



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS  
AGRÍCOLAS

**CAMPUS TABASCO**

PROGRAMA PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

**EFFECTOS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DEL ESTRÉS HÍDRICO EN  
*Capsicum annuum* var. *glabriusculum***

**LIGIA ELVIRA RICARDEZ MIRANDA**

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS**

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO

2020



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas  
Campeche-Córdoba-Montecillo-Puebla-San Luis Potosí-Tabasco-Veracruz

**SADER**

SECRETARÍA DE AGRICULTURA  
Y DESARROLLO RURAL



## **CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN**

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, la que suscribe Ligia Elvira Ricardez Miranda, alumna de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta Institución, bajo la dirección de la Profesora Dra. Luz del Carmen Lagunes Espinoza, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis "Efectos fisiológicos y bioquímicos del estrés hídrico en *Capsicum annum* var. *glabriusculum*" y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, la Consejera de Tesis y la que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

H. Cárdenas, Tabasco, a 05 de junio de 2020.

Ligia Elvira Ricardez Miranda

Dra. Luz Del Carmen Lagunes Espinoza  
Vo. Bo. Profesora Consejera de Tesis

La presente tesis, titulada “**EFFECTOS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DEL ESTRÉS HÍDRICO EN *Capsicum annuum* var. *glabriusculum***”, realizado por la alumna: **LIGIA ELVIRA RICARDEZ MIRANDA**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS**

EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA:

  
\_\_\_\_\_  
DRA. LUZ DEL CARMEN LAGUNES ESPINOZA

ASESORA:

  
\_\_\_\_\_  
DRA. EDITH HERNÁNDEZ NATAREN

ASESOR:

  
\_\_\_\_\_  
DR. DAVID JESÚS PALMA LÓPEZ

ASESOR:

  
\_\_\_\_\_  
DR. F. VÍCTOR CONDE MARTÍNEZ

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO A 22 DE JUNIO DEL 2020.

# EFFECTOS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DEL ESTRÉS HÍDRICO EN *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*

Ligia Elvira Ricardez Miranda, M. C.  
Colegio de Postgraduados, 2020

## RESUMEN

El chile Amashito (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) tiene una alta demanda en los mercados del sureste del país por su uso culinario. La producción ofertada de este chile es producto de la recolección y no de un sistema de cultivo establecido. Esta producción recolectada es el resultado de las condiciones abióticas y bióticas a las que es sometida esta especie durante su desarrollo y producción. El conocimiento de la respuesta fenológica y productiva de este chile al efecto de factores abióticos es básico para proponer alternativas que coadyuven a mejorar su producción. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto del déficit hídrico aplicado durante la etapa vegetativa o desde floración, en la acumulación de biomasa, metabolitos secundarios y rendimiento de frutos de esta especie. 150 semillas, previamente tratadas con ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) a 500 mg L<sup>-1</sup> se germinaron para establecer dos experimentos independientes, ambos bajo un diseño completamente al azar en arreglo factorial 2 x 4. Los tratamientos fueron a) con y sin aplicación de déficit hídrico (DH) durante la etapa vegetativa, y b) con y sin aplicación de DH desde el inicio de floración. Cada uno con cuatro fechas de muestreo. Cada tratamiento estuvo conformado por grupos de 20 plantas. Los resultados mostraron que el efecto provocado por el DH aplicado durante la etapa vegetativa afectó el crecimiento y la duración de las etapas fenológicas de chile Amashito. El DH aplicado tanto en etapa vegetativa como desde el inicio de floración incrementó el contenido de prolina, pero no afectó el de los pigmentos fotosintéticos, compuestos fenólicos y flavonoides totales en hojas, ni el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos. De los componentes del rendimiento, el número y peso de frutos planta<sup>-1</sup> disminuyó con el DH aplicado durante la etapa vegetativa. En contraste, cuando el DH fue aplicado desde el inicio de floración, los componentes del rendimiento no fueron afectados significativamente, pero si se incrementó el número de días a maduración de frutos.

**Palabras clave:** chile, déficit hídrico, biomasa, metabolitos secundarios, rendimiento de frutos

# PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL EFFECTS OF WATER STRESS ON *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*

Ligia Elvira Ricardez Miranda, M. C.  
Colegio de Postgraduados, 2020

## ABSTRACT

The Amashito pepper (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) due to its culinary use, is in high demand in the southeast markets of the country. However, the offered production of this chili is the product of the harvest from spontaneous populations and not of an established cultivation system. The production of these kind of populations is the result of the abiotic and biotic conditions to which this species is subjected during its development and production. Knowledge of the phenological and productive response of this chili to the effect of abiotic factors is essential to propose production alternatives. The objective of the study was to evaluate the effect of the water deficit applied during the vegetative stage or since flowering, on the accumulation of biomass, secondary metabolites and fruit yield of this species. 150 seeds, previously treated with gibberellic acid (AG<sub>3</sub>) at 500 mg L<sup>-1</sup>, were germinated to establish two independent experiments, both under a completely randomized design in a 2 x 4 factorial arrangement. The treatments were a) with and without application of water deficit (WD) during the vegetative stage, and b) with and without application of WD at the beginning of flowering. Each experiment with four sampling dates. Each treatment was shaped of groups of 20 plants. The results showed that the effect caused by the WD applied during the vegetative stage affected the growth and duration of the phenological stages of Amashito chili. The WD applied both in the vegetative stage and from beginning of flowering increased proline content, but did not affect that of photosynthetic pigments, phenolic compounds and total flavonoids in leaves, and the content of capsaicin and dihydrocapsaicin in fruits. Of the yield components, the number and weight of fruits plant<sup>-1</sup> decreased with the WD applied during the vegetative stage. In contrast, when WD was applied from the beginning of flowering, the yield components were not significantly affected, but the number of days to fruit maturation was increased.

**Key words:** chilli pepper, water deficit, biomass, secondary metabolites, fruit yield

## **DEDICATORIA**

A Dios, por haberme abierto la oportunidad de llegar hasta aquí y darme la sabiduría de saber tanto, aprovechar las buenas oportunidades que se presentan y también el enfrentar las adversidades que se presenten ante ello.

A mis padres Juan José y Ana Guadalupe por todo el apoyo, amor, cariño y comprensión que me han brindado a lo largo de este trayecto, por la educación que me dieron para poder superarme día a día y hacer posible mis objetivos, les agradezco todo infinitamente. A mis hermanos Armando y Ana Paula por cada momento que estamos juntos, por su apoyo en todo momento y siempre estar orgullosos de mis logros.

A mi tío Jesús C. por ser como un padre para mí, por aconsejarme y corregirme para ser mejor persona, por hacerme entender que hasta en los momentos más difíciles que se presenten no debo dejarme caer, siempre te recordaré.

A mi novio Hugo por apoyarme siempre y por el amor que me ha brindado, por estar incondicionalmente conmigo y nunca dejarme rendir, igual a su familia por el cariño que me han brindado.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para realizar la maestría en ciencias.

Al Colegio de Postgraduados Campus-Tabasco, por haberme permitido realizar mis estudios de postgrado en maestría en ciencias.

A la Dra. Luz del Carmen Lagunes Espinoza, por su importante desempeño que mostró en la realización del trabajo de investigación, por haberme brindado todos sus conocimientos teóricos y prácticos, apoyo y responsabilidad durante el desarrollo de este trabajo de investigación.

A la Dra. Edith Hernández Nataren, por su apoyo y asesoría durante los análisis para la determinación de capsaicinoides en GC-MS, además sus exhortaciones para hacer un trabajo de investigación de una mejor calidad.

Al Dr. David Jesús Palma López, por sus conocimientos, facilitación de datos para el trabajo de investigación y por su apoyo en la revisión del presente.

Al Dr. F. Víctor Conde Martínez, por su amistad y apoyo en la revisión de mi trabajo de investigación.

Al personal académico del CP-Campus Tabasco, por su amistad y apoyo en los trámites.

A mis compañeros y amigos de generación: Isis, Everardo y Yhajaira, por su amistad, consejos y apoyo durante el desarrollo del trabajo de investigación. A mis compañeros de laboratorio: Nohemí y Darío, por su amistad y apoyo.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTOS.....	vi
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 Planteamiento del problema.....	1
1.2 Objetivos.....	2
1.2.1 General.....	2
1.2.2 Particulares.....	3
1.3 Hipótesis.....	3
CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. <i>Capsicum</i> .....	4
2.1.1 Origen y clasificación del chile.....	4
2.1.2 Distribución e importancia.....	4
2.1.3 <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> .....	5
2.1.4 Clasificación taxonómica.....	6
2.2. El concepto de estrés en plantas.....	7
2.3. El estrés hídrico.....	8
2.3.1 Efectos del déficit hídrico en crecimiento y rendimiento.....	8
2.3.2 Solutos que se incrementan en respuesta al déficit hídrico.....	9
2.3.3 Déficit hídrico y metabolitos secundarios.....	10
CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
3.1 Obtención del material biológico.....	16
3.2 Sitio experimental.....	16
3.3 Siembra y trasplante.....	16

3.4	Aplicación de tratamientos de déficit hídrico.....	17
3.5	Análisis de suelo .....	18
3.6	Variables de respuesta .....	18
3.6.1	Etapas fenológicas.....	18
3.6.2	Biomasa aérea y radicular.....	18
3.6.3	Área foliar.....	19
3.6.4	Altura de planta y a la primera bifurcación.....	19
3.6.5	Pigmentos fotosintéticos.....	19
3.6.6	Contenido relativo de agua (CRA) .....	20
3.6.7	Prolina.....	20
3.6.8	Desengrasado de muestra .....	21
3.6.9	Azúcares solubles totales .....	21
3.6.10	Polifenoles totales.....	22
3.6.11	Flavonoides totales.....	22
3.6.12	Contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos.....	23
3.6.13	Rendimiento de frutos .....	24
3.7	Análisis estadístico .....	24
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		25
4.1	Características fisicoquímicas del sustrato .....	25
4.2	Aplicación del déficit hídrico durante la etapa vegetativa .....	25
4.2.1	Crecimiento.....	25
4.2.2	Acumulación de biomasa .....	29
4.2.3	Pigmentos fotosintéticos.....	33
4.2.4	Contenido relativo de agua (CRA) .....	35
4.2.5	Acumulación de solutos y de metabolitos secundarios .....	36
4.2.6	Componentes del rendimiento de frutos.....	43

4.3	Aplicación del déficit hídrico durante la etapa de floración.....	44
4.3.1	Crecimiento.....	44
4.3.2	Acumulación de biomasa .....	47
4.3.3	Pigmentos fotosintéticos.....	50
4.3.4	Contenido relativo de agua (CRA) .....	52
4.3.5	Acumulación de solutos y de metabolitos secundarios .....	54
4.3.6	Componentes del rendimiento de frutos .....	59
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		62
5.1.	Conclusiones .....	62
5.2.	Recomendaciones.....	62
CAPÍTULO VI. LITERATURA CITADA.....		64

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Contenido de capsaicinoides en la placenta del fruto de <i>C. frutescens</i> L. a diferentes días después de polinización (DAP).....	14
<b>Cuadro 2.</b> Características del sustrato utilizado en las macetas de la especie <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> . .....	25
<b>Cuadro 3.</b> Cuadrados medios y significancia del ANOVA para altura de planta, altura del tallo a la primera bifurcación y longitud de raíz de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> , sometido a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. ....	26
<b>Cuadro 4.</b> Cuadrados medios y significancia del ANOVA para el área foliar y la biomasa seca de la parte aérea y radical, en <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> , sometido a déficit hídrico, durante la etapa vegetativa. ....	29
<b>Cuadro 5.</b> Cuadrados medios y significancia del ANOVA para la concentración de pigmentos fotosintéticos en plantas de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. ....	33
<b>Cuadro 6.</b> Cuadrados medios y significancia del ANOVA para el contenido relativo de agua, solutos compatibles y metabolitos secundarios de plantas de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. ....	35
<b>Cuadro 7.</b> Cuadrados medios y significancia del ANOVA para el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina, en frutos maduros de plantas de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. ....	42
<b>Cuadro 8.</b> Cuadrados medios y significancia del ANOVA para los componentes del rendimiento de frutos de plantas de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. ....	43

<b>Cuadro 9.</b> Promedios de componentes del rendimiento de frutos de plantas de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> con y sin déficit hídrico durante la etapa vegetativa.....	44
<b>Cuadro 10.</b> Cuadrados medios y significancia del ANOVA para altura de planta, altura del tallo a la primera bifurcación y longitud de raíz de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> , sometido a déficit hídrico durante la etapa de floración. ....	45
<b>Cuadro 11.</b> Cuadrados medios y significancia del ANOVA para el área foliar y la biomasa de la parte aérea y radical, en <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> , sometido a déficit hídrico desde el inicio de floración.....	47
<b>Cuadro 12.</b> Cuadrados medios y significancia del ANOVA para la concentración de pigmentos fotosintéticos en plantas de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometidas a déficit hídrico desde el inicio de la floración. ....	51
<b>Cuadro 13.</b> Cuadrados medios y significancia del ANOVA para el contenido relativo de agua y metabolitos en plantas de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometidas a déficit hídrico desde la etapa de floración.....	53
<b>Cuadro 14.</b> Cuadrados medios y significancia del ANOVA para el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina, en frutos maduros de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometido a déficit hídrico, desde el inicio de la floración.....	58
<b>Cuadro 15.</b> Cuadrados medios y significancia del ANOVA para los componentes del rendimiento de frutos de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometida a déficit hídrico, desde el inicio de la floración.....	59
<b>Cuadro 16.</b> Prueba de medias de componentes del rendimiento de fruto de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> con y sin déficit hídrico desde el inicio de la floración.....	60
<b>Cuadro 17.</b> Resumen del efecto de la aplicación de un déficit hídrico (reducción del 50 % de agua aplicada a capacidad de campo) en el crecimiento, metabolitos secundarios y rendimiento de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> .....	61

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Distribución de especies del género <i>Capsicum</i> en México (CONABIO, 2018).....	5
<b>Figura 2.</b> Distribución de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> (Dunal) Heiser & Pickersgill en México (Montes, 2010).....	6
<b>Figura 3.</b> Relación entre el estrés ambiental y la respuesta de supervivencia o muerte de una planta (Hopkins y Hüner , 2003).....	7
<b>Figura 4.</b> Estructura de los flavonoides y sus clases (Panche <i>et al.</i> , 2016).....	12
<b>Figura 5.</b> Rutas principales de la biosíntesis de capsaicina. Adaptado de Zhang <i>et al.</i> (2016). .....	14
<b>Figura 6.</b> Plántulas trasplantadas de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> .....	16
<b>Figura 7.</b> Altura de planta (A), altura del tallo a la primera bifurcación (B) y longitud de raíz (C) de plantas de chile Amashito en el transcurso del crecimiento cuando se aplica un estrés por déficit hídrico durante la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar (n=4).....	27
<b>Figura 8.</b> Duración de cada etapa de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> a capacidad de campo (CC).....	28
<b>Figura 9.</b> Duración de cada etapa de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> a sometido a un déficit hídrico (50% de CC). .....	28
<b>Figura 10.</b> Evolución del área foliar (A) y del área foliar específica (B) en plantas de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar (n=4). .....	30
<b>Figura 11.</b> Acumulación de biomasa aérea (A), de raíz (B) y relación biomasa aérea/raíz durante el crecimiento de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometido a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar (n=	

4). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).  
.....32

**Figura 12.** Concentración de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) y de carotenoides (D) en plantas de *C. annuum var. glabriusculum* sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar ( $P \leq 0.05$ ).  
.....34

**Figura 13.** Contenido relativo de agua (CRA) en plantas de *C. annuum var. glabriusculum* sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar ( $n=3.92$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos .....36

**Figura 14.** Evolución de la concentración de prolina en hojas de *Capsicum annuum var. glabriusculum*, sometidas a déficit hídrico (A). Concentración promedio de prolina plantas del tratamiento control y en el de déficit hídrico (B). Las barras indican el error estándar ( $n=4$  (A) y 16 (B)). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). .....37

**Figura 15.** Contenido de azúcares solubles totales (AST) en hojas (A, B) y en raíces (C, D) de *Capsicum annuum var. glabriusculum* sometido a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar. Letras diferentes indican diferencias entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). .....38

**Figura 16.** Contenido de polifenoles en hojas de *Capsicum annuum var. glabriusculum*, sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar ( $n=4$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). .....40

**Figura 17.** Evolución (A) y promedio (B) del contenido de flavonoides totales en hojas de *Capsicum annuum var. glabriusculum* sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar ( $n=4$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). .....41

<b>Figura 18.</b> Contenido de capsaicinoides en frutos de plantas de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar (n=4). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). .....	42
<b>Figura 19.</b> Altura de planta (A), altura del tallo a la primera bifurcación (B) y longitud de raíz (C) de plantas de chile Amashito sometidas a estrés por déficit hídrico durante las etapas de floración y fructificación. Las barras indican el error estándar (n=4). .....	46
<b>Figura 20.</b> Evolución del área foliar (A) y del área foliar específica (B) en plantas de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometidas a déficit hídrico desde la etapa de floración. Las barras indican el error estándar (n=4). .....	48
<b>Figura 21.</b> Área foliar específica promedio en plantas de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometidas a déficit hídrico desde el inicio de floración. Las barras indican el error estándar (n=4). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). .....	49
<b>Figura 22.</b> Acumulación de biomasa total (A), de hojas (B), de tallos (C) y de raíces (D) de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometido a déficit hídrico durante la etapa de floración. Las barras indican el error estándar (n=4). .....	49
<b>Figura 23.</b> Relación biomasa aérea/raíz en plantas de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometidas a déficit hídrico al inicio de la floración.....	50
<b>Figura 24.</b> Concentración de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) y de carotenoides (D) en plantas de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometidas a déficit hídrico durante la etapa de floración. Las barras indican el error estándar (n=4). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). .....	52
<b>Figura 25.</b> Contenido relativo de agua en plantas de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> sometidas a déficit hídrico durante la etapa de floración. Las barras indican el error	

estándar (n=4). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).....54

**Figura 26.** Concentración de prolina en hojas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, sometidas a déficit hídrico durante la etapa de floración. Las barras indican el error estándar (n=4). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). .....54

**Figura 27.** Contenido de AST en hojas y en raíz de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* sometido a déficit hídrico, durante la etapa de floración. Las barras indican el error estándar (n=4). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).....56

**Figura 28.** Contenido de polifenoles en hojas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, sometidas a déficit hídrico durante la etapa de floración. Las barras indican el error estándar (n=4). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).....57

**Figura 29.** Contenido de flavonoides en hojas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, sometidas a déficit hídrico durante la etapa de floración. Las barras indican el error estándar (n=4). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).....57

**Figura 30.** Contenido de capsacinoides en frutos maduros de plantas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, sometidas a déficit hídrico durante la etapa de floración. Las barras indican el error estándar (n=4). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).....59

# CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

## 1.1 Planteamiento del problema

Los cambios en las condiciones ambientales en los últimos años han provocado periodos más frecuentes de exceso o déficit de agua en el país (SEMARNAT, 2016). Estas variaciones en las condiciones climáticas afectan el crecimiento y rendimiento de los cultivos y de las poblaciones presentes en los diversos agroecosistemas (Jarma *et al.*, 2012). Particularmente el déficit hídrico reduce el crecimiento y rendimiento de las plantas al alterar procesos fisiológicos y bioquímicos como la respiración, el contenido de pigmentos fotosintéticos, la tasa de fotosíntesis, el contenido relativo de agua, la temperatura del dosel, las tasas de crecimiento relativo y absoluta, la concentración de solutos y los componentes del rendimiento, entre otros (Onkulola *et al.*, 2017).

El estado de Tabasco, situado en la región tropical húmeda de México, ha presentado en los últimos años variaciones en los ciclos de altas y bajas precipitaciones que han ocasionado inundaciones y sequías más frecuentes, y se estima se incrementarán para el 2050 (Arreguín-Cortés *et al.*, 2014), lo que podría tener repercusiones negativas en las poblaciones vegetales nativas, como los chiles silvestres o semidomesticados de *C. annuum*. Diversos estudios han mostrado que *C. annuum* es sensible al déficit de agua, aunque se han observado diferencias en sensibilidad a este estrés entre genotipos de *C. annuum* (Malika *et al.*, 2019). También se ha observado variación en la tolerancia al estrés por déficit hídrico entre especies de *Capsicum*, donde *C. chinenses* parece ser menos susceptible al déficit hídrico durante la etapa vegetativa que *C. frutescens* y *C. annuum* (Onkulola *et al.*, 2017). Las plantas cuando son sometidas a déficit hídrico pueden adaptarse realizando un ajuste osmótico, es decir, aumentan ciertos metabolitos secundarios, como los solutos compatibles, compuestos fenólicos y flavonoides, para protegerse del daño celular, aunque por otro lado al igual que en las etapas fenológicas, los efectos varían entre especies, entre genotipos de una misma especie y por el nivel y temporalidad del déficit hídrico (Ruiz-Lau *et al.*, 2011; De la Cruz *et al.*, 2012; Phimchan *et al.*, 2012).

Entre las especies de *C. annuum* presentes en Tabasco y en el sureste del país, se encuentra *C. annuum* var. *glabriusculum* conocido como chile Amashito. El chile Amashito es considerado una especie semidomesticada, donde muchos estudios son necesarios para su domesticación (Murillo-Amador *et al.*, 2015). En Tabasco, este chile crece bajo la sombra de árboles en los huertos familiares o en los potreros, presenta un fuerte arraigo cultural, y sus frutos frescos son utilizados, por su pungencia, en una gran diversidad de platillos (González-Cortés *et al.*, 2015, 2017). Esta alta demanda de sus frutos, ha originado que sus poblaciones estén siendo sometidas a una fuerte presión por la recolección de frutos (González-Cortés *et al.*, 2015), a lo que se suma la baja germinación de sus semillas debido a la latencia que presentan (Mares-Quñones y Valiente-Banuet, 2019), y los cambios en las condiciones climáticas y en el uso del suelo. El cambio de especie semidomesticada a domesticada requiere de la aplicación de métodos ya desarrollados para romper la latencia (Prado-Urbina *et al.*, 2015), mantener una germinación alta y uniforme, del conocimiento sobre la susceptibilidad a enfermedades y su respuesta ante factores de estrés abiótico como son las deficiencias nutrimentales y el estrés por déficit hídrico. El avance en el conocimiento de estos efectos en chile Amashito puede ayudar a plantear alternativas sustentables que permitan su manejo ecológico o agronómico (Lagunes-Espinoza, 2019). Por lo anterior el objetivo del presente estudio fue conocer los efectos que un déficit hídrico, aplicado desde la etapa vegetativa, o desde el inicio de floración puede tener en el crecimiento, rendimiento y concentración de metabolitos secundarios en esta especie.

## **1.2 Objetivos**

### **1.2.1 General**

Evaluar el efecto del déficit hídrico, aplicado en dos etapas fenológicas, en la acumulación de biomasa, metabolitos secundarios y rendimiento en frutos de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*.

### **1.2.2 Particulares**

- a) Monitorear el crecimiento y la duración de las etapas fenológicas del chile Amashito cuando se aplica déficit hídrico durante la etapa vegetativa, y desde el inicio de floración.
- b) Cuantificar el contenido relativo de agua, pigmentos fotosintéticos, prolina y azúcares solubles totales en parte aérea de plantas de chile Amashito sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa y desde el inicio de floración.
- c) Determinar el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides totales en hojas de chile Amashito sometido a déficit hídrico continuo durante la etapa vegetativa y desde el inicio de floración.
- d) Determinar el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos maduros de chile Amashito sometido a déficit hídrico durante la etapa vegetativa y desde el inicio de floración.
- e) Cuantificar el rendimiento de frutos de chile Amashito cuando se aplica déficit hídrico durante la etapa vegetativa y desde el inicio de floración.

### **1.3 Hipótesis**

La aplicación de un estrés por déficit hídrico a plantas de chile Amashito durante la etapa vegetativa, y desde el inicio de floración, incrementa el contenido de solutos como la prolina y los azúcares solubles totales, y de metabolitos secundarios; se disminuye el contenido relativo de agua y el crecimiento, acortando la duración de las etapas fenológicas y reduciendo el rendimiento de frutos.

## CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. *Capsicum*

#### 2.1.1 Origen y clasificación del chile

El género *Capsicum* pertenece a la familia de las Solanáceas y agrupa alrededor de 32 especies siendo todas originarias de América, sobresaliendo: *C. baccatum*, *C. pubescens*, *C. chinense*, *C. frutescens* y *C. annuum* (Perry *et al.*, 2007; Bosland y Votaba, 2012). El nombre científico proviene del griego Kapsakes, que significa cápsula (CONABIO, 2018).

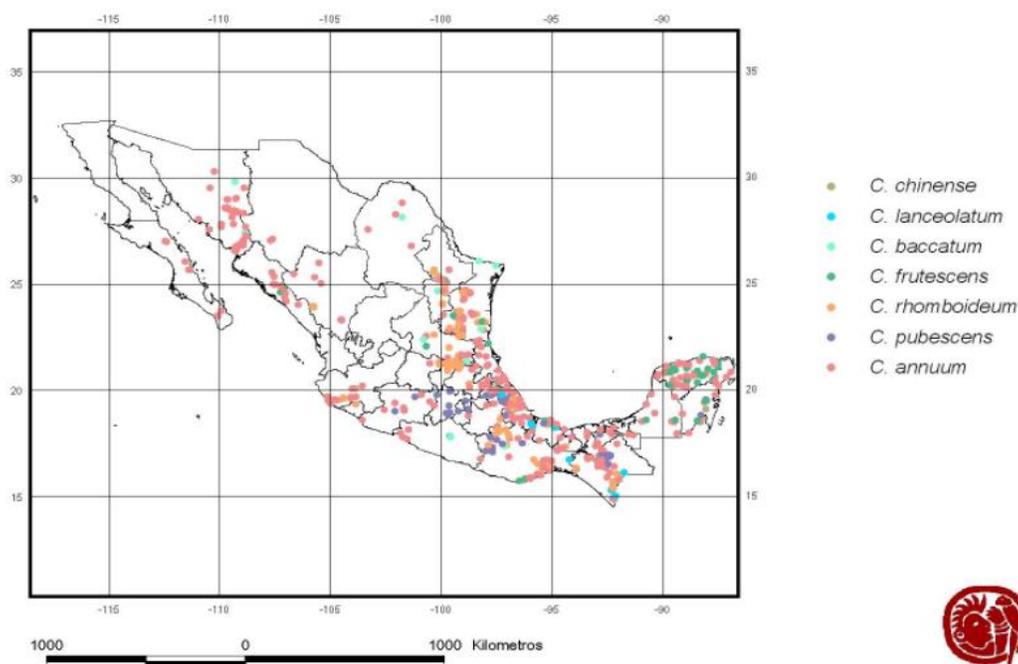
Generalmente las especies de *Capsicum* se clasifican por las características de su fruto como son: sabor, forma, tamaño, color y grado de pungencia o contenido de capsaicina (Bosland y Votaba, 2012). Dentro del género *Capsicum*, sobresalen *C. chinense*, *C. frutescens* y *C. annuum*, las que comparten rasgos genéticos, pudiéndolos diferenciar por las características de arquitectura de la planta y de los frutos (Castañon-Najera *et al.*, 2010; Bosland y Votaba, 2012).

#### 2.1.2 Distribución e importancia

*Capsicum sp.* es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial, que se distribuye desde el sur de Estados Unidos hasta Perú, y en el norte de Brasil (INIFAP, 2011). México es considerado centro de diversificación y domesticación del género *Capsicum* (Aguilar-Meléndez *et al.*, 2009), donde cinco especies han sido domesticadas: *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, y *C. pubescens* (Perry *et al.*, 2007). La distribución de las especies de *Capsicum* en México se presenta en la Figura 1. Aguilar-Meléndez *et al.* (2009) mencionan que la península de Yucatán contiene un gran número de haplotipos de *Capsicum* muchos de los cuales son únicos, por lo que sugieren que esta región es un importante centro de domesticación y de diversidad de este género. Indicando también que existen múltiples centros de domesticación independientes.

En México se producen alrededor de 50 variedades de chiles, destacando el habanero, jalapeño, poblano, pimiento morrón, serrano, pasilla y guajillo (INIFAP, 2011), por lo que el país ocupa el segundo lugar en producción de chile a nivel

mundial, y en 2018 alcanzó una producción de 3.3 millones de toneladas de chile verde (SIAP, 2020).

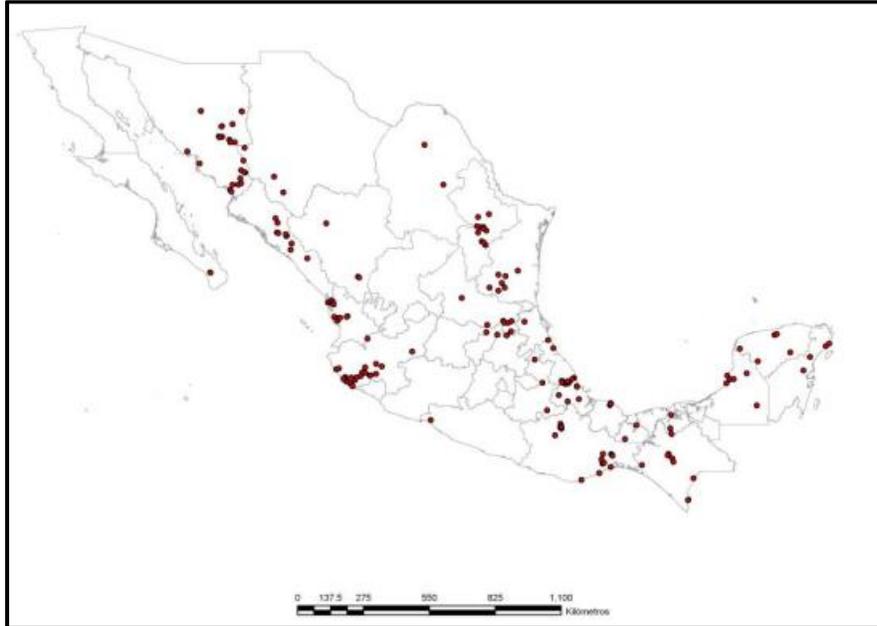


**Figura 1.** Distribución de especies del género *Capsicum* en México (CONABIO, 2018).

### 2.1.3 *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*

Entre las especies silvestres o semidomesticadas presentes en México, sobresale *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, conocido comúnmente como pimienta de pájaro, pimienta de pavo inglesa, ají, pequín, chili piquín, chiltepe, chiltepín, piquín, y en Tabasco como Amashito (GRIN, 2018). Las plantas de esta especie son perennes y se desarrollan en la sombra bajo árboles, a temperaturas intermedias. El fruto en su estado inmaduro es color verde debido a que tiene una alta concentración de clorofila, conforme va madurando el fruto, se torna a un color rojo por una alta cantidad de pigmentos rojos, llamados licopersinas (Alonso *et al.*, 2012). Esta especie se encuentra distribuida en todo el país (Figura 2), y presenta una gran variación en las características morfológicas (Castañón-Nájera *et al.*, 2010; Hernández-Verdugo, 2012). Sus semillas presentan latencia (Cano-Vázquez *et al.*, 2015; Prado-Urbina *et al.*, 2015) y entre los principales factores que intervienen en

la germinación y en el crecimiento de esta especie están la temperatura y luz (López-España *et al.*, 2017).



**Figura 2.** Distribución de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill en México (Montes, 2010).

#### 2.1.4 Clasificación taxonómica

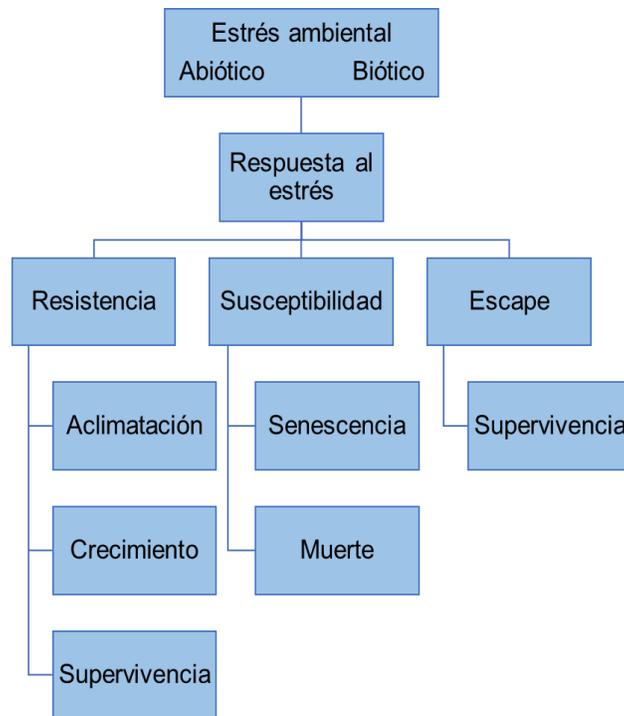
Reino	Vegetal
Subreino	Embriophyta
División	Tracheophyta
Subdivisión	Pterosida
Clase	Angiosperma
Subclase	Dicotiledónea
Orden	Tubiflorales
Familia	Solanácea
Género	<i>Capsicum</i>
Especie	<i>Annuum</i>
Variedad	<i>Glabriusculum</i> (Dunal) Heiser & Pickersgill

Fuente: Morales y Padilla-Vega (2019)

## 2.2. El concepto de estrés en plantas

El estrés se define como un factor externo que ejerce una influencia negativa sobre el desarrollo de la planta provocando un efecto fisiológico. El concepto de estrés está asociado con el de la tolerancia al estrés, que se define como la aptitud de la planta para enfrentarse con un ambiente desfavorable. Tolerancia al estrés es sinónimo de resistencia al estrés (Taiz y Zeiger, 2002).

El estrés en plantas, se divide en biótico y abiótico. El estrés biótico es influenciado por la acción negativa de seres vivos. El estrés abiótico es por efecto negativo de factores físicos y químicos. Las plantas responden a estos tipos de estrés mostrando resistencia, aclimatándose o escapando (Figura 3) (Hopkins y Hüner, 2003).



**Figura 3.** Relación entre el estrés ambiental y la respuesta de supervivencia o muerte de una planta (Hopkins y Hüner, 2003).

Las plantas durante su crecimiento y desarrollo, están expuestas a una gran diversidad de estreses abióticos como sequía, inundación, salinidad, heladas, bajas

o altas temperaturas, altas o bajas intensidades de luz, toxicidad por metales pesados, ozono, dióxido de carbono, pH del suelo, irradiación UV y otros. Entre esos factores de estrés, la sequía, el calor, la salinidad y la toxicidad por metales son los que causan las mayores pérdidas en los cultivos (Mohanta *et al.*, 2017).

### **2.3. El estrés hídrico**

El estrés hídrico produce una serie de cambios fisiológicos y bioquímicos, llegando a afectar a la planta o cultivo hasta el punto de causar la muerte, este estrés suele ocurrir debido a la disponibilidad de agua en la zona radicular de la planta y a la condición de las raíces para absorberla (Luna-Flores *et al.*, 2012; Osakabe *et al.*, 2014).

La productividad de plantas depende de la cantidad de agua disponible y de la eficiencia de la planta para usarla. Por ello, el estrés hídrico ya sea por déficit o exceso de agua, se mide por sus efectos en diferentes parámetros, como son supervivencia de la planta, el rendimiento del cultivo, crecimiento (acumulación de biomasa) o los procesos de asimilación primaria (incorporación de CO<sub>2</sub> y minerales) (Osakabe *et al.*, 2014). A nivel bioquímico como respuesta al estrés hídrico, las plantas inician una cascada de señales que activan factores de homeostasis. Las plantas acumulan compuestos orgánicos e inorgánicos en el citosol para elevar la presión osmótica y así mantener la turgencia y el gradiente de agua. Entre esos solutos que se incrementan cuando la planta está sometida a un estrés hídrico para proteger las membranas y proteínas, están la prolina en hojas y raíces, azúcar-alcoholes (como, por ejemplo, el sorbitol y el manitol), glicina betaína, entre otros (Blum, 2011; Okunlola *et al.*, 2016).

#### **2.3.1 Efectos del déficit hídrico en crecimiento y rendimiento**

El déficit de agua es definido como cualquier contenido de agua en un tejido o célula que está por debajo del contenido de agua que éste exhibe en su estado más hidratado (Taiz y Zeiger, 2002). El efecto de la sequía se manifiesta cuando el contenido de agua en la planta disminuye, las células pierden turgencia y aumenta la concentración de solutos en las células, esto afecta también a las actividades que dependen de la turgencia, como la expansión foliar y la elongación radicular. Otro

mecanismo, llamado cierre hidro-activo, tiene lugar cuando la hoja o las raíces están deshidratadas (Taiz y Zeiger, 2002). Valladares *et al.* (2004), mencionan que diversos autores se han encargado de clasificar la respuesta de especies de plantas en cuanto a los mecanismos de tolerancia al déficit hídrico, utilizando términos como evasión, adaptación, tolerancia y resistencia.

En el género *Capsicum* numerosos son los estudios realizados para evaluar su respuesta al déficit hídrico. Okunlola *et al.* (2016), evaluaron la respuesta a cuatro tratamientos de suministro de agua (200 mL aplicados dos veces por día, una vez cada tres días y una vez cada cinco días) de *C. frutescens*, *C. annuum* y *C. chinensis*, iniciando 25 días después del trasplante hasta fructificación. Los resultados mostraron un incremento en la concentración de prolina y azúcares solubles en hojas en las tres especies de chile en los diferentes estados de crecimiento en las plantas estresadas. Estas especies mostraron que un déficit hídrico de moderado a severo indujo una reducción significativa en el contenido relativo de agua en hojas (CRA), tasa de crecimiento relativa (RGR), carotenoides, clorofila a y b y clorofila total en la etapa fenológica vegetativa, particularmente en *Capsicum chinense* (Okunlola *et al.*, 2017). En plantas de *C. annuum* L. cv. Cannon, sometido a déficit hídrico 23 días después del trasplante, se observó que la conductancia estomatal (gs) disminuyó a 114 y 13  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  bajo moderado y severo déficit hídrico, respectivamente. La asimilación de  $\text{CO}_2$  y la transpiración disminuyeron durante el déficit hídrico, pero se recuperaron después del riego (Campos *et al.*, 2014).

### **2.3.2 Solutos que se incrementan en respuesta al déficit hídrico**

Las condiciones ambientales interfieren en el desarrollo de la planta. El estrés por déficit hídrico modifica a la planta desde su desarrollo fenológico hasta su metabolismo (Covarrubias, 2007). Las modificaciones que hace la planta cuando está sometida a un estrés, son debidas a la adaptación para sobrevivir en el medio en el que se está desarrollando (Moreno y Liz, 2009).

La concentración de diversos solutos se ve modificada cuando la planta está sometida a un estrés hídrico, es decir, las plantas incrementan o disminuyen

diversos solutos para proteger sus estructuras celulares y proteínas (López *et al.*, 2009; Moreno y Liz, 2009). La acumulación de solutos en el citoplasma y vacuola por efecto de un estrés, conduce a una disminución del potencial osmótico. Cuando este potencial disminuye y se mantiene el contenido celular de agua se dice hay un ajuste osmótico (Rodríguez-Pérez, 2006). Entre estos solutos están los azúcares, prolina, glicina, betaína e iones como el potasio. Estos compuestos coadyuvan a disminuir los efectos metabólicos inhibitorios de las especies reactivas de oxígeno provocados por el estrés, y juegan un rol en la estabilización de enzimas y proteínas, y protección de la integridad de las membranas (López-Serrano *et al.*, 2017).

En el género *Capsicum*, cuando las plantas son sometidas a un déficit hídrico, solutos como la prolina y los azúcares solubles totales, se ven modificados para tolerar ese estado de estrés (Anjum *et al.*, 2012; Salazar y Hernández, 2018). La prolina tiene un papel importante en la tolerancia al estrés abiótico, debido a que está ampliamente distribuido en la parte aérea de la planta, concentrándose en grandes cantidades en el citoplasma de las células (Ashraf y Foolad, 2007). Okunlola *et al.* (2016) observaron un incremento de prolina en plantas de las especies *C. annum*, *C. chinense* y *C. frutescens*, que fueron sometidas a un déficit hídrico durante las etapas vegetativa, floración y fructificación, respecto a las plantas control.

### **2.3.3 Déficit hídrico y metabolitos secundarios**

Las plantas sintetizan una gran cantidad de metabolitos secundarios. Estos son compuestos de bajo peso molecular que no contribuyen a las funciones primarias intrínsecas de las plantas, pero han sido una ventaja para la evolución de las plantas que los expresan, contribuyendo en su defensa ante plagas y factores de estrés (Delgoda y Murray, 2017). Los niveles de estos metabolitos secundarios están influenciados principalmente por la interacción que tienen las plantas con las condiciones ambientales (Osakabe *et al.*, 2014). Dentro de los metabolitos secundarios, las especies de *Capsicum* contienen a los capsaicinoides, polifenoles, y flavonoides, las concentraciones de estos dependerán desde la especie hasta las

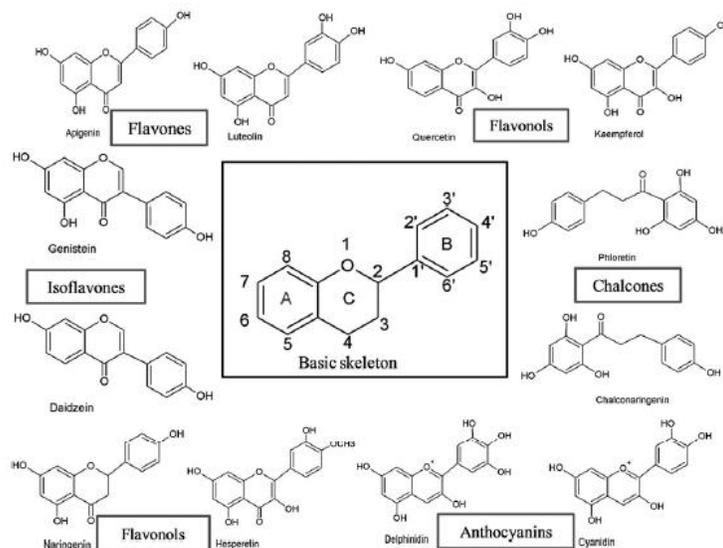
condiciones en las que se desarrollan (Vera-Guzmán *et al.*, 2011; Mendoza-Sánchez *et al.*, 2015).

### **2.3.3.1 Polifenoles**

Los polifenoles son uno de los grupos más grandes dentro de los metabolitos secundarios, tienen un rol importante en la mitigación del estrés oxidativo por su actividad antioxidante. Esta actividad antioxidante de los polifenoles puede proteger a las células de las especies reactivas de oxígeno (ROS), producidas por el estrés al que están siendo sometidas (Wang *et al.*, 2011). Los polifenoles son caracterizados principalmente por el número de anillos fenólicos, que poseen en su estructura molecular, siendo los principales grupos: flavonoides, ácidos fenólicos, alcoholes fenólicos, estilbenos, ligninas y lignanos (Tsao, 2010; Quiñones *et al.*, 2012). La concentración de compuestos fenólicos varía según la especie, variedad y el estado de madurez en el que se encuentre el fruto (Thige *et al.*, 2014). En frutos de *C. annuum* un factor principal que determina el contenido de polifenoles es el estado de madurez, debido a que estos aumentan con la maduración del fruto (Thige *et al.*, 2014; Mendoza-Sánchez *et al.*, 2015). Cuando la planta es sometida a un déficit hídrico este metabolito aumenta su concentración para protegerse del estrés oxidativo. Okunlola *et al.* (2017) observaron que un déficit hídrico severo incrementa la cantidad de compuestos fenólicos en las etapas vegetativa, floración y fructificación de *C. annuum*, *C. chinense*, y *C. frutescens*, principalmente en la etapa de floración en *C. chinense*. En contraste un déficit hídrico leve no modifica el contenido de estos compuestos.

### **2.3.3.2 Flavonoides**

Los flavonoides son el grupo más grande dentro de los compuestos fenólicos, están compuestos con más de 6500 moléculas, simplificadas en un esqueleto de 15 carbonos divididos en dos anillos A y B, unidos por tres puentes de carbono (Figura 4). De acuerdo a su posición en los puentes de carbonos son clasificados en: flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, flavanoles o catequinas, antocianinas y chalcones (Corradini *et al.*, 2011; Panche *et al.*, 2016).



**Figura 4.** Estructura de los flavonoides y sus clases (Panche *et al.*, 2016).

Los flavonoides tienen un papel importante en la naturaleza, para diversas especies de seres vivos. Esto se debe a que este metabolito es un compuesto que tiene grandes propiedades destacando las antioxidantes, anti-microbianas y aplicación farmacéutica (Martínez-Flórez *et al.*, 2002; Estrada-Reyes *et al.*, 2012; Gurnani *et al.*, 2016).

Al igual que en los polifenoles, la concentración de los flavonoides totales varía según la especie, variedad y el estado de madurez en el que se encuentre el fruto (Thige *et al.*, 2014). Sin embargo, en estudios recientes se ha observado que el contenido de flavonoides totales no se modifica por el estado de madurez del fruto en la especie *Capsicum annum* var. *glabriusculum* (De la Cruz, 2018). En *C. chinense* el efecto de estrés hídrico, sea leve o severo, no afecta el contenido de flavonoides durante la etapa vegetativa y de floración de *C. chinense*, pero si durante la etapa de fructificación (Okunlola *et al.*, 2017).

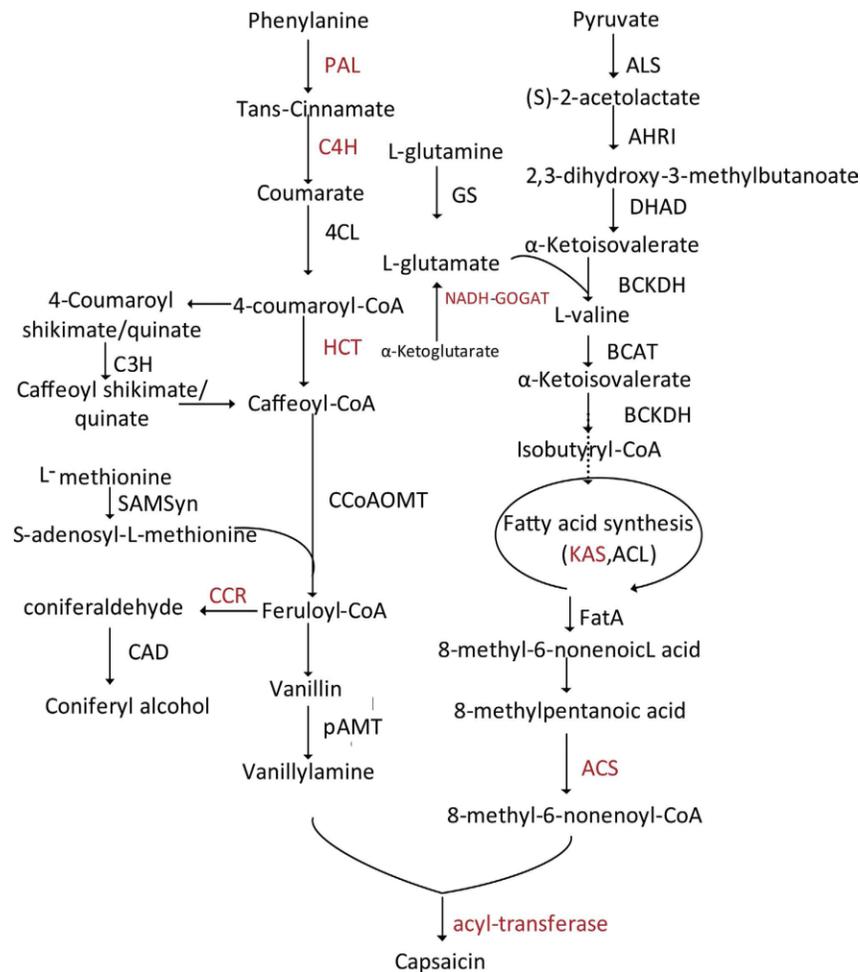
### 2.3.3.3 Capsaicinoides

Los capsaicinoides son metabolitos secundarios que se acumulan en las vesículas y vacuolas de células epidermales de la placenta de los chiles, y son responsables de la pungencia de las especies de *Capsicum*. Los principales

capsaicinoides son la capsaicina y dihidrocapsaicina, que constituyen el 90% del contenido total de estos compuestos. Los capsaicinoides son sintetizados por dos rutas: la ruta de los fenilpropanoides y la del metabolismo de los ácidos grasos, donde varias enzimas están involucradas, pero no todas están bien caracterizadas y las rutas de regulación no son aún bien entendidas en la biosíntesis de capsaicina (Figura 5).

Los capsaicinoides son ampliamente usados por sus propiedades medicinales, analgésicas, antiinflamatorias, antioxidantes, antiobesidad y anticancerígenas; y dermatológicas en la industria de cosméticos (Chapa-Oliver y Mejía-Teniente, 2016; Zhang *et al.*, 2016).

El rendimiento de capsaicinoides es una característica importante en la industria de extracción, y es definido como la combinación del contenido total de capsaicinoides y el rendimiento en peso seco del genotipo (Jeeatid *et al.*, 2018). La acumulación de la capsaicinoides en frutos de *Capsicum* depende de los días después de la polinización (Cuadro 1) (Zhang *et al.*, 2016).



**Figura 5.** Rutas principales de la biosíntesis de capsaicina. Adaptado de Zhang et al. (2016).

**Cuadro 1.** Contenido de capsaicinoides en la placenta del fruto de *C. frutescens* L. a diferentes días después de polinización (DAP).

Contenido	DAP				
	10	20	30	40	50
<b>Capsaicinoides (mg g<sup>-1</sup>)</b>	0.08	1.06	13.82	71.37	54.26

Al igual que otros metabolitos secundarios, la concentración de capsaicina puede ser afectada por el estrés (Chapa-Oliver y Mejía-Teniente, 2016). Jeeatid *et al.* (2018), muestran que diferentes cultivares de *C. chinense* plantados con cuatro regímenes de agua después de anthesis (irrigación diaria, cada dos días, cada tres días y cada cuatro días) incrementaron el rendimiento de capsaicina, pero redujeron el rendimiento de frutos secos comparados con el control. Aunque los incrementos fueron diferenciales dependiendo del cultivar. Por otra parte, Ruiz-Lau *et al.* (2011) observaron que en *C. chinense*, las plantas bajo déficit hídrico presentaron menor altura y peso seco de raíces. Aun cuando no observaron efecto en el crecimiento y rendimiento de frutos, las concentraciones de capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos se incrementaron en las plantas con estrés en comparación con el control, y estuvieron relacionadas con la edad del fruto y la severidad del estrés.

## CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1 Obtención del material biológico

Los frutos maduros de color rojo de chile Amashito se recolectaron de poblaciones silvestres del Ejido Rafael Martínez de Escobar, del municipio de Huimanguillo, Tabasco, México (17°43'18.2" N, 93°23'10.7" O). Las semillas, una vez extraídas, se lavaron con agua destilada para eliminar los restos de placenta y fueron secadas a temperatura ambiente (25 °C).

### 3.2 Sitio experimental

El experimento se realizó en condiciones de invernadero, en el área de Fisiología Vegetal del Colegio de Postgraduados-Campus Tabasco. El invernadero está cubierto con malla antiáfidos.

### 3.3 Siembra y trasplante

La siembra se realizó el 15 de mayo de 2018, empleando 150 semillas, previamente desinfectadas con solución de hipoclorito de sodio (Cloralex, 10:1) y tratadas con ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) a 500 mg L<sup>-1</sup> durante 24 horas (Prado-Urbina *et al.*, 2015). Las semillas se germinaron en charolas utilizando un sustrato compuesto de suelo:composta:vermiculita (10:2:1). El trasplante se realizó a los 20 días después de siembra en bolsas plásticas de 5 kilos, conteniendo el mismo sustrato (Figura 6).



**Figura 6.** Plántulas trasplantadas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*

### **3.4 Aplicación de tratamientos de déficit hídrico**

Dos experimentos independientes fueron establecidos. El Experimento 1 para evaluar el efecto del déficit hídrico aplicado durante la etapa vegetativa en el crecimiento y producción de chile Amashito, y el experimento 2, para evaluar el efecto desde el inicio de floración. Ambos experimentos se establecieron bajo un diseño completamente al azar en arreglo factorial 2x4, con 4 repeticiones por fecha de muestreo. Los factores fueron dos tratamientos de riego y cuatro fechas de muestreo.

Los tratamientos de riego fueron:

- a) Tratamiento control (riego durante todo el ciclo de cultivo para mantener la humedad del sustrato a capacidad de campo (CC).
- b) Tratamiento de déficit hídrico (aplicación de 50 % del volumen de agua aplicado al tratamiento control).

En el Experimento 1 el tratamiento de déficit hídrico se aplicó durante la etapa vegetativa, reanudándose el riego a CC desde la etapa de inicio de floración. En el Experimento 2 durante la etapa vegetativa se aplicó riego a CC y el tratamiento de déficit hídrico inició a floración. Las fechas de muestreo de biomasa para el Experimento 1 fueron 30, 60, 90 días después del trasplante (DDT), y a maduración de frutos. Para el experimento 2 fueron inicio de antesis, 15 y 30 días después de antesis (DDA) y a maduración de frutos.

Cada Experimento estuvo conformado por 20 plantas por tratamiento. La humedad del sustrato de cada tratamiento fue ajustada en cada maceta y tratamiento con un medidor de pH y Humedad de suelo marca Kelway Soil®, basándose en los porcentajes de humedad disponible a capacidad de campo (35.8 %) y punto de marchitez permanente (23.1 %) del sustrato previamente determinada a partir del análisis de suelo. Para conocer cuanta cantidad de agua se debía aplicar a cada maceta para mantener la humedad del sustrato a CC, el volumen de la cantidad agua aplicada fue medido; conociendo este volumen, a las macetas en tratamiento de déficit hídrico, se les aplicó el 50 % del volumen aplicado a las de

CC. Cada tercer día se midió el porcentaje de humedad en las macetas y se ajustó la humedad del sustrato de acuerdo al tratamiento.

### **3.5 Análisis de suelo**

Previo a la instalación del experimento, se realizó la curva de retención de humedad del sustrato por el Laboratorio de Física de Suelos del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. A partir de dicha curva se calcularon los porcentajes de humedad a capacidad de campo (CC) y punto de marchitez permanente (PMP). Para el análisis de fertilidad del sustrato se determinó pH, MO, textura, N, P y K. La textura fue determinada mediante el método de Bouyoucos; el pH con un potenciómetro (suelo: agua 1:2); la MO mediante el método de Walkley y Black; N por el método de Kjeldahl; P por el método de Bray I; y K (extraído con  $\text{AcONH}_4$  1N pH 7.0 y cuantificado mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica).

### **3.6 Variables de respuesta**

#### **3.6.1 Etapas fenológicas**

Las etapas fenológicas registradas fueron:

**Experimento 1.** Fecha de siembra y de emergencia de plántula, días a la primera bifurcación del tallo, días a inicio de floración, días a inicio y fin de fructificación. Para conocer el tiempo de maduración de los frutos de chile, las diez primeras flores fueron marcadas con etiquetas y se les dio seguimiento hasta maduración del fruto.

**Experimento 2.** Fecha de inicio de floración, días a inicio y fin de fructificación. Para conocer el tiempo de maduración de los frutos de chile, las diez primeras flores fueron marcadas con etiquetas y se les dio seguimiento hasta maduración del fruto.

#### **3.6.2 Biomasa aérea y radicular**

En el Experimento 1, a partir de la aplicación del tratamiento después del trasplante, se tomaron tres muestreos de biomasa cada 30 días para evaluar la

producción de biomasa aérea, y el último muestreo se realizó hasta obtener frutos rojos.

Para el Experimento 2, los muestreos de biomasa iniciaron en la antesis, posteriormente cada 15 días, y el último hasta obtener frutos rojos, para completar cuatro muestreos.

En cada muestreo se separaron hojas, tallos y raíces, y se secaron en estufa de aire forzado a 60 °C durante 48 h para determinar el peso seco. El tratamiento control en ambos experimentos siguió el mismo proceso que cada uno de los tratamientos con estrés por déficit hídrico. Posterior a la determinación del peso seco, las muestras fueron molidas y almacenadas para análisis bioquímicos.

En ambos experimentos se midió la longitud de raíces, en cm.

### **3.6.3 Área foliar**

En ambos experimentos, el área foliar expresada en cm<sup>2</sup>, se determinó en cada fecha de muestreo por tratamiento, utilizando un medidor de área foliar marca Licor modelo LI-3100C. El área foliar específica se calculó dividiendo el área foliar entre la biomasa seca de hojas y se expresó en cm<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>.

### **3.6.4 Altura de planta y a la primera bifurcación**

En ambos experimentos, la altura a la primera bifurcación y la altura total de la planta, en cm, se midió en cada muestreo por tratamiento, utilizando una regla métrica.

### **3.6.5 Pigmentos fotosintéticos**

En ambos experimentos, para la determinación de la concentración de pigmentos fotosintéticos se tomaron muestras foliares de 1 cm<sup>2</sup> por triplicado de cada tratamiento y muestreo. Los discos se colocaron en tubos de ensaye con 5 mL con N,N-Dimetilformamida y se mantuvieron en oscuridad durante 24 h. Al término, las absorbancias fueron leídas a 448, 647 y 664 nm en un espectrofotómetro UV-VIS marca Thermo Scientific modelo Multiskan Go. La concentración de clorofila a, b, total y carotenoides se realizó de acuerdo con Moran (1982).

### 3.6.6 Contenido relativo de agua (CRA)

En cada muestreo y tratamiento de ambos experimentos, tres hojas maduras por repetición fueron seleccionadas al azar y de ellas se cortaron seis discos de 1 cm<sup>2</sup> (2 discos por hoja). Los discos fueron pesados para obtener el peso fresco (PF) e inmediatamente se colocaron en agua destilada dentro de tubos falcón y se almacenaron a 5 °C en oscuridad. Después de 24 h, el peso túrgido (PT) fue tomado después de eliminar el exceso de agua con papel absorbente. Para el peso seco (PS) los discos fueron secados en estufa de aire forzado a 60 °C por 48 h.

El CRA se calculó con la fórmula de Barrs y Weatherley (1962):

$$CRA(\%) = \frac{(PF - PS)}{(PT - PS)} \times 100$$

### 3.6.7 Prolina

La acumulación de prolina libre se cuantificó en hojas y raíces de acuerdo a Bates *et al.* (1973). La prolina libre fue extraída de las hojas, pesando 250 mg en fresco, los que se colocaron en un mortero, se adicionaron 5 mL de ácido sulfosalicílico al 3 % (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S). Enseguida, las muestras fueron filtradas con papel filtro en tubos de ensaye; del filtrado se tomó 1 mL y se colocó en tubos de ensaye de 15 mL, se le agregó 1 mL de la reacción de ninhidrina [1.25 g de ninhidrina, 30 mL de ácido acético glacial, 20 mL de ácido fosfórico 6 M (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) y 1 mL de ácido acético glacial]. El contenido de los tubos de ensaye se mezcló en vortex y se incubaron a baño María a una temperatura de 100 °C durante 1 h. Transcurrido el tiempo se detuvo la reacción colocando los tubos en agua fría y entonces se le agregaron 2 mL de tolueno a cada muestra y se agitaron vigorosamente en un vortex. Todo se dejó reposar durante 5 min para la separación de la fase orgánica (superior). La absorbancia de esta fase fue leída a 520 nm en un espectrofotómetro UV-vis marca Thermo Scientific modelo Multiskan Go. La concentración de prolina en hojas fue determinada a partir de una curva de calibración de 0.10 a 0.80 μM mL<sup>-1</sup> usando L-Proline [Sigma Aldrich ®, ReagentPlus, ≥ 99 % (HPLC)].

### **3.6.8 Desengrasado de muestra**

Las muestras de hojas y raíces se desengrasaron con hexano al 95 % en una relación de muestra/hexano 1:10 (p/v), antes de los análisis de azúcares solubles totales y polifenoles totales. Para ello, la mezcla se mantuvo en agitación constante a 280 rpm a 4 °C durante 2 h, usando un agitador orbital marca Solbal E-15, transcurrido el tiempo la mezcla fue centrifugada a 10 000 rpm por 10 min a 4 °C. El sobrenadante se decantó utilizando papel de filtro (Whatman No. 41 sin ceniza) para recuperar el precipitado resultante libre de grasa, y se dejó secar a temperatura ambiente hasta la total evaporación del solvente. Los polvos secos se almacenaron a 4 °C para conservarlos, hasta su análisis.

### **3.6.9 Azúcares solubles totales**

Para la extracción se pesaron por triplicado 200 mg de muestra (raíz y hojas) previamente desengrasada y seca, se colocaron en tubos de ensaye de 20 mL. A cada muestra se le adicionaron 3 mL de etanol absoluto y se procedió a colocarlos a baño María a 70 °C por 5 min. Al término, cuidadosamente sin arrastrar sedimentos se recuperó el sobrenadante en un matraz Erlenmeyer de 50 mL. Este proceso fue repetido cuatro veces bajo las mismas condiciones. El sobrenadante recuperado fue secado en una parrilla a 70 °C hasta su total evaporación, y el residuo resuspendido en 1 mL de agua destilada. El extracto fue vaciado en tubos eppendorf y almacenado a -20 °C, para su conservación, hasta ser analizados.

La determinación para cuantificar los azúcares solubles totales se realizó por el método de Somogyi (1952). Las muestras fueron diluidas a diferentes concentraciones 1:10 y 1:20. De esta dilución, se tomaron 300 µL y se colocaron en tubos de ensaye, se les adicionó 300 µL de agua destilada y 3 mL de una mezcla de antrona (100 mg de antrona, 2.5 mL de etanol absoluto, aforar a 100 mL con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 75 %). Las muestras se mezclaron en un vortex y se colocaron en hielo durante 5 min. Al término, se colocaron en baño María a 100 °C durante 10 min, transcurrido el tiempo, las mezclas se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Para la curva de calibración se pesaron 12.5 mg de glucosa (Sigma Aldrich ®) y se diluyeron en 5 mL de agua destilada (concentración 2.5 mg mL<sup>-1</sup>), partiendo de esta

se tomaron concentraciones entre 0 y 250  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . La absorbancia se leyó 625 nm en un espectrofotómetro UV-vis marca Thermo Scientific modelo Multiskan Go. Los análisis se realizaron por triplicado.

### **3.6.10 Polifenoles totales**

La extracción de polifenoles totales se realizó con el método descrito por Bautista-Rodríguez *et al.* (2017). Se pesaron por triplicado 250 mg de muestra de hojas previamente desengrasada y seca, se colocaron en tubos eppendorf de 1.5 mL. Se le adicionó 1 mL de metanol al 80 % y se mezclaron en un vortex, luego se colocaron en baño María a 50 °C durante 15 min. Seguidamente, las muestras fueron centrifugadas a 10 000 rpm por 15 min en una microcentrifuga Thermo Fisher Scientific, modelo 11210800. El sobrenadante se recuperó decantándolo en otro tubo, y el residuo se lavó nuevamente agitándolo con 0.5 mL de metanol al 100 %. Ambos sobrenadantes se recuperaron y el volumen se ajustó a 1.5 mL con agua destilada. Las muestras se almacenaron a -20 °C protegidas de la luz.

Para la cuantificación se tomaron 0.2 mL del extracto obtenido y se le adicionaron 1.5 mL de agua destilada, 0.1 mL del reactivo Folin-Denis al 50 % y 0.2 mL de carbonato de sodio anhidro al 15 % ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). Las muestras se mezclaron en vortex y se incubaron durante 30 min en la oscuridad. Para la curva de calibración se preparó una solución stock de 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de ácido gálico (3,4,5-Trihydroxibenzoic acid, Sigma-Aldrich® St. Louis, MO USA). A partir de la solución stock, se realizaron soluciones estándar de 0 a 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . La absorbancia se leyó a 765 nm en un espectrofotómetro UV-vis marca Thermo Scientific modelo Multiskan Go. Los análisis se realizaron por triplicado.

### **3.6.11 Flavonoides totales**

La extracción de los flavonoides totales se realizó con el método descrito por Álvarez-Parrilla *et al.* (2011). 0.5 g de muestra de hojas se pesaron por triplicado, se colocaron en tubos de nalgene de 50 mL y se les adicionó 3.125 mL de metanol al 80 % ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ). La mezcla se agitó a 250 rpm durante 30 min en oscuridad, usando un agitador orbital marca Solbal E-15. Al término, se centrifugó a 10000 rpm

por 5 min y se decantó para recuperar el sobrenadante. Este proceso fue repetido dos veces bajo las mismas condiciones. Los extractos fueron almacenados en oscuridad a 5 °C.

La cuantificación se realizó con la metodología descrita por Menichini *et al.* (2009). 200 µL del extracto se colocaron en tubos eppendorf de 2 mL, se les añadió 800 µL de agua destilada para hacer un volumen de 1000 µL. Seguidamente, se adicionó (tiempo cero) 60 µL de nitrato de sodio al 5 % (NaNO<sub>3</sub>). Transcurridos 5 minutos, se añadieron 120 µL de cloruro de aluminio al 10% (AlCl<sub>3</sub>) y a los 6 min se añadieron 400 µL de hidróxido de sodio 1 M (NaOH), seguido de 420 µL de agua destilada para un volumen final de 2000 µL. Inmediatamente se leyó la absorbancia a 510 nm en un espectrofotómetro UV-vis (Multiskan Go model 51119300; Thermo Fisher Scientific, FI-01621 Vantaa, Finland). Para la curva de calibración se preparó una solución stock de 1000 µg mL<sup>-1</sup> de Quercetin al 95 % [2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one], a partir de esta solución stock se tomaron concentraciones de 100 a 1000 µg mL<sup>-1</sup>. El contenido de flavonoides totales se expresó en mg g<sup>-1</sup>. Los análisis se hicieron por triplicado.

### **3.6.12 Contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos**

Para la extracción se utilizó el método descrito por Collins *et al.* (1995) y Nwokem *et al.* (2010) con modificaciones. 0.5 g de fruto, previamente seco y molido, se pesaron y colocaron en tubos de ensayo con tapa, y se les adicionaron 5 mL de metanol (1:10 v/v). Los tubos se colocaron en baño maría a 80 °C por 4 h y se agitaron manualmente cada hora. Al término del tiempo, las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y fueron filtradas con papel Whatman No. 4. Se depositaron 1.5 mL del filtrado en viales de 2 mL, y se almacenaron a 5 °C hasta su uso.

La detección y cuantificación de los analitos se realizó en un cromatógrafo de gases (GC) marca Varian modelo Saturno 2100T, acoplado a un espectrofotómetro de masas con triple cuadrupolo modo full scan (MS) y energía de ionización (EI) de 70eV. La columna utilizada fue una VF-5ms que tiene una fase estacionaria de 5 % difenil, 95 % dimetilpolisiloxano, de 30 m x 0.25 mm id. Una alícuota de 1 µL del

extracto fue inyectado al GC-MS. Las condiciones de temperatura de la columna fueron de 228 °C por 1 min, incrementando a 230 °C a una velocidad de 0.2 °C min<sup>-1</sup>, manteniendo constante por 7 min, para un tiempo total de 18 min de corrida cromatográfica. El gas acarreador usado fue helio a un flujo de 1.2 mL min<sup>-1</sup>. Para la curva de calibración se preparó una solución madre de 2000 mg L<sup>-1</sup> con capsaicina [(8-methyl-N-vanillyl-trans-6-nonenamide) de *Capsicum* con 95 % de pureza; Reg. 2816484 Sigma Aldrich®, St. Louis, Missouri, USA] y dihidrocapsaicina (8-methyl-N-vanillylnonanamide de *Capsicum* con 90 % de pureza; Reg. 2815150 Sigma Aldrich®, St. Louis, Missouri, USA). A partir de estas soluciones estándar se hicieron diluciones de 100, 200 y 600 mg L<sup>-1</sup> utilizando metanol grado cromatográfico. El contenido de capsaicinoides se expresó en mg g<sup>-1</sup>.

### **3.6.13 Rendimiento de frutos**

Al final en cada tratamiento por experimento, los frutos maduros de cada planta fueron recolectados durante el periodo de fructificación, se contaron, midieron el largo y ancho con un calibrador digital, y se pesaron en una balanza analítica para obtener el rendimiento final por planta.

### **3.7 Análisis estadístico**

Los datos de cada experimento fueron analizados separadamente, utilizando un diseño completamente al azar en arreglo factorial 2 x 4, con cinco repeticiones. Se realizaron los análisis de varianza, considerando los factores de régimen hídrico y fechas de muestreo. Cuando el ANAVA resultó significativo se aplicó la prueba de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Características fisicoquímicas del sustrato

La textura del sustrato utilizado para las macetas del experimento se clasificó como franca (Cuadro 2). De acuerdo a la norma oficial mexicana NOM-021-RECNAT-2000, el pH es neutro, con un contenido de MO alto, rico en N, bajo en P, adecuada CIC, alto en Ca y Mg y bajo en K. En general el suelo es de mediana fertilidad.

**Cuadro 2.** Características del sustrato utilizado en las macetas de la especie *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*.

Textura	Arena	Arcilla	Limo	pH	MO	N	P	CIC	Ca	Mg	K
	%				%	mg kg <sup>-1</sup>					
Franco	41.12	24.5	34.38	7.1	5.2	0.25	5.9	21.55	14.7	6.6	0.25

### 4.2 Aplicación del déficit hídrico durante la etapa vegetativa

#### 4.2.1 Crecimiento

##### 4.2.1.1 *Altura de planta, a la primera bifurcación y longitud de raíz*

El Cuadro 3 muestra que el efecto del régimen hídrico aplicado (humedad disponible del sustrato) fue altamente significativo para altura de planta ( $P<0.001$ ), significativo para longitud de raíz ( $P<0.01$ ) y altura de tallo a la primera bifurcación ( $P<0.05$ ). El efecto días después del trasplante (DDT) solo fue no significativo para la altura del tallo a la primera bifurcación; el de la interacción DDT x régimen hídrico solo para la altura de planta. Es decir, la altura del tallo a la primera bifurcación y la longitud de raíz varían en función de los DDT y del contenido de la humedad disponible en el sustrato.

Las plantas de chile mostraron mayor altura de planta y altura de tallo a la primera bifurcación en el tratamiento control comparado con el tratamiento de déficit hídrico

(Figura 7). En la cosecha, la altura de planta en el tratamiento control fue 24.2 % mayor que en el de déficit hídrico.

**Cuadro 3.** Cuadrados medios y significancia del ANOVA para altura de planta, altura del tallo a la primera bifurcación y longitud de raíz de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, sometido a déficit hídrico durante la etapa vegetativa.

Factor de variación	gL	Altura de	Altura tallo 1ra	Longitud
		planta	bifurcación	raíz
		cm		
<b>Régimen hídrico (RH)</b>	1	15400.1***	236.5*	612.5**
<b>Días después del trasplante (DDT)</b>	3	28329.3***	150.3 NS	1177.5***
<b>RH*DDT</b>	3	347.1 NS	170.6*	348.3**
<b>Error</b>	24	143.4	53.41	47.5

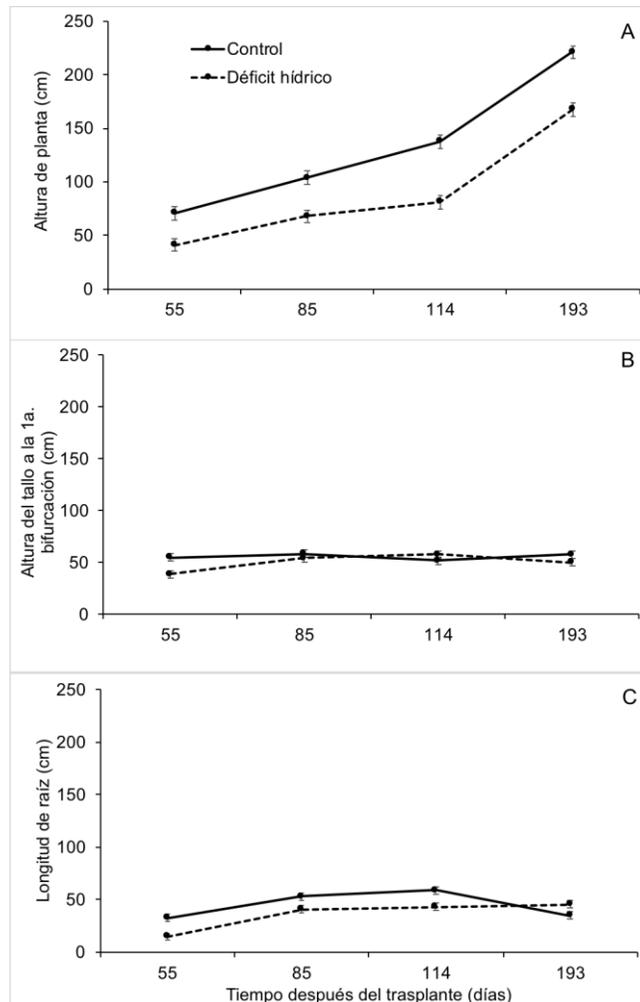
gL= grados de libertad, \*= $P < 0.05$ , \*\*= $P < 0.01$ , \*\*\*= $P < 0.001$ , NS= No significativo

La reducción del volumen de agua en el tratamiento de déficit hídrico produjo un menor crecimiento en la altura del tallo a la primera bifurcación solo a los 55 días después del trasplante (Figura 7B), indicando que las plantas bajo déficit hídrico necesitaron menor tiempo para alcanzar la primera bifurcación (38.5 días vs 54.75 días).

El mayor crecimiento presentado en altura de las plantas de chile Amashito, cuando no están expuesta al estrés por déficit hídrico, es resultado del adecuado suministro de agua proporcionado por la humedad del sustrato a capacidad de campo, lo que mantiene hidratados los tejidos para la realización de las funciones fisiológicas del tejido foliar (Medrano *et al.*, 2007; Sun *et al.*, 2019), y coincide con los resultados de Okunlola *et al.* (2017) quienes observaron en *C. annuum*, *C. chinense* y *C. frutescens* una mayor tasa relativa de crecimiento por día ( $\text{mg g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ ) en el tratamiento sin déficit hídrico.

La longitud de raíces fue mayor en el tratamiento control respecto al de déficit hídrico, lo que puede ser una ventaja para extraer agua del suelo y apoyar el

crecimiento acelerado de la parte aérea durante la etapa vegetativa (Kulkarni y Phalke, 2009).

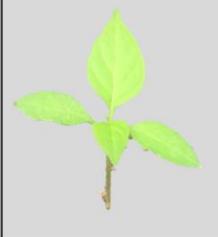


**Figura 7.** Altura de planta (A), altura del tallo a la primera bifurcación (B) y longitud de raíz (C) de plantas de chile Amashito en el transcurso del crecimiento cuando se aplica un estrés por déficit hídrico durante la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar (n=5).

#### 4.2.1.2 Duración de etapas fenológicas

La reducción de agua aplicada a las plantas de chile Amashito durante la etapa vegetativa incrementó el número de días a aparición de las primeras cuatro hojas

verdaderas, a trasplante, a primera bifurcación del tallo e inicio de floración (Figuras 8 y 9).

				
10 Germinación	17 Aparición hojas verdaderas	30 Trasplante	46 Primera bifurcación	182 Inicio de floración
Días después de siembra				

**Figura 8.** Duración de cada etapa fenológica de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* cuando se aplicó riego a capacidad de campo (CC).

				
10 Germinación	28 Aparición hojas verdaderas	39 Trasplante	67 Primera bifurcación	196 Inicio de floración
Días después de siembra				

**Figura 9.** Duración de cada etapa fenológica de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* sometido a un déficit hídrico (50% de CC), durante la etapa vegetativa.

## 4.2.2 Acumulación de biomasa

### 4.2.2.1 Producción de área foliar y biomasa aérea y radical

El régimen hídrico aplicado afectó significativamente el área foliar y la biomasa aérea y radical (Cuadro 4). Todas las variables foliares y de biomasa fueron afectadas por los días después del trasplante.

La interacción régimen hídrico x edad de la planta solo fue no significativa para el área foliar específica; indicando que tanto el área foliar como la biomasa aérea, radical y su relación son afectadas tanto por los días después del trasplante como por el régimen hídrico aplicado.

El déficit hídrico afecta negativamente el desarrollo del área foliar dado que restringe el área disponible para realizar el proceso fotosintético, lo cual se traduce en una reducción de biomasa tanto aérea, como de raíz (Kulkarni y Phalke, 2009; De la Cruz-Guzmán *et al.*, 2010; Hernández, 2015). Este comportamiento es similar a los resultados obtenidos en *C. frutescens* L. y *C. annuum* L., sometidos a las mismas condiciones de estrés (Nieto-Garibay *et al.*, 2009).

**Cuadro 4.** Cuadrados medios y significancia del ANOVA para el área foliar y la biomasa seca de la parte aérea y radical, en *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, sometido a déficit hídrico, durante la etapa vegetativa.

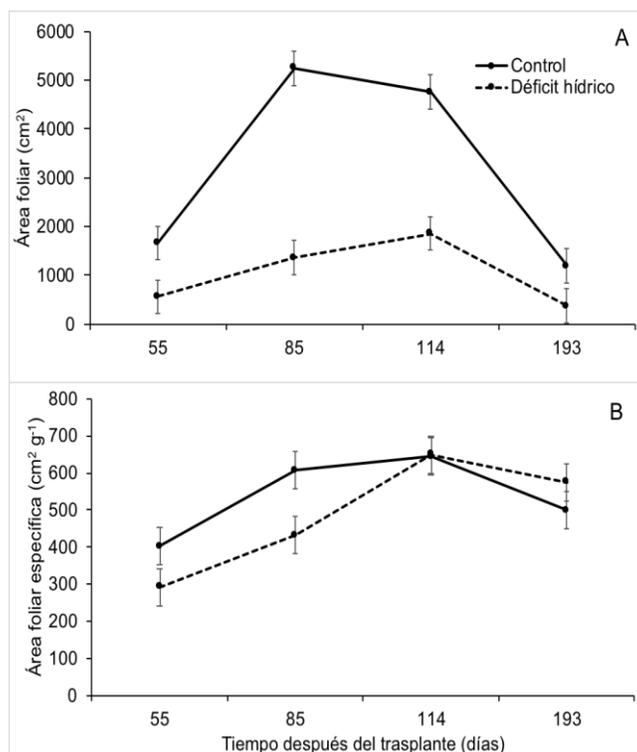
Factor de variación	gL	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Área foliar específica (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	Biomasa seca		
				Raíz (R)	Aérea (A)	Relación A/R
<b>Régimen hídrico (RH)</b>	1	38032281.1***	20561.5 NS	77.8***	2036.6***	2.3 NS
<b>Días después del trasplante (DDT)</b>	3	15005772.5***	122831.8***	424.1***	2570.6***	23.3***
<b>RH*DDT</b>	3	4293205.1***	25504 NS	16.36*	237.7***	5.5***
<b>Error</b>	24	491891.3	1132.74	4.9	9.1	0.71

gL= grados de libertad, \*= $P < 0.05$ , \*\*= $P < 0.01$ , \*\*\*= $P < 0.001$ , NS= No significativo

El área foliar se incrementó conforme avanzaron los DDT de plantas de Chile Amashito, disminuyendo durante la etapa de floración y fructificación en ambos regímenes hídricos (Figura 10).

En el tratamiento control, la mayor área foliar se observó a los 85 días después del trasplante (5249.2 cm<sup>2</sup>), disminuyendo fuertemente a los 193 días después del trasplante (1192.0 cm<sup>2</sup>).

El mismo comportamiento presentó el área foliar en el tratamiento de déficit hídrico. En este tratamiento la mayor área foliar fue al final de la etapa vegetativa, 114 días después del trasplante (1189.9 cm<sup>2</sup>), quedando a los 193 días después del trasplante con solo 366.5 cm<sup>2</sup> de área foliar (Figura 10A).

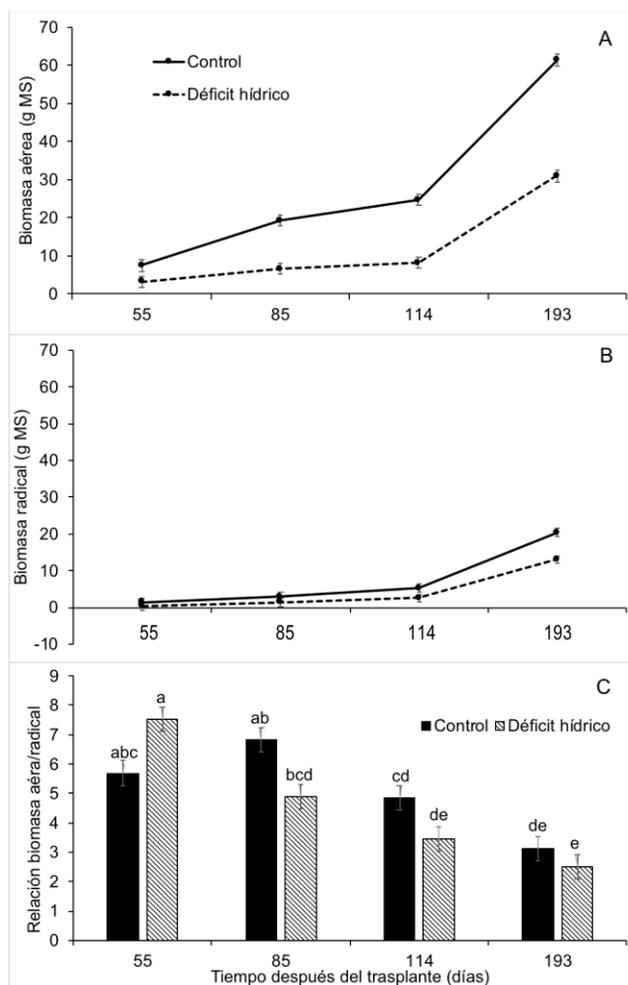


**Figura 10.** Evolución del área foliar (A) y del área foliar específica (B) en plantas de *C. annuum* var. *glabriusculum* sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar (n=5).

El área foliar específica se incrementa en ambos regímenes hídricos hasta los 114 días después del trasplante, teniendo mayor área foliar por gramo de peso seco

las hojas en el tratamiento control, es decir son más delgadas. A partir de los 114 días y hasta los 193 días después del trasplante se observa una reducción del área foliar específica en ambos tratamientos, es decir las hojas se engrosan (Figura 10B).

Similar al área foliar, la biomasa aérea de las plantas de chile Amashito incrementa conforme avanza la edad, siendo siempre mayor en el tratamiento control (Figura 11A). La mayor longitud de raíz observada en las plantas de chile del tratamiento control se refleja en mayor peso de raíces en este tratamiento (Figura 11B). El déficit hídrico disminuyó la biomasa aérea y el peso de las raíces durante todo el periodo de estudio. Esta reducción en biomasa aérea y radical por efecto de un déficit hídrico ha sido observada en otras especies de *Capsicum* por Kulkarni y Phalke (2009).



**Figura 11.** Acumulación de biomasa aérea (A), de raíz (B) y relación biomasa aérea/raíz durante el crecimiento de *C. annuum* var. *glabriusculum* sometido a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar (n= 5). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

La relación biomasa aérea/raíz de las plantas de chile disminuye con los DDT, en ambos regímenes de humedad, sin diferencias significativas entre el tratamiento control y el de déficit hídrico en cada edad de la planta. La mayor relación biomasa aérea/raíz se observó a los 55 días después del trasplante en plantas sometidas a déficit hídrico (Figura 11C) indicando el menor desarrollo de raíz en este tratamiento. Este resultado coincide con lo observado en otras especies de *Capsicum*, que cuando son sometidas al déficit hídrico, estas dirigen menos fotoasimilados hacia

los órganos foliares y más hacia las raíces, resultando en una mayor relación biomasa aérea/raíz (Okunlola *et al.*, 2017).

#### 4.2.3 Pigmentos fotosintéticos

El régimen hídrico aplicado a las plantas en estudio no causó efecto significativo en el contenido de pigmentos fotosintéticos, pero estos variaron significativamente por efecto de días después de trasplante. La interacción régimen hídrico x días después de trasplante no mostró efecto significativo en las concentraciones de alguno de los pigmentos fotosintéticos evaluados (Cuadro 5).

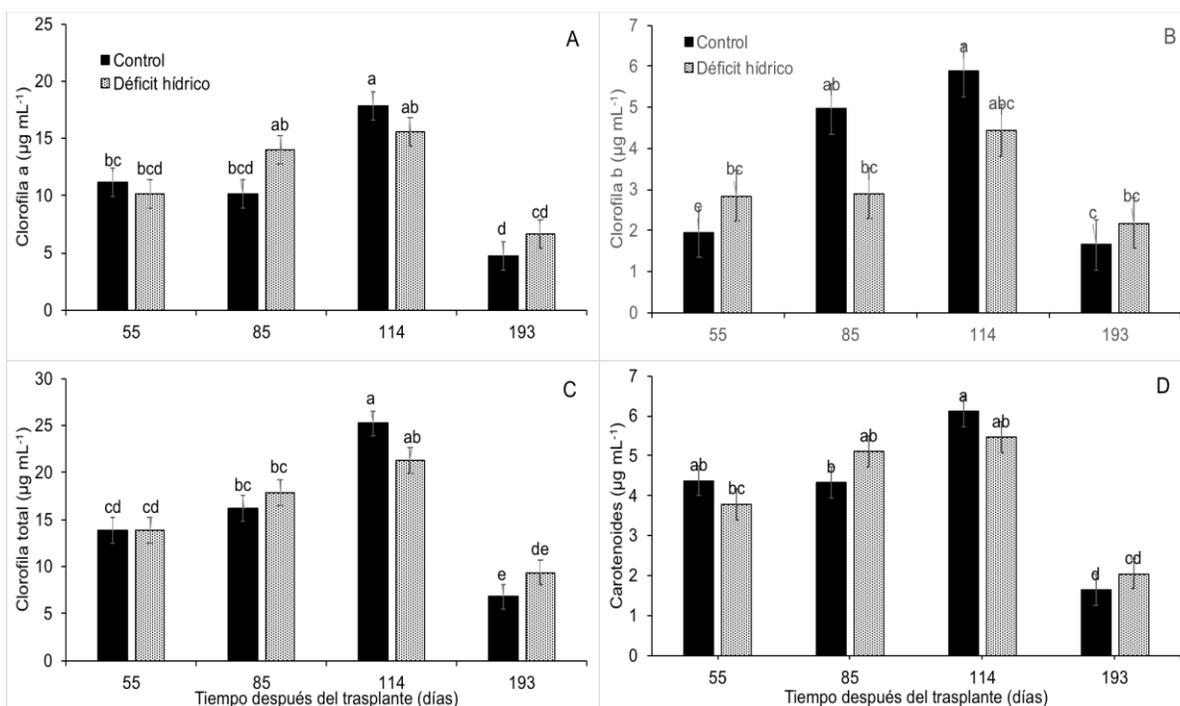
**Cuadro 5.** Cuadrados medios y significancia del ANOVA para la concentración de pigmentos fotosintéticos en plantas de *Capsicum annum var. glabriusculum* sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa.

Factor de variación	gL	Clorofila	Clorofila	Clorofila	Carotenoides
		a	b	total	
$\mu\text{g mL}^{-1}$					
<b>Régimen hídrico</b>					
<b>(RH)</b>	1	3.04 NS	2.2 NS	0.02 NS	2.8 NS
<b>Días después del</b>					
<b>trasplante (DDT)</b>	3	164.3***	17.6***	320.6***	22.3***
<b>RH*DDT</b>	3	141.8 NS	4.2 NS	16.6 NS	1.02 NS
<b>Error</b>	24	6.1	1.6	7.1	0.57

gL= grados de libertad, \*= $P<0.05$ , \*\*= $P<0.01$ , \*\*\*= $P<0.001$ , NS= No significativo

Para que la planta lleve a cabo el proceso fotosintético, a través del intercambio gaseoso por los estomas, es necesario que los pigmentos fotosintéticos presentes en la membrana de los tilacoides capten fotones de luz, actividad que está relacionada con la cantidad de radiación fotosintéticamente activa incidente y el estatus hídrico de la planta (Taiz y Zeiger, 2010). Este estatus hídrico de una planta es resultado de la disponibilidad de agua en el suelo. La falta de agua en el suelo y las altas temperaturas son factores que afectan las concentraciones de clorofila, al causar la foto-oxidación de los pigmentos y la descomposición de la clorofila

afectando la productividad primaria (Okunlola *et al.*, 2017). Sin embargo, estos autores observaron que en *C. chinense* y *C. frutescens*, el déficit hídrico aun cuando reduce las concentraciones de pigmentos fotosintéticos durante la etapa vegetativa, la concentración se mantiene durante las etapas de floración y fructificación lo que las hace más tolerantes a este estrés. En este estudio, las plantas de Chile Amashito no presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en las concentraciones de clorofila a, b y total durante la fase vegetativa (55 a 114 días después del trasplante) y de fructificación, por efecto del déficit hídrico aplicado respecto al tratamiento control (Figura 12 A, B, C y D).



**Figura 12.** Concentración de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) y de carotenoides (D) en plantas de *C. annuum* var. *glabriusculum* sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

Para todos los pigmentos fotosintéticos se observó el efecto significativo de días después del trasplante, observándose un incremento tanto en el tratamiento Control como en el de déficit hídrico, hasta los 114 DDT, para después disminuir.

Incremento asociado a la edad del material foliar, el cual al llegar a la etapa de inicio de floración algunas hojas maduras empiezan la senescencia. Este mantenimiento de la concentración en pigmentos fotosintéticos aún en el tratamiento de déficit hídrico, parece indicar que esta especie de Chile tiene la capacidad de adaptabilidad al déficit hídrico como defensa para su sobrevivencia (Manrique, 2003; Okunlola *et al.*, 2017); el mismo efecto fue observado para el contenido de carotenoides (Figura 12D).

#### 4.2.4 Contenido relativo de agua (CRA)

El régimen hídrico aplicado no produjo efecto significativo en el contenido relativo del agua (CRA), sin embargo, el efecto de días después de trasplante sí fue significativo para esta variable. La interacción de régimen hídrico x días después del trasplante no fue significativa (Cuadro 6).

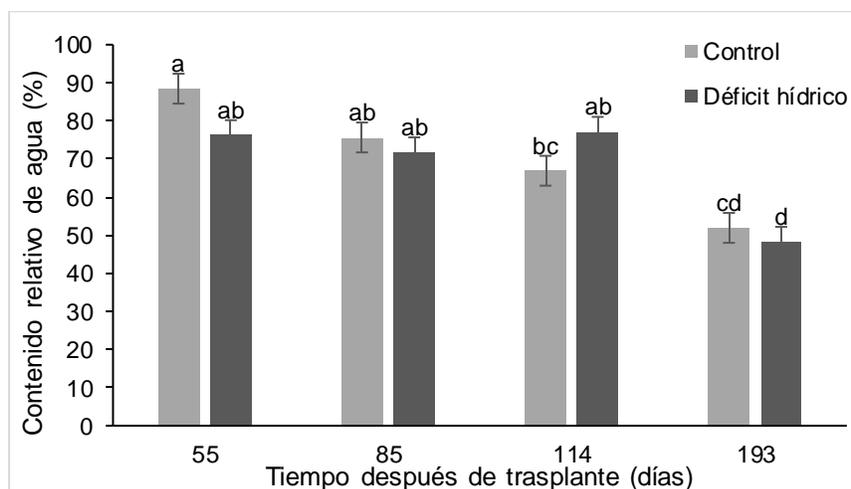
**Cuadro 6.** Cuadrados medios y significancia del ANOVA para el contenido relativo de agua, solutos compatibles y metabolitos secundarios de plantas de *Capsicum annum* var. *glabriusculum* sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa.

Factor de variación	gL	CRA	Prolina	AST	AST	Polifenoles	Flavonoides
		%	$\mu\text{mol g}^{-1}$	Hoja	Raíz		
				g 100g		mg g <sup>-1</sup>	
Régimen hídrico (RH)	1	45.1 NS	39.96***	1.1 NS	303***	1.1 NS	138359.9 NS
Días después del trasplante (DDT)	3	1510.4***	70.6***	45 NS	147***	154.7***	11377321.2** *
RH*DDT	3	172.5 NS	14.8***	90 NS	87.2***	24.9***	7863591.2**
Error	24	61.6	1.8	34.46	2.3	1.6	1383311.5

gL= grados de libertad, \*= $P<0.05$ , \*\*= $P<0.01$ , \*\*\*= $P<0.001$ , NS= No significativo

El CRA es un componente fisiológico que refleja el estado de hidratación de los tejidos de una planta. En las plantas de Chile sometidas a déficit hídrico este se mantiene por encima de 70 % durante los primeros 114 días después del trasplante (Figura 13), lo que indica la tolerancia del Chile Amashito a la desecación aún con déficit hídrico durante esta etapa vegetativa. Este resultado coincide con la

respuesta de *C. chinense* al déficit hídrico que mantiene porcentajes de CRA >80 % tanto en etapa vegetativa como reproductiva, indicando su mayor tolerancia a este estrés respecto a otras especies de *Capsicum* (Okunlola *et al.*, 2017). En la etapa de fructificación (193 días después del trasplante) el CRA en chile Amashito disminuyó a 50 % o menos (Figura 13).



**Figura 13.** Contenido relativo de agua (CRA) en plantas de *C. annuum* var. *glabriusculum* sometidas a déficit hídrico durante el desarrollo de la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos y días después del trasplante ( $P \leq 0.05$ ).

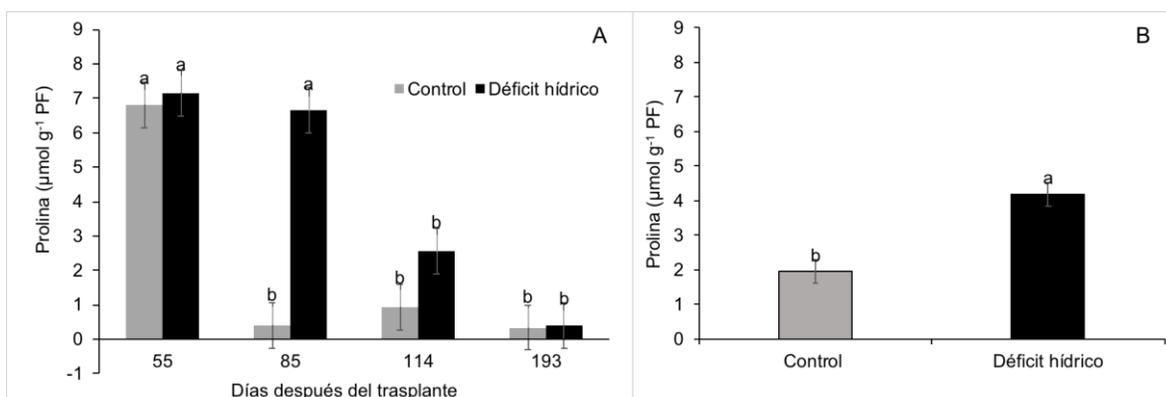
#### 4.2.5 Acumulación de solutos y de metabolitos secundarios

##### 4.2.5.1 Prolina

El contenido de prolina en las hojas mostró un efecto significativo del régimen hídrico aplicado, DDT y de la interacción régimen hídrico x DDT (Cuadro 6). Esta interacción indica que el contenido de prolina cambia conforme avanza la edad de la planta y por efecto del déficit hídrico (Figura 14). Las plantas que fueron sometidas a estrés por déficit hídrico ( $6.64 \mu\text{mol g}^{-1}$  PF) incrementaron significativamente el contenido de prolina a partir de los 85 días después del trasplante respecto al control ( $0.40 \mu\text{mol g}^{-1}$  PF). Después de esta fecha, aunque el

contenido de prolina fue superior en plantas con déficit hídrico, las diferencias no fueron significativas comparado con el tratamiento control (Figura 14A).

El análisis por régimen hídrico indicó que las plantas que fueron sometidas al déficit hídrico mostraron un contenido de prolina significativamente mayor que las plantas control (Figura 14B).

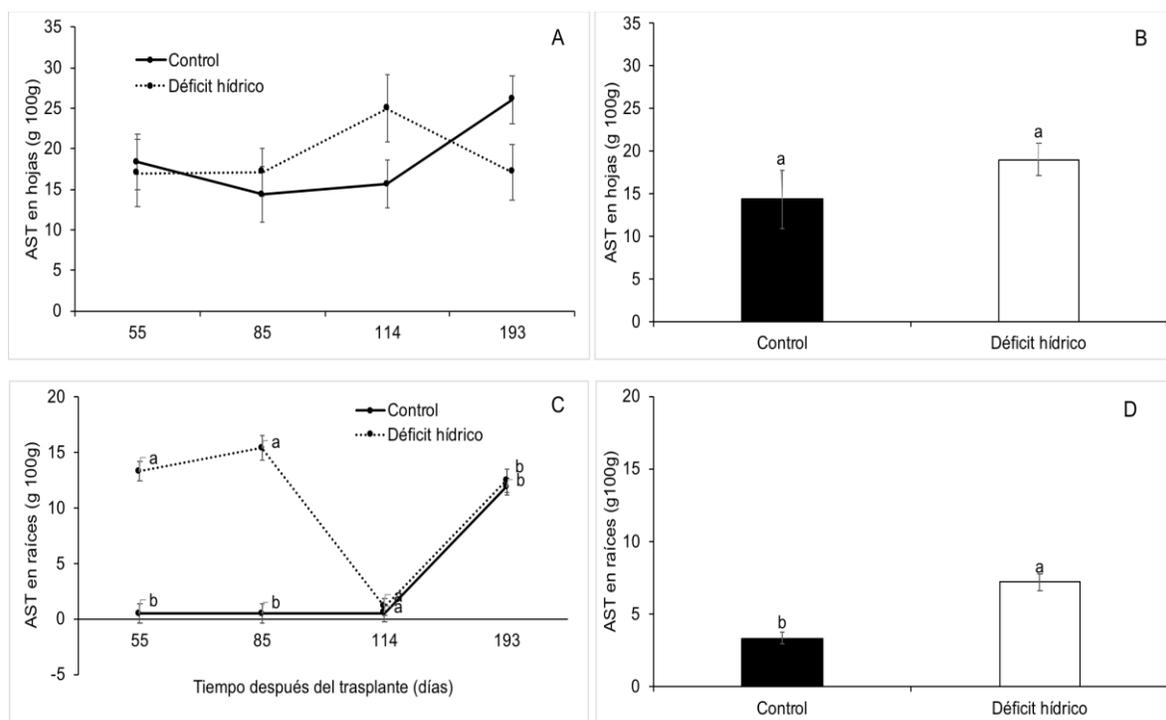


**Figura 14.** Evolución de la concentración de prolina en hojas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, sometidas a déficit hídrico (A). Concentración promedio de prolina en plantas control y con déficit hídrico (B). Las barras indican el error estándar [n=5 (A) y n=20 (B)]. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

Resultados similares fueron observados por Hernández *et al.* (2016) en la especie *Capsicum annuum* L. cuando la humedad en el sustrato disminuía, el contenido de prolina en las plantas aumentaba significativamente. La planta aumenta este aminoácido en respuesta al estrés al que está sometida, y posiblemente realiza un ajuste osmótico, es decir, que al estar presente este aminoácido en grandes cantidades en la planta contribuye a que esta proteja sus estructuras celulares, de proteínas y de membranas, y al final la planta pueda adaptarse al estrés que está sometida (Langridge *et al.*, 2006; Ashraf y Foolad, 2007; Szabados y Savouré, 2009).

#### 4.2.5.2 Azúcares solubles totales

El contenido de azúcares solubles totales (AST) en las hojas no fue afectado por el régimen hídrico, la edad de la planta o la interacción régimen hídrico x edad de la planta (Cuadro 6). En contraste, el contenido de AST en la raíz fue afectado por los tres factores de variación evaluados, principalmente durante los primeros 3 meses después del trasplante (Figura 15).



**Figura 15.** Contenido de azúcares solubles totales (AST) en hojas (A, B) y en raíces (C, D) de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* sometido a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencias entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

En otros estudios realizados en *Capsicum*, se ha observado el mismo efecto, infiriendo que la no respuesta de plantas de esta especie al déficit hídrico es un indicativo de sensibilidad (Zhu *et al.*, 2015); así mismo, observaron que plantas de *C. annuum* no mostraron incremento en AST por efecto de la aplicación de un déficit hídrico, pero las plantas transgénicas tolerantes de la misma especie si lo hicieron.

En otras especies, como en sorgo híbrido CSH-14, el estrés por déficit hídrico aumenta el contenido de AST en las hojas (Yadav *et al.*, 2005).

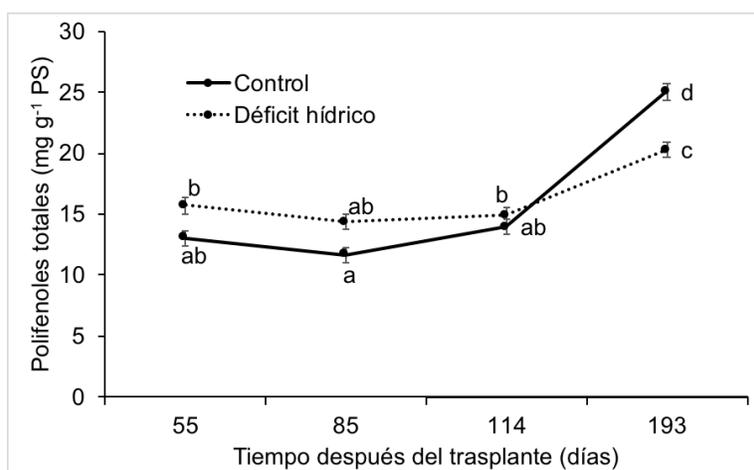
En contraste, en las raíces, se observó un incremento en el contenido de estos osmolitos con la aplicación del déficit hídrico. Cuando las plantas son sometidas a un déficit hídrico, reducen su crecimiento y las concentraciones de carbohidratos se incrementan, debido a que la expansión de órganos es la primera afectada incluso antes del proceso fotosintético y metabólico. Como resultado, los carbohidratos solubles se acumulan en hojas, flores, frutos y raíces de plantas después de un choque osmótico o durante el desarrollo de un estrés hídrico (Muller *et al.*, 2011). El ajuste osmótico se realiza en las células incrementando la concentración de ciertos solutos compatibles entre ellos azúcares como la trehalosa o el manitol, aminoácidos como la prolina, ácidos orgánicos como malato, fumarato o citrato, compuestos derivados del amonio como la glicina betaína, entre otros, para contrarrestar el efecto adverso de la pérdida de agua en las células, mantener la estabilidad de la membrana y conservar las proteínas funcionales para adaptarse y así mismo sobrevivir (Muller *et al.*, 2011; Okunlola *et al.*, 2016). Sin embargo, la mayoría de estos solutos se acumulan durante un estrés extremo, junto con otros compuestos ricos en carbono como celulosa y lignina (Vincent *et al.*, 2005). Cuando las plantas se someten a moderado o severo estrés, el incremento en el contenido de hexosas puede ser resultado de una reducción en la tasa de elongación de las raíces (Muller *et al.*, 2011). Pero el consumo de carbono por órganos en crecimiento puede afectar la concentración de AST en raíces, donde las hojas fuente no son capaces de suministrar el carbono requerido para el crecimiento de los órganos demandantes, y debe ser tomado de las reservas de las raíces.

#### **4.2.5.3 Polifenoles totales**

El régimen hídrico aplicado no mostró efecto significativo en el contenido de polifenoles totales en hojas de la especie en estudio, pero si los días después del trasplante y la interacción régimen hídrico x días después del trasplante (Cuadro 6). La Figura 16 muestra la interacción donde se observan diferencias significativas

entre las plantas control y las de déficit hídrico solo a los 193 días después del trasplante.

Diversos estudios han mostrado que el efecto del déficit hídrico provoca un incremento significativo en el contenido de moléculas osmóticamente activas que controlan el flujo de iones y agua, entre ellas los polifenoles totales (ácidos fenólicos) en las hojas de diferentes especies, lo que ayuda a eliminar las especies reactivas de oxígeno y evitar el estrés oxidativo (Acevedo *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2016). El incremento de polifenoles va acompañado con una reducción en el peso de diferentes órganos donde el contenido de fitoquímicos se incrementa, pero no el contenido total de compuestos bioactivos (Toscano *et al.*, 2019).



**Figura 16.** Contenido de polifenoles en hojas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

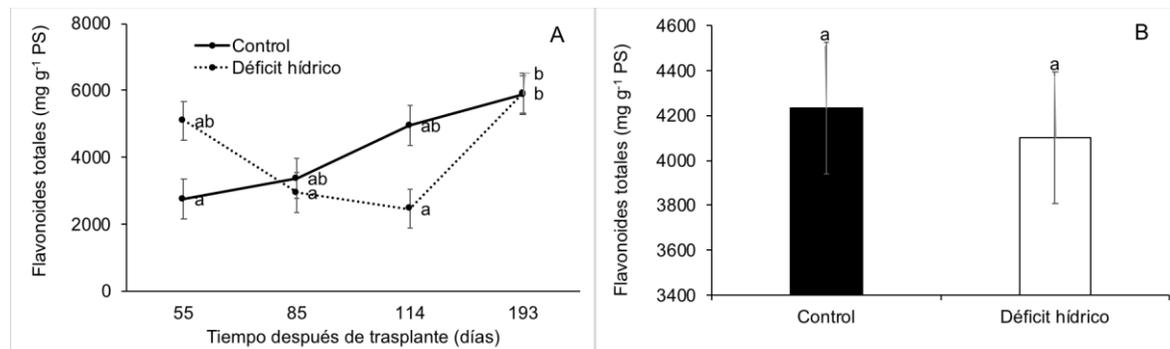
Esto se debe a que dentro de los polifenoles totales se encuentran diversos ácidos que pueden variar en sus concentraciones algunos incrementando y otros disminuyendo, por lo que no es suficiente para decir que el déficit hídrico produce un efecto significativo respecto al control (Griesser *et al.*, 2016). Toscano *et al.* (2019) indican que las diferencias en el incremento o disminución en la concentración de estos metabolitos en la planta, van más allá del nivel de déficit

hídrico impuesto, son resultado de las características del órgano analizado y de la especie.

#### 4.2.5.4 Flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales en hoja no se vio afectado significativamente por el déficit hídrico al cual fue sometida la especie en estudio. El efecto de los días después del trasplante (DDT) y la interacción régimen hídrico x DDT fueron altamente significativos y significativa, respectivamente, para esta variable (Cuadro 6). La Figura 17 muestra la interacción donde el incremento en el contenido de flavonoides solo se observa a los 55 DDT, disminuyendo a los 85 y 114 DDT en el tratamiento de déficit hídrico.

Los flavonoides son metabolitos que se ven modificados positivamente cuando la planta está sometida a algún tipo de estrés, esto con la finalidad de que la planta logre regular diversos mecanismos logrando protegerse sin afectar su mecanismo fisiológico (Cartaya y Reynaldo, 2001; Nakabayashi *et al.*, 2014), sin embargo, no siempre sucede así. En *C. chinense* y *C. frutescens* la aplicación de un déficit hídrico leve o severo durante la etapa vegetativa no afectó la concentración de flavonoides (Okunlola *et al.*, 2017). En otros géneros como *Populus* spp, se ha observado disminución en el contenido de polifenoles en hojas por efecto de déficit hídrico (Popovic *et al.*, 2016), y en albahaca (*Ocimum basilicum*) el contenido de flavonoides solo se incrementó cuando el déficit hídrico fue de 75 % (Toscano *et al.*, 2019).



**Figura 17.** Evolución (A) y promedio (B) del contenido de flavonoides totales en hojas de *Capsicum annum* var. *glabriusculum* sometidas a déficit hídrico durante

la etapa vegetativa. Las barras indican el error estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

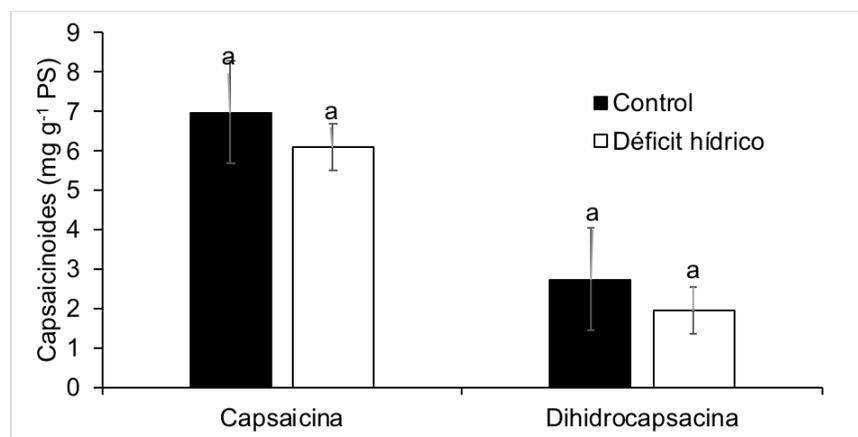
#### 4.2.5.5 Capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos

La determinación del contenido de capsaicinoides se realizó solo en frutos maduros colectados al final del periodo de experimentación (mes de abril 2019). El análisis de varianza mostró que el régimen hídrico no afectó la concentración de estos alcaloides en frutos (Cuadro 7). La Figura 18 muestra gráficamente estos contenidos en los tratamientos control y de déficit hídrico aplicados durante la etapa vegetativa.

**Cuadro 7.** Cuadrados medios y significancia del ANOVA para el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina, en frutos maduros de plantas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa.

Factor de variación	gL	Capsaicina	Dihidrocapsaicina mg g <sup>-1</sup>
Régimen hídrico	1	1.59 NS	1.20 NS
Error	6	6.76	1.42

gL= grados de libertad, NS= No significativo



**Figura 18.** Contenido de capsaicinoides en frutos de plantas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa. Las barras

indican el error estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

En diversas especies el estrés hídrico, por déficit, produce un incremento significativo en el contenido de capsaicinoides. En *C. chinense* la suspensión del riego por 2, 3 y 4 días incrementó la concentración de capsaicinoides respecto al control (Jeeatid *et al.*, 2018). Sin embargo, otros estudios en el género *Capsicum* no han mostrado efecto por el déficit hídrico en el contenido de capsaicinoides. En *C. chinense* Jacq., Borges-Gómez *et al.* (2010), manejaron dos niveles de déficit hídrico: 50 % y 25 % de la humedad a capacidad de campo, los cuales no tuvieron efecto significativo en el contenido de capsaicinoides en frutos de esta especie.

#### 4.2.6. Componentes del rendimiento de frutos

El análisis de varianza muestra que el efecto del régimen hídrico es significativo para los días a maduración de los frutos, el número y el peso total de frutos por planta, mientras que el largo de frutos, ancho de frutos y el peso individual de frutos no muestra diferencia significativa (Cuadro 8).

**Cuadro 8.** Cuadrados medios y significancia del ANOVA para los componentes del rendimiento de frutos de plantas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* sometidas a déficit hídrico durante la etapa vegetativa.

Factor de variación	Días a maduración de frutos	Número de frutos/planta	Ancho de frutos		Peso individual de frutos	
			Largo de frutos	cm	mg	Peso fruto/planta
Régimen hídrico	106.7*	709.8*	3.3 NS	1.9 NS	1.70 NS	8678503.75*
Error	27.7	145.7	4.6	1.3	380.96	2244406.3

gL= grados de libertad, \*= $P < 0.05$ , \*\*= $P < 0.01$ , \*\*\*= $P < 0.001$ , NS= No significativo

El déficit hídrico aplicado durante la etapa vegetativa de chile Amashito, acorta el periodo de maduración de frutos significativamente (Cuadro 9), es decir los frutos requirieron menos días para madurar (6.1 días menos que los frutos de las plantas control). Pero la reducción del volumen de agua aplicado durante la etapa vegetativa

a las plantas de Chile también redujo el número (39.0 %) y el peso de frutos por planta (40.5 %), sin afectar el tamaño de frutos (largo y ancho).

**Cuadro 9.** Promedios de componentes del rendimiento de frutos de plantas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* con y sin déficit hídrico durante la etapa vegetativa.

<b>Componente</b>	<b>Control</b>	<b>Déficit hídrico</b>	<b>DMS</b>
Días a maduración	61 b	54.9 a	5.58
Número de frutos/planta	25.6 b	10 a	12.81
Largo de fruto (cm)	0.75 a	0.78 a	0.07
Ancho de fruto (cm)	0.47 a	0.46 a	0.03
Peso individual de frutos (mg)	109.8 a	110.6 a	20.71
Peso fruto/planta (mg)	2902.9 b	1177.9 a	1589.9

†Letras diferentes por columna indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). DMS = Diferencia mínima significativa.

Esto indica la importancia de mantener la humedad de sustrato a capacidad de campo durante todas las etapas fenológicas de crecimiento de este Chile, ya que, aunque la reanudación del riego a capacidad de campo se hizo en la etapa de fructificación, no fue suficiente para no afectar a los componentes del rendimiento. En otros estudios se observan resultados similares, donde con una humedad aprovechable del 50 % el rendimiento en *C. chinense* Jacq. se reduce significativamente respecto al control (Quintal *et al.*, 2012).

### 4.3 Aplicación del déficit hídrico durante la etapa de floración

#### 4.3.1 Crecimiento

##### 4.3.1.1 *Altura de planta, a la primera bifurcación y longitud de raíz*

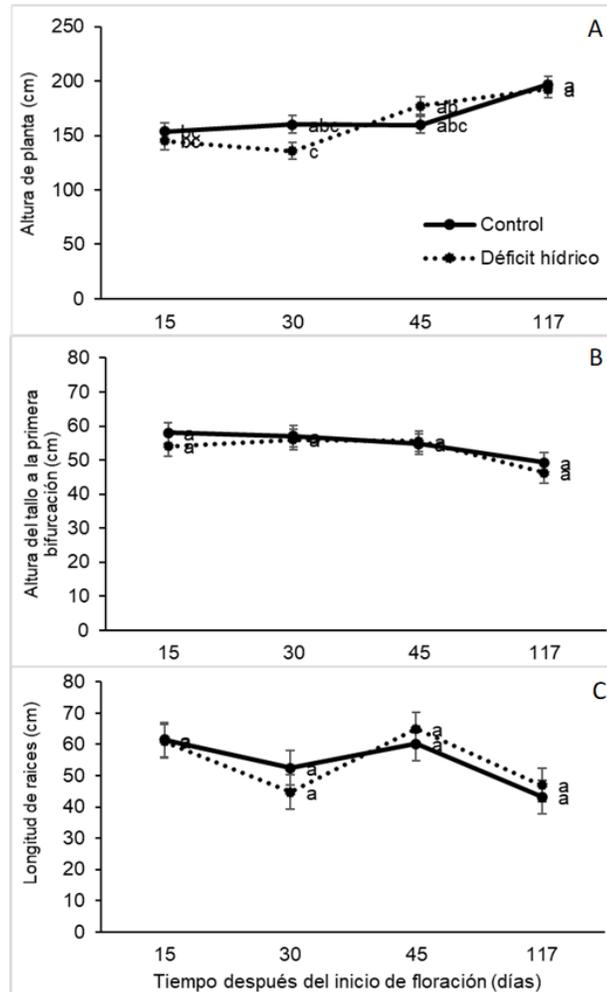
El efecto del régimen hídrico aplicado durante la etapa de floración no afectó la altura de planta, altura de tallo a la primera bifurcación y longitud de raíz (Cuadro 10). El efecto de días después de floración (DDF) fue significativo para la altura del tallo ( $P < 0.001$ ), altura a la primera bifurcación ( $P < 0.01$ ) y longitud de raíz ( $P < 0.05$ ). La interacción DDF x régimen hídrico únicamente fue significativo para altura de planta.

**Cuadro 10.** Cuadrados medios y significancia del ANOVA para altura de planta, altura del tallo a la primera bifurcación y longitud de raíz de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, sometido a déficit hídrico durante la etapa de floración.

Factor de variación	gL	Altura de planta	Altura tallo 1ra bifurcación	Longitud de raíz
		cm		
Régimen hídrico (RH)	1	200 NS	26.3 NS	0.03 NS
Días después de floración (DDF)	3	3794.6***	134.6*	623.9**
RH*DDF	3	600.8 *	8.95 NS	64.6 NS
Error	24	250.5	36.5	117.4

gL= grados de libertad, \*= $P < 0.05$ , \*\*= $P < 0.01$ , \*\*\*= $P < 0.001$ , NS= No significativo

Las plantas de chile continuaron creciendo durante la etapa reproductiva 43 y 47.5 cm en el tratamiento control y déficit hídrico, respectivamente (Figura 19). Este crecimiento se debió a la emisión de nuevos brotes, porque la altura a la 1ª. bifurcación no mostró crecimiento. La longitud de la raíz mostró reducción, debido probablemente a la pérdida de raíces secundarias. A maduración de frutos esta se redujo 18.2 cm en las plantas control y 14 cm en las plantas bajo déficit hídrico.



**Figura 19.** Altura de planta (A), altura del tallo a la primera bifurcación (B) y longitud de raíz (C) de plantas de chile Amashito sometidas a estrés por déficit hídrico durante las etapas de floración y fructificación. Las barras indican el error estándar (n=4).

Los resultados coinciden con lo observado por Okunlola *et al.* (2017) donde el déficit hídrico aplicado en la etapa de floración en *C. annuum*, *C. chinense* y *C. frutescens* no influyó en el crecimiento de las plantas. La disminución en crecimiento en el tallo principal y en la longitud de las raíces, puede deberse a procesos de senescencia de la planta.

### 4.3.2 Acumulación de biomasa

#### 4.3.2.1 Producción de área foliar y biomasa aérea y radical

El régimen hídrico mostró efecto significativo para el área foliar y la biomasa aérea (Cuadro 11). Los DDF de la planta afectaron a todas las variables relacionadas con área foliar y biomasa. La interacción régimen hídrico x DDF de la planta solo fue significativa para el área foliar.

El comportamiento que presenta el área foliar coincide con un estudio realizado en tres especies de *Capsicum*, sometido a las mismas condiciones de estrés (Quintal *et al.*, 2012; Nieto-Garibay *et al.*, 2009).

**Cuadro 11.** Cuadrados medios y significancia del ANOVA para el área foliar y la biomasa de la parte aérea y radical, en *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, sometido a déficit hídrico desde el inicio de floración.

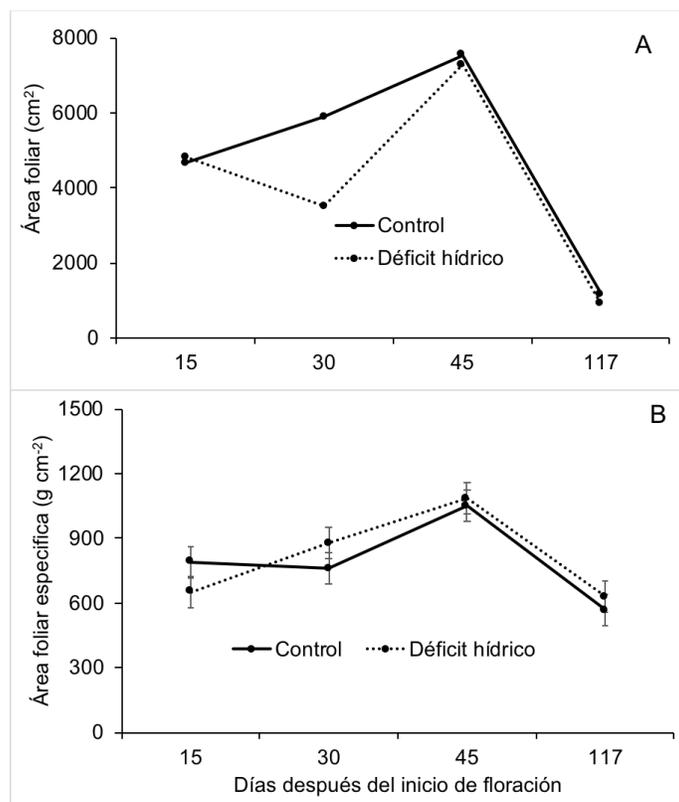
Factor de variación	gL	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Área foliar específica, (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	Biomasa seca		
				Raíz (R)	Aérea (A) (g)	Relación A/R
Régimen hídrico (RH)	1	3762710.3**	3149.2 NS	13.2 NS	196.9**	0.16 NS
Días después de floración (DDF)	3	55085951.9***	319217.2***	170.2***	490.4***	9.96***
RH*DDF	3	2638585.4**	24033.7 NS	3.3 NS	121.5 NS	0.71 NS
Error	24	843197.2	21276.2	8.2	29.6	0.71

gL= grados de libertad, \*= $P<0.05$ , \*\*= $P<0.01$ , \*\*\*= $P<0.001$ , NS= No significativo

El área foliar se incrementó en el control conforme avanzaron los DDF de Chile Amashito hasta 45 días después del inicio de floración (7542.0 cm<sup>2</sup> en el control). En el tratamiento de déficit hídrico fue menor al del tratamiento control solo a los 30 DDF. Ambos disminuyeron a los 117 DDF (Figura 20). Para el área foliar específica el control únicamente se mantuvo mayor respecto al déficit hídrico a los 15 DDF, después de los 30 DDF el comportamiento fue invertido.

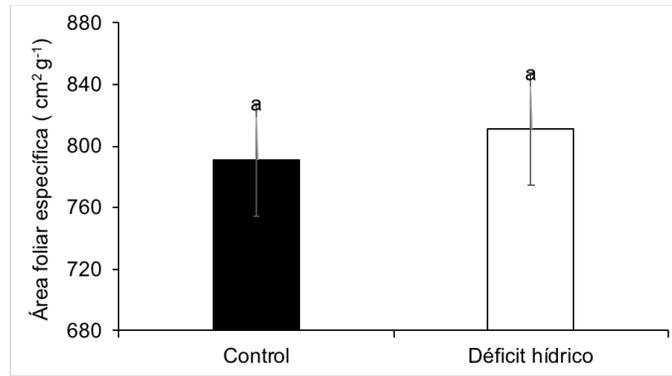
En promedio, el área foliar específica no disminuyó por efecto del déficit hídrico aplicado al inicio de floración, lo que significa que no afectó el grosor de las hojas

en la etapa de floración (Figura 21). La biomasa total de las plantas de Chile Amashito se incrementa en ambos tratamientos con los DDF (Figura 22A). Similar a la disminución en área foliar, la biomasa de hojas disminuye con los DDF y sobre todo con el déficit hídrico 30 días después del inicio de floración (Figura 22B).

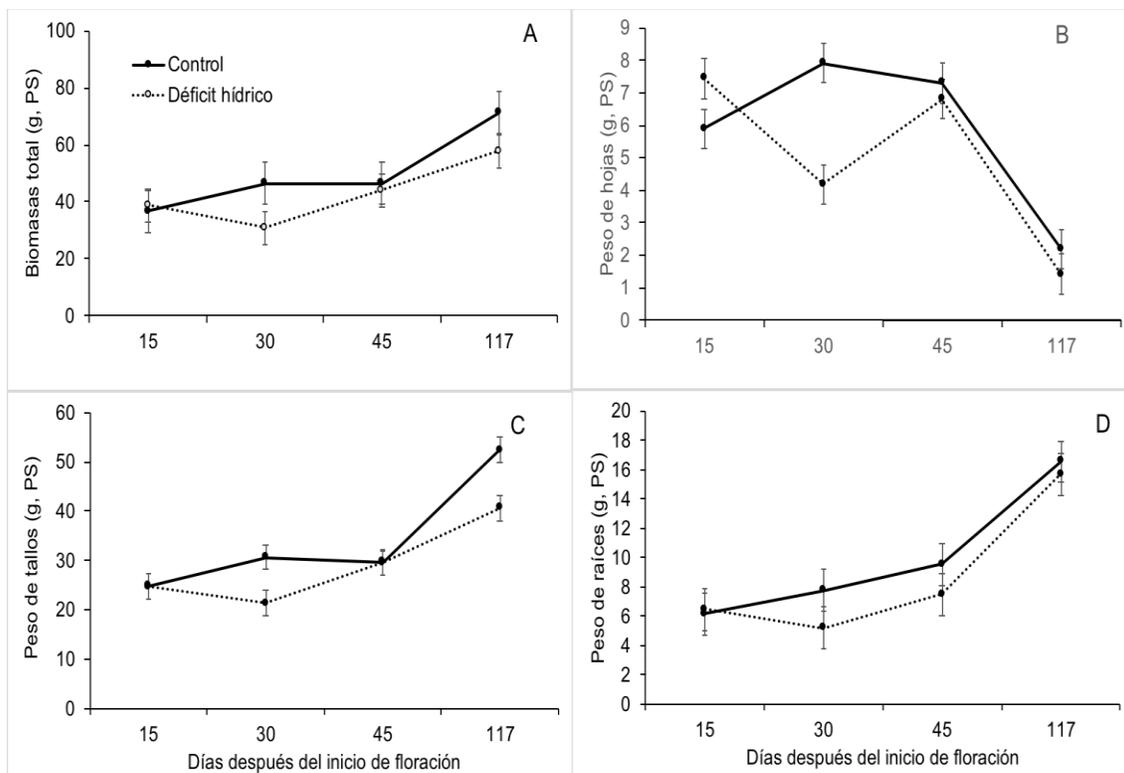


**Figura 20.** Evolución del área foliar (A) y del área foliar específica (B) en plantas de *C. annuum* var. *glabriusculum* sometidas a déficit hídrico desde la etapa de floración. Las barras indican el error estándar (n=5).

Sin embargo, la biomasa de tallos y de raíces se incrementa con DDF en ambos tratamientos, con menor incremento en el tratamiento de déficit hídrico (Fig. 22C). Este incremento en la biomasa de tallos confirma que la mayor biomasa de las plantas se debe al crecimiento de las ramificaciones; y el de raíz a un mayor crecimiento de raíces secundarias ya que la longitud disminuyó. Efecto similar por la aplicación de un déficit hídrico ha sido observado en otras especies (Quintal *et al.*, 2012) y en peso fresco, altura de planta y peso seco de raíces de *C. chinense* cuando el riego se hizo cada 9 días (Ruiz-Lau *et al.*, 2011).

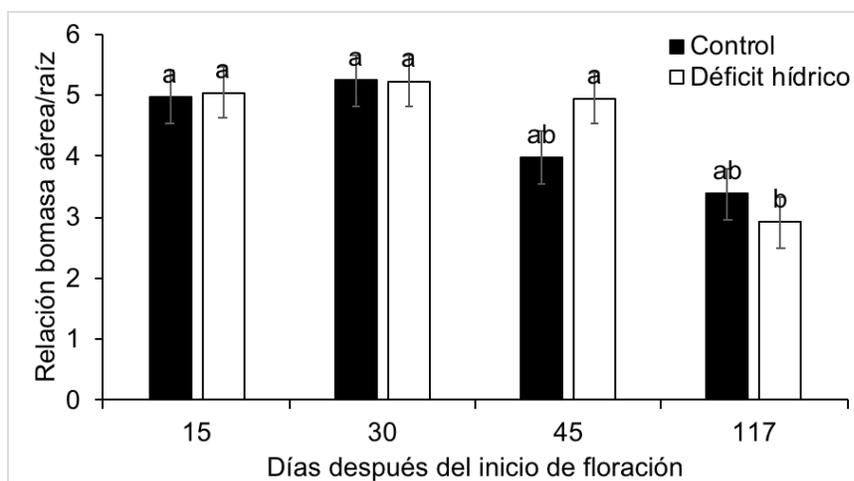


**Figura 21.** Área foliar específica promedio en plantas de *C. annuum* var. *glabriusculum* sometidas a déficit hídrico desde el inicio de floración. Las barras indican el error estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).



**Figura 22.** Acumulación de biomasa total (A), de hojas (B), de tallos (C) y de raíces (D) de *C. annuum* var. *glabriusculum* sometido a déficit hídrico desde el inicio de la etapa de floración. Las barras indican el error estándar (n=5).

La relación biomasa aérea/raíz de las plantas de chile cambió por efecto del déficit hídrico solo a los 117 días después del inicio de la floración con respecto al control (Figura 23). Lo anterior difiere a lo observado en *C. chinense*, donde el espaciado de riego cada 7 o 9 días durante la etapa de floración redujo la relación raíz/tallo (Ruiz-Lau *et al.*, 2011), es decir con los DDF disminuyó el peso de las raíces.



**Figura 23.** Relación biomasa aérea/raíz en plantas de *C. annuum* var. *glabriusculum* sometidas a déficit hídrico al inicio de la floración. Las barras indican el error estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

#### 4.3.3 Pigmentos fotosintéticos

El régimen hídrico aplicado a las plantas en estudio durante la etapa de floración no afectó significativamente el contenido de pigmentos fotosintéticos. El contenido de pigmentos varió significativamente por efecto de los DDF de las plantas. Este contenido disminuye lentamente conforme avanza la edad de la planta, debido posiblemente al inicio de senescencia de las hojas (Figura 24). La interacción régimen hídrico x edad de la planta no fue significativa (Cuadro 12).

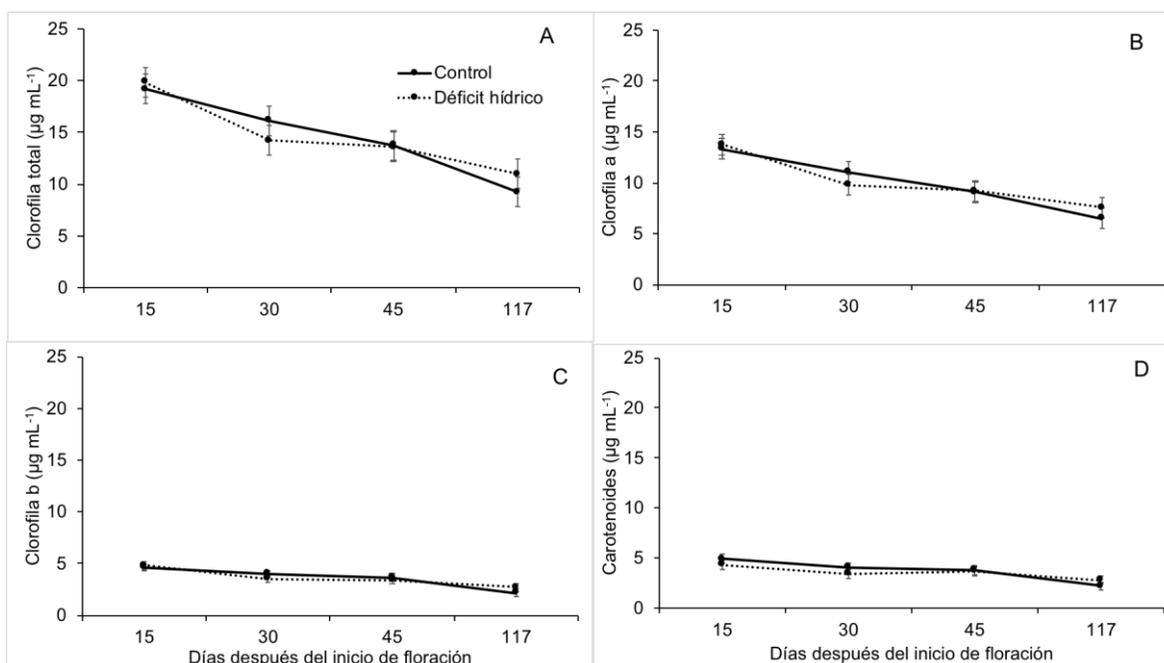
Los resultados encontrados en este estudio coinciden con los observados en *C. chinense* y *C. frutescens*, la aplicación de un déficit hídrico al 50 % de la capacidad de campo en la etapa de floración en las plantas de estas especies no afectaron la

concentración de pigmentos fotosintéticos (Okunlola *et al.*, 2017). Algunos autores han indicado que cuando las plantas de Chile mantienen su concentración de pigmentos fotosintéticos en el tiempo, demuestran una mayor capacidad de adaptabilidad al déficit hídrico como defensa para su sobrevivencia (Manrique, 2003; Okunlola *et al.*, 2017).

**Cuadro 12.** Cuadrados medios y significancia del ANOVA para la concentración de pigmentos fotosintéticos en plantas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* sometidas a déficit hídrico desde el inicio de la floración.

Factor de variación	gL	Clorofila	Clorofila	Clorofila	Carotenoides
		a	b	total	
$\mu\text{g mL}^{-1}$					
Régimen hídrico (RH)	1	0.11 NS	1.8 NS	0.10 NS	0.25 NS
Días después de floración (DDT)	3	59.32***	7.1***	121.96***	6.13**
RH*DDT	3	1.99 NS	0.42 NS	4.73 NS	0.69 NS
Error	24	4.07	0.5	8.33	0.78

gL= grados de libertad, \*= $P < 0.05$ , \*\*= $P < 0.01$ , \*\*\*= $P < 0.001$ , NS= No significativo



**Figura 24.** Concentración de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) y de carotenoides (D) en plantas de *Capsicum annum* var. *glabriusculum* sometidas a déficit hídrico desde la etapa de floración. Las barras indican el error estándar ( $n=5$ ).

#### 4.3.4 Contenido relativo de agua (CRA)

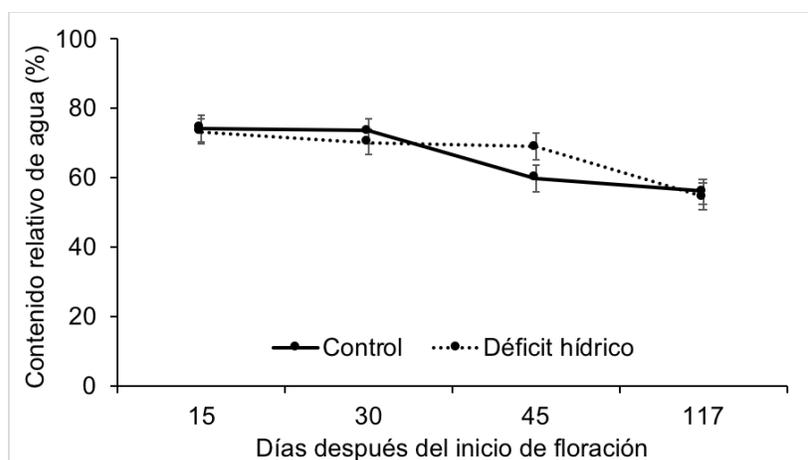
El régimen hídrico aplicado al inicio y durante la etapa de floración no produjo efecto significativo en el contenido relativo del agua (CRA). Los días después de floración afectaron significativamente al CRA, y la interacción de régimen hídrico x DDF fue no significativa (Cuadro 13). En promedio, el CRA varió de 73.7 a 55.3% con el paso de los días después del inicio de floración. El valor más bajo en el CRA se observó al final de la etapa de fructificación de frutos (117 DDF). Es decir, las plantas al disminuir su CRA presentaron estrés hídrico, y la planta para adaptarse a este estrés y sobrevivir, incrementó la concentración de prolina, realizando posiblemente un ajuste osmótico.

**Cuadro 13.** Cuadrados medios y significancia del ANOVA para el contenido relativo de agua y metabolitos en plantas de *Capsicum annum* var. *glabriusculum* sometidas a déficit hídrico desde la etapa de floración.

Factor de variación	gL	CRA %	Prolina $\mu\text{mol g}^{-1}$	AST		Polifenoles	Flavonoides $\text{mg g}^{-1}$
				Hoja	Raíz		
				g 100g			
Régimen hídrico (RH)	1	5.55 NS	6.9*	1035.1***	163.9***	23.8***	5218469 NS
Días después de floración (DDF)	3	557.6***	1.55 NS	190.1*	67.25***	30.9***	3069208 NS
RH*DDF	3	63.4 NS	1.7 NS	239.3*	53.6**	1.45 NS	532969 NS
Error	24	54.25	1.35	49.5	7.7	1.52	15153145

gL= grados de libertad, \*= $P<0.05$ , \*\*= $P<0.01$ , \*\*\*= $P<0.001$ , NS= No significativo

El CRA es un componente fisiológico que es usado como un nivel que refleja el contenido de agua que pueden almacenar los tejidos de una planta (Argentel *et al.*, 2006). En las plantas de Chile sometidas a déficit hídrico este se mantiene por encima de 50 % durante los primeros 199 días después inicio de floración (Figura 25), lo que indica la tolerancia del Chile Amashito a la desecación aún con déficit hídrico durante esta edad, resultados similares se encontraron en la etapa vegetativa. Okunlola *et al.* (2017) en un trabajo de investigación observó que la especie de *C. chinense* sometido al déficit hídrico durante la etapa de floración mantiene porcentajes elevados de CRA, coincidiendo con los resultados encontrados en el presente estudio de la misma especie.



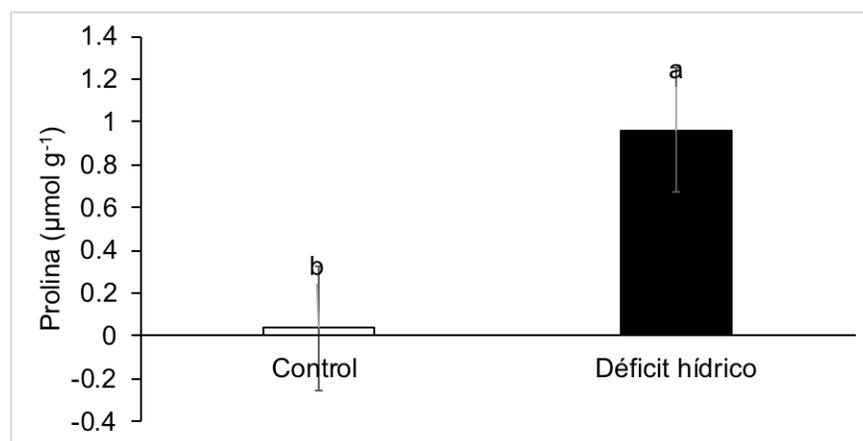
**Figura 25.** Contenido relativo de agua en plantas de *C. annuum* var. *glabriusculum* sometidas a déficit hídrico desde la etapa de floración. Las barras indican el error estándar (n=5).

### 4.3.5 Acumulación de solutos y de metabolitos secundarios

#### 4.3.5.1 Prolina

El régimen hídrico aplicado mostró un efecto significativo en el contenido de prolina en las hojas. No se observó efecto ni de los DDF y ni de la interacción régimen hídrico x DDF (Cuadro 13).

Las plantas que tuvieron reducción en el volumen de agua aplicado incrementaron significativamente el contenido de prolina (41.7 %) respecto al control (Figura 26). Resultados similares fueron observados por Okunlola *et al.* (2016) en las especies de *C. chinense*, *annuum* y *frutescens*. La planta aumenta este aminoácido como una respuesta a un estrés abiótico, con el fin de establecer un balance a través de un ajuste osmótico, es decir, la presencia en grandes cantidades de este aminoácido hace que la planta tenga un equilibrio para proteger sus estructuras celulares, membranas y proteínas, y llegar al punto en la que la planta tenga la capacidad de tolerar el estrés al cual se encuentra sometida (Liang *et al.*, 2013; Kavi y Sreenivasulu, 2014; Kaur y Asthir, 2015).



**Figura 26.** Concentración de prolina en hojas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, sometidas a déficit hídrico desde la etapa de floración. Las barras

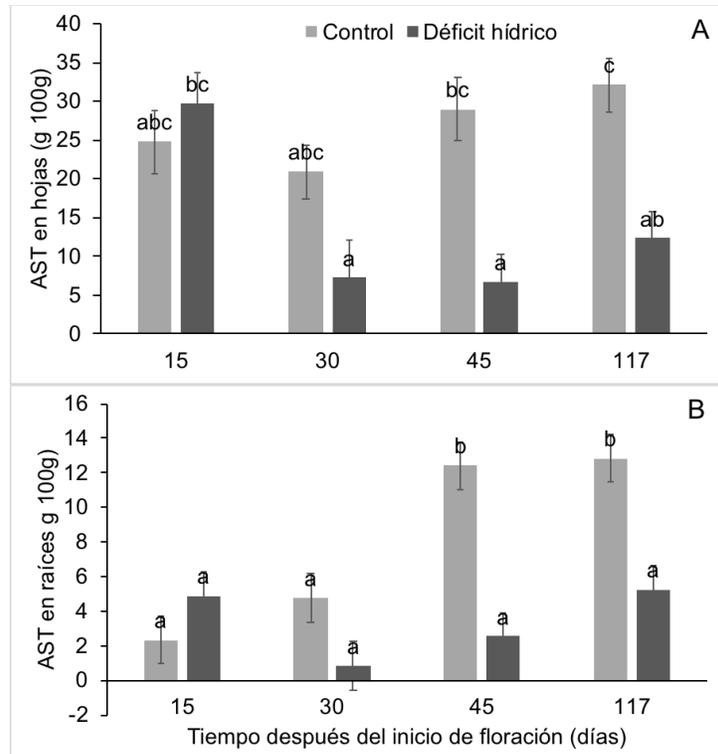
indican el error estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

#### **4.3.5.2 Azúcares solubles totales**

El contenido de azúcares solubles totales (AST) en las hojas y en la raíz disminuyó significativamente por el efecto del régimen hídrico a partir de los 45 DDF (Figura 27). Hay efecto significativo sobre el contenido de AST con los DDF y la interacción régimen hídrico x DDF (Cuadro 13).

El efecto de reducción de AST observado en hojas es contrario al mostrado por Okunlola *et al.* (2018) en plantas de tres especies de *Capsicum* sometidas a déficit hídrico, donde los AST en hojas se incrementaron por efecto de la reducción de humedad en el sustrato, durante la etapa de floración. En otras especies como sorgo y frijol negro, el estrés por déficit hídrico de igual manera aumenta el contenido de AST en las hojas (Yadav *et al.*, 2005; Castañeda *et al.*, 2012).

En raíces, el contenido de AST disminuyó a partir de los 45 DDF. Esta reducción en AST puede atribuirse a que la planta que está sometida a déficit hídrico no tiene la capacidad para realizar un ajuste osmótico y adaptarse al estrés producido (Muller *et al.*, 2011; Perry *et al.*, 2018).

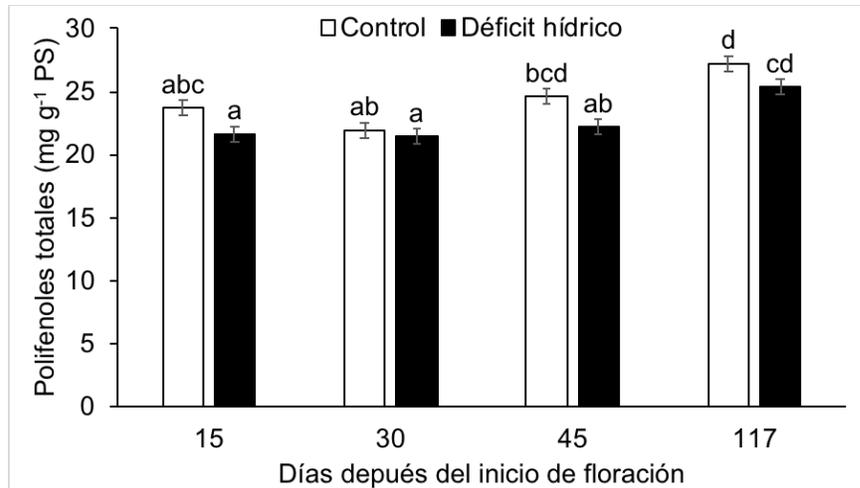


**Figura 27.** Contenido de AST en hojas (A) y en raíz (B) de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* sometido a déficit hídrico, desde la etapa de floración. Las barras indican el error estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

#### 4.3.5.2 Polifenoles totales

El régimen hídrico aplicado tuvo efecto significativo en el contenido de polifenoles totales en hojas del chile Amashito al igual que los DDF. No se observó efecto significativo de la interacción régimen hídrico x DDF (Cuadro 13).

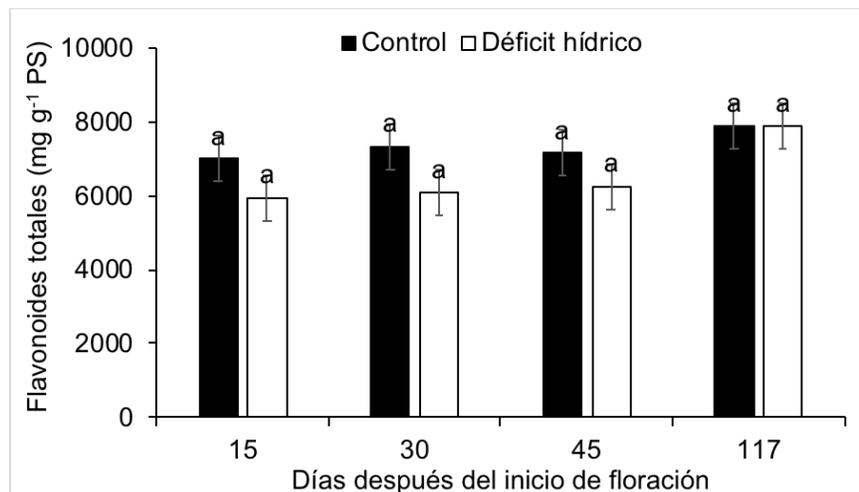
Los polifenoles totales se incrementaron en las hojas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, a partir de los 45 días después del inicio de floración, en el control y a los 117 DDF con déficit hídrico (Figura 28). Estos resultados difieren de los observados en hojas de seis clones de té donde el contenido de polifenoles totales disminuyeron cuando la planta era sometida a un déficit hídrico (Cheruiyot *et al.*, 2007).



**Figura 28.** Contenido de polifenoles en hojas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, sometidas a déficit hídrico desde la etapa de floración. Las barras indican el error estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

#### 4.3.5.3 Flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales en hoja no se vio afectado significativamente por ninguno de los factores evaluadas (Cuadro 13, Figura 29).



**Figura 29.** Contenido de flavonoides en hojas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, sometidas a déficit hídrico desde la etapa de floración. Las barras indican el error estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

Las plantas que exhiben un incremento en la síntesis de polifenoles, dentro de los cuales están los flavonoides, bajo estrés abiótico tienen una mejor adaptabilidad a ambientes limitantes (Sharma *et al.*, 2019), efecto que no fue observado en el chile Amashito estudiado en esta investigación.

En otras especies como el brócoli, se ha observado que cuando el déficit hídrico se aplica durante dos semanas el contenido de polifenoles incrementa respecto al control, lo que no sucede cuando la planta está sometida durante una semana a déficit hídrico (Kan *et al.*, 2011). Es decir, que el efecto del déficit hídrico puede variar dependiendo de la especie y la duración del estrés.

#### 4.3.5.4 Capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos

El contenido de capsaicinoides se realizó en frutos maduros colectados al final del periodo de experimentación (119 DDF). El análisis de varianza mostró que el régimen hídrico aplicado no afectó la concentración de estos alcaloides (Cuadro 14, Figura 30).

**Cuadro 14.** Cuadrados medios y significancia del ANOVA para el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina, en frutos maduros de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* sometido a déficit hídrico, desde el inicio de la floración.

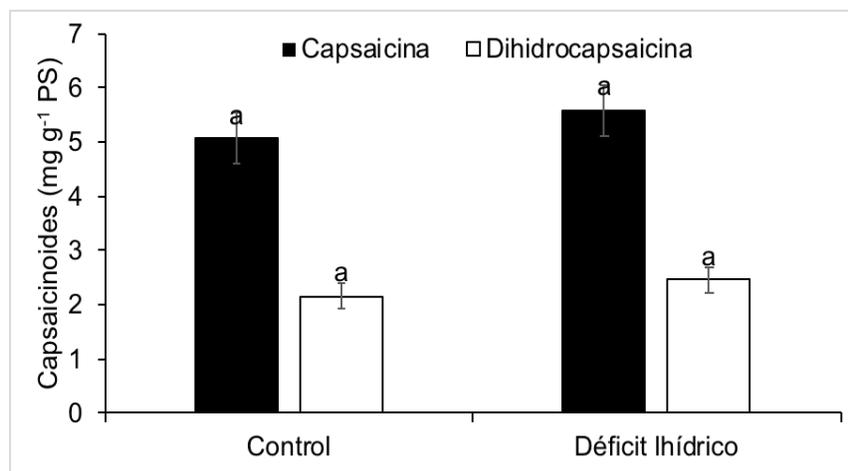
Factor de variación	gL	Capsaicina	Dihidrocapsaicina mg g <sup>-1</sup>
Régimen hídrico	1	0.58 NS	0.18 NS
Error	6	0.90	0.22

gL= grados de libertad, NS= No significativo

En diversas especies la reducción de volumen de agua produce un incremento significativo en el contenido de capsaicinoides. Ruiz-Lau *et al.* (2011) observaron en *Capsicum chinense* Jacq. que las plantas sometidas a un déficit hídrico incrementaban significativamente la concentración de estos capsaicinoides. Sin embargo, en las plantas de chile Amashito evaluadas, la reducción del volumen de agua al 50 % del aplicado al tratamiento a capacidad de campo a partir del inicio de floración, aun cuando incrementó el contenido de capsaicina, este incremento no

fue suficiente para ser diferente estadísticamente, es decir no fue suficiente para incrementar significativamente el contenido de estos alcaloides en los frutos de Amashito.

Otros estudios en *C. chinense*, han mostrado resultados similares a los encontrados en este estudio, donde el contenido de capsaicinoides en frutos no se ve modificado por el efecto de déficit hídrico (Borges-Gómez *et al.*, 2010).



**Figura 30.** Contenido de capsaicinoides en frutos maduros de plantas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, sometidas a déficit hídrico desde el inicio de la floración. Las barras indican el error estándar (n=4). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

#### 4.3.6 Componentes del rendimiento de frutos

El régimen hídrico afectó significativamente los días a maduración de los frutos, sin embargo, esto no se observó en los otros componentes del rendimiento (Cuadro 15).

**Cuadro 15.** Cuadrados medios y significancia del ANOVA para los componentes del rendimiento de frutos de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* sometida a déficit hídrico, desde el inicio de la floración.

Factor de variación	Días a maduración de frutos	Número de frutos/planta	Largo de frutos	Ancho de frutos	Peso	
					individual de frutos	Peso fruto/planta
			cm		mg	
Régimen hídrico	200.94**	39.9 NS	4.16 NS	2.1 NS	1046.62 NS	887370.5 NS
Error	41.58	61.61	1.9	7.6	342	766566.36

gL= grados de libertad, \*= $P<0.05$ , \*\*= $P<0.01$ , \*\*\*= $P<0.001$ , NS= No significativo

Las plantas de chile Amashito sometidas a una reducción del 50 % del volumen de agua aplicado con respecto al tratamiento control, requirieron más días para madurar los frutos (6.89 días más que las plantas control) (Cuadro 16). Y aunque se observa una disminución en el número de frutos/planta (23 %), en el peso individual de frutos (14.1 %) y en el peso de frutos/planta (35.4 %) por efecto del déficit hídrico, ésta diferencia no fue significativa.

**Cuadro 16.** Prueba de medias de componentes del rendimiento de fruto de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* con y sin déficit hídrico desde el inicio de la floración.

Componente	Control	Déficit hídrico
Días a maduración	49.8 b	56.69 a
Número de frutos/planta	11.44 a	8.38 a
Largo de fruto (cm)	0.78 a	0.74 a
Ancho de fruto (cm)	0.49 a	0.47 a
Peso individual de frutos (mg)	111.28 a	95.56 a
Peso fruto/planta (mg)	1292.8 a	834.8 a

†Letras diferentes por columna indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P\leq 0.05$ ).

En otros estudios, un déficit hídrico de 50 % aplicado desde la etapa de floración, reduce significativamente el rendimiento en *C. chinense* respecto al control (Borges-Gómez *et al.*, 2010; Phimchan *et al.*, 2012).

En el Cuadro 17 se comparan todas las variables analizadas tanto durante la aplicación del déficit hídrico en la etapa vegetativa como al inicio de floración, donde se indica el efecto producido.

**Cuadro 17.** Resumen del efecto de la aplicación de un déficit hídrico (reducción del 50 % de agua aplicada a capacidad de campo) en el crecimiento, metabolitos secundarios y rendimiento de *C. annuum* var. *glabriusculum*.

Característica	Déficit hídrico aplicado durante la etapa vegetativa	Déficit hídrico aplicado durante el inicio de floración
Altura de planta	<	Sin efecto
Longitud de raíz	<	Sin efecto
Número de días a emisión de primeras 4 hojas	>	
Número de días a trasplante	>	
Número de días a primera bifurcación	>	
Número de días a inicio de floración	>	
Días a maduración de frutos	<	>
Tamaño de frutos	Sin efecto	Sin efecto
Número de frutos/planta	<	Sin efecto
Peso de frutos/planta	<	Sin efecto
Área foliar	<	<
Área foliar específica	<	Sin efecto
Biomasa aérea (BA), PS	<	<
Biomasa raíz (BR), PS	<	<
Relación BA/BR	Sin efecto	Sin efecto
Pigmentos fotosintéticos	Sin efecto	Sin efecto
Contenido relativo de agua (CRA)	Sin efecto	Sin efecto
Prolina	>	>
Azúcares solubles totales en hojas	Sin efecto	<
Azúcares solubles totales en raíces	>	<
Polifenoles totales	Sin efecto	Sin efecto
Flavonoides totales	Sin efecto	Sin efecto
Capsaicina	Sin efecto	Sin efecto
Dihidrocapsaicina	Sin efecto	Sin efecto

# CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

## 5.1. Conclusiones

Los resultados mostrados permiten concluir que:

- a) El déficit hídrico, a un 50 % de CC, aplicado durante las etapas vegetativa y desde el inicio de floración afectó de manera negativa el crecimiento de la planta. Aplicado durante la etapa vegetativa, reduce la altura de planta, área foliar específica, longitud de raíz, y la duración de las etapas fenológicas. Aplicado tanto en etapa vegetativa como al inicio de floración disminuye el área foliar, biomasa seca y de raíz.
- b) Los pigmentos fotosintéticos y el contenido relativo del agua no fueron afectados significativamente por el déficit hídrico al cual se sometieron las plantas durante ambas etapas fenológicas.
- c) El contenido de prolina se incrementó cuando la planta fue sometida al déficit hídrico en ambas etapas fenológicas. El déficit hídrico aplicado durante la etapa vegetativa incrementó los azúcares solubles totales únicamente en la raíz, mientras que en las plantas donde se aplicó déficit hídrico al inicio de la floración el contenido de azúcares solubles totales disminuyó tanto en hojas como en raíz.
- d) Los contenidos de polifenoles y flavonoides totales en hojas, capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos no fueron afectados por el déficit hídrico aplicado en ninguna de las etapas fenológicas.
- e) El déficit hídrico aplicado durante la etapa vegetativa disminuyó los días a maduración, número y peso de frutos por planta. Aplicado durante la etapa de floración incrementó el número de días a maduración de frutos sin afectar los componentes del rendimiento, ni el rendimiento de frutos.

## 5.2. Recomendaciones

Otros estudios son necesarios para proponer el cultivo de chile Amashito como una alternativa de producción comercial debido a su importancia culinaria y farmacéutica. En las líneas de investigación de fisiología vegetal y en colaboración

con otros equipos de trabajo multidisciplinarios se contemplan estudios que abarcan:

- a) Efectos de diferentes niveles de sombreado,
- b) Genes que se suprimen y se activan debido a un estrés abiótico,
- c) La respuesta a diferentes dosis de fertilización inorgánica y orgánica,
- d) El control orgánico de plagas.
- e) Estudio comparativo de efecto de estrés en ambiente natural y controlado.

## CAPÍTULO VI. LITERATURA CITADA

- Abdel, M. 2007. Physiological aspects of mungbean plant (*Vigna radiata* L. Wilezek) in response to salt stress and gibberellic acid treatment. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 3 (4): 200-213.
- Acevedo, O. C., S. Ortega-Farías, C. Hidalgo A., Y. Moreno S., F. Cordova A. 2005. Efecto de diferentes niveles de agua aplicada en post-cuaja y en post-pinta sobre la calidad del vino cv. Cabernet Sauvignon. *Agricultura técnica* 65 (4): 397-410.
- Aguilar-Meléndez, A., P. L. Morrel, M. Roose, K. Seung-Chul. 2009. Genetic diversity and structure in semi wild and domesticated chiles (*Capsicum annuum*; Solanaceae) from Mexico. *American Journal of Botany* 96(6):1190–1202.
- Alonso, B., A. Reynero, B. Zambrano C., R. Quiroga M., M. Rosales E., P. Ponce Diaz. 2012. Caracterización morfológica y molecular de la variabilidad genética del timpinchile (*Capsicum annum* L. var. *glabriusculum* sin. *aviculare*) en Chiapas. *Quehacer Científico en Chiapas* 1(13):4-18.
- Álvarez-Parrilla, E., L. A. De La Rosa, R. Amarowicz, F. Shahidi. 2011. Antioxidant activity of fresh and processed Jalapeño and Serrano peppers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 163–173.
- Anjum, S., M. Farooq, X. Xie, X. Liu, M. Ijaz. 2012. Antioxidant defense system and proline accumulation enables hot pepper to perform better under drought. *Scientia Horticulturae* 140: 66-73.
- Argentel, L., L. M. González, C. Ávila, R. Aguilera. 2006. Comportamiento del contenido relativo de agua y la concentración de pigmentos fotosintéticos de variedades de trigo cultivadas en condiciones de salinidad. *Cultivos Tropicales* 27 (3): 49-53.
- Arreguín-Cortés, F. I., H. Rubio-Gutiérrez, R. Domínguez-Mora, F. de Luna-Cruz. 2014. Análisis de las inundaciones en la planicie tabasqueña en el periodo 1995-2010. *Tecnologías y Ciencias del Agua* (3): 5-32.
- Ashraf, M., M. R. Foolad. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59: 206-216.

- Barrs, H. D., P. E. Weatherley. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Aust. J. Biol Sci.* 24: 519–570.
- Bates, L. S., R. P. Waldren, y I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39: 205–207.
- Bautista-Rodríguez, E. I, L. C. Lagunes-Espinoza, F. M. Lara-Viveros, M. Castelán Estrada, V. Conde-Martínez. 2017. Comparison of pre-germination treatments in *Lupinus* spp. And their effects on germination and related solutes. *Botanical Sciences* 95: 577-590.
- Blum, A. 2011. Chapter 2. Plant water relations, plant stress and plant production. – In: *Plant breeding for water limited environments*. Pp. 11-52. Springer Science+Business Media, LLC. DOI 10.1007/978-1-4419-7491-4\_2.
- Borges-Gómez, L., L. Cervantes Cárdenas, J. Ruiz Novelo, M. Soria Fregoso, V. Reyes Oregel, y E. Villanueva Couoh. 2010. Capsaicinoides en chile habanero (*capsicum chinense* jacq.) bajo diferentes condiciones de humedad y nutrición. *Terra Latinoamericana* 28 (1): 35-41.
- Bosland, P. W., y E. J. Votava. 2012. Seeds In: *Peppers: Vegetable and Spice Capsicums*, 2nd ed. Wallingford, UK: CABI (2012), pp. 55-65.
- Campos, H., C. Trejo, C. B. Peña-Valdivia, R. García-Nava, F. V. Conde-Martínez, M. R. Cruz-Ortega. 2014. Stomatal and non-stomatal limitations of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) plants under water stress and re-watering: Delayed restoration of photosynthesis during recovery. *Environmental and Experimental Botany* 98:56– 64.
- Cano-Vázquez, A., M. C. López-Peralta, H. A. Zavaleta-Mancera, N. Cruz-Huerta, I. Ramírez-Ramírez, A. Gardea-Béjar, V. A. González-Hernández. 2015. Variación en grados de latencia en semillas entre colectas de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*). *Botanical Sciences* 93 (1):1-10.
- Cartaya, O., I. Reynaldo. 2001. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos tropicales* 22 (2): 5-14.
- Castañeda, S. M. C., A. Delgado Alvarado, L. Córdova Téllez, V. González Hernández, E. Tapia-Campos, A. Santacruz Varela, M. Vázquez Carrillo, G.

- García-De Los Santos. 2012. Changes in carbohydrate concentration in leaves, pods and seeds of dry bean plants under drought stress. *Interciencia* 37 (3): 168-175.
- Castañón-Nájera, G., L. Latournerie-Moreno, J. M. Leshner-Gordillo, E. de la Cruz-Lázaro, y M. Mendoza-Elos. 2010. Identificación de variables para caracterizar morfológicamente colectas de chile (*Capsicum* spp.) en Tabasco, México. *Universidad y Ciencia*, 26 (3): 225-234.
- Chapa-Oliver, A. M., L. Mejía-Teniente. 2016. Capsaicin: From Plants to a Cancer-Suppressing Agent. *Molecules* 2: 931.
- Cheruiyot, E. K., L. M. Mumera, W. K. Ng'etich, A. Hassanali, F. Wachira. 2007. Polyphenols as Potential Indicators for Drought Tolerance in Tea (*Camellia sinensis* L.). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71 (9): 2190-2197.
- Collins, M. D., L. M. Wasmund, P. W. Bosland, P. 1995. Improved method for quantifying capsaicinoids in *Capsicum* using high-performance liquid chromatography. *Hortscience* 30: 137-139.
- CONABIO. 2018. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Biodiversidad Mexicana. Chile. <http://www.biodiversidad.gob.mx/ usos/ alimentacion/ chile.html>. (Consultado 29 de agosto de 2018).
- Corradini, E., P. Flogia, P. Giansanti, R. Gubbiotti, R. Samperi, A. Laganá. 2011. Flavonoids: chemical properties and analytical methodologies of identification and quantitation in foods and plants. *Natural Product Research*. Vol. 25, No. 5, 469–495.
- Covarrubias, R. A. A. 2007. Sobrevivir al estrés: cómo responden las plantas a la falta de agua. *Bioteconología*, 14, 253–262.
- De la Cruz-Guzmán, G., A. Arriaga-Frías, M. Mandujano-Piña, S. González Moreno. 2010. Efecto de la sequía sobre algunas variables hídricas y morfométricas en cinco genotipos de *amaranthus*. *Idesia*. 28: 87-95.
- De la Cruz, J., J., L. P. Moreno F., S. Magnitskiy. 2012. Respuesta de las plantas a estrés por inundación. Una revisión. *Revista colombiana de ciencias hortícolas* 6: 96-109.

- De la Cruz R., D. 2018. Efecto *in vitro* del extracto metanólico de especies de *Capsicum* sobre *Moniliophthora roreri* y su caracterización química. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de maestro en ciencias. Colegio de Postgraduados. Cárdenas, Tabasco; México. 121 p.
- Delgoda, R., J.E. Murray. 2017. Perspectivas Evolutivas sobre el papel de los metabolitos secundarios vegetales. Capítulo 7. In: Farmacognosia. Fundamentos, Aplicaciones y Estrategias. Elsevier. USA, pp. 93-100.
- Estrada-Reyes, R., D. Ubaldo-Suárez, A. Araujo-Escalona. 2012. Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central. Salud mental 35 (5): 375-384.
- Fathi, A., y D. B. Tari. 2016. Effect of drought stress and its mechanism in plants. International Journal of Life Sciences 10(1): 1-6.
- González-Cortés, N. 2017. Chile Amashito: El sabor picante de Tabasco. Revista Diálogos 51: 2-7.
- González-Cortés, N., R. V. Jiménez, E. C. B. Guerra, H. E. Silos, E. Payro de la C. 2015. Germinación del chile Amashito (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*) en el sureste mexicano. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 11: 2211-2218.
- Griesser, M., G. Weingart, K. Schoedl-Hummel, N. Neumann, M. Becker, K. Varmuza, F. Liebner, R. Schuhmacher, A. Forneck. 2016. Severe drought stress is affecting selected primary metabolites, polyphenols, and volatile metabolites in grapevine leaves (*Vitis vinifera* cv. Pinot noir). Plant Physiology and Biochemistry. 88: 17-26.
- GRIN. 2018. Global Web Taxonomy of plantas. U. S. National Plant Germplasm System: *Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill. <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?id=102342>. Consultado el 06 de marzo de 2018.
- Gurnani, N., M. Gupta, D. Mehta, B. K. Mehta. 2016. Chemical composition, total phenolic and flavonoid contents, and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of crude extracts from red chilli seeds (*Capsicum frutescens* L.). Journal of Taibah University for Science 10: 462-470.
- Hernández, G. M. J. 2015. Respuestas anatómico fisiológicas frente a estrés hídrico en plantaciones de especies de crecimiento rápido para la producción de

- biomasa. Tesis doctoral. Escuela técnica superior de ingenieros de Montes. Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España. 177 p.
- Hernández, P., J. B. C. Trejo López, C. Ramírez Ayala, A. López Ordaz, E. Uscanga Mortera, P. Preciado Rangel. 2016. Eficiencia de uso de agua en Chile en un sistema con déficit de riego y drenaje cero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 17: 3623-3632.
- Hernández-Verdugo, S., F. Porras, A. Pacheco-Olvera, R. G. López-España, M. Villarreal-Romero, S. Parra-Terraza, T. Osuna Enciso. 2012. Caracterización y variación ecogeográfica de poblaciones de Chile (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) silvestre del noroeste de México. *Polibotánica* 33: 175-191.
- Hopkins, W. G., y N. P. A. Hüner. 2003. *Introduction to Plant physiology*. 3rd edition. John Wiley & Sons, Inc. USA. P 559.
- INIFAP, 2011. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. (Consultado el 30 de agosto de 2018).
- Jarma, O. A., C. Cardona A., y H. Araméndiz T. 2012. Efecto del cambio climático sobre la fisiología de las plantas cultivadas: una revisión. *Rev. U.D.C.A Actualidad y divulgación científica*. 15(1): 63–76.
- Jeeatid, N., S. Techawongstien, B. Suriharna, S. Chanthaib, P.W. Bosland, y S. Techawongstien. 2018. Influence of water stresses on capsaicinoid production in hot pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) cultivars with different pungency levels. *Food Chemistry* 245: 792–797.
- Khan, M. A., C. Ulrichs, I. Mewis. 2011. Effect of water stress and aphid herbivory on flavonoids in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica* Plenck). *Journal of Applied Botany and Food Quality* 84: 178-182.
- Kaur, G., B. Asthir. 2015. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. *Biologia Plantarum* 59: 609-619.
- Kavi, K .P. B., N. Sreenivasulu. 2014. Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? *Plant, Cell and Environment* 37(2): 300– 311.

- Kulkarni, M., S. Phalke. 2009. Evaluating variability of root size system and its constitutive traits in hot pepper (*Capsicum annum* L.) under water stress. *Scientia Horticulturae* 120: 159–166.
- Lagunes-Espinoza, L. C. 2019. Chipilín y chiles: tesoros escondidos de la cocina chontal. *Revista Diálogos* 58: 10-13.
- Langridge, P., N. Paltridge, G. Fincher. 2006. Functional Genomics of abiotic stress tolerance in cereals. *Briefings in Functional Genomics Proteomics* 4: 343-354.
- Liang, X., L. Zhang, S. K. Natarajan, D. F. Becker. 2013. Proline mechanisms of stress survival. *Antioxidants & Redox Signaling* 19 (9): 998–1011.
- López-España, R. G., E. R. López-Hernández, T. Hernández-Morales, A. Charrez-Cruz, Y. González-Guzmán, N. A. Muñoz-Jimarez, J. A. Ortiz-Quintero. 2017. Effects of temperature wild chili pepper (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) germination grown under two light conditions. *Acta Agronómica* 66 (1): 69-74.
- López, R., I. Aranda, L. Gil. 2009. El ajuste osmótico como mecanismo de resistencia a la sequía en poblaciones áridas de *P. pinaster* y *P. canariensis*. *Forest Systems* 18 (2): 159-166.
- López-Serrano, L., C. Penella, A. San Bautista, S. López-Galarza, A. Calatayud. 2017. Physiological changes of pepper accessions in response to salinity and water stress. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 15 (3). DOI:10.5424/sjar/2017153-11147
- Luna-Flores, W., H. Estrada-Mendoza, J. Jiménez Osornio, L. Pinzón-López. 2012. Efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento y eficiencia del uso del agua en plántulas de tres especies arbóreas caducifolias. *Terra Latinoamericana*, 30(4): 343-353.
- Malika, L. Y., K. S. H. Thilinka Deshabandu, W.A.J.M. De Costa, S. Ekanayake, S. Herath, y W.M.W. Weerakoon. 2019. Physiological traits determining tolerance to intermittent drought in the *Capsicum annum* complex. *Scientia Horticulturae* 246: 21–33.
- Manrique, R., E. 2003. Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis. *Ecosistemas*. XII: 1-11.

- Mares-Quiñones, M. D., J. I. Valiente-Banuet. 2019. Horticultural aspects for the cultivated production of piquin peppers (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*)—A Review. *Hortscience* 54(1): 70–75.
- Martínez-Flórez, J., J. González-Gallego, J. M. Culebras, M. J. Tuñón. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Revisión. *Nutr. Hosp.* XVII (6) 271-278.
- Medrano, H., J. Bota, J. Cifre, J. Flexas, M. Ribas-Carbó, J. Gulías. 2007. Eficiencia en el uso del agua por las plantas. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 43: 63-84.
- Mendoza-Sánchez, L. G., M. R. Mendoza-López, O. García-Barradas, E. Azuara-Nieto, L. A. Pascual-Pineda, y M. Jiménez-Fernández. 2015. Physicochemical and antioxidant properties of jalapeño pepper (*Capsicum annuum* var. *annuum*) during storage, Mexico. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 21(3): 229-241.
- Menichini, F., R. Tundis, M. Bonesi, M. R. Loizzo, F. Conforti, G. Statti, B. De Cindio, P. J. Houghton, y F. Menichini. 2009. The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum chinense* Jacq. cv Habanero. *Food Chemistry* 114: 553–560.
- Mohanta, T. K., T. Bashir, A. Hashem, y E. F. Abd-Allah. 2017. Systems biology approach in plant abiotic stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 121: 58–73.
- Muller, B., F. Pantin, M. Génard, O. Turc, S. Freixes, M. Piques, Y. Gibon. 2011. Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. *Journal of Experimental Botany* 62(6): 1715–1729.
- Montes, S. H. 2010. Recopilación y análisis de la información existente de las especies del género *Capsicum* que crecen y se cultivan en México. *Campo Experimental Bajío*, INIFAP. México. 74 p.
- Morales V., G., y J. Padilla-Vega. 2019. Tecnología para el desarrollo sustentable de la cadena agroindustrial de chile Amashito (*Capsicum annuum* var. *Glabriusculum*). Universidad Intercultural del Estado de Tabasco, Red Temática Sobre el Patrimonio Biocultural de México. Villahermosa, Tabasco, México.

- Moran, R. 1982. Formulae for determination of chlorophyllous pigments extracted with N,N-Dimethylformamide. *Plant Physiol.* 69: 1376-1381.
- Moreno, F., Liz P. 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana.* 27 (2): 179-191.
- Murillo-Amador, B., E. O. Rueda-Puente, E. Troyo-Diéguez, M. V. Córdoba-Matson, L. G. Hernández-Montiel, A. Nieto-Garibay. 2015. Baseline study of morphometric traits of wild *Capsicum annuum* growing near two biosphere reserves in the peninsula of Baja California for future conservation management. *BMC Plant Biol.* 15(1): 118.
- Nafarrate, H. A. C. 2017. Estimación directa e indirecta del índice de área foliar (AIF) y su modelación con Lidar en un bosque tropical seco de Yucatán. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de maestra en ciencias. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. Mérida, Yucatán. 95 p.
- Nakabayashi, R., Mori T., K. Saito. 2014. Alternation of flavonoid accumulation under drought stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signaling & Behavior.* 9: 8.
- Nieto-Garibay, A., E. Troyo-Diéguez, J. L. García-Hernández, B. Murillo-Amador, F. H. Ruiz-Espinoza, E. Pimienta-Barrisi. 2009. Efecto del estrés hídrico edáfico en emergencia y desarrollo de plántula en las especies de chile *Capsicum frutescens* L. y *Capsicum annuum* L. *Tropical and Subtropical Agroecosystems,* 10: 405-413.
- Nwokem, C. O., E. B. Agbaji, J. A. Kagbu, E. J. Ekanem. 2010. Determination of capsaicin content and pungency level of five different peppers grown in Nigeria. *New York Science Journal* 33: 17-21.
- Okunlola, G. O., R. O. Akinwale, A. A. Adelusi. 2016. Proline and soluble sugars accumulation in three pepper species (*Capsicum spp*) in response to water stress imposed at different stages of growth. *Sciences in Cold and Arid Regions* 8(3): 205-211.
- Okunlola, G. O., O. A. Olatunji, R. O. Akinwale, A. Tariq, A. A. Adelusi. 2017. Physiological response of the three most cultivated pepper species (*Capsicum spp.*) in Africa to drought stress imposed at three stages of growth and development. *Science Horticulturae* 224: 198-205.

- Osakabe, Y., K. Osakabe, K. Shinozaki, L. S. P. Tran. 2014. Response of plants to water stress. *Frontiers in Plant Science*. *Frontiers in plant science* 5 (86): 8.
- Panche, A. N., A. D. Diwan, S. R. Chandra. 2016. Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science* 5 (47): 15.
- Perry, L., R. Dickau, S. Zarrillo, I. Holst, D. M. Pearsall, D. R. Piperno, M. J. Berman, R. G. Cooke, K. Rademaker, A. J. Ranere, J. S. Raymond, D. H. Sandweiss, F. Scaramelli, K. Tarble, J. A. Zeidler. 2007. Starch fossils and the domestication and dispersal of Chili peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas. *Science* 315: 986-988.
- Perry, S., D. Entekhabi, y A. Molini. 2018. Plant Osmoregulation as an emergent water-saving adaptation. *Water resources research*, 54 (4): 2781-2798.
- Phimchan, P., S. Techawongstien, S. Chanthai, y P.W. Bosland. 2012. Impact of drought stress on the accumulation of capsaicinoids in *Capsicum* Cultivars with different initial capsaicinoid levels. *HortScience*. 47(9), 1204-1209.
- Popovic, B. M., D. Stajner, R. Zdero-Pavlovic, V. Tumbas-Saponjac, J. Canadanovic-Brunet, S. Orlovic. 2016. Water stress induces changes in polyphenol profile and antioxidant capacity in poplar plants (*Populus* spp.). *Plant physiology and biochemistry*. 105: 242-250.
- Prado-Urbina, G., L. Lagunes-Espinoza, E. García-López, C. Bautista-Muñoz, W. Camacho-Chiu, F. Mirafuentes G, V. Aguilar-Rincón. 2015. Germinación de semillas de chiles silvestres en respuesta a tratamientos pre-germinativos. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 2 (5): 139-149.
- Quintal, O. W. C., A. Pérez-Gutiérrez, L. Latournerie Moreno, C. May-Lara, E. Ruiz Sánchez, A. J. Martínez Chacón. 2012. Uso de agua, potencial hídrico y rendimiento de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Revista Fitotecnia Mexicana* 35 (2): 155–160.
- Quiñones, M., M. Miguel, A. Aleixandre. 2012. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr. Hosp.* 27 (1): 76-89.
- Rodríguez-Pérez, L. 2006. Implicaciones fisiológicas de la osmorregulación en plantas. *Agronomía Colombiana* 24(1): 28-37.

- Ruiz-Lau, N., F. Medina-Lara, Y. Minero-García, E. Zamudio-Moreno, A. Guzmán-Antonio, I. Echevarría-Machado, M. Martínez-Estévez. 2011. Water deficit affects the accumulation of capsaicinoids in fruits of *Capsicum chinense* Jacq. HortScience 46(3): 487–492.
- Salazar, C., C. Hernández. 2018. Pimientos para la industria de alimentos e ingredientes. Capítulo 4. Respuesta a estrés hídrico controlado del pimiento durante la maduración del fruto. INIA, Santiago, Chile. Págs. 59-68.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2016. Cambio climático. Informe de la situación del medio ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Indicadores Clave, de Desempeño Ambiental y de Crecimiento Verde. Edición 2015. Ciudad de México, México. 63 p.
- Sharma, A., B. Shahzad, A. Rehman, R. Bhardwaj, M. Landi, B. Zheng. 2019. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. Molecules 24, 2452. DOI:10.3390/molecules24132452.
- SIAP, 2020. Servicio de Información Alimentaria y Pesquera. Anuario estadístico de la Producción Agrícola. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>. Consultado el 29 de mayo de 2020.
- Somogyi, M. 1952. Notes of sugar determination. J Biol Chem. 195:19-23.
- Sun, Y., G. Niu, P. Osuna-Avila. 2019. Efecto del contenido de humedad del sustrato en el crecimiento y la respuesta fisiológica del chile (*Capsicum annum* L.). Agrociencia 53: 59-72.
- Szabados, L., A. Savouré. 2009. Proline: a multifunctional amino acid. Trends Plant Science. 15: 89-97.
- Taiz, L., E. Zeiger. 2002. Plant Physiology. Sinauer Associates; 3erd. Edition. USA. 690 pags.
- Taiz, L., Zeiger, E. 2010. Plant physiology 5th Ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates, USA. 782 p.
- Thige, N., R., R. Montalba N., G. Leonelli C., A. Contreras N. 2014. Efecto de dos extractos botánicos en el desarrollo y contenido de polifenoles de ají (*Capsicum annum* L.). Rev. Mex. Cienc. Agríc. 5(1): 115-127.

- Tsao, R. 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*. 2(12): 1231-1246.
- Toscano, S., A. Trivellini, G. Concetta, R. Bulgari, A. Francini, D. Romano, A. Ferrante. 2019. Effect of preharvest abiotic stresses on the accumulation of bioactive compounds in horticultural produce. *Frontiers in plant science* 10, article 1212. DOI: 10.3389/fpls.2019.01212.
- Valladares, F., A. Vilagrosa, J. Peñuelas, R. Ogaya, J. Camarero, L. Corcuera, S. Sisó, E. Gil-Pelegrín. 2004. Capítulo 6- Estrés hídrico: ecofisiología y escalas de la sequía. *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. 163-190.
- Vera-Guzmán, A. M., J. L. Chávez-Servia, J. C. Carrillo-Rodríguez, M. G. López. 2011. Phytochemical Evaluation of Wild and Cultivated Pepper (*Capsicum annuum* L. and *C. pubescens* Ruiz & Pav.) from Oaxaca, Mexico. *Chilean journal of agricultural research* 71(4): 578-585.
- Vincent, D, Lapierre C, Pollet B, Cornic G, Negroni L, Zivy M. 2005. Water deficits affect caffeate O-methyltransferase, lignification, and related enzymes in maize leaves. A proteomic investigation. *Plant Physiology* 137: 949–960.
- Wang, C., Lu, J., Zhang, S., Wang, P., Hou, J., Qian, J., 2011. Effects of Pb stress on nutrient uptake and secondary metabolism in submerged macrophyte *Vallisneria spiralis*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74: 1297–1303.
- Wu, G., S. K. Johnson, J. F. Bornman, S. J. Bennett, Z. Fang. 2016. Changes in whole grain polyphenols and antioxidant activity of six sorghum genotypes under different irrigation treatments. *Food Chemistry*. 214: 199-207.
- Yadav, S. K., N. Jyothi Lakshmi, M. Maheswari, M. Vanaja, B. Venkateswarlu. 2005. Influence of water deficit at vegetative, anthesis and grain filling stages on water relation and grain yield in sorghum. *Indian J. Plant Physiology*, 10: 20-24.
- Zhang, Z. X., S. N. Zhao, G. F. Liu, Z. M. Huang, Z. M. Cao, S. H. Cheng, S. S. Lin. 2016. Discovery of putative capsaicin biosynthetic genes by RNA-Seq and digital gene expression analysis of pepper. *Scientific Reports* 6: 34121.
- Zhu, Z., X. Xu, B. Cao, Ch. Chen, Q. Chen, Ch. Xiang, G. Chen, J. Lei. 2015. Pyramiding of AtEDT1/HDG11 and Cry2Aa2 into pepper (*Capsicum annuum* L.)

enhances drought tolerance and insect resistance with out yield decrease. Plant Cell Tiss Organ Cult 120: 919–932.