.6).

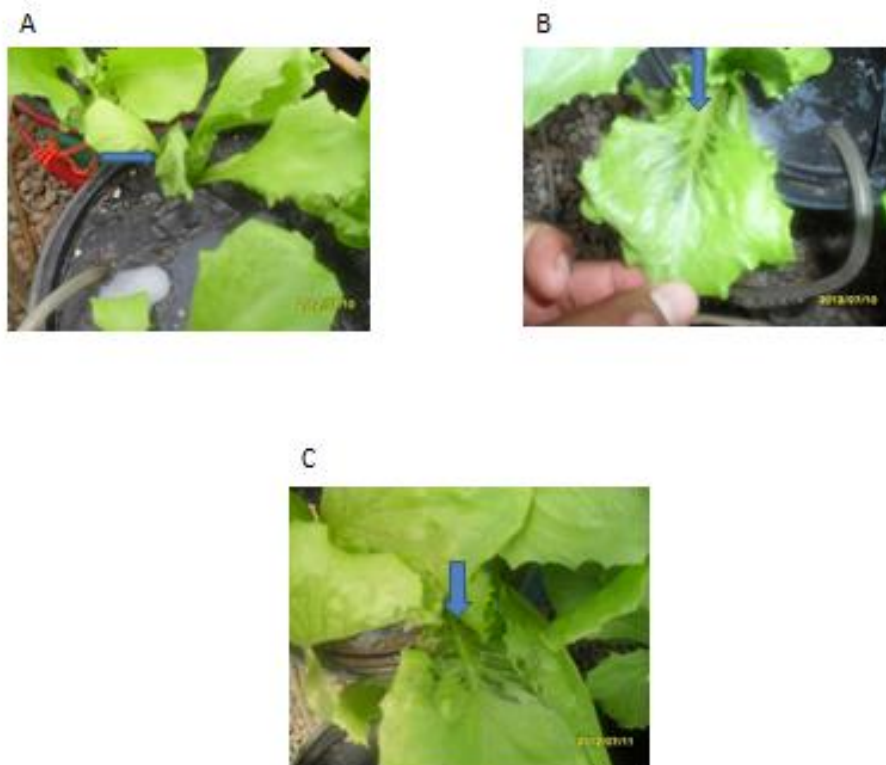
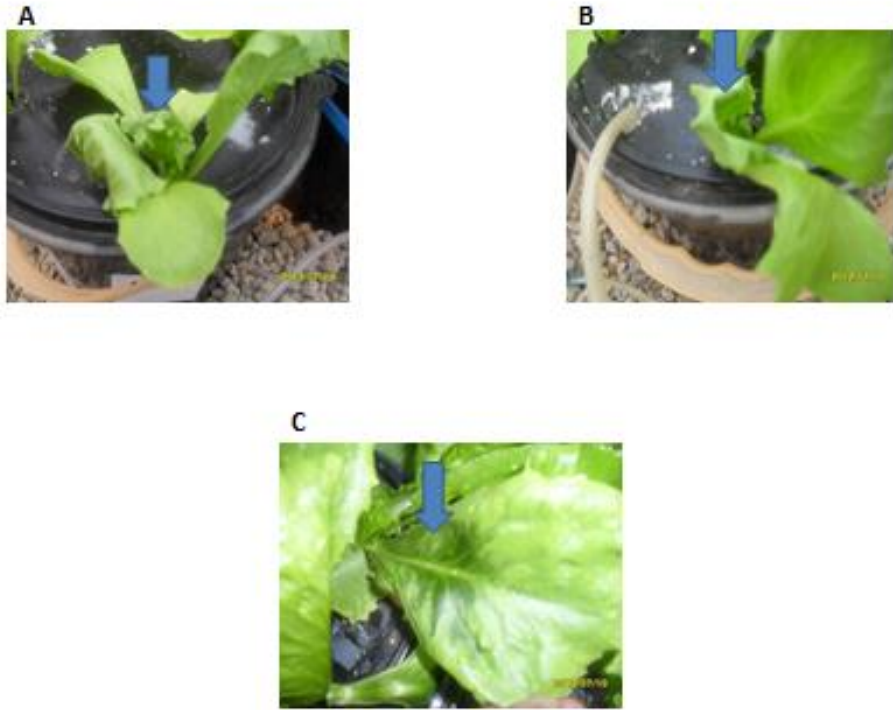


Figura 3. 4. Necrosis en la base y los bordes de las hojas en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) de 5 semanas de edad (a, b y c), causada por aplicación de $19.9 \text{ mg de O}_3 \text{ L}^{-1}$ en el medio de cultivo.



*Figura 3. 5. Necrosis en tres cuartas partes de las hojas de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) de 5 semanas de edad (a, b y c), causada por aplicaciones de 39.9 mg de O₃ L⁻¹ en el medio de cultivo.*

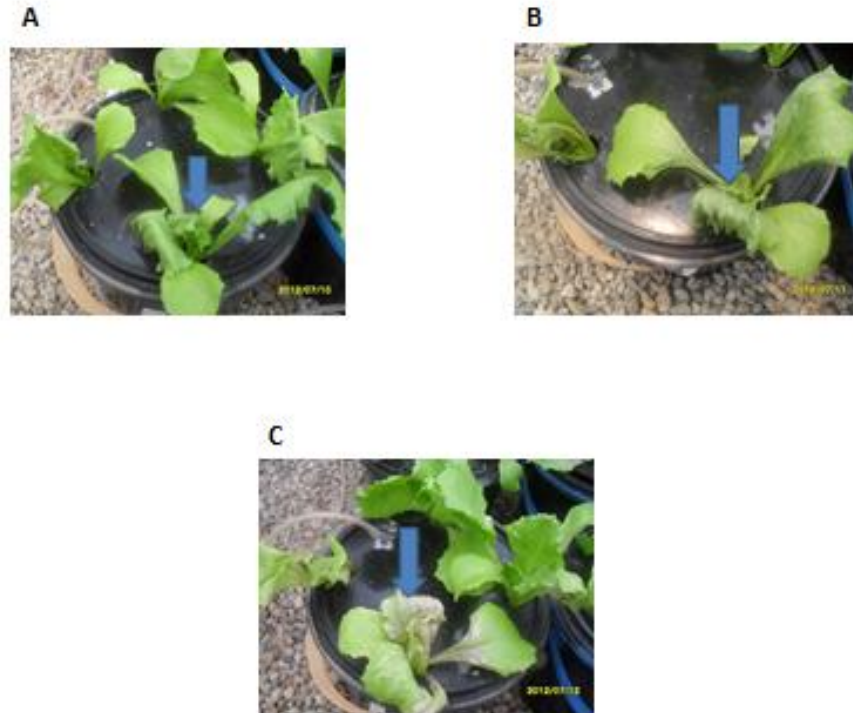


Figura 3. 6 Hojas de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) de 5 semanas de edad (a, b y c) con zonas completamente necrosadas por la aplicación de $59.4 \text{ mg de O}_3 \text{ L}^{-1}$ en el medio de cultivo.

Debido al desarrollo de daños acelerados en las hojas pocas plantas sobrevivieron más de un día. La muerte del tejido foliar y la presencia de manchas oscuras en algunas zonas foliares y en algunas o todas las hojas se observaron en minutos (20 min y menos de media hora). Las dosis (cantidad y frecuencias de aplicación de O_3) en esta etapa del estudio fueron clasificadas como letales.

3.5.2. Segunda etapa

Los tratamientos evaluados en la segunda etapa mostraron que dosis de O_3 entre 0.53 y 5.94 mg L⁻¹ aplicadas semanal a la solución nutritiva permitieron el crecimiento y desarrollo de las plantas durante 6 semanas. La concentración mayor (5.94 mg L⁻¹) de O_3 provocó cierto daño en algunas unidades experimentales, que se observó cómo cambio de color (oscurecimiento) en zonas localizadas del borde foliar (Figura 3.7). Así, independientemente de las alteraciones visibles, los resultados de las variables evaluadas en esta etapa indicaron que las dosis de O_3 entre 0.53 y 5.94 mg L⁻¹ aplicadas semanalmente a la solución nutritiva no fueron letales (Cuadro 3.1).



Figura 3. 7 Daño del borde foliar en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) causado por dosis de 5.94 mg de O_3 L⁻¹ aplicado en la solución nutritiva.

Cuadro 3. 1. Valor de significancia (Pr > F), media y agrupamiento de Tukey, obtenidos del análisis de datos de la aplicación de tres dosis de O₃ a plantas de lechuga.

Diámetro del tallo													Longitud de raíz												
A				B				C					A				B				C				
	T	D ₁	D ₂	D ₃	T	D ₁	D ₂	D ₃	T	D ₁	D ₂	D ₃	T	D ₁	D ₂	D ₃	T	D ₁	D ₂	D ₃	T	D ₁	D ₂	D ₃	
Pr > F	0.9124				0.0607				0.8625					0.5957				0.1504				0.1076			
MEDIA	12.3	12.5	12.5	11.5	15.6	16.0	11.0	18.0	15.8	14.9	14.8	15.9	27.3	28.0	28.0	26.0	27.3	28.0	26.0	24.0	27.6	28.0	26.0	24.0	
Tukey	3 A				4 A				1 A				3 A				2 A				2 A				
Agrupamiento	2 A				2 A B				4 A				2 A				1 A				1 A				
	1 A				1 A B				2 A				1 A				3 A				3 A				
	4 A				1 B				3 A				4 A				4 A				4 A				

T: Testigo

D₁: 1.98,
D₂: 3.96,
D₃: 5.94.

T: Testigo,

D₁: 0.53,
D₂: 1.06,
D₃: 1.58.

T: Testigo,

D₁: 1.98,
D₂: 3.96,
D₃: 5.94.

3.5.2.1. Número de hojas

El número de hojas por planta incrementó durante las 6 semanas de evaluación con tendencia sigmoideal en todos los tratamientos independientemente de la dosis y tiempo de permanencia de O_3 en el medio de cultivo (Figura 3.8 A-C). En promedio el testigo expuso 16 hojas durante las 6 semanas. En la mayoría de los tratamientos el primer incremento se observó entre la primera y tercera semana y el segundo entre la cuarta y sexta. La única excepción fue en el grupo de concentraciones (b), en el que con $1.06 \text{ mg de } O_3 \text{ L}^{-1}$ la exposición de hojas disminuyó desde la tercera semana (Figura 3.8 B). Hasta las semanas sexta el número de hojas continuaba incrementando en las plantas de los tres grupos de tratamientos. Esto indicó que el O_3 aplicado en concentraciones de 0.53 y 5.94 mg L^{-1} no afectó negativamente el incremento del número de hojas por planta.

El ANDEVA, indicó que al final de las 6 semanas de cultivo existió diferencia estadísticamente significativa únicamente en el grupo de tratamientos (b) y la comparación de medias mostró que la diferencia se debió a la caída descrita antes (Figura 3.8. B). Los demás tratamientos con O_3 produjeron número significativamente similar a las plantas del testigo (Figura 3.8. A-C).

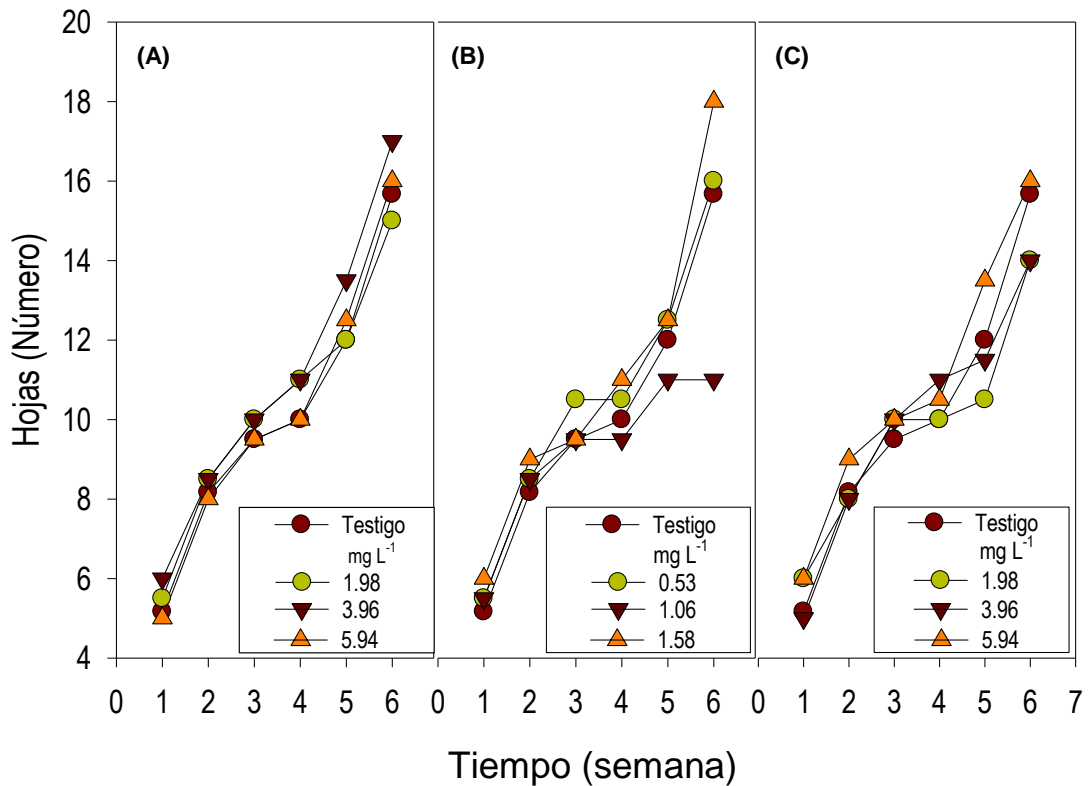


Figura 3. 8. Incremento del número de hojas en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante. (A) y (B) Testigo y dosis de O_3 aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva después de 2 h; (C) testigo y diferentes dosis de O_3 aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva una semana después de aplicado el O_3 .

3.5.2.2. Longitud de hoja

La longitud de la hoja basal en las plantas de los tres grupos de tratamientos incrementó aceleradamente la primera semana, luego su crecimiento fue mínimo y desde la segunda o tercera semana ya había alcanzado su valor máximo (entre 16 y 17 cm) en la mayoría de los tratamientos. Estos resultados indicaron que el O₃ no afectó el crecimiento longitudinal de las hojas basal y que su crecimiento máximo lo alcanza desde las etapas iniciales de desarrollo de la planta. El ANDEVA mostró que no existió diferencia significativa entre los tratamientos (Figura 3.9. A- C).

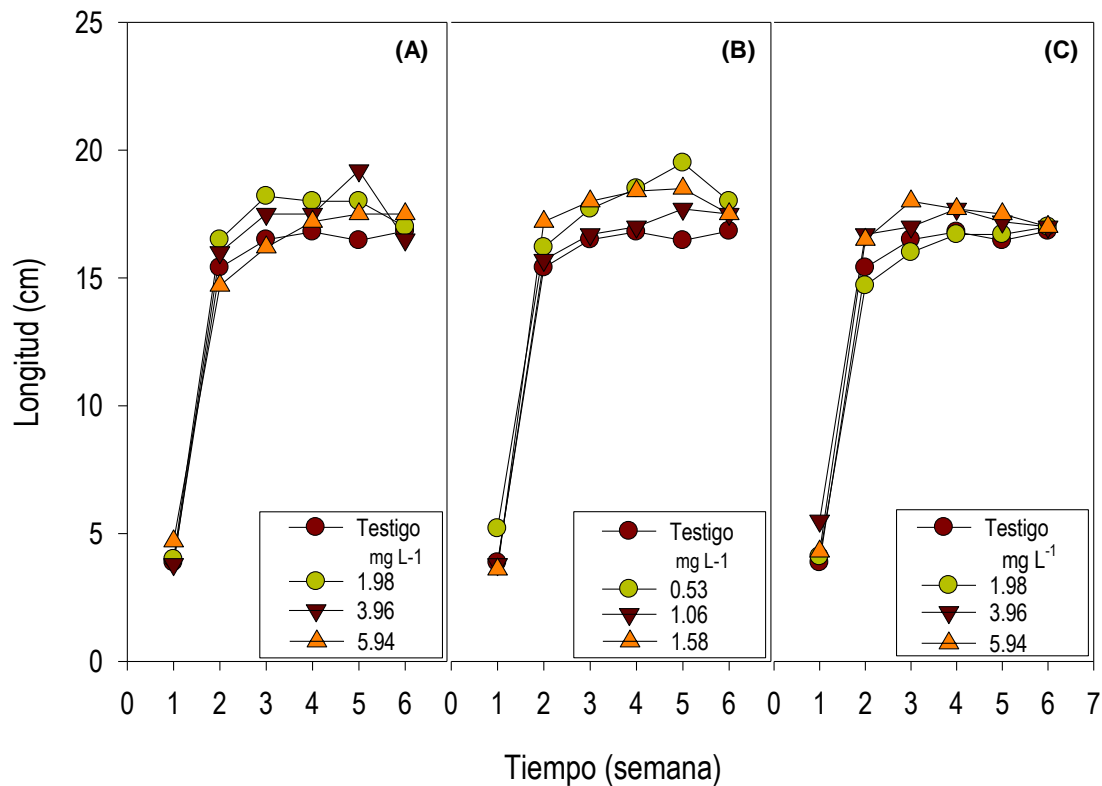


Figura 3. 9 Incremento de la longitudinal de la hoja basal en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante. (A) y (B) Testigo y diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva después de 2 h; (C) testigo y diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva una semana después de aplicado el O₃.

3.5.2.3. Diámetro del tallo

El diámetro del tallo incrementó en forma lineal durante las 6 semanas de evaluación en los tres grupos de tratamientos. Hasta las 6 semanas de cultivo el tallo alcanzó 13 mm en el testigo y entre 11 y 16 mm en los tratamientos con O₃ continuaba creciendo y en ninguno de los grupos de tratamientos se observó la disminución del crecimiento de ese órgano (Figura 3.10 A-C). Esto indicó que el O₃ no afectó el crecimiento transversal del tallo. El ANDEVA del diámetro del tallo mostró la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos del grupo (b) en las últimas semanas y la prueba de comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$) mostró que la aplicación semanal de 1.58 mg L⁻¹ semanalmente, y cambio de la solución nutritiva después de 2 horas, incrementó significativamente (45 %) el diámetro del tallo respecto al del testigo (Figura 3.10 A-C).

En el mismo grupo las dosis de 1.06 mg L⁻¹, semanalmente y cambio de la solución nutritiva después de 2 horas, tendieron a disminuir el crecimiento, sin diferencia significativa respecto al testigo (Figura 3.10. B).

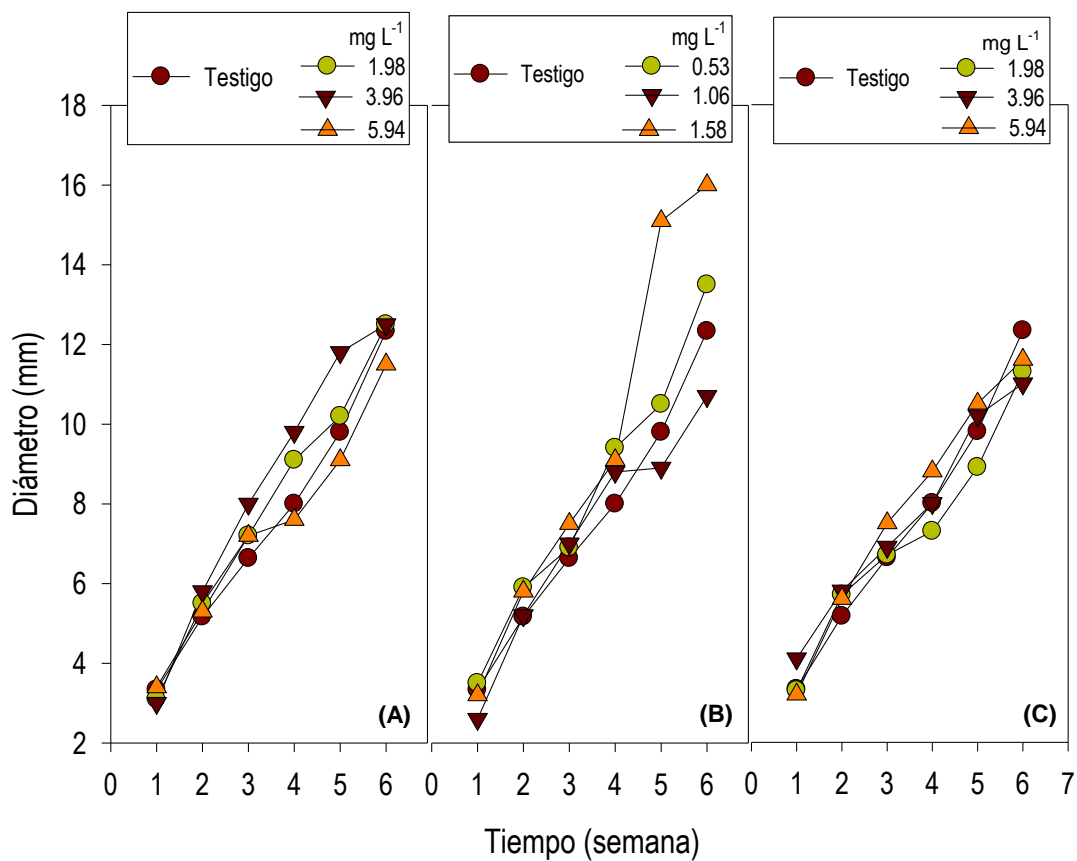


Figura 3. 10 Incremento del diámetro del tallo en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante. (A) y (B) Testigo y diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva después de 2 h; (C) testigo y diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva una semana después de aplicado el O₃.

3.5.2.4. Longitud de raíz

El crecimiento longitudinal de la raíz durante las 6 semanas de evaluación incrementó con tendencia sigmoideal en las plantas de los tres grupos tratamientos. En general, durante las tres primeras semanas de cultivo el crecimiento de las raíces fue casi lineal, en la siguiente semana decayó y entre la cuarta y sexta semana de evaluación el crecimiento se reactivó. La longitud máxima promedio en la raíz de las plantas testigo fue (27 cm). El ANDEVA de longitud de raíz mostró que no existieron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos (Figura 3.11 A-C). Estos resultados fueron evidencia de que el O_3 no afectó negativamente el crecimiento longitudinal de las raíces.

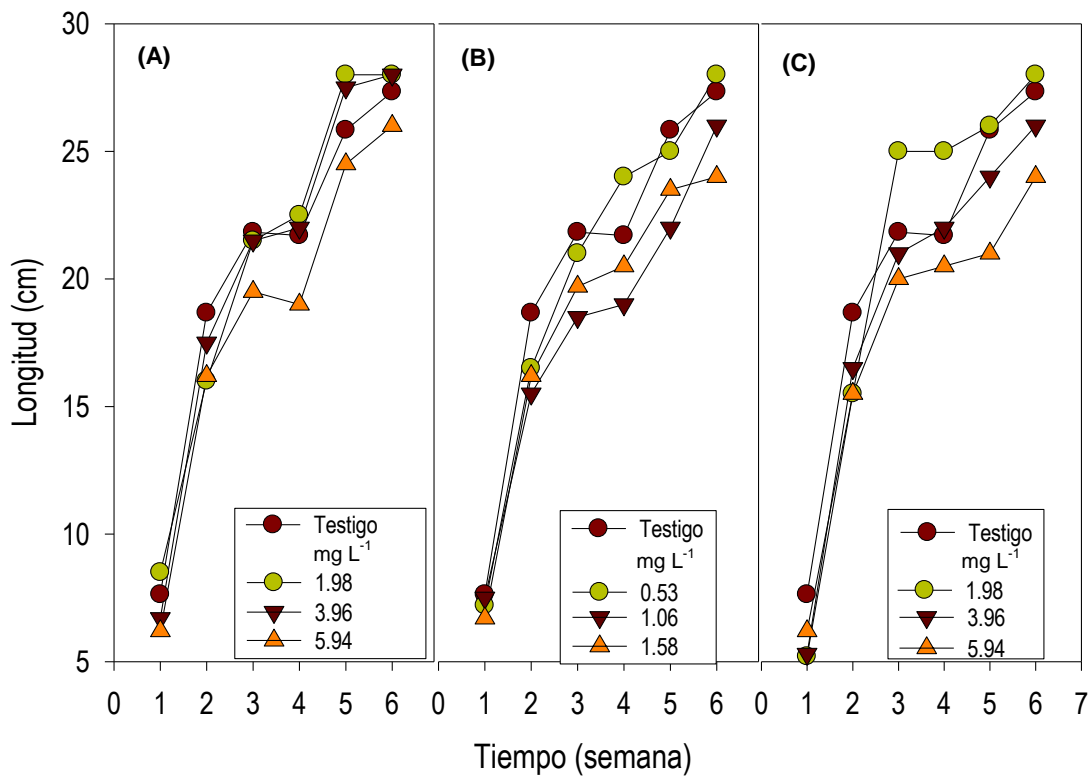


Figura 3. 11 Incremento longitudinal de la raíz de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante. (A) y (B) Testigo y diferentes dosis de O_3 aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva después de 2 h; (C) testigo y diferentes dosis de O_3 aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva una semana después de aplicado el O_3 .

3.5.2.5. Biomasa seca raíz

La biomasa seca en la raíz incrementó durante las semanas de evaluación. En este parámetro después de 4 semanas de evaluación sí se observaron efectos del O_3 . El ANDEVA de la biomasa seca de raíz mostró la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos de cada grupo y la prueba de comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$) señaló que los tratamientos con 1.98, y 5.94 mg de $O_3 L^{-1}$, aplicados semanalmente con cambio de la solución nutritiva después de 2 horas (grupo a), acumularon entre 25 y 33 % menos biomasa que el testigo (3.12 A); además, la aplicación de 1.98, 3.96 y 5.94 mg L^{-1} semanal, con cambio de la solución nutritiva previo a la aplicación de O_3 , del grupo (c) mantuvo la acumulación menos (entre 30 y 52 %) biomasa en las raíces respecto al testigo (Figura 3.12 C).

Aunque estos resultados pueden interpretarse como un efecto negativo del O_3 en el desarrollo de la raíz, y aunque las plantas para todos los tratamientos fueron seleccionadas al azar, los tratamientos que acumularon menos biomasa durante las 4 semanas también iniciaron con menos biomasa (Figura 3.12. A-C).

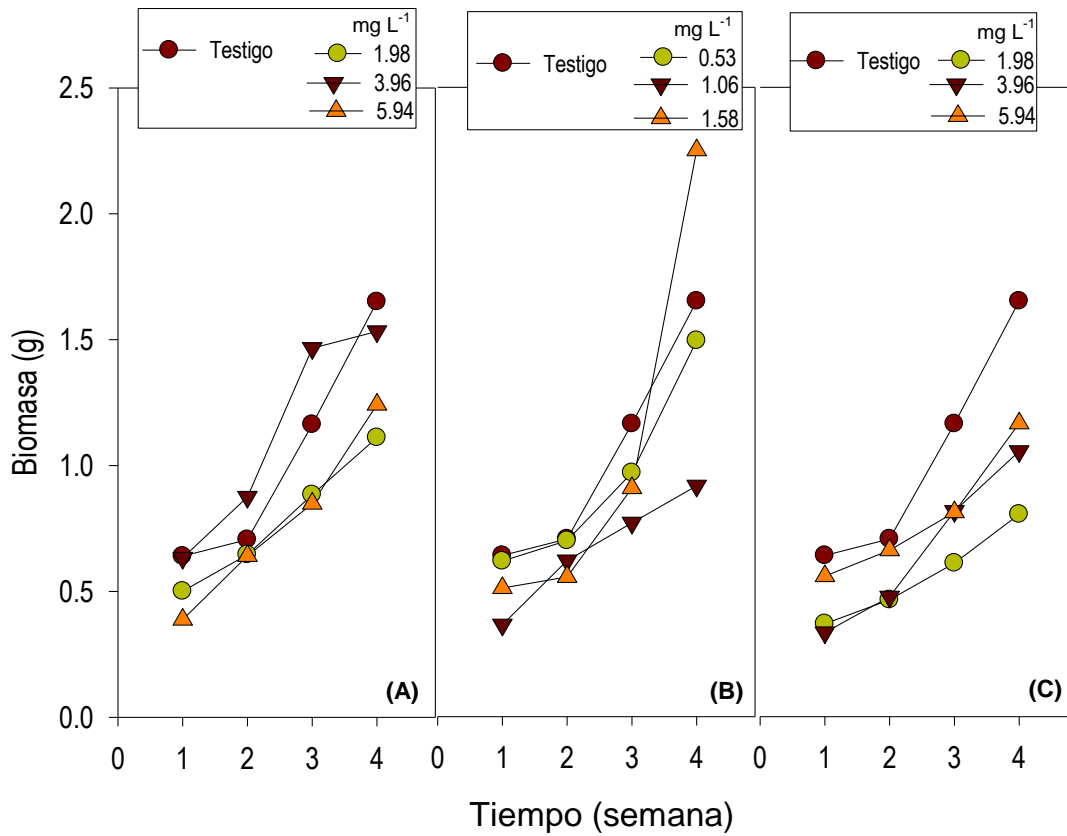


Figura 3. 12 Incremento de biomasa seca de raíz en plantas de lechuga (*Lactuca sativa*) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante. (A) y (B) Testigo y diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva después de 2 h; (C) testigo y diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva una semana después de aplicado el O₃.

También se observó que el O_3 tuvo efecto positivo en la acumulación de biomasa seca de la raíz; en el tratamiento con 1.58 mg L^{-1} semanal, y con cambio de la solución nutritiva después de 2 horas, del grupo (b) la biomasa seca acumulada fue (27 %) mayor que en el testigo (1.65 mg) (Figura 3.12. B). Estos resultados indicaron que el O_3 puede favorecer, o afectar negativamente el crecimiento de las raíces de las plantas de lechuga en dependencia de la concentración, tiempo de permanencia en el medio y desarrollo de las plantas.

3.5.2.6 Biomasa seca vástago

El crecimiento del vástago en términos de biomasa seca durante 4 semanas en todos los tratamientos fue lento hasta la segunda semana y luego se aceleró significativamente (Figura 3.13.B).

El ANDEVA de biomasa seca del vástago mostró la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos de los grupos (b) y (c) y la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$) $p \leq 0.05$) señaló que la aplicación semanal de 1.06 mg L^{-1} de O_3 y renovación de la solución nutritiva después de 2 horas, y entre 1.98 y 5.94 mg L^{-1} semanalmente, y renovación de la solución nutritiva previa a la aplicación de O_3 inhibió la acumulación de biomasa en el vástago hasta en 51 % (Figura 3.13. A-C). En contraste concentraciones de 1.58 mg L^{-1} tuvieron efecto positivo en el crecimiento, pues incrementaron 30 % la biomasa, con respecto al testigo (Figura 3.13. B).

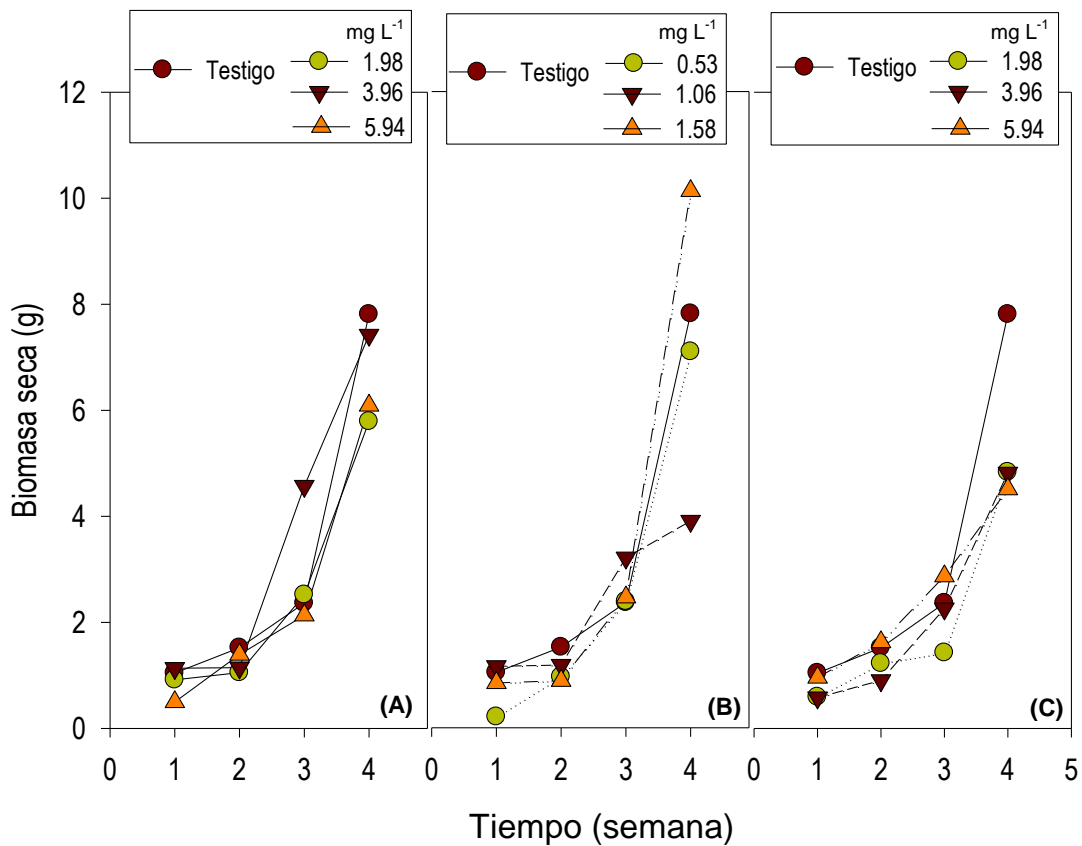


Figura 3. 13 Incremento de biomasa seca del vástago en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante. (A) y (B) Testigo y diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva después de 2 h; (C) testigo y diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente con renovación de la solución nutritiva una semana después de aplicado el O₃.

Aunque la disminución del crecimiento en algunos de los tratamientos podría ser debida al efecto reductor del O₃ aplicado sobre algunos micronutrientes como hierro y manganeso de la solución nutritiva (Pierna y Díaz, 2001; Monserrat, 2000), los resultados no mostraron una tendencia relacionada a este hecho, pues fue independiente de la dosis de O₃ y la frecuencia de renovación de la solución nutritiva.

3.5.3. Tercera etapa

Esta etapa del estudio se desarrolló con el objetivo de evaluar dosis inocuas de O₃, que promovieran el crecimiento de las plantas (fenómeno conocido como hormesis) y que inhibieran parcialmente el crecimiento y conocer las alteraciones que provoca el O₃ en el crecimiento. Un enfoque similar fue utilizado por Olszyk y colaboradores (Olszyk *et al.*, 1986) con O₃ y otros fitotóxicos. En esta etapa se utilizaron dosis relativamente bajas (1.33 mg L⁻¹), intermedias (2.66 y 3.96 mg L⁻¹) y altas (5.33 mg L⁻¹) que generaron incremento en algún parámetro del crecimiento, que fueron inocuas y mantuvieron constante el crecimiento, y aquellas que tendieron a afectar los mismos o algún otro parámetro del crecimiento (Cuadro 3.2).

Cuadro 3. 2 Valor de significancia, media y agrupamiento de Tukey, obtenidos del análisis de datos de la aplicación de cuatro dosis de O₃ a plantas de lechuga.

	Longitud de hoja					Longitud de raíz					Diámetro del tallo					Número de hojas				
	T	D ₁	D ₂	D ₃	D ₃	T	D ₁	D ₂	D ₃	D ₃	T	D ₁	D ₂	D ₃	D ₃	T	D ₁	D ₂	D ₃	D ₃
Pr > F	0.2867					0.5010														
Media	10.2	10.6	11.7	11.3	10.6	12.8	13.8	13.7	14.0	15.1	17.8	18.8	19.1	18.0	18.7	34.2	39.0	38.6	38.0	40.0
Tukey	3	A				5	A				3	A				5	A			
		A					A					A					A			
	4	A				4	A				2	A				2	A			
		A					A					A					A			
Agrupa-	5	A				2	A				5	A				3	A			A
miento		A					A					A					A			A
	2	A				3	A				4	A				4	A			A
		A					A					A					A			B
	1	A				1	A				1	A								

	Biomasa total de raíz					Biomasa total del vástago					Biomasa seca de raíz					Biomasa seca del vástago				
	T	D ₁	D ₂	D ₃	D ₃	T	D ₁	D ₂	D ₃	D ₃	T	D ₁	D ₂	D ₃	D ₃	T	D ₁	D ₂	D ₃	D ₃
	0.0037					0.1399					0.0099					0.0072				
	37.5	50.4	51.9	39.1	37.5	217.7	289.9	282.4	246.5	289.3	2.1	2.8	3.0	2.1	2.7	11.4	15.1	15.9	12.8	15.5
	3	A				3	A				3	A				3	A			
		A					A					A					A			
	2	B	A			5	A				2	A	B			5	A			
		B	A				A					A	B				A			
	5	B	A	C		3	A				5	A	B			2	A	B		
		B	C				A					A	B				A	B		
	4	B	C			4	A				4	A	B			4	A	B		
		B	C				A					A	B				A	B		
	1	C				1	A				1	B				1	B			

T: Testigo, D₁: 1.33 mg L⁻¹, D₂: 2.66 mg L⁻¹, D₃: 3.96 mg L⁻¹, D₄: 5.33 mg L⁻¹.

3.5.3.1. Crecimiento de la hoja basal, del tallo y la raíz

En esta etapa del estudio, el incremento de la longitud de la hoja basal de los tres tratamientos con O₃ fue notablemente similar al testigo (Figura 3.14. A). También el crecimiento del tallo y de la raíz fueron similares al del testigo (Figura 3.14. B y C).

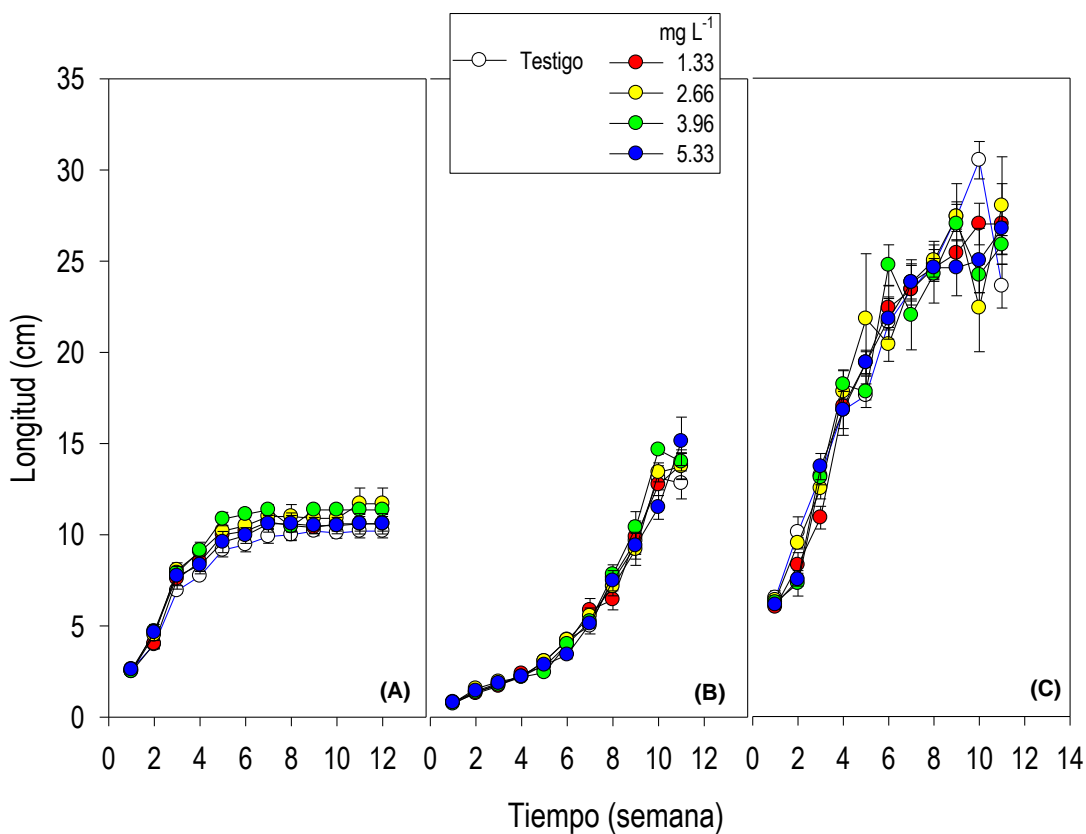


Figura 3. 14 Incremento en longitud de la hoja basal (A), del tallo (B) y la raíz (C) de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante con diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente, + el error estándar.

3.5.3.2. Diámetro del tallo y número de hojas

El diámetro del tallo y número de hojas en las plantas con las cuatro tratamientos con O₃ evaluados en esta etapa del estudio incrementaron continuamente en las 11 semanas de evaluación, en forma similar al testigo. La única excepción fue el número de hojas en el último muestreo, en el que los tratamientos con O₃ tuvieron 14 % más hojas que el testigo (Figura 3.15. A-B).

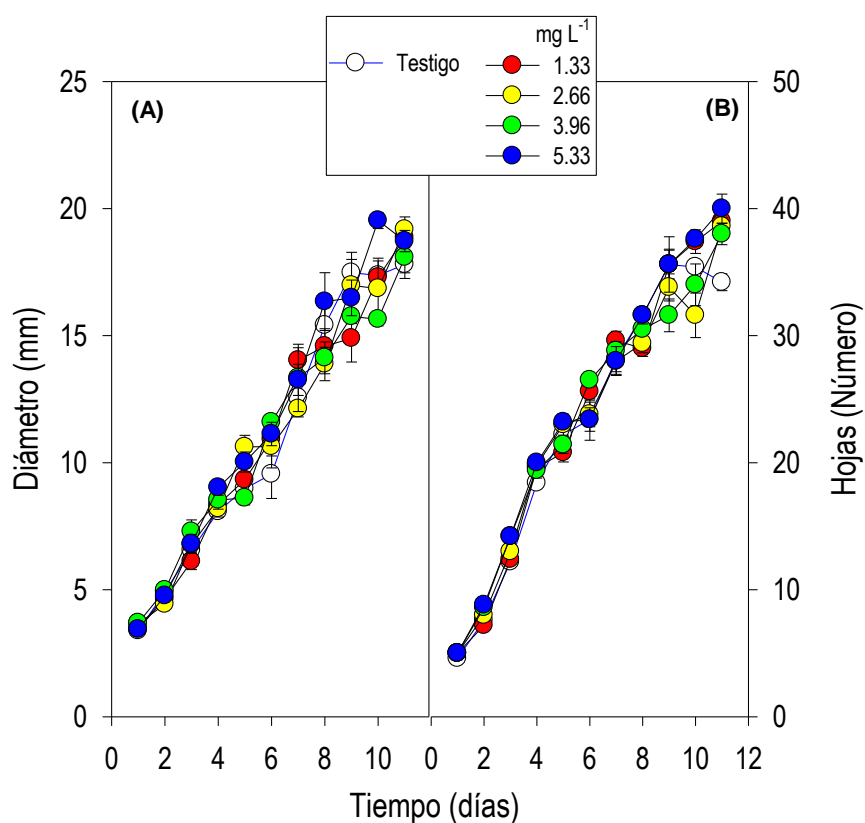


Figura 3. 15 Incremento en el diámetro del tallo (A) y número de hojas (B) de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante con diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente, + el error estándar.

3.5.3.3. Biomasa total de la raíz y vástago

El peso total (peso fresco) de la raíz y el vástago en las plantas de todos los tratamientos incrementaron constantemente durante las 11 semanas de evaluación. Después de 10 y 11 semanas de crecimiento, la biomasa total de la raíz y del vástago de la mayoría de los tratamientos con O₃ fue significativamente mayor (hasta 37 %) que en el testigo (Figura 3.16. A-B). Estos resultados indicaron que aunque las diferencias se presentaron al final del desarrollo, el O₃ tuvo efecto positivo en el crecimiento total de las plantas.

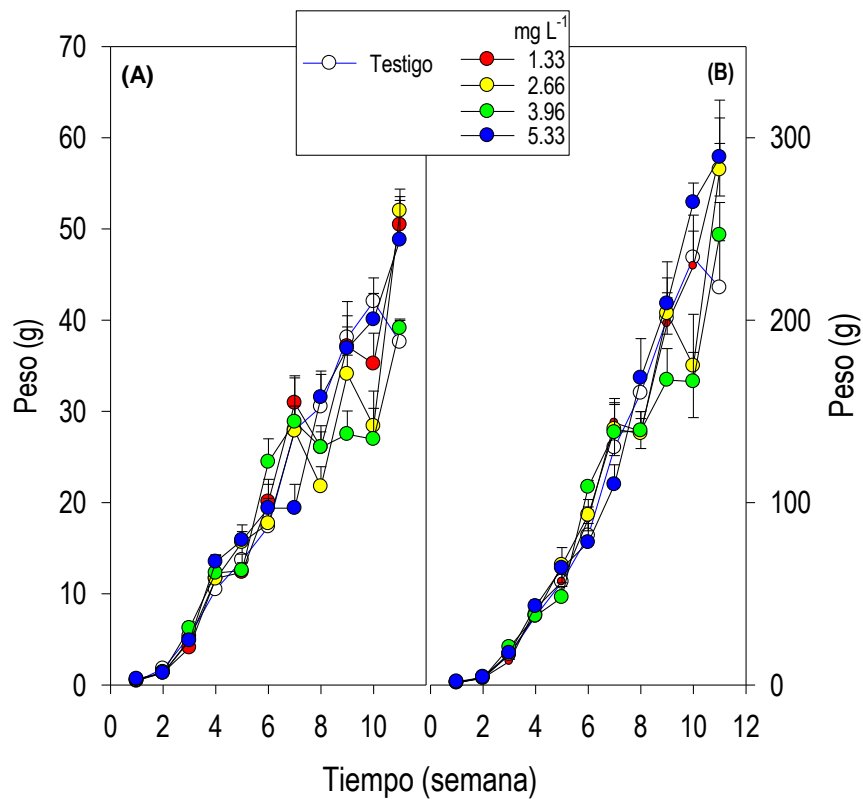


Figura 3. 16 Incremento en el peso total de la raíz (A) y vástago (B) de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante con diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente, + el error estándar.

3.5.3.5. Biomasa seca de la raíz y del vástago

La biomasa seca de la raíz y el vástago en las plantas de todos los tratamientos incrementó constantemente durante las 11 semanas de evaluación. En la última semanas de evaluación, la biomasa seca de ambas regiones de las plantas de los tratamientos con 1.33, 2.66 y 5.33 mg de O₃ L⁻¹ fue significativamente mayor (hasta 42 % en la raíz y 35 % en el vástago) que en el testigo (Figura 3.17. A-B). Estos resultados indicaron que, como en el caso de la biomasa total, los efectos del O₃ en la biomasa seca se presentaron al final del desarrollo, y fueron positivos, pues la ganancia de biomasa fue significativa respecto al testigo.

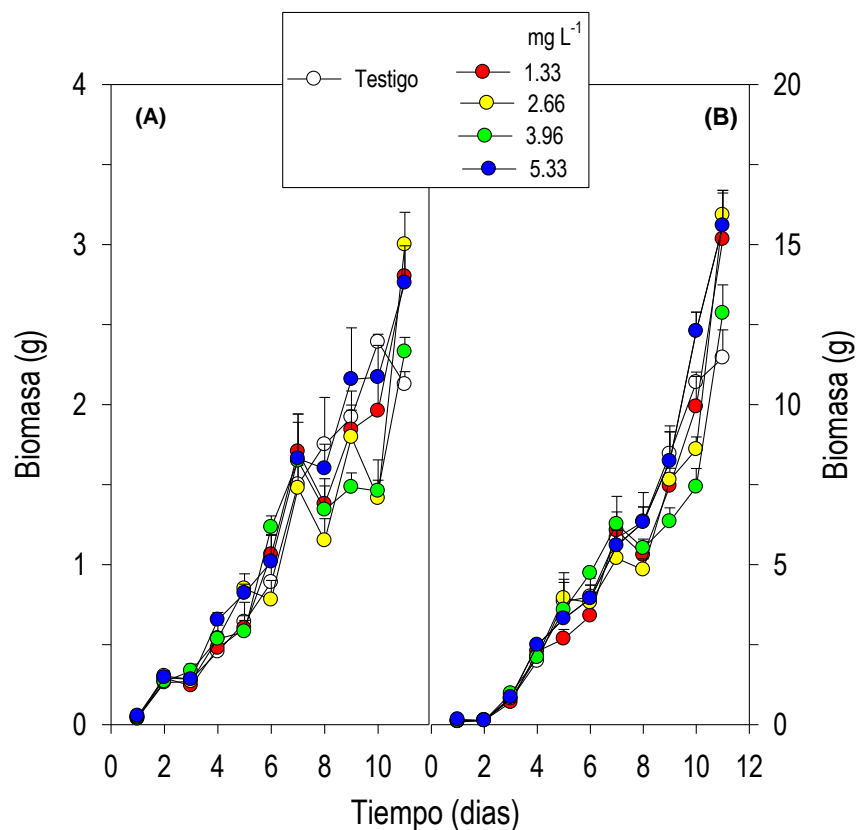


Figura 3. 17 Incremento en biomasa seca de la raíz (A) y del vástago (B) de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante con diferentes dosis de O₃ aplicadas semanalmente, + el error estándar.

Los resultados de este estudio indicaron que la lechuga en cultivo en condiciones de invernadero en sistema hidropónico fue susceptible a dosis entre 19.9 y 59.4 mg de O₃ L⁻¹. Pero fue tolerante a concentraciones entre 0.53 y 5.94 mg L⁻¹. Sin embargo, este último grupo de concentraciones permitió además expresar hormesis, lo que coincide con lo señalado por otros autores (Mills *et al.*, 2007). Los resultados también confirmaron la variación intraespecífica de sensibilidad de las plantas al O₃ señalada previamente en otras especies por Brosche *et al.* (2010). Es conveniente señalar que la definición de cultivo sensible o tolerante a O₃ es imprecisa. Los cultivos pueden ser identificados como sensibles en dependencia de si los daños y sintomatología en el follaje son visibles en las primeras etapas del crecimiento, pero esto puede no dar lugar necesariamente a un impacto negativo en el crecimiento y, consecuentemente en el rendimiento al final del desarrollo. Los estomas son las estructuras foliares que responden a la presencia de O₃ en el ambiente. Picchi *et al.* (2010) proponen que la tolerancia puede estar relacionada con la variación genotípica de la capacidad de respuesta al cierre estomático en reacción al O₃. Los cultivares que reaccionan al O₃ con el cierre de los estomas podría decirse que son relativamente insensible a este gas pues las lesiones serán menos visibles, dado que la dosis de O₃ se reducirá con el cierre estomático. Sin embargo, el cierre estomático prolongado reducirá la fijación de C, y así el crecimiento y rendimiento se afectarán. Estudios recientes han identificado algunos sitios del genoma asociados a la resistencia o susceptibilidad al O₃ en trigo y arroz (Ainsworth *et al.*, 2008; Frei *et al.*, 2010), lo que sugiere que las diferencias entre y dentro de las especies está regulada genéticamente.

3.5.4. Conclusiones

Las plantas de lechuga son afectadas por aplicaciones de O_3 sólo cuando estas sobrepasan los 5.94 mg L^{-1} . En contraste con dosis menores a 5.94 mg L^{-1} resultaron ser subletales en plantas de lechuga al no afectar el crecimiento de estas, ya que el estrés oxidativo causado es mínimo y provoca un estímulo fisiológico que se refleja en un crecimiento y desarrollo mayor, esto indica que dosis menores de 5.94 mg L^{-1} son capaces de provocar un efecto de hormesis a las plantas de lechuga.

3.6. Literatura Citada

- Fenger, J; O. Hertel; F. Palmgren. 1999. Urban Air Pollution – European Aspects. Cluver Academic Publishers, Dordrecht, Holand.
- Frei, M; J. P. Tanaka; C. P. Chen; M. Wissuwa. 2010. Mechanisms of ozone tolerance in rice: characterization of two QTLs affecting leaf bronzing by gene expression profiling and biochemical analyses. Journal of Experimental Botany 61: 1405-1417.
- Ainsworth, E. A; A. Rogers; A. D. Leakey. 2008. Targets for crop biotechnology in a future high-CO₂ and high-O₃ world. Plant Physiology 147: 13–19.
- Brosche, M; E. Merilo; F. Mayer; P. Pechter; I. Puzorjova; G. Brader; J. Kangasjarvi; H. Kollist. 2010. Natural variation in ozone sensitivity among *Arabidopsis thaliana* accretions and its relation to stomatal conductance. Plant, Cell and Environment 33: 914–925.
- Fenger, J; O. Hertel; F. Palmgren. 1999. Urban Air Pollution – European Aspects. Cluver Academic Publishers, Dordrecht, Holand.
- Frei, M; J. P. Tanaka; C. P. Chen; M. Wissuwa. 2010. Mechanisms of ozone tolerance in rice: characterization of two QTLs affecting leaf bronzing by gene expression profiling and biochemical analyses. Journal of Experimental Botany 61: 1405–1417.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen. Mexico, D.F. Instituto de Geografía – UNAM.

- Mills, G. 2007. Introducing response modifying factors into a risk assessment for ozone effects on crops in Europe.+++
- Olszyk, D.M. 1986. Effects of sulfur- dioxide and ambient ozone on winter- weath and lettuce. *Journal of Environmental Quality* 15(4): 363-369.
- Picchi, V; M. Iritia; S. Quaroni; M. Saracchic; P. Viola; F. Faoro. 2010. Climate variations and phenological stages modulate ozone damages in field-grown wheat. A three-year study with eight modern cultivars in Po Valley (Northern Italy). *Agriculture, Ecosystems and Environment* 135: 310–317.
- Pierna, I. E y G. R. Díaz. 2001. Recirculación de soluciones nutritivas en cultivos sin suelo. *Ingeniero Agrónomo. El Riego* 4:246-250.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2012. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. www.siap.gob.mx/index.php. 07/11/2012.

CAPITULO 4. EFECTO DE DOSIS SUBLETALES DE OZONO AL MEDIO DE CULTIVO EN EL CRECIMIENTO DE PLANTAS LECHUGA (*Lactuca sativa* L.)

4.1. Resumen

Los efectos biológicos del O₃ en las plantas han sido estudiados por más de 50 años. Las plantas han desarrollado un conjunto de mecanismos morfológicos, bioquímicos y fisiológicos de respuesta a los cambios ambientales de O₃. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de dosis subletales de O₃ aplicado al medio de cultivo en el crecimiento de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). Con base en el fenómeno de dosis: respuesta, denominado hormesis, la hipótesis fue que ciertas dosis de O₃ modifican positivamente el metabolismo de las plantas e incrementan su crecimiento y productividad. En un sistema hidropónico de plantas en flotación se evaluaron dosis de 2.66 y 3.96 mg L⁻¹ y se compararon con un testigo sin O₃. Las variables del crecimiento que se evaluaron fueron: diámetro del tallo, altura del tallo, altura de hoja, número total de hojas, longitud de raíz, peso fresco de raíz, biomasa seca de raíz, peso fresco y biomasa del vástago. Las plantas completaron su ciclo de crecimiento sin algún daño aparente causado por O₃. Diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el diámetro del tallo, biomasa seca de la raíz y biomasa seca del tallo fueron detectadas por efecto del O₃.

Palabras clave: hormesis, *Lactuca sativa* L. , daño fisiológico, ozono.

4.2. Abstract

The biological effects of O₃ in plants have been studied for over 50 years. Plants have developed a set of morphological, biochemical and physiological mechanisms of response to environmental changes O₃. The objective of this study was to evaluate the effect of sublethal doses of O₃ applied to the culture media on the growth of lettuce plant (*Lactuca sativa* L.). Based on the phenomenon of dose: response, called hormesis, the hypothesis was that certain doses of O₃ positively alter the metabolism of plants and increase their growth and productivity. In a hydroponic system floating plants doses of 2.66 and 3.96 mg L⁻¹ were evaluated and compared to a control without O₃. Growth variables that were evaluated were: stem diameter, stem height, leaf height, total number of leaves, root length, root fresh weight, root dry biomass, fresh weight and shoot biomass. The plants complete their growth cycle without any apparent damage caused by O₃. Significant differences (p≤ 0.05) in stem diameter, dry biomass of the root and stem dry biomass were detected by the effect of O₃.

Keywords: hormesis, *Lactuca sativa* L., physiological damage, ozone.

4.3. Introducción

Hormesis es la respuesta o conjunto de procesos por los que la dosis baja de un agente oxidante o algún estímulo estresante es capaz de activar una respuesta adaptativa, que incremente la resistencia de una célula u organismo frente al estrés (López-Diazguerrero *et al.*, 2013). Los primeros reportes aparecen en la década de 1880 por Hugo Schulz y Rudolph Arndt, quienes documentaron el fenómeno de respuesta estimuladora debida a sustancias tóxicas. Schulz fue uno de los primeros en observarlo al estudiar los efectos de distintas sustancias químicas en la fermentación por levaduras, y reportó que agentes tóxicos al aplicarse en concentraciones bajas estimulaban la producción de CO₂, mientras que la producción se inhibía al aplicarse en dosis altas (Schulz, 1887; Calabrese y Baldwin, 2003). La evidencia científica acerca de la estimulación de los sistemas biológicos con dosis bajas de sustancias tóxicas está documentado en publicaciones especializadas (Allender *et al.*, 1997; Appleby, 1998; Calabrese y Baldwin, 1999). Durante algunas décadas las respuestas estimulantes del crecimiento en las plantas con dosis bajas de compuestos químico tóxicos han sido documentadas principalmente por especialistas de las malezas. Uno de los estudios en plantas más antiguo es el del herbicida 2-metil-4-cloro-fenoxiacético (MCPA). Desde la identificación de la sal sódica del MCPA como herbicida (Allen *et al.*, 1978) las auxinas sintéticas han sido reconocidas por sus efectos nocivos en las plantas en dosis altas, opuestos a su función de estimular la elongación de los tejidos vegetales, en los que se encuentran naturalmente en concentraciones bajas (1 mg kg⁻¹ de tejido) (Cedergreen *et al.*, 2007).

Actualmente existen diversos ejemplos de herbicidas que dañan a las plantas en dosis altas y estimulan el crecimiento a dosis bajas. Este fenómeno de hormesis constituye un uso alternativo posible de esos y otros compuestos tóxicos para las plantas, como el O₃, y que, sin embargo, está comprometido por la variabilidad aparente del fenómeno (Belz y Piepho, 2013).

El O₃ es un oxidante fuerte y es un desinfectante efectivo porque destruye impurezas y contaminantes biológicos (virales y bacterianos) a través de modificación o inactivación de moléculas mediante la oxidación de dobles enlaces (Booker *et al.*, 2009). Los efectos biológicos del O₃ en las plantas han sido estudiados por más de 50 años (Sudhakar *et al.*, 2011). Las plantas han desarrollado un conjunto de mecanismos de respuesta para responder a varias tensiones ambientales mediante cambios morfológicos, bioquímicos y fisiológicos provocados por O₃ (Sudhakar *et al.*, 2007; Nagendra-Prasad *et al.*, 2009).

El O₃ provoca cambios en la fisiología y el metabolismo de las plantas, al interaccionar con los antioxidantes; las primeras moléculas en reaccionar con esta molécula son los lípidos de la membrana plasmática, los aminoácidos de las proteínas de las membranas y la gran variedad de metabolitos localizados en la pared celular (Fiscus *et al.*, 2005).

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del O₃ aplicado al medio de cultivo en el crecimiento de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). Con base en el fenómeno de dosis: respuesta, conocido como hormesis, la hipótesis fue que dosis subletales de O₃ modifican positivamente el metabolismo de las plantas e incrementan su crecimiento y productividad.

4.4. Materiales y Métodos

El estudio se realizó en un invernadero del Posgrado en Botánica, del Colegio de Postgraduados, en Montecillo, México (19°27' N, 98°54' W). El clima de la región es sub-húmedo templado, con lluvias en verano, precipitación y temperatura anual media de 636.5 mm y 15.2 °C (García, 2004).

Se emplearon plántulas de lechuga de la variedad Bubba F1, de 30 d de edad, con 6 o 7 hojas, obtenidas de un invernadero para producción comercial de hortalizas.

Las plantas se cultivaron en un sistema hidropónico con raíz flotante. Se usaron recipientes de material plástico, con capacidad de 4 L y tapa, que sirvió de soportes a las plantas, con cuatro perforaciones equidistantes. En cada una se colocó una plántula. La aireación al medio se le proporciono con cuatro bombas generadoras de O₂ (ECOPET[®], modelo 1688), oxigenando la solución 5 min al día (Figura 4.1).

Las plantas crecieron en solución nutritiva universal de Steiner, preparada con fertilizantes comerciales. Se preparó la solución nutritiva al inicio del ciclo del cultivo, a partir de una solución Steiner al 25 % de su concentración total, durante 4 semanas se incrementó hasta llegar al 100 % y así se concluyó el ciclo del cultivo. El pH y la conductividad eléctrica de la solución nutritiva se reguló con un potenciómetro (Hanna modelo: HI 99300), el pH durante el cultivo fue de entre 5.5 y 6.5. La temperatura dentro del invernadero se monitorio con un HOBO (datalogger marca Onset, modelo U12-001).

Después del trasplante, a los recipientes en el invernadero, se permitió que las plántulas se aclimataran a las condiciones de cultivo durante una semana. Después, el O₃ se aplicó semanalmente, durante 10 semanas con un equipo generador de ozono, proporcionado por la empresa AQUA – EQUIPOS DE MEXICO (Figura 4.2.). El equipo genera de 4 mg L⁻¹ de O₃ por minuto. Las aplicaciones se hicieron burbujeando la solución nutritiva con la corriente de ozono (Figura 4.3.) el tiempo adecuado para obtener concentraciones de O₃ de 2.66 y 3.96 mg L⁻¹.



Figura 4. 1 Organización de las plantas de lechuga cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante y aireación al medio.

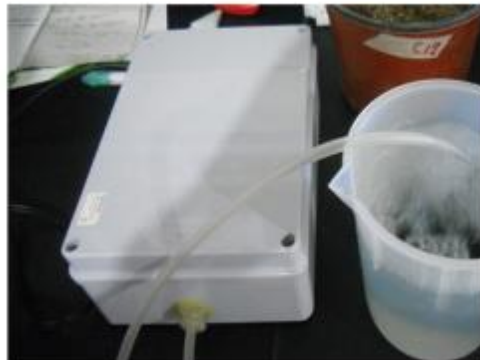


Figura 4. 2 Ozonificador utilizado en plantas de lechuga cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante.



Figura 4. 3 Forma de aplicación de O_3 en plantas de lechuga cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante.

Las variables evaluadas fueron la longitud de la raíz, el diámetro del tallo, el número de hojas y la longitud de las hojas, biomasa total de raíz, biomasa seca de raíz, biomasa total del vástago y biomasa seca del vástago en plantas cosechadas semanalmente y se concluyó 10 semanas después. La longitud de la raíz se obtuvo separando la raíz del vástago y se midió la longitud total de la base al ápice. El diámetro del tallo se midió en la base con un vernier con pantalla digital (Truper, modelo Caldi – 6mp). El número total de hojas se contabilizó después de desprenderlas del tallo. Para cuantificar el crecimiento foliar, las hojas de las plantas seleccionadas se marcaron con etiquetas y esas hojas se midieron cada 3 días. En el ensayo preliminar las mediciones se realizaron en hojas al azar, pero las tendencias del crecimiento fueron confundidas debido a que la exposición de las hojas es continua en la planta. El número total de hojas se contabilizó después de desprenderlas del tallo. Longitud del tallo se midió del ápice a la base.

La biomasa total de la raíz y del vástago se obtuvo después de separar y lavar ambas secciones de las plantas en balanza granataria (Scientech, modelo SA 120). La biomasa seca de ambas secciones de las plantas se obtuvo después de deshidratarlas en una estufa de secado, a 70 °C, por 68 h. El peso se registró en la balanza granataria (Scientech, modelo SA 120). La biomasa del vástago fue la suma de los valores independientes del tallo y las hojas previamente muestreadas y secadas por separado.

El estudio se desarrolló con un modelo experimental completamente al azar (Figura 4.4.), con dos concentraciones de O₃ y un testigo, y diez repeticiones por tratamiento, cada una representada por una planta. Los datos obtenidos en la cosecha se analizaron con ANDEVA y comparación múltiple de medias con el paquete SAS. Las gráficas se desarrollaron en el programa Sigma Plot de Jandel Scientific (Version 10.0).



Figura 4. 4 Arreglo de las unidades experimentales (macetas) en el estudio realizado con plantas de lechuga cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante. T: testigo sin O₃; con 2.66 o 3.96 mg L⁻¹.

4.5 Resultados y discusión

El ANDEVA muestra la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las variables; diámetro del tallo, biomasa total del vástago y biomasa seca del vástago, sin diferencia estadísticas entre el resto de las variables y la prueba de comparación de medias de Tukey, muestra que la dosis de 3.96 mg/L⁻¹ acumulo mayor biomasa en las variables (Cuadro 4.1).

Cuadro 4. 1. Valor de significancia (Pr > F), media y agrupamiento de Tukey, obtenidos del análisis de datos de la aplicación de dos dosis de O₃ a plantas de lechuga.

	Diámetro del tallo			Largo del tallo			Largo de la hoja			Número de hojas			Largo de raíz			Biomasa total de raíz			
	T	D ₁	D ₂	T	D ₁	D ₂	T	D ₁	D ₂	T	D ₁	D ₂	T	D ₁	D ₂	T	D ₁	D ₂	
Pr > F		0.296		0.8050			0.718			0.554			0.8383			0.1843			
Media	19.2	21.4	21.5	20.0	20.6	20.8	13.0	13.3	13.5	27.2	30.1	30.2	20.5	20.1	19.8	36.1	43.8	41.5	
ukey	3	A		3	A		3	A		3	A		1	A		2	A		
		A			A			A			A			A			A		
Agrupamiento	2	A	B	2	A	A	2	A	A	2	A	A	2	A	A	3	A	A	
	1	B		1	A		1	A		1	A		3	A		1	A		

Biomasa seca de la raíz			Biomasa total del vástago			Biomasa seca del vástago		
T	D ₁	D ₂	T	D ₁	D ₂	T	D ₁	D ₂
	0.0001			0.0102			0.0215	
1.43	2.54	2.31	187.7	221.0	230.4	10.9	11.7	12.1
2	A		3	A		3	A	
	A			A			A	
3	A	B	2	A	A	2	A	B
	A			A			A	B
1	A		1	B		1	A	B

T: Testigo,

D₁: 2.66 mg L⁻¹

D₂: 3.96 mg L⁻¹

4.5.1 Diámetro del tallo

El diámetro del tallo incrementó linealmente durante las 10 semanas de evaluación en los tres tratamientos. Hasta las 10 semanas de cultivo, el tallo continuaba creciendo y en ninguno de los tratamientos se observó la disminución del crecimiento de ese órgano. Esto indicó que el O_3 no afectó negativamente el crecimiento transversal del tallo. Además, a partir de la sexta semanas un crecimiento ligeramente mayor de los tallos en presencia de ambas dosis de O_3 fue evidente (Figura 4.5).

El análisis de varianza ANDEVA del diámetro del tallo mostró la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.03$) entre los tratamientos en las 10 semanas, y la prueba de comparación de medias Tukey ($\alpha = 0.05$) mostró que la aplicación semanal de las dosis de 2.66 y 3.96 mg de $O_3 L^{-1}$ incrementó significativamente (16 %) el valor de sus medias con respecto al del testigo, sin diferencia significativa entre los tratamientos con O_3 (Figura 4.5).

DIAMETRO DEL TALLO

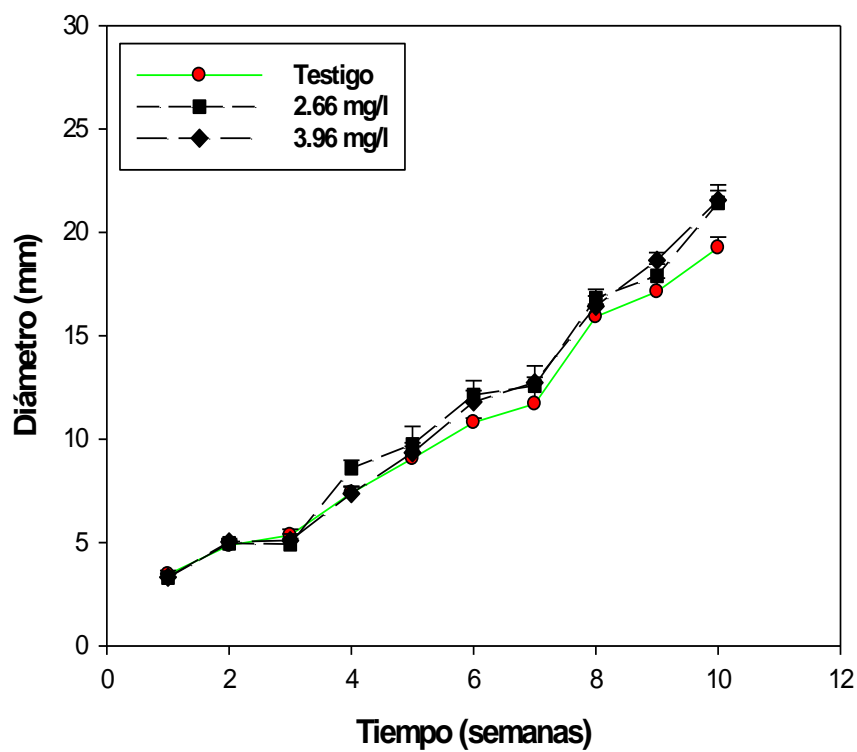


Figura 4. 5 Incremento del diámetro del tallo de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) durante 10 semanas, sin y con seis aplicaciones semanales de O₃ cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.

4.5.2. Longitud del tallo

El crecimiento longitudinal del tallo durante las 10 semanas de evaluación incrementó casi linealmente en los tres tratamientos. Hasta las 10 semanas de cultivo, la longitudinal de este órgano continuaba incrementando en las plantas de los tres tratamientos. Sobresalió, un decremento del crecimiento del tallo del testigo y de las plantas con la dosis baja de O_3 entre la séptima y octava semana y la suspensión total en el tratamiento con $3.96 \text{ mg de } O_3 \text{ L}^{-1}$; no obstante, en las siguientes 2 semanas el crecimiento del tallo se reactivó en los tres tratamientos. Esto indicó que el O_3 no afectó negativamente el crecimiento longitudinal (crecimiento primario) promedio del tallo (Figura 4.6).

El análisis de varianza ANDEVA de altura del tallo después de 10 semanas de crecimiento mostró que no existió diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos. Aunque el crecimiento del tallo en presencia de la dosis mayor de O_3 pareció inhibirse entre la cuarta y quinta semana, su reactivación provocó que los tallos de las plantas de este tratamiento terminaran sin diferencia significativas respecto a los otros tratamientos (Figura 4.6).

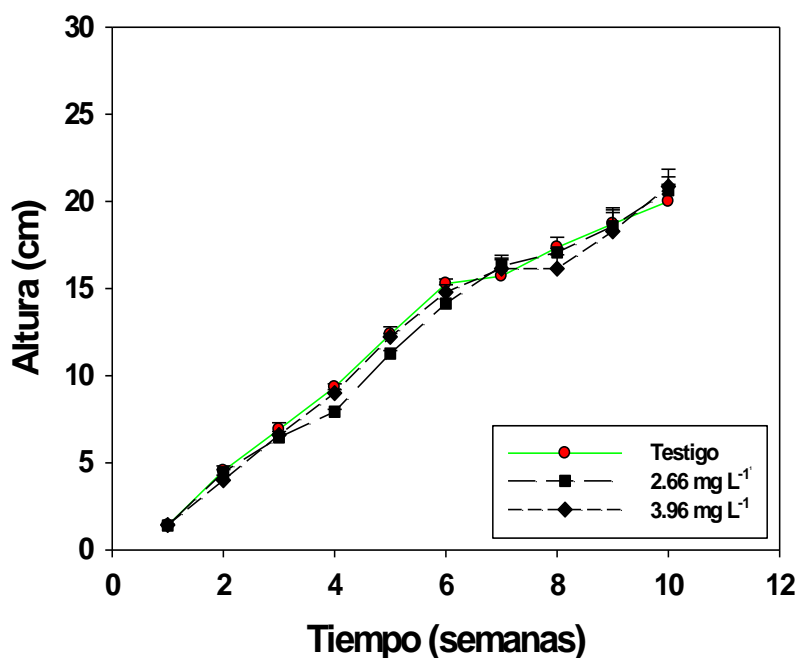


Figura 4. 6 Crecimiento longitudinal acumulado del tallo de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) durante 10 semanas, sin y con seis aplicaciones semanales de O₃ y cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.

4.5.3. Longitud de la hoja

La longitudinal de la hoja de las plantas de los tres tratamientos incrementó aceleradamente las primeras dos semanas, luego en las siguientes 3 semanas decaió y después de la quinta semana alcanzó su valor máximo (cerca de 14 cm). Estos resultados indicaron que el O₃ no afectó negativamente el crecimiento longitudinal de las hojas (Figura 4.7.).

Aunque, en promedio el crecimiento longitudinal foliar del testigo presentó valores ligeramente menores que en los tratamientos con O₃ el análisis de varianza mostró que no existió diferencia significativa entre los tratamientos (Figura 4.7.).

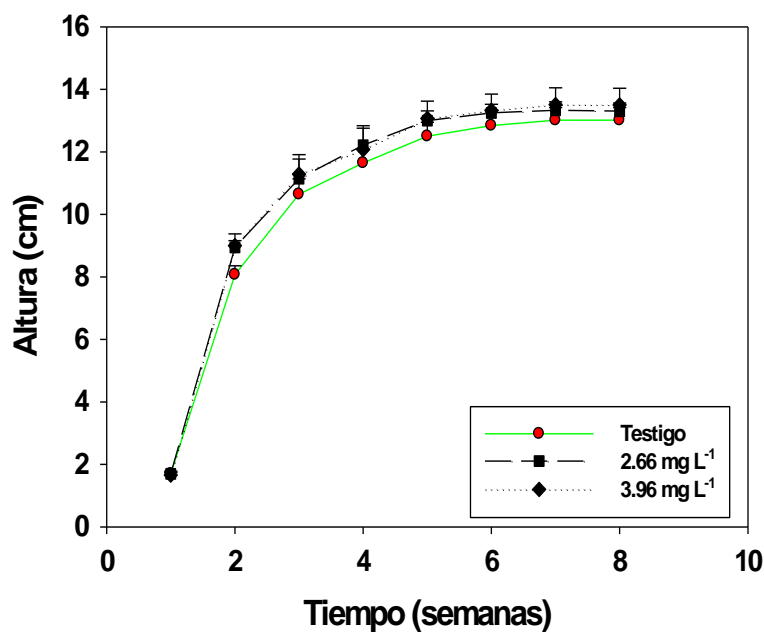


Figura 4. 7 Crecimiento acumulado en longitud de las hojas de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) durante varias semanas, sin y con seis aplicaciones semanales de O₃, en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.

4.5.4. Número de hojas

El número de hojas por planta durante las 10 semanas de evaluación incrementó con una tendencia ligeramente sigmoidea en los tres tratamientos, con el incremento mayor entre las 4 y 8 semanas de cultivo. Hasta las 10 semanas el número de hojas continuaba incrementando en las plantas de los tres tratamientos. Esto indicó que el O₃ no afectó negativamente el incremento del número de hojas por planta (Figura 4.8).

A partir de la cuarta semana de cultivo las plantas del testigo tuvo valores ligeramente menores del número de hojas que las de los tratamientos con O₃; y aunque en la sexta semana la diferencia (11 %) fue significativa, el análisis de varianza indicó que al final de las 10 semanas de cultivo no existió diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos (Figura 4.8.).

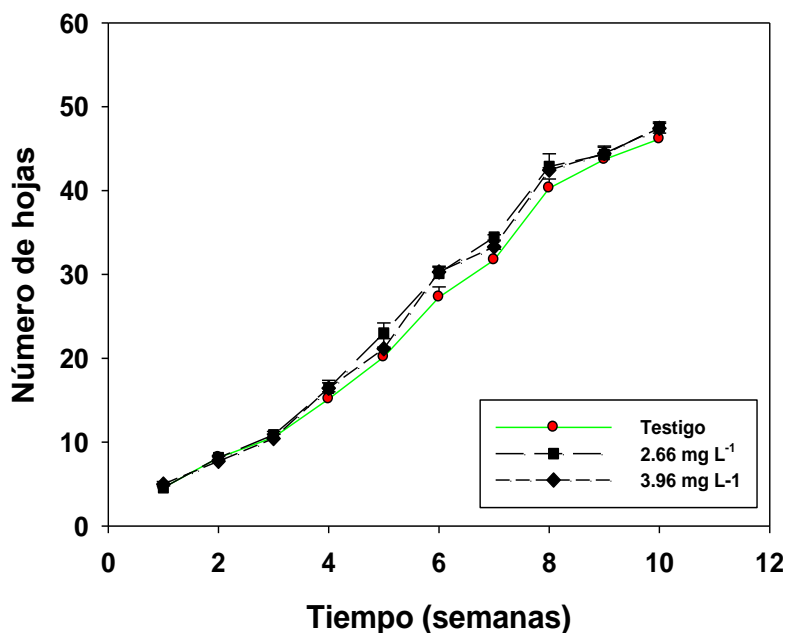


Figura 4. 8 Acumulación en número de hojas por planta de lechuga (*Lactuca sativa* L.) durante 10 semanas, sin y con aplicación semanal de O₃ en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.

4.5.5. Longitud de raíz

El crecimiento longitudinal de la raíz durante las 10 semanas de evaluación incrementó con tendencia sigmoidea en las plantas de los tres tratamientos. Durante las cuatro primeras semanas de cultivo el crecimiento de las raíces fue lineal en las plantas de los tres tratamientos. En las siguientes 5 semanas, entre la cuarta y novena semana de evaluación, el crecimiento disminuyó casi totalmente y al final se reactivó. Estos resultados fueron evidencia de que el O₃ no afectó

negativamente el crecimiento longitudinal de las raíces.

El análisis de varianza de longitud de raíz mostro que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Figura 4.9.).

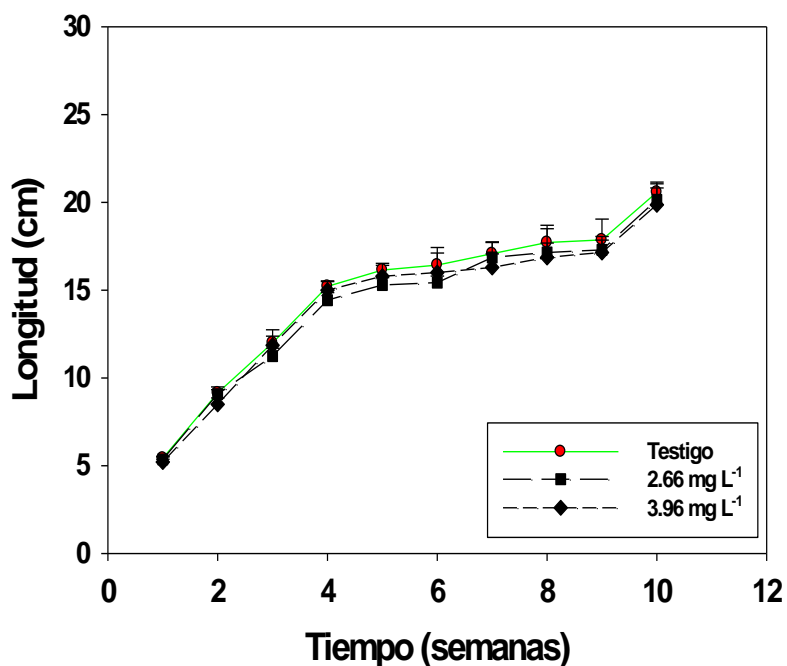


Figura 4. 9 Crecimiento acumulado en longitud de raíz de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), cultivadas durante 10 semanas, sin y con seis aplicaciones semanales de O₃ en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.

4.5.6. Biomasa total de raíz

El incremento del peso húmedo en las raíces generó curvas doble sigmoideas de crecimiento durante las 10 semanas de evaluación en los tres tratamientos. Durante las primeras tres semanas la acumulación de biomasa húmeda en las raíces de las plantas de los tres tratamientos fue imperceptible. A partir de la cuarta semana y hasta la décima semanas de cultivo la acumulación de biomasa húmeda en las raíces de las plantas de los tres tratamientos fue fluctuante e incrementó, en dependencia del tratamiento, hasta 46 g. En ambos tratamientos con O₃ el aumento fue ligera y gradualmente mayor que en el testigo (Figura 4.10). Esto indicó que el O₃ no afectó negativamente la acumulación de biomasa radical de las plantas.

El análisis de varianza de la biomasa total de la raíz mostró que existió diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos, específicamente en la décima semana de crecimiento las plantas ambos tratamientos con O₃ acumularon, entre 21 y 24 % más biomasa fresca en las raíces que el testigo (Figura 4.10). Este resultado indicó que aunque el O₃ no promovió el crecimiento longitudinal de las raíces, respecto al testigo, sí propició su crecimiento transversal, incremento de raíces adventicias o ambos.

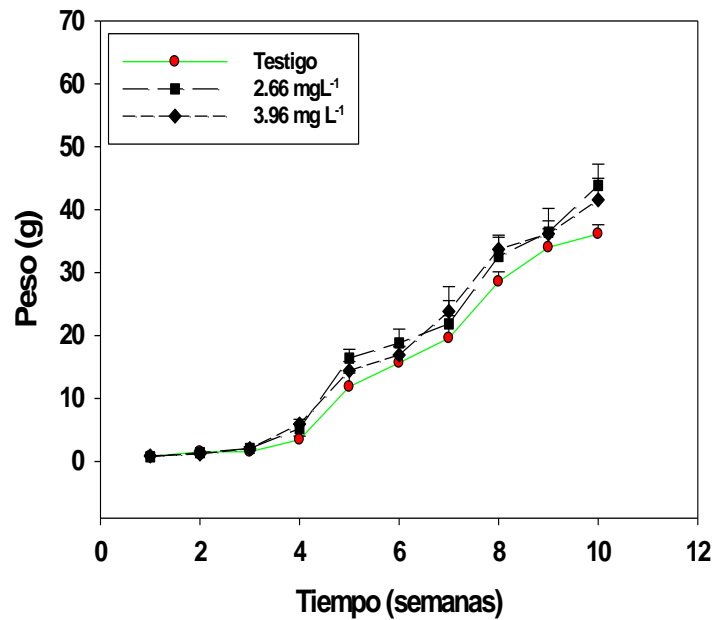


Figura 4. 10 Acumulación de biomasa total de raíz de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), cultivadas durante 10 semanas, sin y con seis aplicaciones semanales de O₃ en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.

4.5.7. Biomasa seca de raíz

Similar al incremento del peso húmedo de la raíz, la acumulación de biomasa seca en las raíces generó curvas sigmoideas de crecimiento, durante las 10 semanas de evaluación en los tres tratamientos. También, en las primeras tres semanas la acumulación de biomasa seca en las raíces de las plantas de los tres tratamientos fue mínima y a partir de la cuarta y hasta la décima semanas de cultivo la

acumulación de biomasa seca en las raíces de las plantas de los tres tratamientos incrementó, sólo que este aumento siguió una tendencia sigmoidea en los tratamientos con O_3 y al final del estudio, entre las semanas ocho y 10, el aumento tuvo tendencia lineal. Esto contrastó con la acumulación de biomasa seca de las plantas testigo, pues su incremento fue evidente después de la tercera semana y hasta la octava, pero en las últimas (7 y 8 semanas) el aumento fue mínimo. Además, a partir de la octava semana su crecimiento se mantuvo sin cambio. Así, en ambos tratamientos con O_3 el aumento fue gradualmente mayor que en el testigo y las plantas del tratamiento con la dosis menor de O_3 tendió a acumular más biomasa seca en sus raíces que las del tratamiento con la dosis más alta (Figura 4.11.). Estos resultados indicaron, como los anteriores, que el O_3 no afectó negativamente el crecimiento de las raíces.

El análisis de varianza de la biomasa seca de raíz mostró la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.01$) entre los tratamientos, y la prueba de comparación de medias Tukey ($\alpha = 0.05$) señaló que la aplicación semanal de O_3 tuvo efecto positivo en la acumulación de biomasa seca en ese órgano, pues el incremento fue significativamente mayor que en el testigo en el muestreo a las 10 semanas, y que la biomasa acumulada fue mayor significativamente mayor con la dosis de 2.66 mg L^{-1} , que con 3.96 mg L^{-1} y en la evaluación final la diferencia en biomasa acumulada alcanzó 65 y 57 %, respectivamente, más que en el testigo (Figura 4.11.).

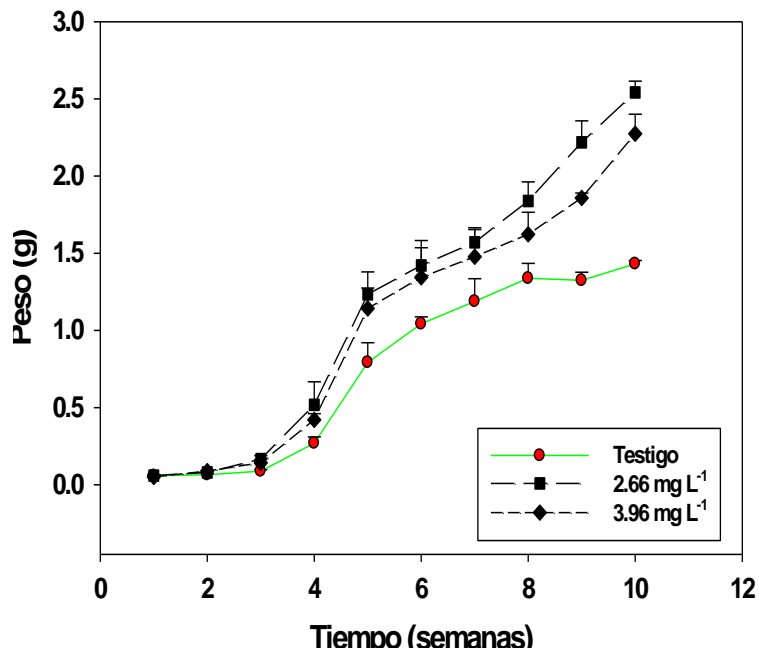


Figura 4. 11 Acumulación de biomasa seca de raíz de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), sin y con seis aplicaciones semanales de O₃ cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.

4.5.8. Biomasa total del vástago

El incremento de la biomasa total del vástago generó curvas de tipo doble sigmoideas de crecimiento durante las 10 semanas de evaluación en los tres tratamientos. Las curvas de acumulación de esta variable en el tiempo fueron notablemente similares a las obtenidas con el peso húmedo en las raíces (comparar Figura 4.8 y 4.9), la diferencia principal fue la magnitud del peso acumulado en cada órgano, pues el vástago alcanzó hasta 250 g y la raíz menor de 50 g. Así, durante las primeras 3 semanas la ganancia de biomasa húmeda en el vástago de las plantas de los tres tratamientos fue casi imperceptible. A partir de la cuarta semana y hasta la décima semanas de cultivo la acumulación de biomasa húmeda en el vástago de las plantas de los tres tratamientos incrementó, con fluctuaciones independientes del tratamiento, hasta alcanzar valores cercanos a 250 g. En ambos tratamientos con O_3 el aumento fue ligeramente mayor que en el testigo (Figura 4.12.). Esto indicó que el O_3 no afectó negativamente la acumulación de biomasa total del vástago.

El análisis de varianza de la biomasa total del vástago mostró la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, al menos en una fecha. La comparación múltiple de medias indicó que la dosis de $3.96 \text{ mg de } O_3 \text{ L}^{-1}$ propició la acumulación (11 %) significativa de biomasa total en el vástago, respecto al testigo, en la novena y décima semana de desarrollo (Figura 4.12.).

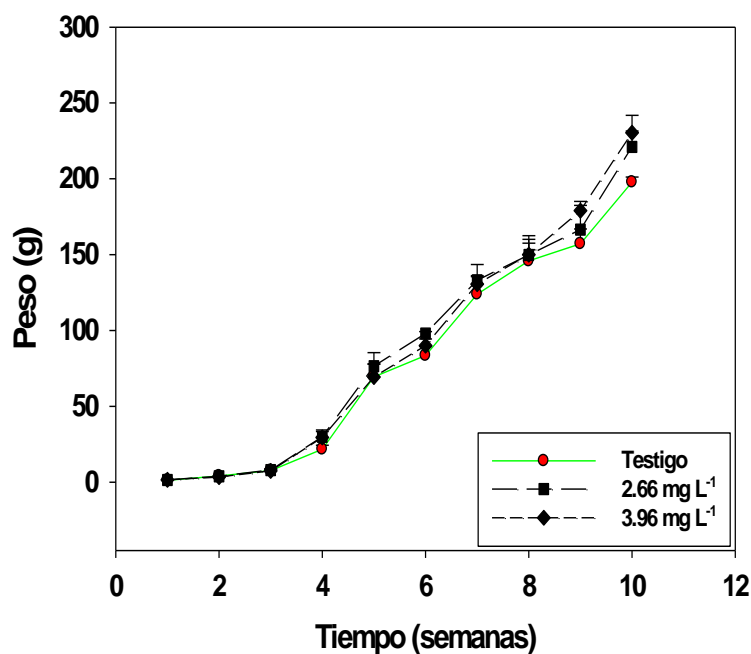


Figura 4. 12 Acumulación de biomasa total del vástago de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), sin y con seis aplicaciones semanales de O₃ cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.

4.5.9. Biomasa seca del vástago

El crecimiento del vástago, durante las 10 semanas, expresado como cantidad de biomasa seca en las plantas de los tres tratamientos mostró tendencia sigmoidea simple. Por la tendencia contrató con la tendencia de acumulación de la biomasa

húmeda de los mismos vástagos, ya que ésta mostró tendencia doble sigmoidea. La acumulación de biomasa seca en el vástago en las primeras 3 semanas fue cercana a cero en las plantas de los tres tratamientos y se aceleró entre la sexta y décima semana de cultivo.

En esta etapa de incremento la acumulación de biomasa seca en el vástago de las plantas de los tratamientos con O_3 tendió a ser mayor que en el testigo (Figura 4.13.). Como en el caso de las otras variables del crecimiento, descritas antes los resultados de acumulación de biomasa seca del vástago indicaron que el O_3 no afectó negativamente el crecimiento de las plantas. El análisis de varianza de biomasa seca del vástago mostró la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.0215$) entre los tratamientos, y la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$) señaló que la aplicación semanal de las dosis de 2.66 y 3.96 mg de $O_3 L^{-1}$ tuvo efecto positivo en el crecimiento, al incrementar significativamente el valor de sus medias, entre 10 y 11 %, con respecto a la del testigo, sin diferencia significativa entre los dos tratamientos con O_3 . (Figura 4.13.)

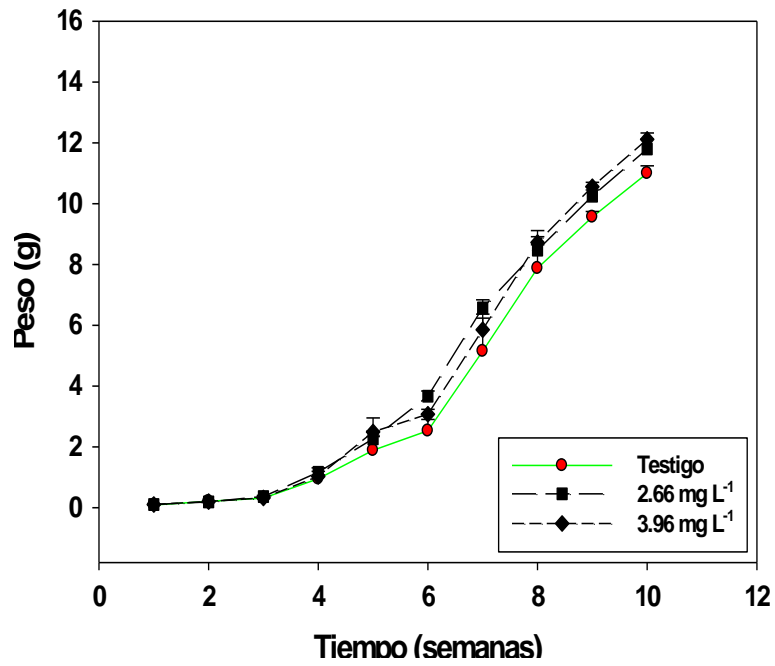


Figura 4. 13 Acumulación de biomasa seca del vástago de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), sin y con seis aplicaciones semanales de O₃ cultivadas en invernadero en sistema hidropónico con raíz flotante, + el error estándar.

Los cultivos difieren en la susceptibilidad al O₃ y han sido clasificados como sensibles o resistentes (Mills *et al.*, 2007). La variación intra e interespecifica de sensibilidad de las plantas al O₃ es amplia (Brosche *et al.*, 2010) y estudios recientes han identificado algunos sitios del genoma asociados a la resistencia o susceptibilidad al O₃ en trigo y arroz (Ainsworth *et al.*, 2008; Frei *et al.*, 2010). La definición de cultivo sensible a O₃ es imprecisa. Los cultivos pueden ser identificados como sensibles en dependencia de si los daños y sintomatología en el follaje son visibles en las primeras etapas del crecimiento, pero esto no da lugar necesariamente a un impacto negativo en el rendimiento de semilla o fruto en los cultivos al final del desarrollo.

De hecho Sawada y Kohno (2009) demostraron en arroz y Picchi *et al.* (2010) en trigo que cultivares en los que el rendimiento de semilla son impactados mayormente por O₃ son aquellos que mostraron síntomas de daño visible en las hojas. Los estomas son las estructuras foliares que responden a la presencia de O₃ en el ambiente. Picchi *et al.* (2010) proponen que la tolerancia puede estar relacionada con la variación genotípica de la capacidad de respuesta al cierre estomático en reacción al O₃.

Los cultivares que reaccionan al O₃ con el cierre de los estomas podría decirse que son relativamente insensible a este gas pues las lesiones serán menos visibles, dado que la dosis de O₃ se reducirá con el cierre estomático. Sin embargo, el cierre estomático prolongado reducirá la fijación de C, y así el crecimiento y rendimiento afectarán.

4.6. Conclusiones

Independientemente de la toxicidad del O₃ en los sistemas vegetales es posible identificar dosis que pueden ser clasificadas como subletales para el crecimiento de las plantas de lechuga.

Dosis subletales de O₃ modifican positivamente el metabolismo de las plantas de lechuga y propician el incremento significativo de su crecimiento y productividad; aunque los incrementos no sean comunes y similares en todos los componentes del rendimiento.

Aunque las dosis subletales de O₃ utilizadas en el presente estudio estimularon el crecimiento y desarrollo de las plantas de lechuga los incrementos alcanzados en este estudio pueden calificarse como discretos.

4.7. Literatura citada

- Ainsworth, E. A; A. Rogers; A. D. B. Leakey. 2008. Targets for crop biotechnology in a future high-CO₂ and high-O₃ world. *Plant Physiology* 147: 13–19.
- Allen, H. P; R. C. Brian; J. E. Downes; G. C. Mees; R. H. Springett. 1978. Selective herbicides. *In: Peacock FC (ed.), Fifty years of Agricultural Research (1928-1978)*. The Kynoch Press, Birmingham. pp. 35-41.
- Allender, W. J; G. C. Cresswell; J. Kaldor; I. R. Kennedy. 1997. Effect of lithium and lanthanum on herbicide induced hormesis in hydroponically-grown cotton and corn. *Journal of Plant Nutrition* 20: 81–95.
- Appleby, A. P. 1998. The practical implications of hormetic effects of herbicides on plants. *Human and Experimental Toxicology* 17: 270–271.
- Belz, R. G; H. P. Piepho. 2013. Variability of hormetic dose responses of the antiauxin PCIB on *Lactuca sativa* in a plant bioassay. *Weed Research* 53: 418–428.
- Booker, F. L.; R. Muntifering; M. McGrath; K. O. Burkey; D. Decoteau; E. L. Fiscus; W. Manning, S. Krupa; A. Chappelka; D. A. Grantz. 2009. The ozone component of global change: potential effects on agricultural and horticultural plant yield, product quality and interactions with invasive species. *Journal of Integrative Plant Biology* 51: 337-351.
- Brosche, M; E. Merilo; F. Mayer; P. Pechter; I. Puzorjova; G. Brader; J. Kangasjarvi; H. Kollist . 2010. Natural variation in ozone sensitivity among *Arabidopsis thaliana* accessions and its relation to stomatal conductance. *Plant, Cell and Environment* 33, 914–925.
- Calabrese, E; L. Baldwin. 1999. Chemical hormesis: It's historical foundations as a biological hypothesis. *Toxicologic Pathology* 27: 195-216.

- Calabrese, E. J; L. A. Baldwin. 2003. Hormesis: the dose-response revolution Annual Review of Pharmacology and Toxicology 43: 175–197.
- Cedergreen, N; J. C. Streibig; P. Kudsk; S. K. Mathiassen; S. O. Duke. 2007. The occurrence of hormesis in plants and algae. Dose-Response 5: 150–162.
- Fiscus, E. L; L. Booker; K. Burkey. 2005. Crop responses to ozone: uptake, modes of action, carbon assimilation and partitioning. Plant, Cell and Environment 28: 997-1011.
- Frei M, Tanaka JP, Chen CP, Wissuwa M. 2010. Mechanisms of ozone tolerance in rice: characterization of two QTLs affecting leaf bronzing by gene expression profiling and biochemical analyses. Journal of Experimental Botany 61: 1405–1417.
- García E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. México: D.F. Instituto de Geografía-UNAM.
- López-Diazguerrero, N. E; V. Y. González P; R. J. Hernández-Bautista; A. Alarcón-Aguilar; A. Luna-López; M. Königsberg F. 2013. Hormesis: lo que no mata, fortalece. Gaceta Médica de México 149: 438-447.
- Picchi, V.; M. Iritia; S. Quaroni; M. Saracchic; P. Viola; F. Faoro. 2010. Climate variations and phenological stages modulate ozone damages in field-grown wheat. A three-year study with eight modern cultivars in Po Valley (Northern Italy). Agriculture, Ecosystems and Environment 135: 310–317.
- Nagendra-Prasad, D.; N. Sudhakar; K. Murugesan; N. Mohan. 2009. Application of ozone on induction of resistance in *Vigna unguiculata* cv. Co 6, against *Fusarium wilt*. Archives of Phytopathology and Plant Protection 42: 633-642.
- Sawada H; Y. Kohno. 2009. Differential ozone sensitivity of rice cultivars as indicated by visible injury and grain yield. Plant Biology 11: 70–75.

- Sudhakar, N; D. Nagendra-Prasad; N. Mohan; K. Murugesan. 2007. Induction of systemic resistance in *Lycopersicon esculentum* cv. PKM1 (tomato) against cucumber mosaic virus by using ozone. *Journal of Virological Methods*: 139: 71-77.
- Sudhakar, N; D. Nagendra-Prasad; N. Mohan; B. Hill; M. Gunasekaran; K. Murugesan. 2011. Assessing influence of ozone in tomato seed dormancy alleviation. *American Journal of Plant Sciences* 2: 443-448.

CAPITULO 5. EVALUACIÓN PRELIMINAR DE DOSIS SUBLETALES DE OZONO EN CHILE PIMIENTO (*Capsicum annuum* L.)

5.1. Resumen

El objetivo de este estudio fue determinar un método de aplicación y dosis adecuadas de O₃ para modificar positivamente el metabolismo de plantas de chile pimiento (*Capsicum annuum* L.) y mejorar su crecimiento y productividad. Las plantas se cultivaron en un sistema hidropónico en condiciones de invernadero. Las dosis evaluadas (0.4 a 1.2 mg L⁻¹) fueron aplicadas semanalmente mediante inyección al sustrato. Los resultados mostraron que con las dosis de aplicaciones realizadas se provocó un efecto positivo en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Dosis de O₃ entre 0.8 y 1.2 mg L⁻¹ aplicadas semanalmente, durante seis semanas, a plantas de pimiento morrón al inicio de la etapa reproductora, son subletales y, considerando los incrementos no significativos del crecimiento y aumento de las estructuras reproductoras puede indicarse que tuvieron cierto efecto hormético.

Palabras clave: *Capsicum annuum* L. hormesis, ozono, pimiento, subletal.

5.2. Abstract

The aim of this study was to determine a method of application and adequate doses of O₃ to positively modify the metabolism of plants chili pepper (*Capsicum annuum*) and improve their growth and productivity. Plants were grown in a hydroponic system under greenhouse conditions. The evaluated (0.4 to 1.2 mg L⁻¹) were applied weekly dose by injection to the substrate. The results showed that at doses of applications carried caused a positive effect on growth and development of plants. O₃ dose between 0.8 and 1.2 mg L⁻¹ applied weekly for six weeks, pepper plants at the beginning of the reproductive stage peppers are sublethal and considering not significant increases in growth and increased reproductive structures may be noted that they had some hormetic effect.

Keywords: *Capsicum annuum* L., hormesis, ozone, pepper, sublethal.

5.3. INTRODUCCION

El chile pimiento (*Capsicum annuum* L.) es uno de los principales cultivos hortícolas en México, en el año 2012 la producción nacional ocupó el segundo lugar en la producción mundial, con 134 mil hectáreas cosechadas (SIAP, 2012). Su importancia radica en el hecho de que es un cultivo para exportación y en la cantidad de mano de obra necesaria para su producción, ésta oscila entre 120 y 200 jornales por hectárea cosechada (Long *et al.*, 1998).

En un estudio realizado con el objetivo de identificar los efectos del O₃ como contaminante en cultivos de importancia agrícola como ajo (*Allium sativum* L.) y tabaco (*Nicotina tabacum* L.) se determinó que el grado de fisiopatías causadas por este gas en la tropósfera fue elevándose de acuerdo con la edad fisiológica de las plantas, afectó principalmente la parte basal y apical de las hojas con síntomas de diferente coloración, causando necrosis total (tizón) en algunos casos (Andreu *et al.*, 2010).

También, se ha encontrado una elevada variabilidad de la sensibilidad intra e interespecífica al O₃ (Black *et al.*, 2000).

Un estímulo pequeño repetido, en el momento adecuado, puede tener efecto positivo en la reacción de un organismo a factores bióticos y abiótico que en otras condiciones serían nocivos o aceleradores del envejecimiento biológico (Kyriazys, 2003). A la respuesta o conjunto de procesos por los que la dosis baja de un agente oxidante o algún estímulo estresante es capaz de activar una respuesta adaptativa, que incremente la resistencia de una célula u organismo frente al estrés se le conoce como hormesis (López-Diazguerrero *et al.*, 2013).

Así, con base en el fenómeno de hormesis, el presente estudio tuvo como objetivo determinar un método de aplicación y dosis adecuadas de O₃ para modificar positivamente el metabolismo de plantas y mejorar su crecimiento y productividad.

5.4. Materiales y Métodos

La presente investigación se realizó en un invernadero del Posgrado en Botánica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo (19° 28' 4.26" N, y 98° 53' 42.18" O y 2 250 m de altitud) (García, 2004). Las plantas incluidas en las evaluaciones fueron de pimiento morrón variedad Canon y estaban en etapa de floración; esto debido a que la floración es la etapa más sensible al estrés generado por factores bióticos y a

bióticos (Taiz y Zeiger, 2006). Las plantas estaban en un sistema hidropónico constituido por bolsas plásticas de 35 X 35 cm con al soporte o substrato de roca roja de origen volcánico (ígnea) o tezontle y un sistema de riego por goteo elaborado con poliducto negro (Figura 5.1).



Figura 5. 1 Arreglo de los tratamientos en el invernadero. T: testigo, D1-D3: dosis 1 a 3 de O₃.

Dieciséis plantas fueron elegidas aleatoriamente; de ellas cuatro fueron mantenidas como testigo sin O₃ y a otros tres grupos, con cuatro plantas cada uno, les fueron aplicadas las siguientes dosis de O₃: 0.4 0.8 y 1.2 mg L⁻¹.

Con la finalidad de que el gas estuviera en contacto con la raíz, la aplicación de O_3 se realizó con jeringas de 20 ml de capacidad, la inyección se hizo, en los cuatro puntos cardinales, a 5 cm sobre la base de las macetas (Figura 5.2). A las plantas testigo se les inyectó el aire contenido en la jeringa en substitución de O_3 . La aplicación se realizó semanalmente, durante 6 semanas. El O_3 se generó con un ozonizador (OZONOTRON), a partir de O_2 (Figura 5.3).



Figura 5. 2 Aplicación de O_3 en la base de las macetas.



Figura 5. 3 Ozonificador utilizado en plantas de chile pimiento cultivadas en invernadero en sistema hidropónico.

Las evaluaciones se realizaron durante 10 semanas, en las primeras seis, del 16 de junio al 21 de julio del 2012 se aplicó el O_3 y las siguientes cuatro semanas, del 28 de julio al 18 de agosto, se continuó con las evaluaciones para observar cualquier efecto o respuesta posterior a las aplicaciones que mostraran las plantas.

Las variables evaluadas semanalmente fueron altura del tallo 1, altura del tallo 2, diámetro del tallo, número de hojas, número de yemas florales, número de inflorescencias, y número de frutos.

La altura se midió con cinta métrica desde la base del tallo hasta el ápice; el diámetro del tallo se midió con vernier con pantalla digital en la base de la planta, el número de hojas se contabilizó visualmente considerando hojas de más de un centímetro de longitud; el número de yemas florales se contabilizó visualmente considerando todas las presentes en la planta; número de flores se contabilizó visualmente considerando todas las presentes en la planta y número de frutos, igual que en las variables anteriores se contabilizaron visualmente, considerando los frutos amarrados hasta la fecha del muestreo. El estudio se desarrolló con un modelo experimental completamente al azar con cuatro repeticiones y una maceta con una planta por repetición.

5.5 Resultados y discusión

El ANDEVA muestra la existencia de diferencias estadísticamente significativas únicamente en la variable; longitud del tallo 1, y la prueba de comparación de medias de Tukey muestra que con la aplicación de 0.8 mg/L^{-1} de O_3 se genera un mayor crecimiento del tallo (Cuadro 5.1).

Cuadro 5. 1 Valor de significancia ($Pr > F$), media y agrupamiento de Tukey, obtenidos del análisis de datos de la aplicación de tres dosis de O_3 a pimiento morrón.

	Longitud del tallo 1				Longitud del tallo 2				Diámetro del tallo				Numero de hojas			
	T	D ₁	D ₂	D ₃	T	D ₁	D ₂	D ₃	T	D ₁	D ₂	D ₃	T	D ₁	D ₂	D ₃
Pr > F	0.0326				0.3566				0.1206				0.2077			
Media	55.7	72.7	64.7	53.2	60.7	69.3	64.0	63.5	14.1	15.3	15.4	14.8	40.7	46.3	40.0	35.0
Tukey	2	A			2	A			3	A			2	A		
		A				A				A				A		
Agrupamiento	3	A B			3	A			2	A			1	A		
		A B				A				A				A		
	1	A B			4	A			4	A			3	A		
		B				A				A				A		
	4	B			1	A			1	A			4	A		

Numero de yemas				Numero de flores				Numero de frutos			
T	D ₁	D ₂	D ₃	T	D ₁	D ₂	D ₃	T	D ₁	D ₂	D ₃
0.4908				0.9622				0.2330			
4.7	6.6	5.5	4.2	0.75	0.65	0.50	0.75	4.0	3.6	5.0	5.2
2	A			1	A			4	A		
	A				A				A		
3	A			4	A			3	A		
	A				A				A		
1	A			2	A			1	A		
	A				A				A		
4	A			3	A			2	A		

T: Testigo, D₁:0.4, D₂:0.8, D₃:1.2.

5.5.1. Longitud del tallo 1 y 2

El tallo 1 y 2 incrementaron continuamente su longitud durante las semanas de evaluación. En ambas variables se observó una tendencia no significativa ($p > 0.05$) de crecimiento longitudinal mayor (17 a 25 %) en los tratamientos con las dosis de 0.4 y 0.8 mg de $O_3 L^{-1}$ en las cuatro semanas posteriores a la aplicación del gas (Figura 5.3). Estos resultados indican que las dosis evaluadas fueron subletales para las plantas de pimiento morrón en etapa de floración y las menores tuvieron cierto efecto hormético.

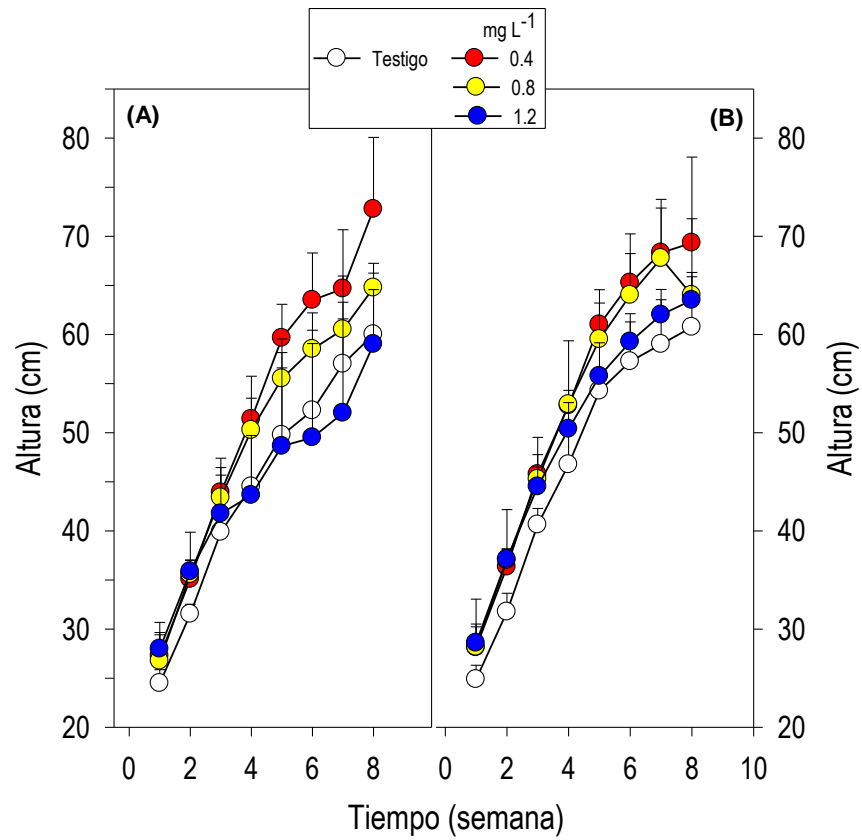


Figura 5. 4 Crecimiento acumulado en altura del tallo 1 (A) y altura del tallo 2 (B) de plantas de chile morrón (*Capsicum annuum* L.) al inicio de la etapa de floración sin (testigo) y con diferentes dosis de O₃ (aplicadas durante seis semanas (de 0 a 6), + el error estándar.

5.5.2. Diámetro del tallo y número de hojas

Como el caso de la longitud del tallo, el diámetro incrementó continuamente durante las semanas de evaluación en todos los tratamientos, pues casi duplicó su diámetro (Figura 5.5 A). Aunque las diferencias no fueron significativas, este resultado confirmó que las dosis aplicadas pueden clasificarse como subletales para las plantas de pimiento morrón en etapa de prefloración.

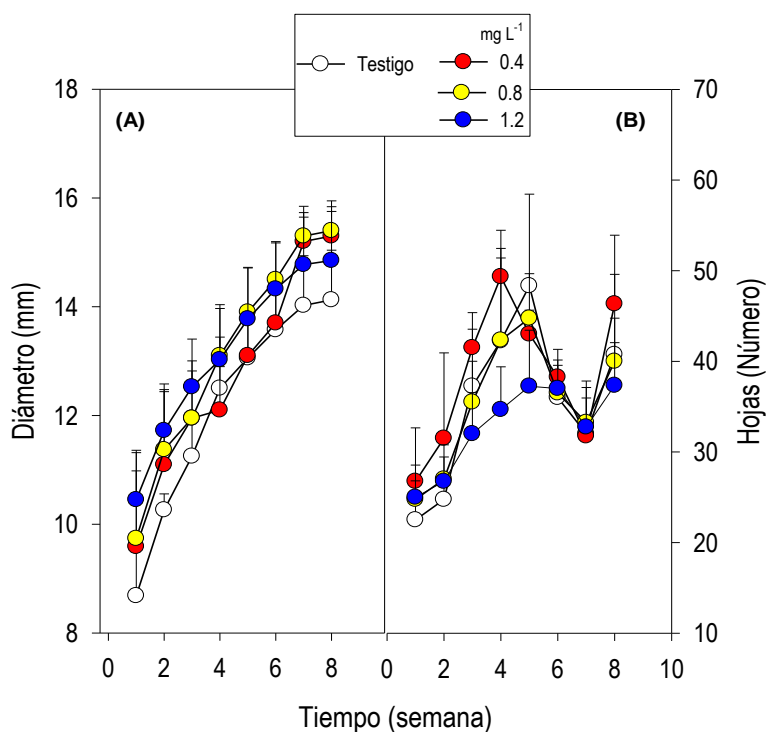


Figura 5. 5 Crecimiento acumulado en diámetro del tallo (A) y número de hojas (B) de plantas de chile morrón (*Capsicum annuum* L.) al inicio de la etapa de floración, sin (testigo) y con diferentes dosis de O₃ (aplicadas durante seis semanas (de 0 a 6), + el error estándar.

El número de hojas por planta (Figura 5.5. B) mostró tendencias y cambios menos claros que la altura del tallo 1 y altura del tallo 2 y del diámetro del tallo (Figuras 5.4 A-B y 5.5 A) durante las semanas de evaluación.

5.5.3. Numero de yemas, flores y frutos.

En todos los tratamientos el número de yemas incrementó con el tiempo de muestreo hasta la quinta semana de evaluación, en éste muestreo alcanzó los valores máximos y luego disminuyó. En esta variable se vio cierta tendencia de las dosis menores de 0.4 y 0.8 mg L⁻¹, para promover la presencia de yemas florales. Las diferencias entre los tratamientos no fueron significativas, en parte debido a que la variabilidad del número de esas estructuras entre las unidades experimentales de cada tratamiento fue amplia, y alcanzó más de 50 % dentro de los tratamientos (Figura 5.5 A). En general, estos resultados, como los del crecimiento del tallo indican que las dosis de O₃ aplicadas pueden clasificarse como subletales para las plantas de pimiento morrón en etapa reproductiva y que mostraron cierta tendencia de desarrollo de hormesis.

La tendencia de incremento mayor del crecimiento apunta a la posibilidad de haber detectado diferencias significativas si las evaluaciones se hubieran continuado realizando algunas semanas.

La presencia de inflorescencias, como la cantidad de yemas, mostró diferencias no significativas entre los tratamientos (Figura 5.6 A- B); pero el tratamiento con 0.4 mg L^{-1} mostró tendencia al incremento del número de inflorescencias durante el periodo total de evaluación. Además, como en las variables ya descritas ninguna de las dosis de O_3 evaluadas afectó negativamente el número de inflorescencias.

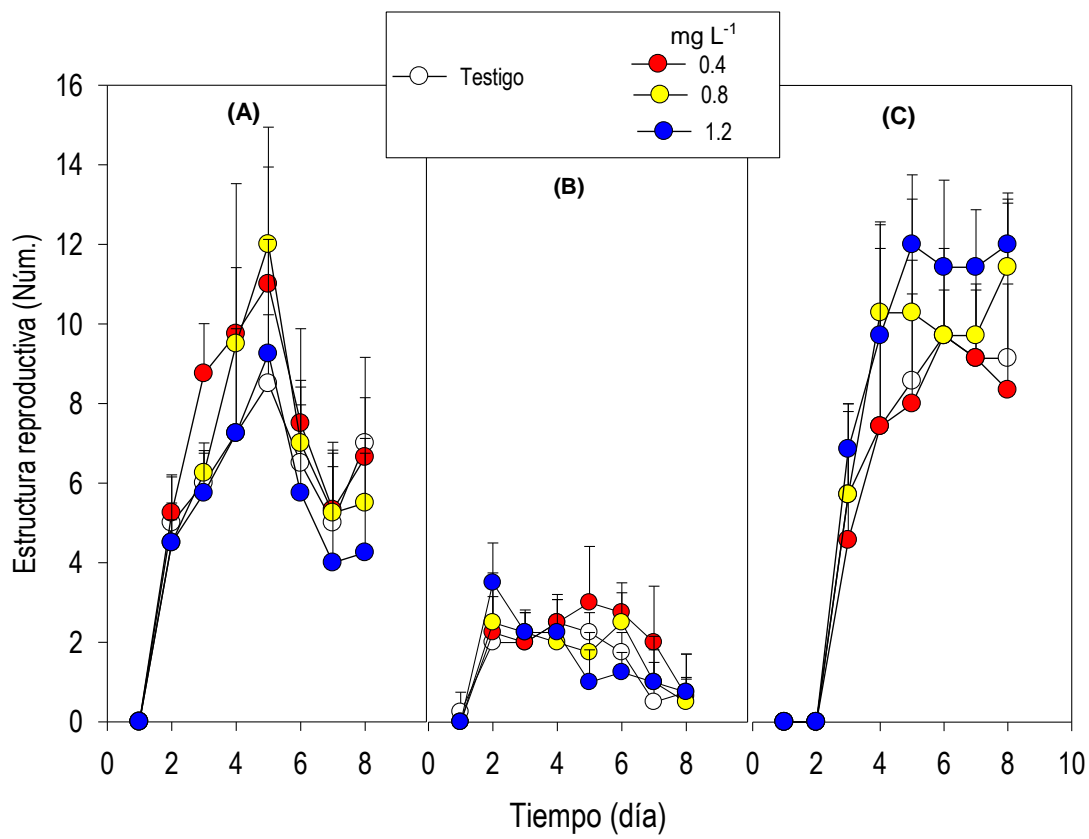


Figura 5. 6 Incremento en número de yemas (A), inflorescencias (B) y frutos (C) en plantas de chile morrón (*Capsicum annuum* L.) al inicio de la etapa de floración, sin (testigo) y con diferentes dosis de O₃ (aplicadas en las primeras seis semanas), + el error estándar.

Las primeras dos semanas, desde el inicio del estudio, las plantas no presentaron frutos, a partir de la tercer semana las plantas de los cuatro tratamientos presentaron entre cinco y siete frutos en promedio. La cantidad de frutos por planta incrementó aceleradamente y los valores máximos se obtuvieron entre la quinta y sexta semana de evaluación (Figura 5.6 C).

Estos resultados permiten señalar que el número de frutos tendió a ser incrementado por dosis de 0.8 y 1.2 mg de $O_3 L^{-1}$, pues la tendencia de incremento se presentó desde la primera semana de aparición de estas estructuras (semana 3 de evaluación). Así, en la octava semana, la diferencia no significativa entre el testigo y el tratamiento con la dosis mayor de O_3 era de cuatro frutos por planta (8 en el testigo y 12 en el tratamiento con 1.2 mg L^{-1}).

5.6. Conclusiones

Dosis de O_3 entre 0.8 y 1.2 mg L^{-1} aplicadas semanalmente, durante seis semanas, a plantas de pimiento morrón al inicio de la etapa reproductora, son subletales y, considerando los incrementos no significativos del crecimiento y aumento de las estructuras reproductoras puede indicarse que tuvieron cierto efecto hormético.

5.7 Literatura citada

- Andreu, R. C.M; S. R. Cupull; P. G. Pérez; G. Y. Morales. 2010. Efecto del ozono (O_3 t) troposférico sobre algunas Liliáceas y Solanáceas económicas. FCA – UCLV, Cuba.
- Black, V. J; C. R. Black; J. A. Roberts; C. A. Stewart. 2000. Impact of ozone on the reproductive development of plants. *New Phytologist* 147: 421–447.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. México: D.F. Instituto de Geografía-UNAM.
- López-Diazguerrero, N. E.; V. Y. González P.; R. J. Hernández-Bautista; A. Alarcón-Aguilar; A. Luna-López; M. Königsberg F. 2013. Hormesis: lo que no mata, fortalece. *Gaceta Médica de México* 149: 438-447.
- Long, S. J; M. Álvarez; A. Camarena. 1998. El placer del chile. Editorial Clio, Libros y videos, S.A.de C.V. México D.F. 93 p.
- Taiz, L.; E. Zeiger. 2006. *Plant Physiology*. Ed Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2012. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. www.siap.gob.mx/index.php. 07/11/2012

CAPITULO 6. CRECIMIENTO DE PLANTAS DE CHILE PIMIENTO (*Capsicum annuum* L.) EN HIDROPONÍA CON OZONO EN EL MEDIO DE CULTIVO

6.1. Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del O₃ (2.66 mg L⁻¹), aplicado al medio de cultivo, en el crecimiento de plantas de chile pimiento (*Capsicum annuum* L.) en hidroponía. Con base en el fenómeno de dosis: respuesta, denominado hormesis, la hipótesis fue que el O₃ modifica positivamente el metabolismo de las plantas e incrementaría su crecimiento y productividad. Las plantas se cultivaron en un sistema hidropónico en condiciones de invernadero. Las dosis evaluada de O₃ (2.66 mg L⁻¹) fue aplicada semanalmente, durante 13 semanas, a partir de la emergencia de las plántulas, a la solución nutritiva. Las variables evaluadas fueron longitud del tallo, diámetro del tallo, número de hojas, número de yemas, número de inflorescencias, biomasa total del vástago y biomasa total de los frutos. El diseño experimental fue completamente al azar, con 300 plantas por tratamiento (testigo y con O₃) y una planta como unidad experimental. Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas en altura del tallo y biomasa total de los frutos; el O₃ disminuyó la altura del tallo e incrementó la biomasa de los frutos, respecto al testigo. Se encontró también que las aplicaciones realizadas provocaron un efecto positivo en el incremento de estructuras reproductivas de chile pimiento. La dosis de 2.66 mg L⁻¹ de O₃ aplicada semanalmente a las plantas de pimiento morrón no es letal y prácticamente no tuvo efecto hormético.

Palabras clave: *Capsicum annuum* L., hormesis, ozono, pimiento, subletal.

6.2. Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of O₃ (2.66 mg L⁻¹), applied to the culture medium on the growth of plants chili pepper (*Capsicum annuum*) in hydroponics. Based on the phenomenon of dose: response, called hormesis, the hypothesis was that the O₃ positively modifies the metabolism of plants and increase their growth and productivity. Plants were grown in a hydroponic system under greenhouse conditions. The assessed O₃ (2.66 mg L⁻¹) dose was given weekly for 13 weeks, from seedling emergence to the nutrient solution. The variables evaluated were stem length, stem diameter, number of leaves, number of buds, number of inflorescences, total biomass of stem and total biomass of fruits. The experimental design was completely randomized, with 300 plants per treatment (control and O₃) and a plant as an experimental unit. The results showed statistically significant differences in stem height and total biomass of the fruits; O₃ decreased stem height and increased biomass of fruits, compared to the control. It was also found that applications made caused a positive effect on increasing reproductive structures chili pepper. The dose of 2.66 mg L⁻¹ of O₃ applied to plants weekly pimiento is not lethal and practically had no hormetic effect.

Keywords: *Capsicum annuum* L., hormesis, ozone, pepper, sublethal.

6.3. Introducción

Durante más de 50 años se han publicado resultados de investigaciones con el fin de dar a conocer los efectos perjudiciales que genera el O₃ sobre la vegetación. Se han tratado de explicar los mecanismos por los cuales actúa este gas, la mayoría de las investigaciones coinciden en que los mecanismos son demasiado complejos y continúan siendo materia de estudio (Sala y Giuseppe, 1992; Massman, 2004).

Algunas publicaciones indican que los daños mayores mostrados por las plantas se han manifestado una vez que el O₃ penetra por los estomas (Ashmore 2005). Esta absorción está regulada principalmente por la apertura estomática y, a la vez ésta por las condiciones ambientales (temperatura, radiación y humedad) y factores fisiológicos (edad de la hoja, fenología y presencia de hormonas vegetales) (Fiscus *et al.*, 2005).

En algunos estudios la exposición de los órganos vegetativos y reproductivos de las plantas al O₃, se han observado efectos negativos asociados a la senescencia prematura de las hojas, reducción de la captación de luz, y variación en la actividad fotosintética (Fuhrer y Booker, 2003; Fiscus *et al.*, 2005).

En un estudio realizado en jitomate, en el que las plantas se expusieron a concentraciones de 47 ppb de O₃, se observó que esta dosis del gas redujo la producción en términos de peso y retardo la cosecha (Bermejo, 2002).

La diferencia entre especies a la sensibilidad al O₃ se ha demostrado también. En un estudio realizado en una leguminosa (*Trifolium cherleri* L.) y una gramínea (*Cynosurus echinatus* L.) con aplicación de O₃, en cámaras diseñadas específicamente para el análisis de efectos de los contaminantes atmosféricos, se detectó mayor sensibilidad de la leguminosa respecto a la gramínea; el efecto fue detectado como reducción de biomasa tanto aérea como subterránea de la gramínea (Sanz *et al.*, 2005).

Black y colaboradores (Black *et al.*, 2000) documentaron los efectos negativos directos del O₃ en la formación de brotes y floración, por causar esterilidad del polen y propiciar el aborto floral.

La mayor parte de las publicaciones que describen los daños causados por el O₃ están basadas en el contacto directo de las hojas de las plantas con el gas (Booker *et al.*, 2009). Así, con base en el fenómeno de hormesis el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de una dosis subletal de O₃, aplicada por el sistema de riego, y por ende el contacto directo con la raíz de la planta, en el crecimiento y productividad de plantas de chile pimiento.

6.4. Materiales y métodos

La presente investigación se realizó en un invernadero del Posgrado en Botánica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo (19° 28' 4.26" N, y 98° 53' 42.18" O y 2 250 m de altitud).

Se utilizaron 600 plantas de chile pimiento (*Capsicum annuum* L.), variedad Bragi F₁, de 65 d de edad, previamente germinadas en charolas de poliestireno de 200 cavidades y podadas a doble tallo. Las semillas fueron obtenidas de la empresa Premier Seeds, México. Las plantas se trasplantaron el 16 de Junio de 20013, a un sistema hidropónico constituido por bolsas plásticas de 35 X 35 cm con soporte o substrato de roca roja de origen volcánico (ígnea) o tezontle y un sistema de riego por goteo elaborado con poliducto negro, tubin y estacas (Figura 6.1).



Figura 6. 1 Organización y sistema de cultivo de las plantas de chile pimiento (*Capsicum annuum* L.) dentro del invernadero.

El estudio se desarrolló con un modelo experimental completamente al azar con siete repeticiones por tratamiento, cada una representada por una planta. Los datos obtenidos en la cosecha se analizaron con ANDEVA y comparación múltiple de medias, con la prueba de Tukey, con el paquete SAS. Las gráficas se desarrollaron en el programa Sigma Plot de Jandel Scientific (Version 10.0).

Los tratamientos se distribuyeron aleatoriamente en las seis hileras de siembra disponibles en el invernadero (Figura 6.2) dejando las dos de las orillas sin muestrear y como barrera en los extremos, esto para evitar en los resultados una tendencia que pudiera estar dada por el efecto orilla del invernadero.

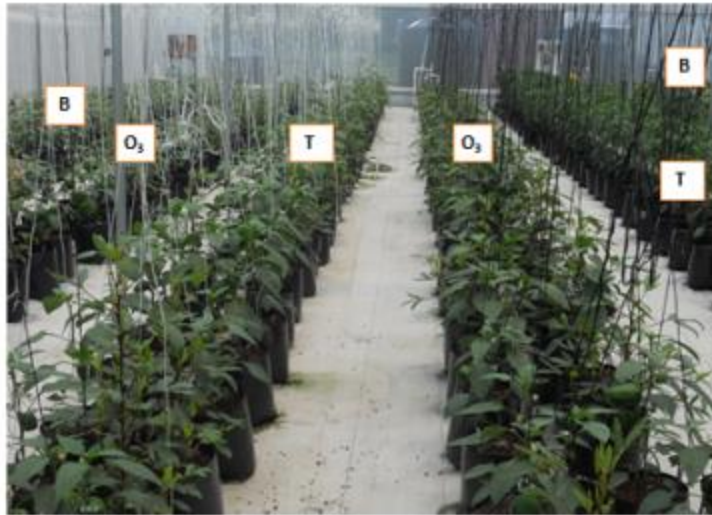


Figura 6. 2 Arreglo de las unidades experimentales en el estudio realizado con plantas de chile pimiento (*Capsicum annuum* L.) cultivadas en invernadero en sistema hidropónico, sin y con O₃ aplicado a la solución nutritiva; los extremos B representan las orillas del cultivo.

Para la nutrición de las plantas se utilizó la solución nutritiva universal de Steiner al 25 % de concentración, al momento del trasplante, al 50 % en etapa vegetativa, al 75 % en etapa de floración, al 100 % en inicio de fructificación y al 125 % durante la cosecha.

Con la finalidad de que el gas estuviera en contacto con la raíz, la aplicación de O_3 (2.66 mg L^{-1}) se realizó burbujando la solución nutritiva, previamente preparada en un tinaco de 1000 L. La aplicación se realizó semanalmente, durante 13 semanas. El O_3 se generó con un ozonizador con capacidad de 4 g (Figura 6.3) proporcionado por la empresa AQUA EQUIPOS DE MEXICO.



Figura 6. 3 Ozonificador utilizado en el estudio con plantas de chile pimiento en sistema hidropónico.

Las evaluaciones se realizaron durante 13 semanas, del 27 de junio al 18 de septiembre del 2013. Las variables evaluadas semanalmente fueron altura del tallo 1, altura del tallo 2, diámetro del tallo, número de hojas, biomasa total de parte aérea, biomasa total de frutos, número de yemas, número de inflorescencias, número de frutos totales, número de frutos maduros, longitud de raíz, biomasa total de raíz y biomasa seca de raíz.

La altura se midió con cinta métrica desde la base del tallo hasta el ápice; el diámetro del tallo se midió con vernier con pantalla digital marca (Truper, modelo Caldi – 6mp) en la base de la planta, el número de hojas se contabilizó visualmente considerando hojas de más de un centímetro de longitud; el número de yemas se contabilizó visualmente considerando todas las presentes en la planta; número de flores se contabilizó visualmente considerando todas las presentes en la planta; número de frutos totales y maduros, igual que en las variables anteriores se contabilizaron visualmente, considerando los frutos amarrados hasta la fecha del muestreo; la biomasa total y seca de parte aérea , biomasa total de frutos, biomasa total y seca de raíz se obtuvo con una balanza granataria (Scientech, modelo SA 120). La biomasa seca de ambas secciones de las plantas se obtuvo después de deshidratarlas en una estufa de secado, a 70 °C, por 68 h y la longitud de raíz se midió con cinta métrica desde la parte del tallo hasta el ápice de la raíz.

6.5 Resultados y discusión

El ANDEVA muestra la existencia de diferencias estadísticamente significativas únicamente en las variables; longitud del tallo 1 y longitud del tallo 2, y la comparación de medias de Tukey muestra que el testigo tubo un mayor incremento en la longitud de ambos tallos (Cuadro 6.1).

Cuadro 6. 1 Valor de significancia ($Pr > F$), media y agrupamiento de Tukey, obtenidos del análisis de datos de la aplicación de una dosis de O_3 a pimiento morrón.

	Longitud del tallo 1		Longitud del tallo 2		Diámetro del tallo		Numero de hojas		Biomasa total del vástago		Biomasa total de frutos		Numero de yemas	
	T	D	T	D	T	D	T	D	T	D	T	D	T	D
Pr > F	0.0015		0.0118		0.1541		0.1782		0.2325		0.7776		0.6128	
Media	67.5	63,7	66.5	61.5	14.6	13.8	32.8	30.7	72.2	61.1	868.4	891.1	7.1	7.5
Tunkey agrupamiento	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

T:Testigo D: 2.66 mg L⁻¹

Numero de flores		Numero de frutos totales		Numero de frutos maduros		Longitud de raíz		Biomasa total de la raíz		Biomasa seca de la raíz	
T	D	T	D	T	D	T	D	T	D	T	D
0.4366		0.2072		0.7299		0.5433		0.2445		0.2747	
4	4.5	3.4	4.0	2.8	3.0	34.8	34.0	38.6	41.2	3.16	3.65
A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

6.5.1. Longitud del tallo

Los tallos uno y dos aumentaron continuamente su longitud durante las 13 semanas de evaluación (Figura 6.4). El tallo uno tuvo un crecimiento mayor (entre 5 y 8 %) que el dos, a partir de la cuarta semana de evaluación. Hasta la semana 13 ambos tallos continuaban creciendo continuamente. En ambos tallos el análisis estadístico ANDEVA mostro la existencia de diferencias estadísticamente significativas; 1 ($p < 0.015$) y 2 ($p < 0.018$) entre los tratamientos, y la prueba de comparación de medias Tukey ($\alpha = 0.05$) muestra que la aplicación semanal de O_3 tuvo efecto negativo en el crecimiento de ambos tallos, ya que el incremento en longitud del tallo fue significativamente mayor en el testigo (Figura 6.4 A-B).

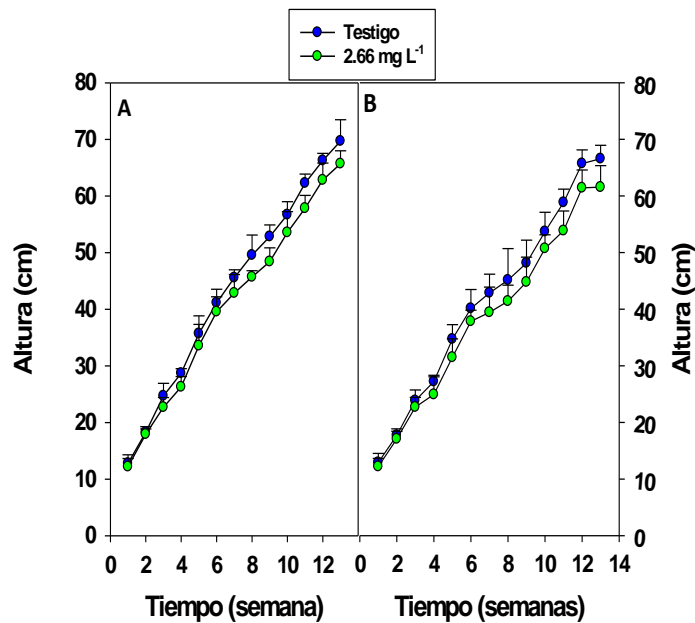


Figura 6. 4 Crecimiento acumulado en altura del tallo uno (6.4 A) y altura del tallo dos (6.4 B) de plantas de chile morrón (*Capsicum annuum* L.) durante 13 semanas, con aplicación semanal de O₃ por el sistema de riego, + el error estándar.

6.5.2. Diámetro del tallo

El diámetro del tallo (Figura 6.5.) incrementó continuamente durante las 13 semanas de evaluación en los dos tratamientos. A partir de la cuarta semana el crecimiento del tallo con O₃ fue menor respecto al testigo (entre 3 y 5.4 %) y el análisis estadístico ANDEVA mostró que diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, lo cual indica que el O₃ afectó negativamente el incremento del diámetro del tallo.

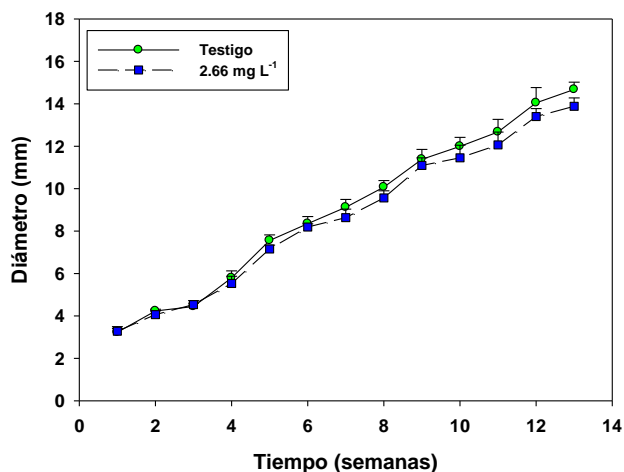


Figura 6. 5 Crecimiento acumulado en diámetro del tallo de plantas de chile morrón (*Capsicum annuum* L.) durante 13 semanas, con aplicación semanal de O₃ por el sistema de riego, + el error estándar.

Los resultados anteriores permitieron comprobar que el O₃ en dosis 2.66 mg L⁻¹, aplicado semanalmente y directamente a las raíces de las plantas son no letales, pues los tallos de las plantas continuaron su crecimiento durante las 13 semanas de las evaluaciones. Los resultados también mostraron que esas dosis y esa frecuencia afectaron significativamente el crecimiento, aunque el efecto haya sido menor a 8 %, respecto al testigo.

6.5.3. Número de hojas

El número de hojas por planta (Figura 6.6) incrementó continuamente (desde 10 hasta poco más de 40) durante las 13 semanas de evaluación con un incremento mayor en el testigo (entre 5.5 y 6.5 %) entre la cuarta y décimo primera semanas. Estos resultados confirman que la aplicación continua de O₃ a las raíces de las plantas, fue no letal; es decir, aunque la dosis aplicada pareció tener efecto negativo en el incremento del número de hojas por planta. Pero el análisis estadístico ANDEVA demostró que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Figura 6.6.).

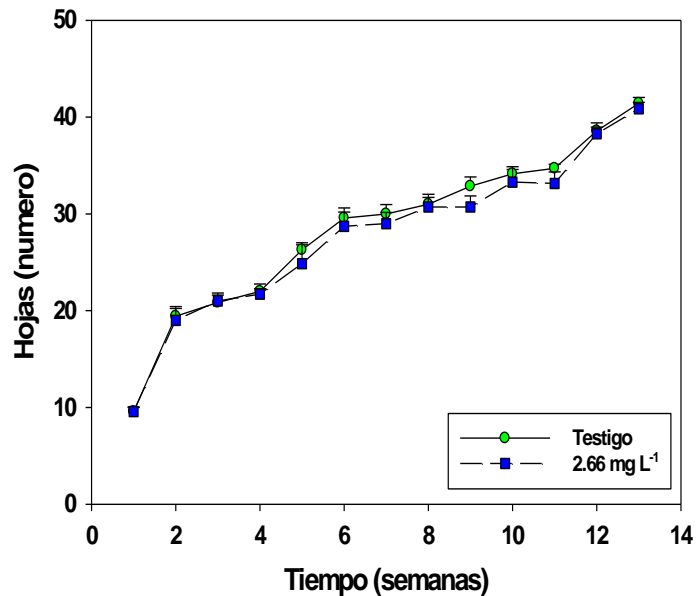


Figura 6. 6 Incremento en número de hojas en plantas de chile morrón (*Capsicum annuum* L.) durante 13 semanas, con aplicación semanal de O₃ por el sistema de riego, + el error estándar.

6.5.4. Biomasa total del vástago y biomasa total de frutos

La biomasa total del vástago (Figura 6.7 A) incrementó continuamente durante las 13 semanas de evaluación. Con un incremento mayor (entre 5 y 15 %) en el testigo respecto al tratamiento con aplicación de O₃, Esto indicó que la aplicación de O₃ afectó negativamente la acumulación de biomasa total de la parte aérea.

La biomasa total de frutos (Figura 6.7 B) se incrementó continuamente desde la semana cinco y continuó hasta la semana 13, ya que en las cuatro primeras semanas no se observó presencia de frutos. En esta variable se vio cierta tendencia de la dosis de 2.66 mg L^{-1} a incrementar la acumulación de biomasa de los frutos ya que en la semana 7 se encontró una acumulación mayor (13.2 %) por parte de las plantas con O_3 respecto al testigo. Al final de las 13 semanas de cultivo se encontró una diferencia del 2.6 % ya que el tratamiento con aplicación de ozono acumulo mayor cantidad de biomasa sin diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

En general, estos resultados, como los del crecimiento del tallo indican que la dosis de 2.66 mg L^{-1} de O_3 aplicada puede clasificarse como subletal para las plantas de pimiento morrón y con efecto hormético nulo.

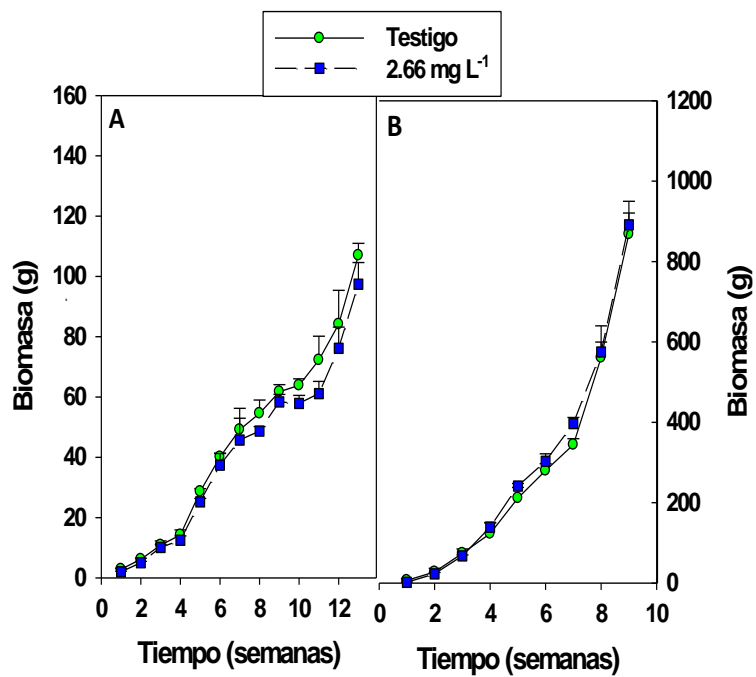


Figura 6. 7 Acumulación de biomasa total de parte aérea (A) biomasa total de frutos (B) de plantas de chile morrón (*Capsicum annuum* L.) durante 13 semanas, con aplicación de O₃ por el sistema de riego, + el error estándar.

6.5.5. Número de yemas y número de flores

El número total de yemas (Figura 6.8 A) incrementó continuamente durante el tiempo de muestreo hasta la semana cinco de la evaluación, después se mantuvo hasta la semana nueve. En éstos muestreos el número de yemas alcanzó los valores máximos; entre los tratamientos hubo una diferencia del 5.7 % entre los tratamientos y con la aplicación de O_3 el número de yemas fue mayor y posteriormente fue disminuyendo hasta la semana 13. En esta variable se vio cierta tendencia de la aplicación del O_3 para promover la presencia de yemas. El análisis de varianza ANDEVA mostró que la diferencia entre los tratamientos no fue estadísticamente significativa.

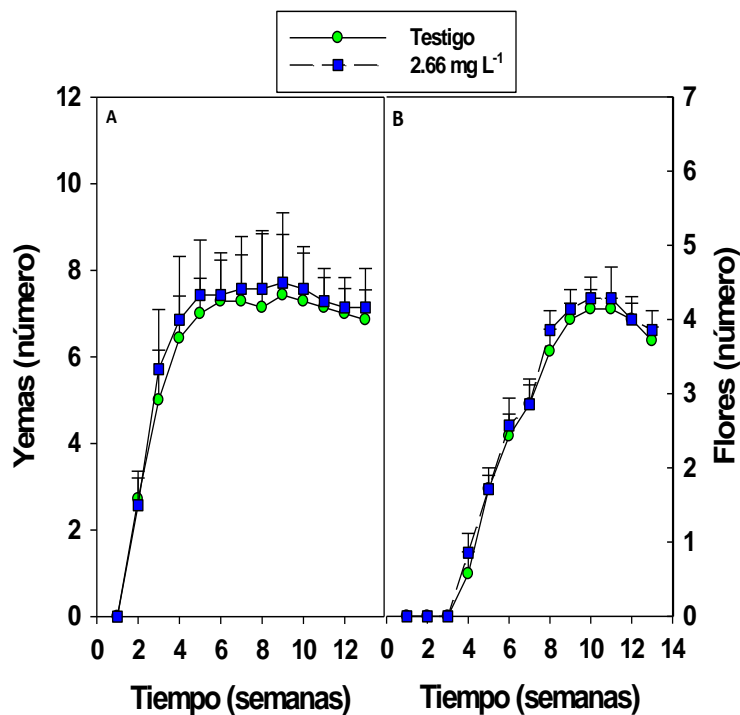


Figura 6. 8 Incremento acumulado en número total de yemas (A) y número total de flores (B) de plantas de chile morrón (*Capsicum annuum* L.) durante 13 semanas, con aplicación de O₃ por el sistema de riego, + el error estándar.

El número total de flores (Figura 6.8 B) incrementó continuamente de la semana cuatro a la 10 ya que en las primeras tres no hubo presencia de flores; en la semana 10 se mantuvo el número de flores y este fue más alto, respecto al testigo, con un valor del 11 % y en las últimas tres semanas fue disminuyendo. El análisis estadístico ANDEVA mostró diferencias no significativas entre los tratamientos pero el tratamiento con 2.66 mg L⁻¹ mostró tendencia al incremento del número de inflorescencias durante el periodo total de evaluación.

En general, estos resultados, como los de crecimiento del tallo y biomasa total de frutos indican que las dosis de O₃ aplicadas pueden clasificarse como subletales para las plantas de pimiento morrón y que mostraron cierta tendencia de desarrollo de hormesis.

6.5.6. Número de frutos totales y número de frutos maduros

El número total de frutos (Figura 6.9. A) incrementó continuamente de la semana cinco a la nueve en ambos tratamientos ya que en las primeras cuatro semanas de muestreo no hubo presencia de frutos, después las plantas con aplicación de O_3 se mantuvieron hasta la semana nueve, en éstos muestreos alcanzaron los valores máximos con una diferencia del 14.5 %, el tratamientos con la aplicación de O_3 fue el que obtuvo el mayor número de frutos. Después de la semana 11 a la 13 ambos tratamientos siguieron incrementando la cantidad de frutos.

En esta variable se vio cierta tendencia de la dosis de 2.66 mg L^{-1} , para promover la presencia de frutos. El análisis de varianza ANDEVA mostró que la diferencia entre los tratamientos no fue estadísticamente significativa.

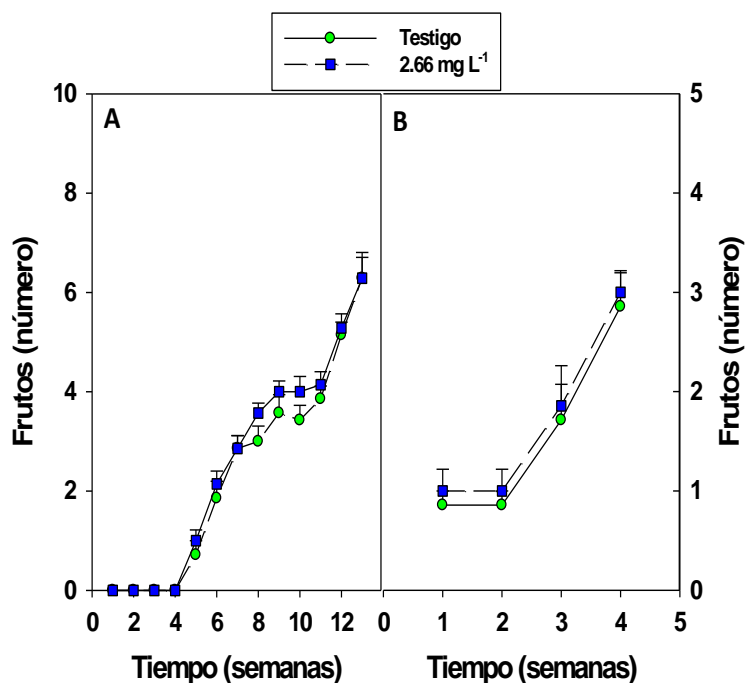


Figura 6. 9 Incremento acumulado en número de frutos totales durante las 13 semanas (A) y número de frutos maduros de la semana 10 a la 13 (B) de plantas de chile morrón (*Capsicum annuum* L.), con aplicación de O₃ por el sistema de riego, + el error estándar.

La acumulación de frutos maduros (Figura 6.9 B) se mantuvo entre la semana 10 y 11 del muestreo, las plantas con aplicación de O₃ tendieron a acumular mayor cantidad de frutos maduros con una diferencia del 5 % respecto al testigo, después de la semana 11 y hasta la 13 ambos tratamientos continuaron incrementando continuamente el número de frutos maduros. El análisis de varianza ANDEVA indicó que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

Aunque la biomasa total de frutos (Figura 6.7. B) mostró que los valores entre tratamientos fueron similares en las semanas 12 y 13 del muestreo, lo que significa que el O₃ promovió la presencia de un número mayor de frutos pero de menor biomasa.

En general, estos resultados, como los de crecimiento del tallo, biomasa total de frutos, número total de yemas y número total de flores indican que las dosis de O₃ aplicadas pueden clasificarse como subletales para las plantas de pimiento morrón y que mostraron tendencia mínima, ninguna, de desarrollo de hormesis.

6.5.7 Longitud de raíz

El crecimiento acumulado en longitud de raíz (Figura 6.10) incrementó continuamente durante las 13 semanas de evaluación; aunque, las plantas testigo mostraron tendencia a la longitud mayor de raíz (2.5 %), el análisis estadístico ANDEVA mostró que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

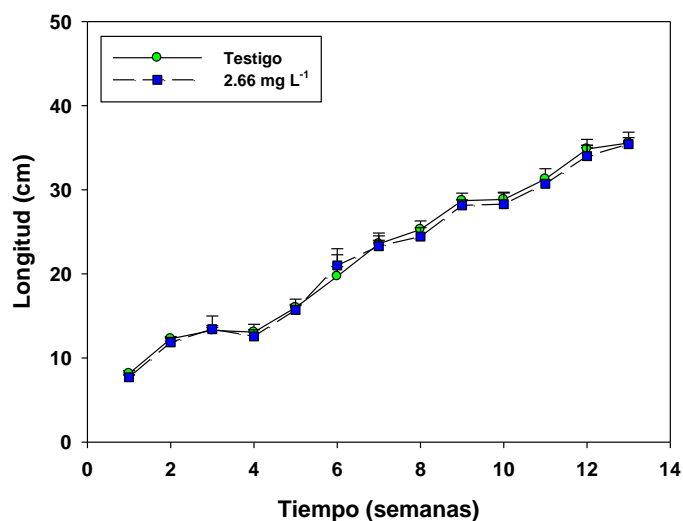


Figura 6. 10 Crecimiento acumulado en longitud de raíz de plantas de chile morrón (*Capsicum annuum* L.) durante 13 semanas, con aplicación de O₃ por el sistema de riego, + el error estándar.

6.5.8. Biomasa total de raíz y biomasa seca de raíz

La biomasa total (Figura 6.11 A) y seca de raíz (Figura 6.11 B) incrementaron continuamente durante las 13 semanas de evaluación. En ambos casos el tratamiento con aplicación de 2.66 mg de O₃ L⁻¹ no tuvo efecto.

En ambos casos (biomasa total y seca de raíz) el análisis estadístico ANDEVA mostró que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

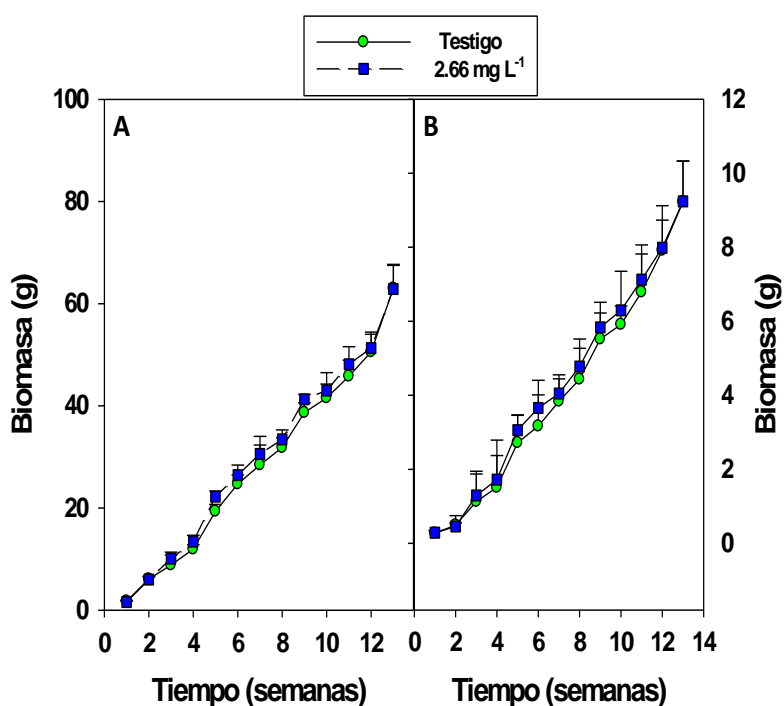


Figura 6. 11 Acumulación de biomasa total de raíz (A) y biomasa seca de raíz (B) de plantas de chile morrón (*Capsicum annuum* L.) durante 13 semanas, con aplicación de O₃ por el sistema de riego, + el error estándar.

6.6. Conclusiones

Dosis de O₃ de 2.66 mg L⁻¹ aplicadas semanalmente por el sistema de riego, durante las 13 semanas a plantas de pimiento morrón, son subletales y, en general, no se modificó el crecimiento ni la productividad.

Aun con los resultados del análisis estadístico, los cuales muestran que la aplicación de O₃ que se realizó en esta prueba, no generaron resultados estadísticamente significativos pero si generaron una diferencia porcentual, podemos decir que la dosis de O₃ aplicada es capaz de generar un efecto de hormesis en las estructuras reproductoras de pimiento morrón.

6.7 Literatura citada

- Ashmore, M. R. 2005. Assessing the future global impact of ozone in the vegetation. *Plant Cell and Environment* 28: 948-964.
- Black, V. J.; C. R. Black; J. A. Roberts; C. A. Stewart. 2000. Impact of ozone on the reproductive development of plants. *New Phytologist* 147: 421-447.
- Bermejo, V. 2002. Efectos del ozono sobre la producción y la calidad de frutos de *Lycopersicon esculentum* L. Modulación por diversos factores ambientales. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid.
- Booker, F. L.; R. Muntifering; M. McGrath; K. O. Burkey; D. Decoteau; E. L. Fiscus; W. Manning; S. Krupa; A. Chappelka; D. A. Grantz. 2009. The ozone component of global change: Potential effects on agricultural and horticultural plant yield, product quality and interactions with invasive species. *Journal of Integrative Plant Biology* 51: 337-351.
- Fiscus, E.L; F. L. Booker; K. O. Burkey. 2005. Crop responses to ozone: uptake, modes of action, carbon assimilation and partitioning. *Plant, Cell and Environment* 28: 997-1011.
- Fuhrer, J.; F. Booker. 2003. Ecological issues related to ozone: agricultural issues. *Environment International* 29: 141-154.
- Massman, W. J. 2004. Toward an ozone standard to protect vegetation based on effective dose: a review of deposition resistances and possible metric. *Atmospheric Environment* 38: 2323- 2337.
- Sala, R. R; L. S. Giuseppe. 1992. El ozono como oxidante de lípidos biológicos: causas y efectos. *Revista de Química* 6: 97-107.

Sanz, J.; R. B. Muntifering; V. Bermejo; B. S. Gimeno; S. Elvira. 2005. Análisis del crecimiento y la calidad nutritiva de *Trifolium cherleri* L. y de *Cynosurus echinatus* L. sometidos a diferentes tratamientos de O₃ y nitrógeno. Producciones Agroganaderas Vol II: 573-579.

Capítulo 7. Conclusiones Generales

- Se comprobó que la aplicación de dosis de 14.9 mg de O₃ L⁻¹ o mayores al medio fueron letales en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.).
- Se comprobó que la aplicación de dosis de O₃ entre 0.53 y 5.94 mg de O₃ L⁻¹, durante 6 y hasta 13 semanas en el medio fueron subletales y generaron efectos horméticos parciales en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y chile pimiento (*Capsicum annuum* L.).
- La presencia de O₃ en dosis mayores a 14.9 mg de O₃ L⁻¹ al medio afectó tanto la raíz como las hojas de plantas de lechuga y los daños, en éstas fueron evidentes unos minutos después de la aplicación.
- La presencia de O₃ en dosis menores a 5.94 mg de O₃ L⁻¹ al medio no afectó el desarrollo de la raíz de plantas de lechuga en algunos casos tuvo efecto hormético en otros órganos de la planta, como el tallo y las hojas.
- Se prueba la hipótesis planteada que indica que dosis adecuadas de O₃ aplicadas exógenamente al substrato estimulan el desarrollo de las plantas.