



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Instituto de Conservación y Mejora
de la Agrodiversidad Valenciana

Máster Universitario en Mejora Genética Vegetal

EFFECTO DE LA MELATONINA EXÓGENA SOBRE LA GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO EN PLÁNTULAS DE PIMIENTO (*Capsicum annuum*) BAJO ESTRÉS SALINO

AUTOR: GUTIÉRREZ JACHO JOHN HENRRY

TUTOR: RAIGÓN JIMÉNEZ, M^a DOLORES

Curso Académico: 2020/2021



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Instituto de Conservación y Mejora
de la Agrodiversidad Valenciana

La Dra. M^a Dolores Raigón Jiménez, profesora del Máster Universitario en Mejora Genética Vegetal, en calidad de directora del presente Trabajo Final de Máster, por la Presente,

RECONOCE:

Que el Trabajo Final de Máster realizado por el alumno D. John Henry Gutiérrez Jacho, con el título “Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino” y realizado bajo mi dirección, reúne las condiciones necesarias para completar la formación del alumno y en consecuencia,

AUTORIZA:

La presentación del citado Trabajo Final de Máster para su defensa ante el correspondiente Tribunal.

Y para que conste a los efectos oportunos, así lo firma,

Valencia 13 de septiembre de 2021

Dra. M^a Dolores Raigón Jiménez

Máster Oficial de Mejora Genética Vegetal



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Instituto de Conservación y Mejora
de la Agrobiodiversidad Valenciana

FORMULARIO DEPÓSITO TRABAJO FINAL DE MÁSTER

AUTOR	1 ^{er} APELLIDO	2 ^o APELLIDO	NOMBRE	DNI/NIE
	Gutiérrez	Jacho	John Henry	Y6167236F
DIRECTOR	1 ^{er} APELLIDO	2 ^o APELLIDO	NOMBRE	
	Raigón	Jiménez	M ^a Dolores	
UNIVERSIDAD			MÁSTER	
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA			Mejora Genética Vegetal	
TÍTULO DEL TRABAJO FINAL DE MÁSTER				
Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (<i>Capsicum annuum</i>) bajo estrés salino				
CLASIFICACIÓN DE LA UNESCO	Códigos UNESCO: https://upct.es/contenido/doctorado/Documentos/2012/CODIGOS_UNESCO.pdf			
	CAMPO	DISCIPLINA	SUBDISCIPLINA	
	24	17	90	

RESUMEN

La alta salinidad afecta a todos los aspectos de la fisiología y bioquímica de las plantas debido al estrés osmótico e iónico, y es una de las limitaciones más importantes para la producción de cultivos en todo el mundo. Se sabe que las modificaciones en las plantas ocurren debido al efecto de la melatonina como antioxidante y su papel en la estabilización de la membrana y la regulación de la expresión génica. Las funciones fisiológicas de la melatonina incluyen en la estimulación del crecimiento de raíces y tallos, retraso en la senescencia de las hojas, reducción de la degradación de la clorofila y reducción de especies reactivas de oxígeno.

El principal objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de aplicación de melatonina sobre la germinación y crecimiento inicial de plantas de pimiento cultivadas en condiciones salinas. En concreto se trabajará con seis entradas de *Capsicum* spp. procedentes del Banco de Germoplasma del Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV), sometidas a condiciones de salinidad.

Los resultados obtenidos han permitido demostrar los efectos positivos de la melatonina como un estimulante de efecto antioxidante en los mecanismos de defensa de la planta en condiciones de estrés por sal. Mediante la evaluación del porcentaje de germinación, crecimiento del tallo de las plántulas, contenido total de clorofila, antocianos, flavonoides, contenido relativo de agua (RWC), fuga relativa de electrolitos, concentración de antioxidantes (ATO) y el contenido mineral de hojas (H) y tallos con raíces (T-R).

La germinación de semillas bajo estrés salino ha sido complicada. A diferencia de las semillas en las que solo se aplicó melatonina sin condiciones de estrés por sal, que favorece los valores de la germinación con tratamientos de 10 y 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de melatonina. La reducción del efecto por estrés salino en las plantas de *Capsicum* se mejora con dosis de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de melatonina, existiendo un aumento de la actividad antioxidante, clorofila y contenido relativo de agua a diferencia de las plantas que no fueron tratadas con melatonina. Las entradas Piquillo, Pasilla y Numex Conquistador mostraron la mejor respuesta bioquímica al ser expuestas a condiciones de estrés por sal. Los resultados sugieren que la melatonina puede aliviar el efecto del estrés salino durante las primeras etapas de desarrollo de las plantas de *Capsicum* spp. La acumulación de la prolina se ha evidenciado ante el estrés causado por la concentración salina, por lo que se sugiere que esta acumulación se podría emplear como criterio en la selección de cultivares de *Capsicum* resistentes al estrés salino.

**PALABRAS
CLAVE**

DESCRIPTORES EN ESPAÑOL

Capsicum; estrés salino; germinación; melatonina; antioxidante; prolina

ABSTRACT

High salinity affects all aspects of plant physiology and biochemistry due to osmotic and ionic stress, and is one of the most important constraints for crop production worldwide. Modifications in plants are known to occur due to the effect of melatonin as an antioxidant and its role in membrane stabilization and regulation of gene expression. The physiological functions of melatonin include stimulating root and stem growth, delaying leaf senescence, reducing chlorophyll degradation, and reducing reactive oxygen species.

The main objective of this work is to evaluate the effect of melatonin application on the germination and initial growth of pepper plants grown in saline conditions. Specifically, it will work with six varieties of *Capsicum* spp. from Banco de Germoplasma del Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV), subjected to salinity conditions.

The results obtained have made it possible to demonstrate the positive effects of melatonin as a stimulant with an antioxidant effect on the defense mechanisms of the plant under conditions of salt stress. By evaluating the germination percentage, seedling stem growth, total chlorophyll content, anthocyanins, flavonoids, relative water content (RWC), relative electrolyte leakage, antioxidant concentration (ATO) and the mineral content of leaves (H) and stems with roots (TR).

Seed germination under saline stress has been difficult. Unlike seeds in which only melatonin was applied without salt stress conditions, which favors germination values with treatments of 10 and 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of melatonin. The reduction of the effect by saline stress in *Capsicum* plants is improved with doses of 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of melatonin, with an increase in antioxidant activity, chlorophyll and relative water content, unlike plants that were not treated with melatonin. The Piquillo, Pasilla and Numex Conquistador varieties showed the best biochemical response when exposed to salt stress conditions. The results suggest that melatonin can alleviate the effect of salt stress during the early stages of development of *Capsicum* spp. plants. The accumulation of proline has been evidenced by the stress caused by the saline concentration, which is why it is suggested that this accumulation could be used as a criterion in the selection of cultivars of *Capsicum* resistant to saline stress.

DESCRIPTORES EN INGLÉS	
KEYWORDS	<i>Capsicum</i> ; salt stress; germination; melatonin; antioxidant; proline

RESUM

L'alta salinitat afecta tots els aspectes de la fisiologia i bioquímica de les plantes a causa de l'estrès osmòtic i iònic, i és una de les limitacions més importants per a la producció de cultius a tot el món. Se sap que les modificacions en les plantes ocorren a causa de l'efecte de la melatonina com a antioxidant i el seu paper en l'estabilització de la membrana i la regulació de l'expressió gènica. Les funcions fisiològiques de la melatonina inclouen en l'estimulació de l'creixement d'arrels i tiges, retard en la senescència de les fulles, reducció de la degradació de la clorofil·la i reducció d'espècies reactives d'oxigen.

El principal objectiu d'aquest treball és avaluar l'efecte d'aplicació de melatonina sobre la germinació i creixement inicial de plantes de pebrot cultivades en condicions salines. En concret es treballarà amb sis entrades de *Capsicum* spp. procedents del Banc de Germoplasma de l'Institut Universitari de Conservació i Millora de l'Agrodiversitat Valenciana (COMAV), sotmeses a condicions de salinitat.

Els resultats obtinguts han permès demostrar els efectes positius de la melatonina com un estimulant d'efecte antioxidant en els mecanismes de defensa de la planta en condicions d'estrès per sal. Mitjançant l'avaluació de l'percentatge de germinació, creixement de la tija de les plàntules, contingut total de clorofil·la, antocians, flavonoides, contingut relatiu d'aigua (RWC), fugida relativa d'electròlits, concentració d'antioxidants (ATO) i el contingut mineral de fulles (H) i tiges amb arrels (TR).

La germinació de llavors sota estrès salí ha estat complicada. A diferència de les llavors en què només es va aplicar melatonina sense condicions d'estrès per sal, que afavoreix els valors de la germinació amb tractaments de 10 i 50 mmol L⁻¹ de melatonina. La reducció de l'efecte per estrès salí en les plantes de *Capsicum* es millora amb dosis de 50 µmol L⁻¹ de melatonina, existint un augment de l'activitat antioxidant, clorofil·la i contingut relatiu d'aigua a diferència de les plantes que no van ser tractades amb melatonina. Les entrades Piquillo, Pasilla i Numex Conquistador van mostrar la millor resposta bioquímica a l'ésser exposades a condicions d'estrès per sal. Els resultats suggereixen que la melatonina pot alleujar l'efecte de l'estrès salí durant les primeres etapes de desenvolupament de les plantes de *Capsicum* spp. L'acumulació de la prolina s'ha evidenciat davant l'estrès causat per la concentració salina, per la qual cosa suggereix que aquesta acumulació es podria emprar com a criteri en la selecció de conreus de *Capsicum* resistents a l'estrès salí.

DESCRIPTORES EN VALENCIANO	
PARAULES CLAU	<i>Capsicum</i> ; estrés per sal; germinació; melatonina; antioxidant; prolina

Agradecimientos

A Lola por darme la oportunidad de hacer este trabajo de investigación, por toda su ayuda y esa buena alegría positiva que la caracteriza, que hace que todo parezca más fácil. ¡Muchas gracias de corazón!

A Loles que me ayudo en la parte del laboratorio de química, que desde el primer día me hicieron sentir como un compañero más y lo agradable que ha sido compartir las horas de trabajo durante todas ustedes.

A mis compañeros de clase que comenzamos inicialmente siendo desconocidos y diferente cultura. Y ahora somos grandes amigos que los recordé siempre como un gran grupo de trabajo.

En especial este trabajo dedico a mi padre John Kennedy Gutierrez Armijo quien falleció por Covid-19 que, a pesar de la distancia, hasta tus ultimas días estuviste pendiente para que consiga este objetivo más en mi vida. ¡¡Gracias por todo...!!

A mi madre por siempre apoyar desde el inicio de este sueño que ahora la plasmo en escrito. Lo conseguimos con muchos sacrificios y travesías, pero siempre junto.

A Amelia que, a pesar de no habernos visto en persona, desde que inicie esta aventura, forma parte de este logro.

Y gracias a Dios por permite darme esta oportunidad más en mi vida, que no la desaproveche.

Muchas Gracias a todos y hasta una próxima oportunidad.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
1.1	CULTIVO DEL PIMIENTO: ORIGEN, DOMESTICACIÓN Y DIFUSIÓN	1
1.2	DATOS DE PRODUCCIÓN PARA EL CULTIVO DEL PIMIENTO	2
1.3	TAXONOMÍA Y BOTÁNICA	6
1.3.1	Clasificación taxonómica	6
1.3.2	Etapas fenológicas	7
1.4	VARIEDADES DE CAPSICUM	9
1.5	ESTRÉS BIÓTICOS Y ABIÓTICOS	10
1.5.1	Estrés biótico	10
1.5.2	Estrés abiótico	13
1.6	EFECTO DE LA MELATONINA	16
II.	OBJETIVOS	18
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1	CONDICIONES DEL CULTIVO	20
3.1.1	Diseño Experimental	21
3.1.2	Evaluación del porcentaje de germinación	22
3.1.3	Preparación de las bandejas de cultivo	23
3.2	PARÁMETROS RESPUESTA	24
3.2.1	Evaluación del crecimiento de las plantas en condiciones de salinidad	24
3.2.2	Determinación del contenido de clorofila, antocianos y polifenoles	24
3.2.3	Determinación del contenido relativo de agua (RWC)	24
3.2.4	Determinación de la actividad antioxidante	25
3.2.5	Determinación de la fuga relativa de electrolitos	25
3.2.6	Determinación del contenido en prolina	26
3.2.7	Contenido mineral de hojas y tallos con raíces	26
3.2.8	Tratamiento estadístico	27
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
4.1	RESULTADOS	28
4.1.1	Incidencia sobre el nivel de germinación en función de las variedades de <i>Capsicum</i> , dosis de melatonina y concentración salina	28
4.1.2	Resultados sobre de la altura del tallo en función de las variedades de <i>Capsicum</i> y dosis de melatonina en condiciones de salinidad	30
4.1.3	Resultados en clorofila, antocianos y polifenoles en función de las variedades de <i>Capsicum</i> y dosis de melatonina en condiciones de salinidad	36
4.1.4	Resultados en prolina, antioxidantes totales, contenido relativo de agua y fuga de electrolitos en función de las variedades de <i>Capsicum</i> y dosis de melatonina en condiciones de salinidad	38
4.1.5	Resultados en los niveles minerales en función de las variedades de <i>Capsicum</i> y dosis de melatonina en condiciones de salinidad	40
4.1.6	Correlaciones entre variedades	42
4.2	DISCUSIÓN	45
V.	CONCLUSIONES	51
VI.	BIBLIOGRAFÍA	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Producción (t), superficie (ha) y rendimiento (kg/ha) del cultivo del chile, a nivel mundial, desde el año 2015 al 2019 (FAOSTAT, 2020).	3
Tabla 2	Producción (t) y superficie del cultivo (ha) de los 19 países con mayores producciones (FAOSTAT, 2020)	4
Tabla 3	Rendimiento (t/ha) del cultivo de chiles en países de la Unión Europea en 2019	5
Tabla 4	Superficie (ha) y rendimiento (kg/ha) del cultivo de pimiento en España, por comunidad autónoma y condiciones de cultivo (MAPAMA, 2020)	6
Tabla 5	Taxonomía de <i>Capsicum annuum</i> L	7
Tabla 6	Lista de las accesiones del Banco de Germoplasma del COMAV, utilizadas en la investigación	20
Tabla 7	Niveles de germinación (%) de las variedades de <i>Capsicum</i> bajo el efecto de los niveles de melatonina exógena	28
Tabla 8	Niveles de germinación (%) en función de la dosis de melatonina exógena sobre las semillas de <i>Capsicum</i>	30
Tabla 9	Altura de planta (cm) de las variedades de <i>Capsicum</i> bajo el efecto de los niveles de melatonina exógena, durante las seis semanas de estudio	36
Tabla 10	Efecto de las dosis de melatonina exógena sobre la altura (cm) del tallo de las plántulas de <i>Capsicum</i> , durante las seis semanas de estudio	36
Tabla 11	Concentraciones en clorofila, antocianos y polifenoles en función de las variedades de <i>Capsicum</i> en condiciones de salinidad	37
Tabla 12	Concentraciones en clorofila, antocianos y polifenoles en plantas de <i>Capsicum</i> en función de las concentraciones de melatonina en condiciones de salinidad	38
Tabla 13	Concentraciones de prolina, antioxidantes totales (ATO) y contenido relativo de agua (RCW) en función de las variedades de <i>Capsicum</i> en condiciones de salinidad	39
Tabla 14	Concentraciones de prolina, antioxidantes totales (ATO) y contenido relativo de agua (RCW) en plantas de <i>Capsicum</i> en función de las concentraciones de melatonina en condiciones de salinidad	40
Tabla 15	Concentraciones (mg/100 g) de calcio, cobre, hierro, potasio, magnesio, manganeso, sodio, fósforo y zinc en hojas de <i>Capsicum</i> en función de las concentraciones de melatonina y variedad	41
Tabla 16	Concentraciones (mg/100 g) de calcio, cobre, hierro, potasio, magnesio, manganeso, sodio, fósforo y zinc en el conjunto de tallo y raíz de <i>Capsicum</i> en función de las concentraciones de melatonina y variedad	42
Tabla 17	Coefficientes de correlación de Pearson de las variables evaluadas, para el total de entradas de <i>Capsicum</i> y concentraciones de melatonina, en condiciones de salinidad	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Modelos de consenso sobre la probabilidad el origen del chile	2
Figura 2	Morfología botánica del <i>Capsicum</i> spp.	8
Figura 3	Plántulas de <i>Capsicum</i> spp. en condiciones salinas bajo diferentes concentraciones de melatonina: 0, 10, 50 y 100 μM (A); germinación de semillas de la entrada Numex Conquistador en placas Petri a los 12 días después de la siembra (B)	20
Figura 4	Distribución de bloques al azar. Tratamientos y dosis de melatonina utilizados en las fases de evaluación	22
Figura 5	Efecto de la melatonina sobre la germinación. a: entrada de la variedad Piquillo contaminadas; b: semilla con embrión de Ecu-994; c: semillas sin embrión de C.W; d: Ecu-994 en diferentes concentraciones de melatonina; e: N.C en diferentes concentraciones de melatonina	29
Figura 6	Estado de las plántulas de las seis variedades de <i>Capsicum</i> a lo largo de las seis semanas de estudio, atendiendo a la dosis de melatonina aplicada, para el bloque I	31
Figura 7	Estado de las plántulas de las seis variedades de <i>Capsicum</i> a lo largo de las seis semanas de estudio, atendiendo a la dosis de melatonina aplicada, para el bloque II	32
Figura 8	. Estado de las plántulas de las seis variedades de <i>Capsicum</i> a lo largo de las seis semanas de estudio, atendiendo a la dosis de melatonina aplicada, para el bloque III	33
Figura 9	Estado de las plántulas de las seis variedades de <i>Capsicum</i> a lo largo de las seis semanas de estudio, atendiendo a la dosis de melatonina aplicada, para el bloque IV	34
Figura 10	Plántulas de la variedad Numex Conquistador (a) y Piquillo (b), con la aplicación de $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de melatonina a la sexta semana	35

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

1.1. CULTIVO DEL PIMIENTO: ORIGEN, DOMESTICACIÓN Y DIFUSIÓN

El pimiento, chile o ají es uno de los cultivos más difundidos por todo el mundo y está presente en las elaboraciones de prácticamente todas las cocinas, siendo especialmente importante en la gastronomía latinoamericana y asiática. El origen del pimiento data de 7000 a 9000 años aproximadamente. Su centro de origen es Mesoamérica (Centro y Sur de América), donde se han encontrado restos prehistóricos en Perú y México. Perteneciente al género *Capsicum* de la familia de las Solanáceas, se han podido identificar 31 especies de las cuales cinco son las cultivadas en el mundo.

Los procesos de domesticación parecen que ocurrieron en diferentes especies silvestres, como *Capsicum pubescens* y *C. Capsicum baccatum* que fueron domesticadas en Bolivia y *Capsicum annuum* en México y en la Amazonia. A partir de variedades primitivas de *C. annuum* evolucionaron *C. chinense*, en la Amazonia y *C. frutescens* en México.

En un estudio realizado por Kraig H. Kraft (2014), sobre el origen del *Capsicum annuum*, basado en datos arqueológicos, paleo-climáticos, lingüísticos y genéticos en varias líneas silvestres y domésticas en México, se indica que el origen pudo haber ocurrido en dos áreas de México, por un lado, en el noroeste de México y por otro en el centro-este de México (Kraft *et al.*, 2014). Comparando diferentes cariotipos del chile silvestre y las evidencias arqueológicas, el centro de origen se localiza en la zona de Tehuacán y Ocampo que representa en la actualidad la evidencia macrobotánica más antigua del ají precerámico en el Nuevo Mundo, evidenciando con esto que el antepasado de *C. annuum* domesticada es el chile silvestre (*C. annuum* var. *Glabriusculum*), que es un arbusto perenne que produce un elevado número de frutos erectos, globulares, de aproximadamente un cm de diámetro. Generalmente se encuentran ubicados en el norte de México, pero a medida que se avanza hasta el sur, el ají silvestre se encuentra con mayor frecuencia en campos cercanos a centros poblados, del lugar de origen mencionado. La figura 1 muestra las posibles áreas de domesticación del *Capsicum annuum*, basado en (A) datos arqueológicos, (B) paleo-climáticos, del Holoceno medio, (C) lingüísticos (Kraft *et al.*, 2014).

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

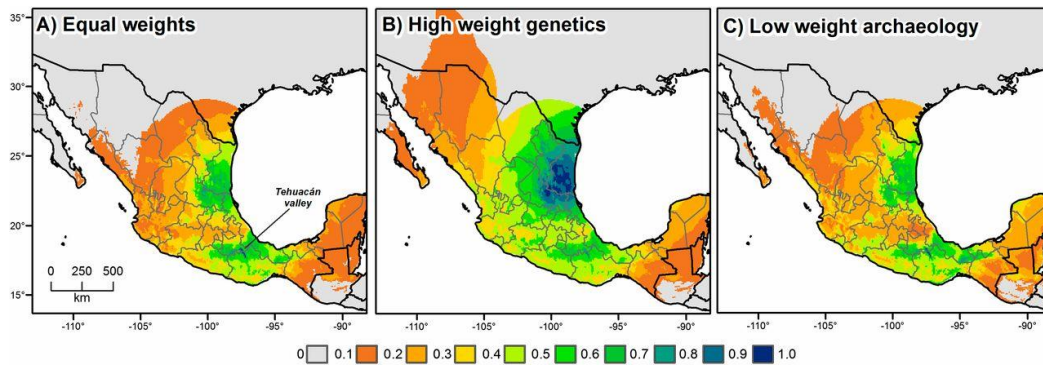


Figura 1. Modelos de consenso sobre la probabilidad el origen del chile.

La domesticación es un proceso creciente dependiente mutuamente de los seres humanos (plantas y animales), que han generado las variedades cultivadas o tradicionales que se conocen en el momento actual. El chile de Mesoamérica, *Capsicum annuum*, es uno de los cinco chiles domesticados en América. Entre los chiles, es el que más varía en tamaño, forma y color de sus frutos.

De las 30 especies reconocidas, las cinco más importantes son; *C. annuum*, *C. frutescens* L., *C. baccatum* L., *C. pubescens* Ruiz & Pav. y *C. chinense* Jacq. Se cree que estas especies fueron domesticadas en forma independientes en cada área (Aguilar-Meléndez *et al.*, 2009).

Su diseminación por Europa se produce tras los viajes de Colón, éste al llegar a Haití encontró una planta cultivada como especiería, que llamaban los nativos “Axí”, mucho mejor que la pimienta que se traía de Guinea o Alejandría. Describiendo el “ají” como la pimienta de los indios con granos o vainas tan grandes como un dedo. El pimiento llegó a España en 1493 y la posibilidad de sustituir a la carísima pimienta (*Piper nigrum* L.) procedente de oriente, y la facilidad de adaptación del cultivo a las nuevas condiciones, fueron las causas de su rápida expansión en España, a lo largo del siglo XVI.

1.2. DATOS DE PRODUCCIÓN PARA EL CULTIVO DEL PIMIENTO

La superficie mundial dedicada al cultivo de chile, ají y pimientos (dulces, picantes, maduros y verdes) en el año 2019 se situó en torno a los 2 millones de hectáreas según los datos publicados en 2020 por la FAO-FAOSTAT (Tabla 1).

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

Tabla 1. Producción (t), superficie (ha) y rendimiento (kg/ha) del cultivo del chile, a nivel mundial, desde el año 2015 al 2019 (FAOSTAT, 2020).

Año	Producción (t)	Superficie (ha)	Rendimiento (kg/ha)
2015	33379014	1889649	17664.1
2016	34831440	1946257	17896.6
2017	36505915	1991064	18334.9
2018	37341843	1991850	18747.3
2019	38027164	1990926	19100.2

En los datos oficiales de los últimos cinco años de cultivo de pimiento se observa que la superficie cultivada se mantiene ligeramente estable, pero con un aumento de la producción mundial, lo que origina un incremento del rendimiento del cultivo, lo que hace pensar que el cultivo de esta hortícola es de gran importancia comercial a nivel mundial. Además, se han podido lograr un sinnúmero de estrategias en la mejora vegetal y a la tecnificación de los cultivos, que han permitido lograr un incremento importante del rendimiento. Así, en la campaña del 2019, a pesar de haber disminuido la superficie cultivada, el rendimiento (kg/ha) ha crecido, siendo este cultivo más eficiente por unidad de superficie cultivada.

Analizando los datos por países (Tabla 2) publicados por FAOSTAT (2020) se observa que China ocupa la primera posición con producciones aproximadas a los 19 millones de toneladas y superficies de cultivo próximas a las 800 mil hectáreas. Muy a distancia de estas cifras se sitúan México, Turquía, Indonesia y España, que estaría entre los cinco países con mayor producción mundial de esta hortaliza, en relación a la superficie cultivada. Cabe destacar el comentario sobre la importancia de la tecnificación del cultivo, así España y Argelia, a pesar de presentar casi la misma superficie cultivada, España posee mayores valores de producción, posiblemente debido a ese mayor nivel tecnológico que España involucra en el cultivo del pimiento, así como la transferencia de la investigación agraria desarrollada en los últimos años, en este cultivo. Destaca la baja superficie de cultivo de pimiento en Países Bajos, aunque este dato se compensa con los altos valores en producción (375 mil t), este dato contrasta con respecto a los que muestran países con mayor superficie de cultivo en pimiento, como Italia, Marruecos o Israel.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

Tabla 2. Producción (t) y superficie del cultivo (ha) de los 19 países con mayores producciones (FAOSTAT, 2020).

Posición	País	Producción (t)	Superficie cultivada (ha)
1	China	19007248	798877
2	México	3238245	149577
3	Turquía	2625669	92089
4	Indonesia	2588633	300377
5	España	1402380	21430
6	Egipto	764292	40422
7	Nigeria	753116	99715
8	Argelia	675168	21767
9	USA	624982	19627
10	Túnez	443632	20103
11	Países Bajos	375000	1500
12	República de Corea	271839	33338
13	Níger	260915	13106
14	Italia	249640	10280
15	Marruecos	247609	5084
16	Kazajstán	213910	9595
17	Macedonia del Norte	185452	9390
18	Ucrania	172830	15400
19	Israel	171340	2634

A nivel de la Unión Europea, el pimiento es también una de las hortalizas más cultivadas, y al igual que su consumo, la producción ha ido creciendo en los últimos años. En Europa, países como Bélgica y Países Bajos destacan por poseer altos rendimientos en la producción de pimiento (de 266 a 250 t/ha, respectivamente), a pesar de tratarse de países con una baja superficie de cultivo, respecto a otros países del entorno europeo como, Turquía o España. La tabla 3 muestra los rendimientos (t/ha) en países del entorno de la Unión Europea junto a Reino Unido, clasificados en orden descendente, según valor del rendimiento del cultivo (FAOSTAT, 2020).

En España, la producción aproximada de pimiento, según los datos publicados en el año 2020, fue casi de 1.5 millones de toneladas, ocupando la quinta posición como productor mundial de esta hortícola. La superficie cultivada del pimiento en España predomina bajo condiciones de regadío, aunque también existen cultivos de secano y coexisten cultivos al aire libre y cultivos protegidos en ambiente de invernadero.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

Tabla 3. Rendimiento (t/ha) del cultivo de chiles en países de la Unión Europea en 2019.

Posición	País	Rendimiento (t/ha)
1	Bélgica	266
2	Países Bajos	250
3	Reino Unido	234.3
4	Alemania	126.9
5	Finlandia	102
6	Austria	93.6
7	España	65.4
8	Grecia	45.7
9	Hungría	45.6
10	Polonia	44.5
11	Republica Checa	42
12	Portugal	41
13	Francia	33.8
14	Chipre	31.3
15	Italia	24.3
16	Eslovenia	22.5
17	Eslovaquia	21.5
18	Bulgaria	19.9
19	Croacia	16
20	Rumania	12.6

Por zonas geográficas, la concentración de la producción de este cultivo (Tabla 4) se sitúa en Andalucía, Región de Murcia y Castilla La Mancha, que abarcan más del 78% de superficie cultivada (ha). Siendo Andalucía la comunidad autónoma con mayor superficie de cultivo (14470 ha), lo que significa el 67% de la superficie total cultivada de pimiento en España (MAPAMA, 2020), destacando como la región con mayor producción de pimiento, tanto bajo condiciones protegidas en invernadero, como en producción al aire libre. A pesar de la gran extensión de pimiento que se produce en la zona de Andalucía, el rendimiento de este cultivo en esta zona se considera de valor medio con 78 t/ha en condiciones de regadío, situándose este rendimiento por debajo de los alcanzados en la Comunidad Valenciana, Murcia, Extremadura y Canarias.

La región más importante por su rendimiento (kg/ha) en condiciones de cultivo protegido y regadío, con más de 187 t/ha, es Extremadura, debido principalmente a las producciones de la provincia de Badajoz, a pesar de tener una superficie de 608 ha, es la Comunidad Autónoma más eficiente por unidad de superficie producida.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

Tabla 4. Superficie (ha) y rendimiento (kg/ha) del cultivo de pimiento en España, por comunidad autónoma y condiciones de cultivo (MAPAMA, 2020).

C. Autónomas	Superficie (ha)				Rendimiento (kg/ha)			Producción (t)
	Secano	Regadío		Total	Secano	Regadío		
		Aire libre	Protegido			Aire libre	Protegido	
Galicia	-	485	589	1074	-	47262	56331	56101
Asturias	42	17	-	59	8000	15000	-	591
Cantabria	1	5	1	7	12000	14000	50000	132
País Vasco	68	106	38	212	7281	13104	28237	2957
Navarra	-	805	18	823	-	25458	34200	21109
La Rioja	-	236	3	239	-	26000	40000	6256
Aragón	-	92	3	95	-	16054	47000	1618
Cataluña	-	155	28	183	-	21162	44151	4517
Baleares	-	69	20	89	-	16000	27400	1652
Castilla-León	-	67	24	91	-	17363	35331	2012
Madrid	24	-	5	29	-	26200	51600	887
Castilla La Mancha	4	1005	-	1009	5525	40737	-	40962
C. Valenciana	-	444	395	839	-	50418	120058	69808
Murcia	-	304	1189	1493	-	79490	118500	165061
Extremadura	-	591	17	608	-	45246	187953	29936
Andalucía	1	1726	12743	14470	35000	29951	78175	1047920
Canarias	3	55	209	267	10000	33553	79347	18450
España	143	6162	15282	21587	6505	36686	81295	1469969

Según los datos publicados por la plataforma Statista de los países de la Unión Europea (2020), el principal mercado para el pimiento producido en España es la Unión Europea, y Reino Unido, siendo los principales países importadores, por orden de volumen (t), Alemania (274 mil t), Francia (118 mil t), Reino Unido (103 t), Italia (63 mil t) y Polonia (45 mil t) (Orús, 2021).

1.3. TAXONOMÍA Y BOTÁNICA

1.3.1. Clasificación taxonómica

El *Capsicum annuum* fue descrita por Carlos Linneo y publicado en *Species Plantarum*, vol. 1, p. 188-189 en 1753. Su amplia diversidad genética y por su etiología *Capsicum* deriva del vocablo latino *capsŭla, ae*, ‘caja’, ‘cápsula’, ‘arconcito’, diminutivo de *capsa, -ae*, en alusión al fruto, que es un envoltorio casi vacío y *annuum* que deriva del epíteto latino que significa “anual”. Su descripción taxonómica se detalla en la tabla 5.

Tabla 5. Taxonomía de *Capsicum annuum* L.

Taxonomía	
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Solanales
Familia:	Solanaceae
Subfamilia:	Solanoideae
Tribu:	Capsiceae
Género:	Capsicum
Especie:	<i>Capsicum annuum</i> L.

1.3.2. Etapas fenológicas

Germinación: El crecimiento de los cotiledones comienza previa desactivación de la latencia. Las semillas de pimiento tardan unos ocho días en germinar, lo que lo convierte en uno de los vegetales más lentos en la germinación, siendo la temperatura ideal para este proceso entre los 24 y 26 °C.

Desarrollo de brote principal: Comienza a partir del crecimiento del epicotilo, seguida por una fase monopodial del crecimiento del brote principal, es decir, el brote principal continúa teniendo brotes apicales más débiles.

Formación de brotes laterales: Comienza a partir del primer brote lateral apical visible hasta el 9º brote. Esta etapa es una de las etapas más críticas del estado de la plántula, en la que es susceptible a los estreses abióticos (altas y bajas temperaturas, estrés salino y estrés hídrico).

Desarrollo foliar: Las hojas se desarrollan con peciolo cortos y limbo indiviso de yemas terminales. Esta fase comprende hasta completar una media cuantitativa de 90 hojas, en promedio por plántula. Aunque algunas especies podrían llegar a alcanzar hasta 120 y 190 hojas en este estadio. En este sentido, Feldmann y Rutikanga (2021) indican que *Capsicum chinense* y *Capsicum baccatum* presentaron una mejor adaptación después del trasplante al campo o al invernadero.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

Emergencia y floración de la inflorescencia: Después del desarrollo de los brotes laterales, tiene lugar la producción de flores. La emergencia de la inflorescencia se describe en la etapa de crecimiento principal. Dependiendo de la variedad, se desarrollan una o más flores en la axila de la hoja.

Desarrollo y maduración de frutos: El desarrollo del fruto después de la fecundación de la flor va seguido del aumento gradual del tamaño, hasta alcanzar su estadio fisiológico. La madurez de frutos se acompaña del cambio del color y las etapas intermedias que permiten la identificación de los frutos maduros en la planta. Cada uno de estos estadios varían en cada genotipo (Figura 2).



Figura 2. Morfología botánica del *Capsicum* spp.

Descripción botánica: Se trata de una especie herbácea perenne, aunque suele cultivarse como anual y en algunos casos puede transformarse en bianual. El ciclo del chile está comprendido de cuatro fases principales: fase de plántula, fase vegetativa, fase floración y la fase de fructificación.

Sistema radicular: La raíz del pimiento es voluminosa y profunda. Formada por una raíz principal pivotante y dispone de numerosas raíces adventicias que llegan a alcanzar 0.5 m incluso 1 m de longitud.

El tallo: Es erecto de hasta 2 m o más de altura. Es anguloso y provisto de ramificaciones dicotómicas.

Las hojas: Son alternas, brillantes con láminas ovalada o elíptica. Con abundantes estomas, llegando a alcanzar hasta 30000/cm² en el envés.

Las flores: Son hermafroditas - autógamas en la mayoría de las especies. La antesis floral dura 2-3 días en cada flor, pero en toda la planta es escalonada, varían dependiendo del tiempo de floración.

Los frutos: Son bayas carnosas que pueden tener una infinidad de formas. Estructura hueca con 2-4 tabiques incompletos donde se alojan, muy comprimidas las semillas de color amarillento y forma discoidal (3-5 mm) (SNAVM, 2012).

1.4. VARIEDADES DE CAPSICUM

Existe dos grandes categorías varietales de *Capsicum* spp., su difusión depende del lugar de consumo. Dividiéndose en:

Variedades dulces: Son las cultivadas para el consumo en fresco y para la producción de pimentón. Cultivadas tanto al aire libre como en invernaderos. En esta categoría se pueden subdividir tres subcategorías, según la sección longitudinal de los frutos.

- a) Frutos cuadrangulares, con largo y anchos similares.
- b) Sección longitudinal rectangular, con largo similar al ancho.
- c) Sección longitudinal.

Variedades picantes: Generalmente destinadas para la industria. Los frutos son largos y delgados. Dentro de esta categoría se ubica *Capsicum frutescens* de frutos pequeños y muy picantes conocidos como “chili” o guindillas.

La diversidad morfológica de los frutos de *Capsicum* spp. Se puede agrupar en nueve grupos: Grupo I (A - California Wonder (MC-33) y B - Morrón de cuatro cascós (MC-2)), Grupo II (C - Valenciano (MV- 6)), Grupo III (D - Morrón de Conserva (MB-4)), Grupo IV (E - Najerano (IV-7) y F - Pimiento de asar mucha carne (IV-5)), Grupo V (G- Piquillo de Lodosa (V-3)), Grupo VI (H - Guindilla de Ibarra (VI-2), I - Chile de árbol (VI-4) y J - Pasilla bajío (VI-5)), Grupo VII (K - Pimiento de Padrón (VII-3), L - Gernika (VII-5) y M - Kapiya UV (VII-6)), Grupo VIII (N - Jalapeño M (VIII-4) y O - Chile Serrano (VIII- 1)), y Grupo IX (P - Habanero (CON-3) (Pereira-Dias *et al.*, 2020).

1.5. ESTRÉS BIÓTICOS Y ABIÓTICOS

El *Capsicum spp.* presenta algunos desafíos para la mejora del cultivo, que están vinculados al desarrollo sostenible de la agricultura, la seguridad alimentaria y la creciente demanda de alimentos saludables por parte de los consumidores.

Para hacer frente a estos desafíos en mejora genética vegetal se necesita, de la existencia de variabilidad genética. El conocimiento del sistema genético que lo controla y su interacción con el ambiente, es por ello que la variabilidad es conveniente como material de partida en un plan de mejora genética. El aislamiento y estudio de los genes en análisis cualitativos y cuantitativos, diseños experimentales y la selección clásica, permitirán al mundo de la investigación, proporcionar nuevos materiales bibliográficos, útiles para contrarrestar los cambios poblacionales, económicos, ecológicos y ambientales que impulsan la seguridad alimentaria.

1.5.1. Estrés biótico

En la segunda década del siglo XXI, la mayoría de los programas de mejora van dirigidos al desarrollo de cultivares o híbridos contra una amplia gama de patógenos y plagas. A pesar de los esfuerzos realizados, la explotación del germoplasma de *Capsicum* (materiales de pre-mejoramiento, variedades locales, parientes silvestres, especies relacionadas) y su programa de mejora para la resistencia de estrés bióticos aun representa tareas desafiantes (Parisi *et al.*, 2020).

Las fuentes de resistencia, se han logrado conseguir a partir de accesiones recuperadas, de variedades tradicionales y silvestres, dentro del grupo de las solanáceas. En la actualidad existe muchos genes de resistencia y tolerancia a enfermedades fúngicas y bacterianas de *Capsicumm spp.*

Algunas de las enfermedades fúngicas más importantes en el pimiento son:

- **Moho polvoriento:** El mildiú polvoriento del pimiento es severo en climas cálidos, secos o húmedos. Causa graves pérdidas de rendimiento. La enfermedad causada por *Oidiopsis taurica*, presenta síntomas que son machas blancas grisáceas en el envés de la hoja y lesiones de color amarillo verdoso claro en la superficie de la hoja (Parisi *et al.*, 2020). En la actualidad se han encontrado algunas entradas de *Capsicum*, con alta y baja resistencia al hongo.

- **Pudrición de la raíz por *Phytophthora* y tizón foliar:** Causado por *Phytophthora capsici*, uno de los patógenos más destructivos del pimiento, particularmente donde el suelo está húmedo y las temperaturas permanecen bajas (15–23 °C). El modo de acción que ataca a la planta es cuando el oomiceto penetra a la pared celular de la planta, causando una pudrición del tallo, marchitamiento y retraso del crecimiento.

Se han identificado más de 45 razas fisiológicas dentro de la pudrición de la raíz y tizón foliar por *Phytophthora*, en las que se han conseguido genes de resistencia cruzando con acciones resistentes de *Capsicum*, como la acción PI201234, en las que se identificó genes *CaPhyto* dominantes y dos genes candidatos *Capana05g000764* y *Capana05g000769*, que son la base de la resistencia a la raza 2, en los que se han identificado otros genes de resistencia.

- **Pudrición madura del pimiento:** Producido por *Antracnosis*, que causa graves pérdidas en la etapa de pre y postcosecha. La sintomatología más típica es la aparición de manchas circulares empapadas de agua con anillos concéntricos de acérvalos negros que se desarrollan debajo de la piel. Su agente causal es *Colletotrichum*, de las cuales las razas más comunes son: *C. acutatum*; *C. truncatum* y *C. siamense*.

En busca de genes de resistencia se han conseguido introgresar genes recesivos de *co1*; *co2* y *co3* de la entrada PBC93. Y recientemente se han identificado fuente de resistencia en *C. truncatum* y *C. siamense*, tanto en condiciones de campo como *in vitro*.

- ***Rhizoctonia Solani*:** Es un patógeno destructivo transmitido por el suelo que causa varios síndromes como el marchitamiento de las plántulas, la pudrición de la raíz, la pudrición del tallo o el chancro. Las fuentes de resistencia identificadas son de especies como: *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense* y *C. frutescens*. Resistentes a *Fusarium spp.*, *P. capsici* y *R. solani*, cuyas fuentes de resistencia se encontró en 26 accesiones recuperadas en México.

Entre las enfermedades bacterianas destacan:

- **Mancha bacteriana:** Existe una alta presencia en regiones tropicales y subtropicales, es causada por *Xanthomonas*. La principal sintomatología es en hojas, presentando manchas negras empapadas de agua y pueden fusionarse y formar grandes áreas amarillas. En frutos verdes se producen lesiones pequeñas, circulares empapadas de agua y ligeramente elevadas, por estas afectaciones el rendimiento del cultivo se ve afectado ocasionando grandes pérdidas económicas.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

Se han logrado identificar genes de resistencia dominantes; *Bs1*, *Bs2*, *Bs3*, *Bs4* y *Bs7* y además dos genes recesivos (*bs5* y *bs6*), que gobiernan una resistencia no hipersensible y actúan aditivamente entre sí.

- **Marchitez bacteriana:** El marchitamiento bacteriano (*Bacterial Wilt*), es una de las devastadoras afectaciones del cultivo de pimiento, que es transmitida por los climas cálidos. Las afectaciones aparecen inicialmente en plantas jóvenes, en condiciones cálidas y húmedas. Su agente causal es *Ralstonia solanacearum*, *R. pseudosolanacearum* y *R. syzyngii* subsp., que son los que más predominan en las variedades de *Capsicum*.

Las fuentes de resistencias identificadas son los genes *Bw1*, identificados en el cromosoma 1, y también se han conseguido buscar la resistencia seleccionando genes relacionados con la defensa del agente causante (*CaHIR1*, *CaACO1*, *CaPR1*, *CaPR4*, *CaPO2* y *CaBPR1*).

Dentro de las enfermedades víricas las que presentan más frecuencia en el cultivo del pimiento son:

- **Virus transmitidos por áfidos:** El género *Potyvirus* es uno de los grupos más grandes de virus y causan enfermedades en una amplia gama de especies vegetales. Todos son transmitidos por una o más especies de áfidos y pueden transmitirse mecánicamente y por injerto. Los virus con mayor frecuencia son, el virus *Y de la papa* (PVY), el virus del moteado de la pimienta (PepMoV), el virus del mosaico severo de la pimienta (PepSMV), el virus del mosaico amarillo de la pimienta (PepYMV), el virus del mosaico del tomate de Perú (PTV), y la especie tentativa, rocovirus ecuatoriano (EcRV) (Kenyon *et al.*, 2014).

La principal afectación de este grupo de virus es el retraso del crecimiento de la planta, aclaramiento sistémico de las venas, mosaico o moteado de las hojas y vetas de color verde oscuro.

- **Virus transmitidos por mosca blanca:** El virus de la clorosis del tomate (ToCV) es un *Crinivirus*. Se transmite de manera semipersistente por tres especies de mosca blanca (*Aleyrodidae*) (*Bemisia tabaci*, *Trialeurodes vaporariorum* y *Trialeurodes abutilonea*), y se perfila como un problema a nivel mundial.

Fue identificado como causa del amarillamiento intervenal, leve rizado de las hojas hacia arriba y retraso en el crecimiento de plantas de pimiento dulce en invernaderos de Almería, que estaban fuertemente infestadas con *Bemisia tabaci* (Lozano *et al.*, 2007).

- **Virus transmitidos por trips:** Se encuentran entre los virus de plantas más dañinos y económicamente importantes, y afectan a una amplia gama de cultivos ornamentales y alimentarios de muchas regiones del mundo. Su transmisión en campo se produce de planta a planta por especies de trips específicas (*Thysanoptera*).

El virus del marchitamiento manchado del tomate (TSWV), pertenece al género *Tospovirus*. Estos virus presentan sintomatologías en las plantas, como clorosis en hojas, a menudo un amarillamiento y pardeamientos repentinos y anillos cloróticos en las hojas. También pueden aparecer rayas necróticas en los tallos.

- **Virus rayado del tabaco (TSV):** Su transmisión es por semillas y polen en ciertas especies hospedantes. Se informó que el TSV causó la enfermedad de los pimientos en Argentina en 1974. Y del mismo grupo se encuentra, el virus moteado del Parietaria (PMoV), que registró su presencia en cultivos del suroeste de España en el 2004 (Kenyon *et al.*, 2014).

1.5.2. Estrés abiótico

Los tipos de estrés abióticos más comunes, como la salinidad, sequía o temperaturas extremas, pueden reducir el rendimiento o hacer fracasar la producción del cultivo. En las regiones semiáridas y áridas del mundo, principalmente, la salinidad del suelo, la sequía y la escasez de agua de riego, o su baja calidad, determinan pérdidas económicas importantes, como consecuencia de fallos en el desarrollo fisiológico, disminución de los rendimientos o reducción de la calidad del producto (Leidi y Pardo, 2008).

- **Estrés hídrico:** La sequía produce una serie de cambios morfológicos y fisiológicos en las plantas, como el cierre estomático, disminución de la expansión foliar, de la actividad fotosintética y en definitiva del crecimiento y la producción del cultivo.

Considerando, que una menor disponibilidad de agua produce una reducción de la conductividad hidráulica en las raíces. Los flujos hídricos son vitales en los procesos que ocurren durante el ajuste osmótico celular, a consecuencia de la caída del potencial hídrico en el medio. La pérdida de agua (salida), puede ocurrir sólo en situaciones de choque osmótico, y no de ajuste paulatino, en situaciones de adaptación a bajos potenciales hídricos, se produce una consistente de la reducción de los flujos hídricos, con inhibición de la conductividad hidráulica y menor actividad de los canales de agua. No es de extrañar, por tanto, los resultados contradictorios, y que la sobreexpresión de

canales de agua, si bien puede aumentar el vigor de las plantas en ausencia de estrés puede tener efectos nocivos ante la falta de agua (Pardo, 2010).

Como estrategias para mitigar, los problemas crecientes de estrés hídricos principalmente por la baja disponibilidad de agua en algunas zonas agrícolas se han realizados algunos estudios viables como:

- **Injerto del pimiento:** la posibilidad de utilizar plantas injertada de pimiento sobre patrones robustos reduce la susceptibilidad a los estreses, disminuyendo la cantidad de frutos afectados por fisiopatías, manteniendo la abscisión de agua y contribuyendo a una mejor nutrición.

Estudios realizados por Penella *et al.* (2016), concluyen en la selección de una accesión silvestre (A25) de *Capsicum spp.* tolerante al estrés salino e hídrico. Esta accesión ha sido injertada sobre variedades de pimiento tipo Lamuyo, Italiano y California, aumentando los rendimientos como consecuencia de la reducción de número de frutos (20%) por el estrés.

Las plantas que sufrieron estrés salino e hídrico presentaron alta capacidad de regulación osmótica, incremento de la síntesis de prolina y ácido abscísico, una regulación dinámica de la fotosíntesis y una estimulación de la actividad antioxidante respecto a la variedad sin injertar (López-Serrano *et al.*, 2020).

- **Introgresión de Genes:** diversos estudios han contribuido al conocimiento de mecanismos y principales genes involucrados en la tolerancia del estrés hídrico. Se han identificado genes modelos en *Arabidopsis thaliana* o en especies silvestres. Recientemente se ha identificado el gen SISOS1 (102) que codifica la transformación de la membrana y el transporte de carbohidratos y nutrientes.

A su vez se han obtenido plantas transgénicas para incrementar la tolerancia al estrés por sequía. En plantas de tomate se han identificado genes como BADH-1 (betaína aldehído dehidrogenasa), TPS1 (trehalose-6-fosfato sintetasa) de *S. cerevisiae*, P5CS (D1-pirrolina-5- carboxilato sintasa), 5PTse (inositol 5 polifosfatasa tipo I) y mt1D (manitol-1-fosfato dehidrogenasa) y los que sobreexpresan la osmotina (Florido Bacallao y Bao Fundora, 2014).

Y en la búsqueda de mejorar la respuesta al ácido abscísico se ha identificado el gen rd22, que regulan la síntesis de las proteínas Myb y Myc induciendo el ácido abscísico. Sin duda existe un gran número de genes en especies modelo y especies emparentadas

(*Solanaceas spp.*), que contribuyen a la búsqueda de nuevas alternativas para mitigar los problemas causados por el estrés abiótico y que están muy relacionados con los efectos de cambio climático.

- **Estrés por exceso de sales:** La salinidad cada vez tiene más importancia, debido a su relación con las bajas precipitaciones y la escasez de agua. La salinidad afecta al crecimiento y producción de los cultivos al reducir el potencial hídrico de la disolución del suelo, disminuyendo la disponibilidad de agua y crea un desequilibrio nutritivo debido a una elevada concentración de Na^+ y Cl^- , que pueden interferir en la nutrición mineral y el metabolismo nutritivo (Leidi y Pardo, 2008).

Una estrategia para conseguir la adaptación a las condiciones de salinidad, en las plantas debe activar múltiples mecanismos para aumentar la capacidad de obtener y/o retener agua y restituir la homeostasis iónica (Leidi y Pardo, 2008). Estos mecanismos generan un gasto de energía obstruyendo el crecimiento vegetal normal, cambios bioquímicos en la síntesis del ácido abscísico, cierre de estomas, disminución de transpiración y fotosíntesis, etc. A pesar de esta alteración bioquímica, no todos los genotipos de *Capsicum spp.* pueden tolerar, pero si se han podido encontrar tolerancia a la salinidad en genotipos silvestres y patrones, que ayudan a modificar las rutas biosintéticas de la planta.

En la actualidad se han desarrollado estrategias, basadas en investigaciones frente al estrés hídrico y salino, al estar correlacionado con el efecto en las rutas biosintéticas. Entre ellas:

- Patrones en estrategias para el estrés hídrico (Penella *et al.*, 2016).
- Introgresión de genes que regulen la expresión del ácido abscísico (ABI1 y HABA1) (Rodríguez *et al.*, 2005).
- Aplicación de metil jasmonato (MeJa) que presenta un efecto estimulante del desarrollo vegetal, radicular y reduce el impacto negativo de la salinidad (Rodríguez Buitrón, 2015).
- El uso de melatonina exógena, que induce a los cambios bioquímicos de la planta, aumentando la tolerancia al estrés salino (Castañares y Bouzo, 2019).
- Empleo de plantas micorrizadas (Carretero Montero, 2002).

- **Estrés por compuestos oxidantes (ROS):** Las especies reactivas de oxígeno (ROS) se producen en el metabolismo normal y se controlan con un eficiente sistema de enzimas, como catalasas, peroxidasas y superóxido dismutasas, localizadas en órganos específicos. Las ROS en condiciones de estrés en etapas tempranas, presentan un incremento considerable, que es conveniente neutralizar al tener un gran poder fitotóxico.

En esto se han basado los intentos de mejorar la capacidad de las plantas para dar cuenta de componentes dañinos, mediante la sobreexpresión del superóxido dismutasa (SOD) que mejora la actividad fotosintética bajo condiciones de salinidad. Otra alternativa es la sobreexpresión de una isoenzima MnSOD de *Arabidopsis*, que induce a otros sistemas antioxidantes (Cu/Zn, FeSOD y catalasa) (Leidi y Pardo, 2008).

1.6. EFECTO DE LA MELATONINA

La melatonina (N-acetyl-5-metoxytryptamine) se aisló por primera vez en 1958 a partir de las glándulas pineales bovinas (Lerner *et al.*, 1958) y su función en los seres humanos y los animales, ha generado un gran interés por estudiar su efecto en diferentes organismos vivos. En 1995 se descubrió su presencia en plantas superiores (Dubbels *et al.*, 1995) y desde entonces han aparecido varias publicaciones reportando la detección de melatonina en diferentes especies vegetales y su papel en la fisiología vegetal.

Los mecanismos de acción de la melatonina no se comprenden claramente en algunas especies, pero su efecto como antioxidante, estabilizador de la membrana y regulador de la expresión genética (Nawaz *et al.*, 2016) ha sido ya descrita. Las funciones fisiológicas de la melatonina han llegado a plantear una hipótesis, sobre su acción como hormona, al regular el crecimiento de la planta, desarrollo de órganos aéreos, morfológicos de las raíces y transición floral (Sun *et al.*, 2021). Dadas sus diversas funciones, se propuso que la melatonina es un regulador clave en las plantas, cooperando con otras fitohormonas y moléculas conocidas como especies reactivas de oxígeno y óxido nítrico.

Además, en diversos estudios se han logrado comprender algunos mecanismos bioquímicos, en los que la melatonina alivia los efectos de diversos tipos de estrés abiótico, como la sal, sequía, las temperaturas extremas y estrés por metales pesados (Zhang *et al.*, 2015; Pardo-Hernández *et al.*, 2020).

En *Capsicum annuum* se han realizado diferentes investigaciones, consistentes en la aplicación de concentraciones variables de melatonina, en las que se ha visto que concentraciones elevadas (50 μ M de melatonina) aumentaron el contenido relativo de

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

agua, clorofila, carotenoides, prolina y aumento de la actividad enzimática antioxidante (ascorbato peroxidasa, glutatina S-transferasa y glutatión reductasa) generando un alivio a la planta sometida a condiciones de estrés salino (Kaya y Doganlar, 2019). Pero no todos los genotipos de *Capsicum spp.* actúan de la misma forma, ya sea por influencia en la expresión genética y/o por diferentes mecanismos de defensa de las plantas, ante la afectación de un estrés abiótico (Álvarez *et al.*, 2019).

OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

La salinidad, de forma individual y de forma conjunta con otros estreses abióticos, afecta negativamente el crecimiento, la reproducción y la supervivencia de las plantas, lo que limita potencialmente la productividad y el rendimiento de los cultivos agrícolas. Se prevé que los eventos de cambio climático aumentarán el impacto negativo de los factores de estrés ambiental en la producción de plantas en muchas regiones del mundo en los próximos años, con la inevitable pregunta de cómo la humanidad hará frente a la demanda mundial de alimentos.

Frente a este reto humanitario, el principal objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la aplicación de melatonina sobre la germinación y crecimiento inicial de plantas de pimiento cultivadas en condiciones salinas.

En concreto se trabajará con seis entradas procedentes del Banco de Germoplasma del Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV), sometidas a diferentes condiciones de salinidad.

Para esto se parte de seis entradas de *Capsicum* spp., procedentes de distintos países (España, México, Ecuador y Estados Unidos). Todas las variedades provienen del Banco de Germoplasma del Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV).

El diseño experimental realizado, ha centrado las variables respuesta, en parámetros de las plantas de pimiento, que permitan obtener información sobre:

- El nivel de germinación y crecimiento morfológico de las plantas.
- El contenido relativo de agua, contenido total de clorofila, fuga relativa de electrolitos, la relación Na^+/K^+ , la concentración en prolina y la concentración mineral de hojas y tallo con raíces.

Los resultados permitirán obtener información sobre qué variedades, de las sometidas a estudio, presentan tolerancia (media y alta) a la salinidad al aplicar diferentes concentraciones de melatonina (0, 10, 50 y 100 μM) en condiciones de salinidad (8.0 dS/m de conductividad eléctrica en NaCl). Este estudio posee interés para determinar qué entradas de pimiento presentan mejor respuesta bioquímica (acción genética) en la tolerancia a la salinidad, en los estadios más críticos del cultivo, comprendidos desde la germinación hasta el estadio de plántula.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

La información obtenida podría ser de sumo interés para los trabajos futuros con variedades tradicionales o cultivadas mejoradas, interesantes para agricultores, mercados y mejoradores vegetales.

MATERIALES Y MÉTODOS

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas utilizadas como material vegetal para esta investigación son de seis entradas de *Capsicum* spp. del Banco de Germoplasma del Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV). Con estos materiales vegetales se pretenden alcanzar un abanico de resistencias innatas a la salinidad, además de diversidad en cuanto a la procedencia (España, Estados Unidos, México y Ecuador). La codificación de los diferentes materiales se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Lista de las accesiones del Banco de Germoplasma del COMAV, utilizadas en la investigación.

Código	Variedad	Descriptor
V1	Piquillo	Piquillo
V2	Ecu - 994	Ecu - 994
V3	Serrano Kike	S.K
V4	California Wonder	C.W
V5	Pasilla	Pasilla
V6	Numex Conquistador	N.C

3.1. CONDICIONES DEL CULTIVO

El ensayo se realizó en condiciones de laboratorio. Llevando a cabo la germinación en placas Petri con papel filtro y el desarrollo de las plántulas se realizó en bandejas de polietileno, de alveolos de 6 x 3 (Figura 3).

Se empleó un sustrato vegetal con perlita (3:1), comercial y autorizado para producción ecológica. Para cada alveolo se empleó 190 cm³ de este sustrato. La distribución de las bandejas en función de la variedad de pimiento y la dosis correspondiente de melatonina utilizada, se ajusta al diseño experimental.

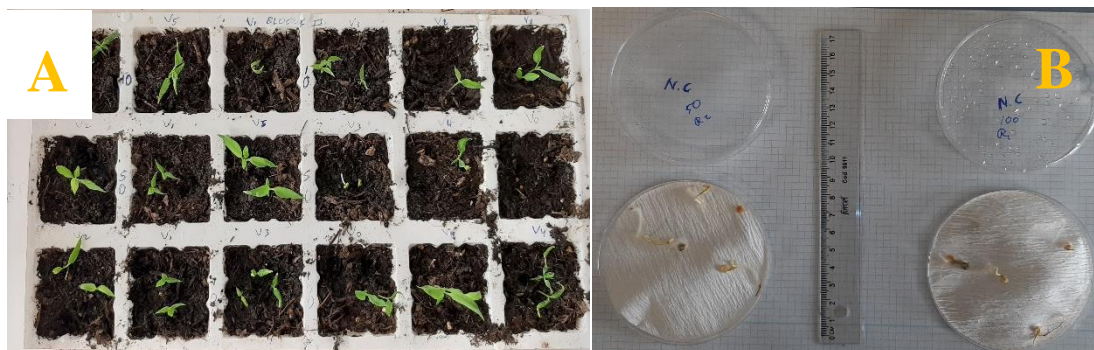


Figura 3. Plántulas de *Capsicum* spp. en condiciones salinas bajo diferentes concentraciones de melatonina: 0, 10, 50 y 100 µM (A); germinación de semillas de la entrada Numex Conquistador en placas Petri a los 12 días después de la siembra (B).

3.1.1. Diseño Experimental

Para evaluar el efecto de la aplicación de melatonina sobre la germinación y crecimiento inicial de plantas de pimiento cultivadas en condiciones de salinidad (8.0 dS/m de conductividad eléctrica en NaCl), se han planteado dos evaluaciones de la germinación, por un lado, la germinación llevada a cabo en alveolo y desarrollo de la plántula y, por otro lado, el desarrollo de la germinación en placa Petri.

La distribución se realizó por bloques al azar, con cuatro bloques (Figura 4), evaluando dos tratamientos cruzados. Los tratamientos ensayados son 1) el tipo de variedad, ensayando seis diferentes variedades de *Capsicum annuum* y 2) la dosis de melatonina aplicada, ensayando cuatro dosis diferentes. El diseño experimental tiene en cuenta los siguientes criterios:

Tipo de Diseño experimental

Diseño Experimental: Bloques Completos Divididos Bifactorial A x B

Número de repeticiones: 4

Unidad total del experimento: 96 UE

Número de semillas por unidad experimental: 5 semillas

Tratamientos:

Factor A: Variedades

- V1: Piquillo
- V2: Ecu -994
- V3: Serrano Kike
- V4: California Wonder
- V5: Pasilla
- V6: Numex Conquistador

Factor B: Dosis de melatonina

- 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de melatonina.
- 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de melatonina.
- 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de melatonina.
- 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de melatonina.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

BOQUE I				BLOQUE II			
(V1;0)	(V5;10)	(V4;50)	(V3;100)	(V6;0)	(V1;10)	(V3;50)	(V3;100)
(V6;0)	(V3;10)	(V2;50)	(V2;100)	(V2;0)	(V6;10)	(V2;50)	(V2;100)
(V3;0)	(V2;10)	(V6;50)	(V4;100)	(V3;0)	(V2;10)	(V6;50)	(V4;100)
(V5;0)	(V4;10)	(V3;50)	(V6;100)	(V1;0)	(V4;10)	(V4;50)	(V1;100)
(V4;0)	(V3;10)	(V5;50)	(V5;100)	(V5;0)	(V3;10)	(V5;50)	(V6;100)
(V2;0)	(V6;10)	(V1;50)	(V1;100)	(V4;0)	(V5;10)	(V1;50)	(V5;100)

BLOQUE III				BLOQUE VI			
(V4;0)	(V5;10)	(V5;50)	(V2;100)	(V5;0)	(V2;10)	(V5;50)	(V3;100)
(V2;0)	(V2;10)	(V4;50)	(V1;100)	(V2;0)	(V4;10)	(V4;50)	(V1;100)
(V1;0)	(V6;10)	(V3;50)	(V6;100)	(V1;0)	(V6;10)	(V3;50)	(V5;100)
(V3;0)	(V4;10)	(V1;50)	(V4;100)	(V3;0)	(V3;10)	(V1;50)	(V6;100)
(V6;0)	(V1;10)	(V2;50)	(V5;100)	(V6;0)	(V1;10)	(V2;50)	(V2;100)
(V5;0)	(V3;10)	(V6;50)	(V3;100)	(V4;0)	(V2;10)	(V6;50)	(V4;100)

Figura 4. Distribución de bloques al azar. Tratamientos y dosis de melatonina utilizados en las fases de evaluación.

3.1.2. Evaluación del porcentaje de germinación

Las semillas se desinfectaron con una disolución de hipoclorito de sodio al 10% durante 10 min, posteriormente se realizaron tres lavados con agua desionizada. A continuación, las semillas se colocan en placas de Petri de 8.5 cm de diámetro con dos papeles de filtro, y se colocaron cinco semillas por placa, equidistantes entre sí, con cuatro repeticiones. Posteriormente, las semillas se humedecieron con las diferentes disoluciones de melatonina: 0, 10, 50 y 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente de su tratamiento, en una proporción de 1:5 (peso:volumen) (Farooq *et al.*, 2012). Las placas Petri se llevaron a estufa a una temperatura constante $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5$, en condiciones de oscuridad. El control de la germinación de las semillas se realizó diariamente durante 12 días (Castañares y Bouzo, 2019). Las semillas se consideraron germinadas, cuando se rompió la cubierta de la semilla y se hizo visible la radícula. Al final del período de germinación, se realizó el test de cloruro de tetrazolio a las semillas, para evaluar su vitalidad y su poder de germinación (ISTA, 2021).

El test de tetrazolio está basado en la actividad de las deshidrogenasas, que participan en las reacciones de respiración que se producen en la mitocondria de las células vivas.

Cuando las semillas están sumergidas en la disolución de tetrazolio, las células vivas de los tejidos sufren una reacción química oxidación-reducción. La tinción de las semillas muestra la actividad respiratoria de los diferentes tejidos. Apareciendo diferentes colores e intensidades, reflejando las diferencias en la actividad respiratoria de cada estructura.

El porcentaje de germinación (GP) se determinó en base a la siguiente formula:

$$GP (\%) = n/N \times 100$$

donde n es el número de semillas que germinaron durante el experimento y N es el número total de semillas (ISTA, 2021).

Para la evaluación del porcentaje de germinación bajo condiciones de salinidad, las semillas se desinfectaron y se humedecieron en las diferentes concentraciones melatonina y previo a la siembra de las placas Petri, las semillas se dejaron en remojo durante 6-12 horas. Transcurrido este tiempo se siembran en las placas Petri y se introducen en la estufa a $(25 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$, en oscuridad. Después de 24 horas, las semillas se remojaron con una disolución de NaCl de $8.0 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ durante 12 días. El porcentaje de germinación se determinó como se describe por el ISTA.

3.1.3. Preparación de las bandejas de cultivo

En todos los casos se partió de semilla germinada. Después de los 12 días, donde las semillas están sometidas a la disolución de NaCl $8.0 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$, las semillas se enjugaron tres veces con agua destilada, se secaron al aire libre, aproximadamente a $25 ^\circ\text{C}$, durante 24 h, reduciendo el contenido de humedad a valores inferiores al 10% y se procede a la siembra en las bandejas de germinación, previamente desinfectadas. Se depositaron dos semillas germinadas por alveolo, y finalmente se evaluó una sola plántula por tratamiento. Las plántulas se regaron, cada dos días con agua, y según corresponda con 100 mL de disolución de 0, 10, 50 y $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de melatonina, un total de cuatro veces.

Después de la emergencia de la primera hoja se realizó una fertilización con disolución nutritiva de 15-15-15 N/P/K, junto con una disolución salina, adoptando el valor CE 8.0 dS L^{-1} (60 mmol L^{-1} de NaCl). Se ajustó a la disolución a 8.0 dS L^{-1} considerando que bajo este nivel de salinidad, el rendimiento del cultivo se ve afectado reduciendo su rendimiento, aproximadamente en un 50%, afectando el mecanismo de regulación osmótica, pérdida de turgencia celular y deficiencias nutritivas en la planta (De Pascale y Ruggiero, 2003; Assouline *et al.*, 2006; Bojórquez *et al.*, 2014).

La conductividad eléctrica de la disolución salina se controló periódicamente con un medidor de conductividad portátil (COND 6/TDS 6). Las plantas se mantuvieron en estas condiciones por un periodo de 30 días y luego se recolectaron para realizar los parámetros respuesta.

3.2. PARÁMETROS RESPUESTA

3.2.1. Evaluación del crecimiento de las plantas en condiciones de salinidad

La evaluación del crecimiento vegetativo se determinó después de transcurridos 30 días bajo condiciones de estrés por salinidad. El parámetro evaluado en todos los casos ha sido la longitud del tallo principal, medido con la ayuda de regla milimetrada y expresada en cm. Esta evaluación se ha evaluado durante seis semanas, después de la siembra.

3.2.2. Determinación del contenido de clorofila, antocianos y polifenoles

La clorofila, antocianos y polifenoles se midió con el equipo Dualex Scientific + TM (Force A). La determinación consiste en una medición sobre la epidermis y el mesófilo de las hojas, basadas en la transmisión de la fluorescencia infrarroja (clorofila y antocianos) ubicada muy cerca del color rojo, que cuantifica la clorofila y una segunda medición ubicada en el infrarrojo cercano que permite tener en cuenta los efectos de estructura de la hoja. La medición se realizó después de los 30 días en condiciones de salinidad.

La cuantificación se determina mediante la fórmula (Forcea-A, 2013):

Índice de clorofila = (Transmisión infrarroja cercana–Trans. Rojo)/Trans. Roja

Índice de los flavonoles = $\text{Log}^*(\text{Fluorescencia infrarroja cercana-excitada roja}/\text{Fluorescencia. Infrarroja cercana- excitada UV.A})$

Índice de los antocianos = $\text{Log}^*(\text{Fluorescencia infrarroja cercana excitada roja}/\text{Fluorescencia infrarroja cercana excitada verde})$

Expresando los resultados en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de extracto.

3.2.3. Determinación del contenido relativo de agua (RWC)

Después de 30 días de estrés por salinidad, las plantas de todos los tratamientos se recolectaron, separando las hojas, los tallos y las raíces.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

El RCW se calculó de acuerdo a Cao *et al.* (2015), extrayendo las hojas de cada tratamiento y pesándolas en vasos precipitados de 5 mL (peso fresco), posteriormente se dejan las hojas sumergidas en agua destilada en una relación (1:50) del peso de las muestras, durante cuatro horas. Y se registra el peso saturado (SW). Finalmente, se secan las hojas a 80 °C en una estufa durante 24 horas, y se registró su peso seco (DW). El cálculo del RCW, expresado en porcentaje, se determina mediante la ecuación:

$$\text{RCW (\%)} = (\text{FW} - \text{DW}) / (\text{SW} - \text{DW}) \times 100$$

3.2.4. Determinación de la actividad antioxidante

El valor de la actividad antioxidante (AOT) se midió de acuerdo a la técnica modificada del 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) de Guija-Poma *et al.* (2015). Para ello se utilizan 0.1 g aproximadamente, de las muestras homogéneas de hojas de pimiento para cada tratamiento y determinación. El material vegetal se deposita en tubos de ensayo y posteriormente se adicionó 2 mL de metanol (MeOH) al 80%. Después se colocó en agitación durante 1 hora y posteriormente se centrifugaron durante 5 min. En la disolución obtenida se rescató 0.1 mL (sobrenadante) colándolos en tubos de ensayo (5 mL), a los que se les añadió 3,9 DPPH y se los dejó en oscuridad durante 1 hora, para que reaccionen, y fueron medidos a 515 nm por el espectrofotómetro (Uviline 9400).

El cálculo del contenido de antioxidantes se realizó por contraste a una curva de 0; 0.3; 0.5; 0.8; 1; 1.3 de DPPH, en la que se obtuvo una ecuación de la pendiente y se reemplazó en función a los pesos de cada muestra. Los resultados se expresan en $\mu\text{mol AOT}/100 \text{ g}$ de materia fresca (FW).

3.2.5. Determinación de la fuga relativa de electrolitos

La fuga relativa de electrolitos (EL) se determinó según el protocolo de Restrepo *et al.* (2013). Para ello se homogenizan 0.1 g de hojas frescas, las cuales fueron cortadas en segmentos de 5 mm y colocadas en tubos de ensayo que contenían 10 mL de agua destilada. Las hojas se dejan incubar durante 2 h a 30 °C y se mide la CE₁ (inicial) con conductímetro (COND 6/TDS 6), posteriormente las mismas muestras se incubaron a 100 °C, durante 15 minutos y se midió la CE final (CE₂). La fuga relativa de electrolitos (EL) se expresa en porcentaje y se determina mediante la fórmula:

$$\text{EL (\%)} = \text{CE}_1 / \text{CE}_2 \times 100$$

3.2.6. Determinación del contenido en prolina

La prolina se determinó según el protocolo modificado de Bates *et al.* (1973). Para ello se emplearon 150 mg del material vegetal fresco de cada tratamiento y se colocó en tubos de ensayo, añadiendo 5 mL de disolución acuosa de ácido sulfosalicílico al 3%, que se homogenizó en un vortex durante 30 segundos. Posteriormente las muestras se pusieron en agitación durante 1 hora y posteriormente se centrifugaron durante 5 minutos. De la disolución sobrenadante se tomaron 2 mL y se transvasaron a un tubo de ensayo, al que se le añadió 2 mL de ninhidrina ácida y 2 mL de ácido acético glacial, dejando reaccionar en la estufa a 100 °C durante 1 h. Una vez retiradas las muestras de la estufa se añadió 4 mL de tolueno, bajo condiciones de baño de hielo durante 15 minutos. Después se agitó con vortex durante 20 segundos. Finalmente se midió la absorbancia del sobrenadante a 520 nm usando un espectrofotómetro UV/Vis (Jenway TM 6715 UV-visible). Los resultados se expresan en µg de prolina/100 g de materia fresca (FW).

La curva patrón de prolina se basó según un protocolo de Padilla *et al.* (2021). La recta patrón basada en µg prolina de 0; 1; 5; 15; 20; 30; 50 y 70. A los patrones se les agregó en un tubo de ensayo, ácido sulfosalicílico al 3%, ninhidrina ácida y ácido acético glacial, se dejó reaccionar en la estufa a 100 °C durante 1 h y se midió en el espectrofotómetro a 520 nm.

3.2.7. Contenido mineral de hojas y tallos con raíces

La preparación de las muestras se realizó según el protocolo modificado, descrito por Campbell y Plank (1998). Para ello, se comenzó triturando las muestras secas de las plantas y 1 g se colocó en mufla (600 °C) durante 4 h. Las cenizas se hirvieron con 0.25 mL de HCl (30%) y se filtraron con un papel de filtro. Se aforó en un matraz de 5 mL. Los contenidos de K, Na, Ca, Cu, Fe, Zn, Mg, Mn y P, se determinaron mediante un equipo de espectroscopía de emisión con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-EOS). El equipo empleado es de Agilent ICP-EOS 710 (700 series ICP-OES, Australia). Las longitudes de onda seleccionadas para cada elemento son las siguientes: 317.933 nm para la determinación del Ca, 324.754 nm para la determinación del Cu, 238.204 nm para la determinación del Fe, 213.857 nm para la determinación del Zn, 769.897 nm para la determinación del K, 285.213 nm para la determinación del Mg, 257.610 nm para la determinación del Mn, 589.592 nm para la determinación del Na y 177.434 nm para la determinación del P, y los valores se expresan en mg/100 g de materia fresca.

3.2.8. Tratamiento estadístico

Todos los valores de los parámetros analizados se realizaron por triplicado, por cada tratamiento.

El análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos se analizaron mediante una prueba de Tukey con un nivel de confianza de 0.05. Se ha realizado un estudio de relaciones entre todas las variables, empleando el coeficiente de Pearson que mide el grado de asociación lineal entre dos variables. En las que el valor r de este coeficiente toma valores entre -1 y 1. Siendo -1 de color azul al estar inversamente correlacionado y 1 de color rojo al estar directamente correlación en cada variable estudiada.

Para el estudio estadístico se ha utilizando un paquete de software STATGRAPHICS Centurión XVIII.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

4.1.1. Incidencia sobre el nivel de germinación en función de las variedades de *Capsicum*, dosis de melatonina y concentración salina

La incidencia en la germinación se ha evaluado contrastando el efecto de la variedad y el de la concentración de melatonina, de forma individual, a lo largo del estudio, y como respuesta a las agresiones abióticas a las que han sido sometidas, las semillas y las plántulas. Durante del estudio se ha ido produciendo la muerte del material vegetal, por lo que no ha sido posible evaluar el efecto cruzado de ambas variables.

La tabla 7 muestra los niveles de germinación (%) obtenidos para las diferentes entradas y en los días 1, 5, 6, 7, 9 y 12 de seguimiento. Se muestran las diferencias significativas (al 95% de confianza) entre los niveles de germinación, para cada día de control.

El nivel de germinación (%) fue muy variable entre los diferentes genotipos evaluados. Las semillas después de ser saturadas en las diferentes concentraciones de melatonina, presentaron una alta germinación para las entradas de Numex Conquistador (N.C) y Serrano Kike (S.K), desde el día 1 de control hasta los últimos 12 días de evaluación. La variedad Ecu-994 presentó una baja germinación en los primeros días de control, pero llegó a alcanzar el nivel de germinación más alto (97.5%) al final del control (Figuras 5b y 5d).

Tabla 7. Niveles de germinación (%) de las variedades de *Capsicum* bajo el efecto de los niveles de melotonina exógena.

Variedad	Germinación (%)											
	D1		D5		D6		D7		D9		D12	
Piquillo	46.25 ± 5.98	cd	51.25 ± 5.91	cd	73.75 ± 4.77	a	78.75 ± 4.74	a	78.75 ± 4.74	a	88.75 ± 3.16	ab
Ecu-994	63.75 ± 5.98	abc	70.00 ± 5.91	abc	90.00 ± 4.77	a	95.00 ± 4.74	a	95.00 ± 4.74	a	97.50 ± 3.16	a
S.K	76.25 ± 5.98	ab	78.75 ± 5.91	ab	90.00 ± 4.77	a	91.25 ± 4.74	a	91.25 ± 4.74	a	95.00 ± 3.16	a
C.W	53.75 ± 5.98	bcd	56.25 ± 5.91	bcd	75.00 ± 4.77	a	78.75 ± 4.74	a	78.75 ± 4.74	a	87.50 ± 3.16	ab
Pasilla	32.50 ± 5.98	d	35.00 ± 5.91	d	52.50 ± 4.77	b	57.50 ± 4.74	b	57.50 ± 4.74	b	81.25 ± 3.16	b
N.C	86.25 ± 5.98	a	87.5 ± 5.91	a	92.50 ± 4.77	a	92.50 ± 4.74	a	92.50 ± 4.74	a	92.50 ± 3.16	ab

La germinación en entradas como Piquillo, presentó problemas de contaminación (Figura 5a) que afectaron ligeramente en la germinación durante los cinco primeros días, pero que tuvo menos incidencia en el valor acumulativo durante los doce días. A su vez,

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

en la entrada California Wonder (C.W) se presentaron semillas que no germinaron por ausencia de embrión (Figura 5c).

La variedad Numex Conquistador (N.C) presentó mayor desarrollo de las radículas (mayor grosor y mayor número de raicillas secundarias) en concentraciones de 10 y 100 μM de melatonina (Figura 5e).

Por último, destacar que las semillas de la variedad Pasilla han sido las que han presentado los valores más bajos de germinación a lo largo de todo el periodo de estudio, mostrando, en general, diferencias estadísticamente significativas, frente a los valores de germinación de las variedades Ecu-994 y Serrano Kike.

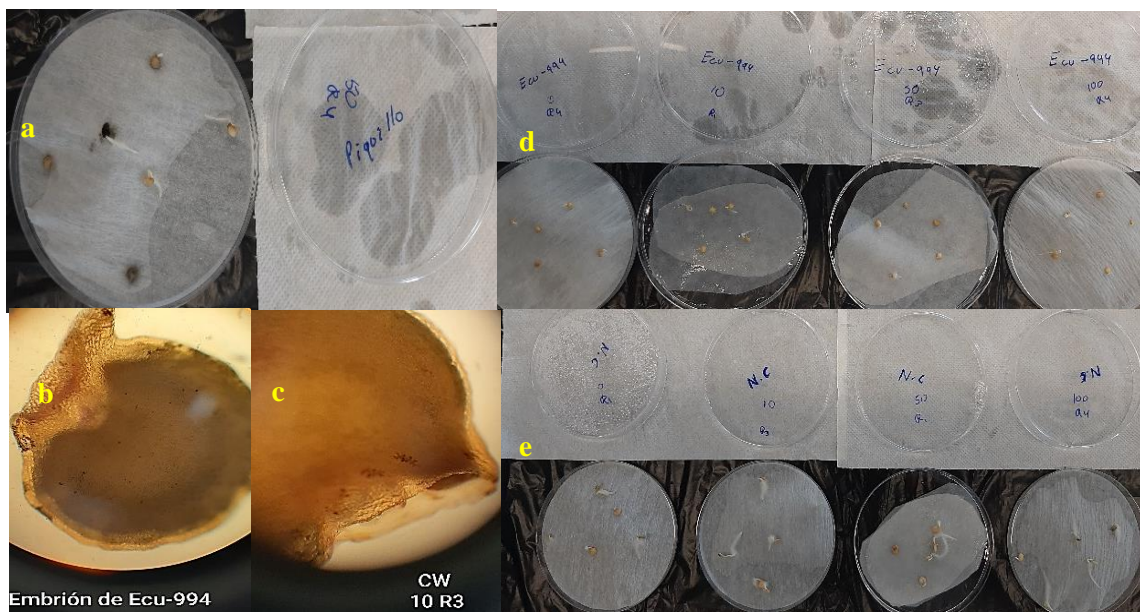


Figura 5. Efecto de la melatonina sobre la germinación. **a:** entrada de la variedad Piquillo contaminada; **b:** semilla con embrión de Ecu-994; **c:** semillas sin embrión de C.W; **d:** Ecu-994 en diferentes concentraciones de melatonina; **e:** N.C en diferentes concentraciones de melatonina.

La tabla 8 muestra los niveles de germinación (%) obtenidos para las diferentes dosis de melatonina aplicada (0, 10, 50 y 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) y en los días 1, 5, 6, 7, 9 y 12 de seguimiento. Se muestran las diferencias significativas (al 95% de confianza) entre los niveles de germinación, para cada día de control.

Se observa que el efecto de aplicar melatonina exógena, independientemente de la concentración aplicada, no afecta en los niveles de germinación de las semillas de *Capsicum* ensayadas, excepto en el último día de evaluación, donde se muestra que, en promedio, las dosis de 10 μM de melatonina presentan los mayores niveles de germinación ($95 \pm 2.59\%$). También se observa que las concentraciones más altas de

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

melatonina (100 μM) no tienen un efecto positivo sobre la germinación de las semillas, en el global de las variedades estudiadas, incluso se observa que los niveles de germinación son más bajos que cuando no se aplica melatonina (tratamiento control, 0 μM).

Tabla 8. Niveles de germinación (%) en función de la dosis de melatonina exógena sobre las semillas de *Capsicum*.

Melatonina ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Germinación (%)					
	D1	D5	D6	D7	D9	D12
0	59.17 \pm 4.89 a	62.50 \pm 4.82 a	75.83 \pm 3.90 a	80.83 \pm 3.87 a	80.83 \pm 3.87 a	89.17 \pm 2.59 ab
10	56.67 \pm 4.89 a	61.67 \pm 4.82 a	80.00 \pm 3.90 a	83.33 \pm 3.87 a	83.33 \pm 3.87 a	95.00 \pm 2.59 a
50	65.00 \pm 4.89 a	68.33 \pm 4.82 a	84.17 \pm 3.90 a	85.83 \pm 3.87 a	85.83 \pm 3.87 a	92.50 \pm 2.59 ab
100	58.33 \pm 4.89 a	60.00 \pm 4.82 a	75.83 \pm 3.90 a	79.16 \pm 3.87 a	79.16 \pm 3.87 a	85.00 \pm 2.59 b

Las semillas de las diferentes variedades estudiadas bajo condiciones de salinidad con una CE de 8.0 dS/m, después de haber sido remojadas en diferentes concentraciones de melatonina de 6 a 12 h, generó una latencia de la semilla y posteriores pudriciones, por lo que no se mostraron semillas germinadas, en ninguno de los efectos estudiados. Estos resultados coinciden con los de Castañares y Bouzo (2019). Hasta los primeros 6 días del estudio se observó que la entrada de *Capsicum* Serrano Kike, bajo todas las concentraciones de melatonina ensayadas presentaron radícula en aproximadamente el 50% de las semillas, así como la ruptura de la latencia, pero a partir de esta fecha, se manifestó la podrición de las semillas y muerte de las mismas, coincidiendo a partir de este momento con el comportamiento del resto de variedades de *Capsicum* estudiadas.

4.1.2. Resultados sobre de la altura del tallo en función de las variedades de *Capsicum* y dosis de melatonina en condiciones de salinidad

La figura 6 muestra el estado de las plántulas por variedades y a lo largo de las seis semanas de estudio, atendiendo a la dosis de melatonina aplicada, para el bloque I, la figura 7 muestra la misma información para el bloque II, la figura 8 para el bloque III y la figura 9 para el bloque IV. Se observa que debido a la acción del estrés salino, producido por la aplicación de una disolución de cloruro sódico con una CE de 8.0 dS/m, muchas plántulas al final del estudio sufren la muerte vegetativa.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

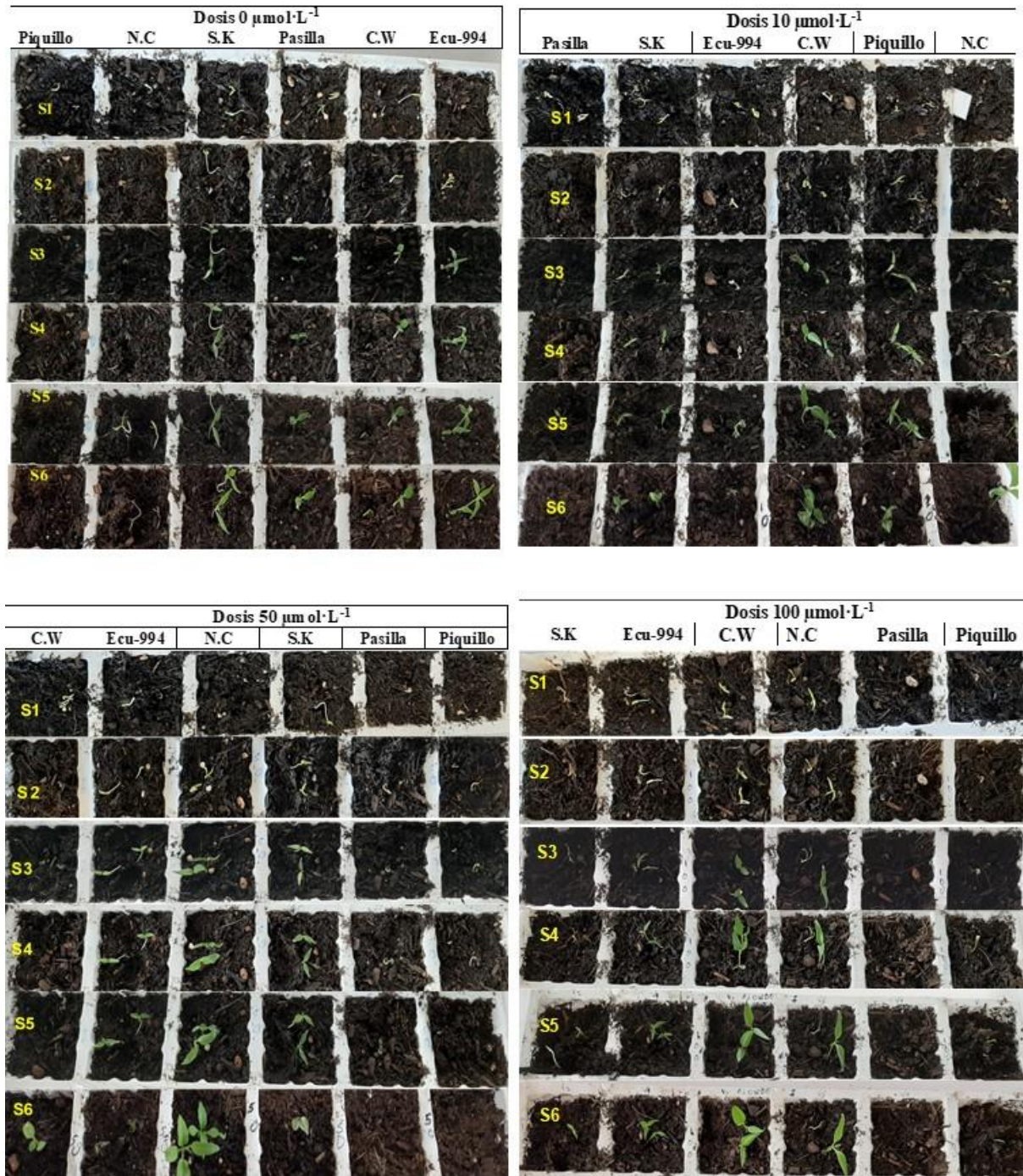


Figura 6. Estado de las plántulas de las seis variedades de *Capsicum* a lo largo de las seis semanas de estudio, atendiendo a la dosis de melatonina aplicada, para el bloque I.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

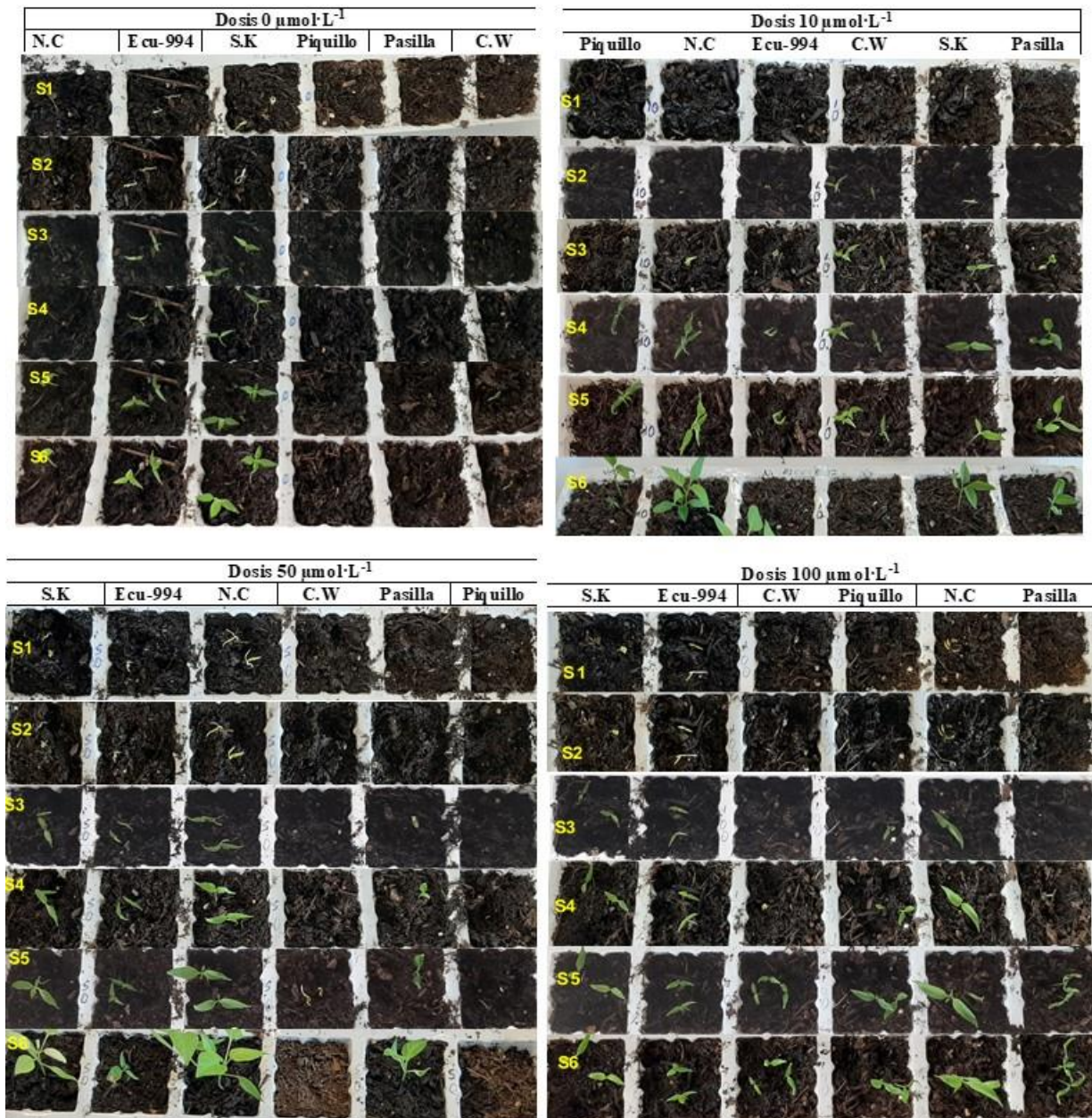


Figura 7. Estado de las plántulas de las seis variedades de *Capsicum* a lo largo de las seis semanas de estudio, atendiendo a la dosis de melatonina aplicada, para el bloque II.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

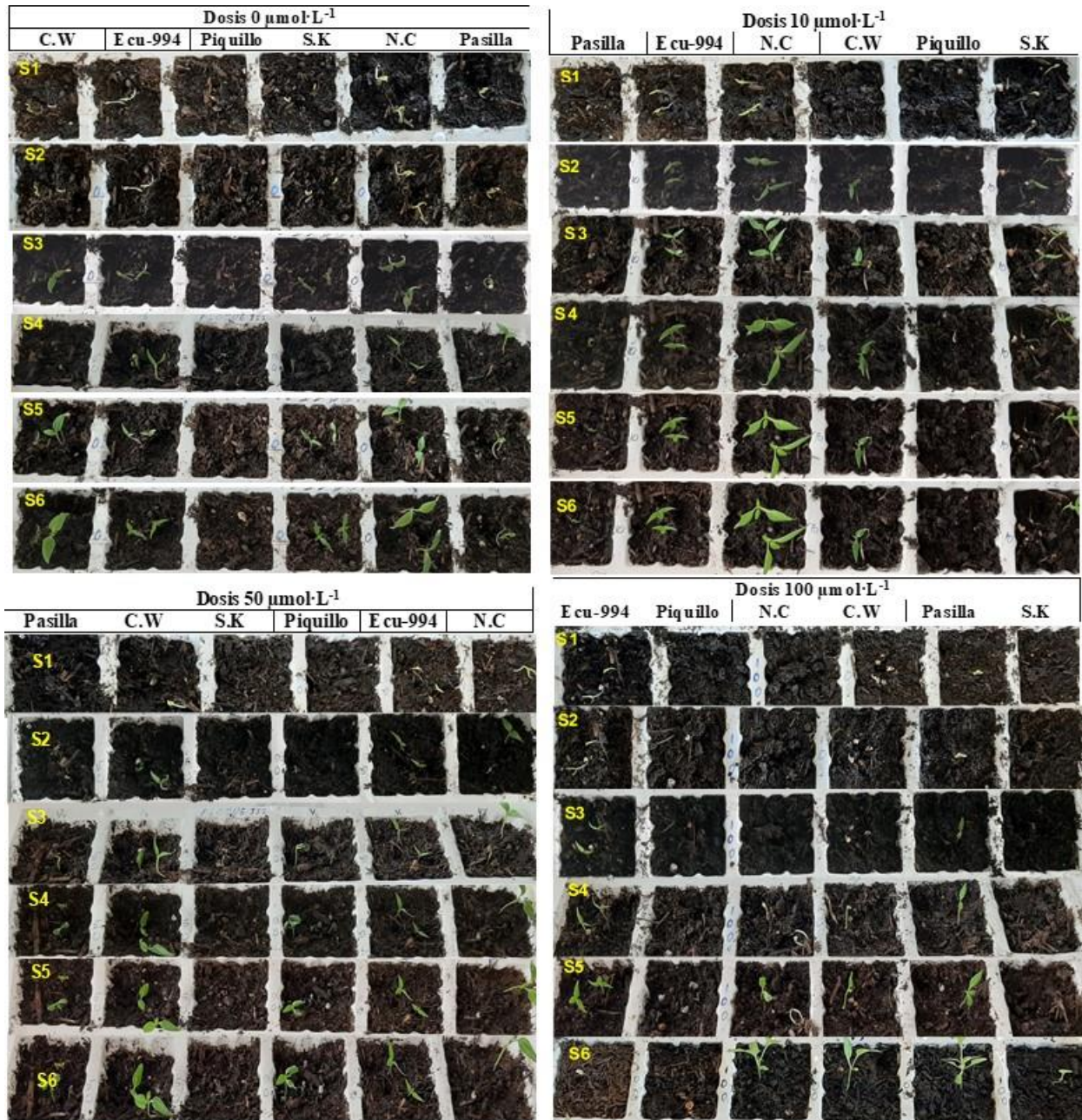


Figura 8. Estado de las plántulas de las seis variedades de *Capsicum* a lo largo de las seis semanas de estudio, atendiendo a la dosis de melatonina aplicada, para el bloque III.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

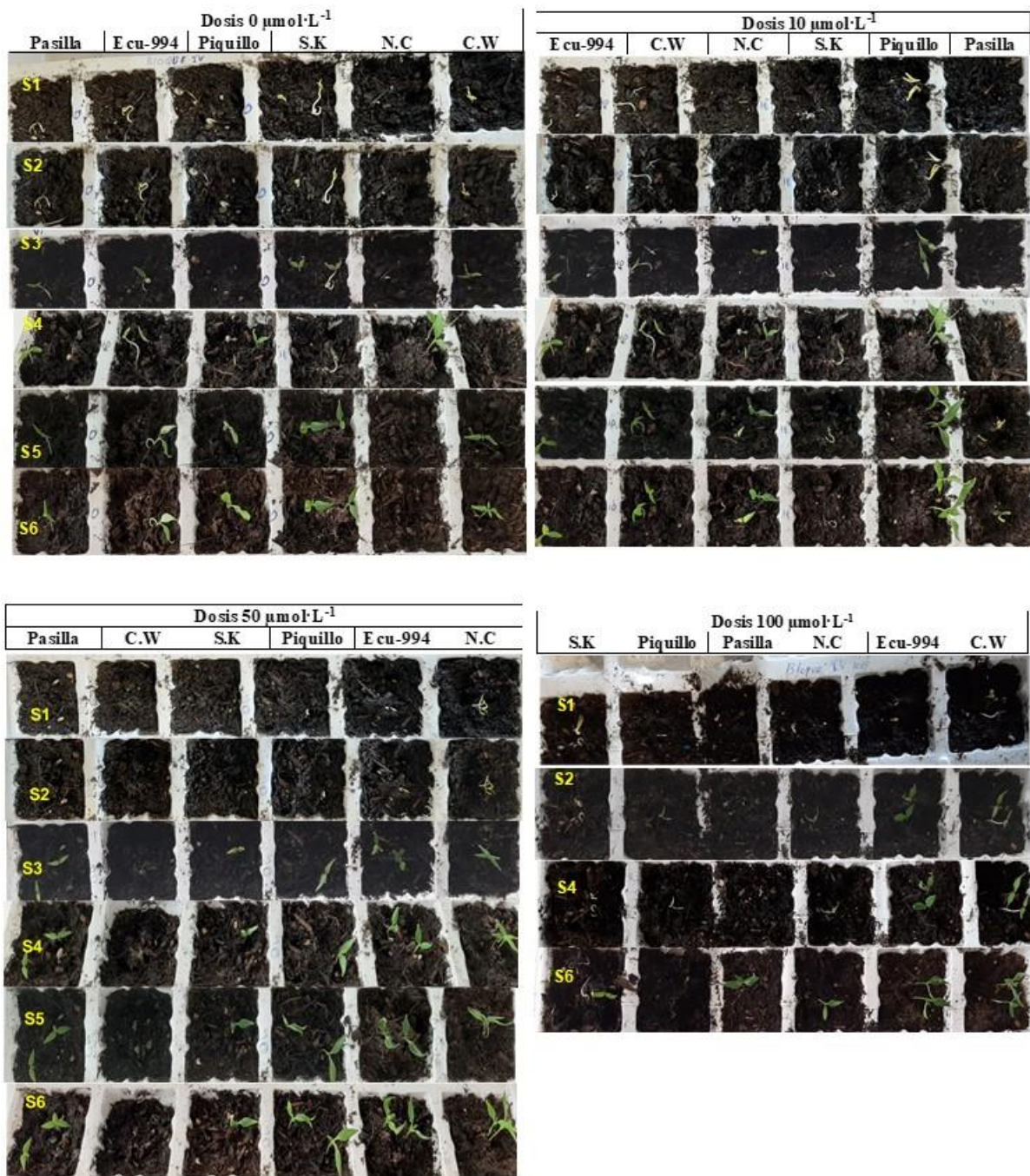


Figura 9. Estado de las plántulas de las seis variedades de *Capsicum* a lo largo de las seis semanas de estudio, atendiendo a la dosis de melatonina aplicada, para el bloque IV.

La incidencia en la altura de las plantas se ha evaluado contrastando el efecto de la variedad y el de la concentración de melatonina, de forma individual, a lo largo del estudio, y como respuesta a las agresiones abióticas a las que han sido sometidas, las semillas y las plántulas. Durante el estudio se ha ido produciendo la muerte del material vegetal, por lo que no ha sido posible evaluar el efecto cruzado de ambas variables.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

La tabla 9 muestra los valores promedio de la altura del tallo de la plántula obtenidos para las diferentes entradas y en las diferentes semanas de seguimiento. Se muestran las diferencias significativas (al 95% de confianza) entre la altura de planta, para cada semana de control.

Se observa que las plántulas de la variedad Numex Conquistador es la que muestra la mayor altura, alcanzando las plántulas de esta variedad una altura promedio en el total de las seis semanas de evaluación, de 3.18 cm. La altura alcanzada por las plántulas de la variedad Numex Conquistador (figura 10), difiere significativamente de la que consiguen las plántulas de las variedades Ecu-994, Serrano Kike y California Wonder.



Figura 10. Plántulas de la variedad Numex Conquistador (a) y Piquillo (b), con la aplicación de $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de melatonina a la sexta semana.

La variedad Ecu-994 presenta la altura del tallo de plántula más baja del ensayo, observándose que incluso a lo largo del estudio, la altura mostrada en el primer día de control (1.84 cm), va disminuyendo ligeramente, alcanzando al final del estudio la altura de 1.72 cm, disminución que puede estar causada por la deshidratación generada por el efecto de la concentración en sal.

La entrada Serrano Kike muestra buena respuesta en la variable altura de plántula, ya que, a lo largo del estudio, es capaz de incrementar la altura del tallo de la plántula aproximadamente en un centímetro, siendo con la variedad de pimiento Pasilla, las que más incrementan su altura en el periodo de estudio evaluado.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

Tabla 9. Altura de planta (cm) de las variedades de *Capsicum* bajo el efecto de los niveles de melatonina exógena, durante las seis semanas de estudio.

Variedad	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Piquillo	2.42 ± 0.27 ab	2.44 ± 0.99 a	2.38 ± 0.21 a	2.49 ± 0.21 ab	2.65 ± 0.27 a	2.76 ± 0.25 ab
Ecu-994	1.84 ± 0.13 b	1.84 ± 0.60 a	1.78 ± 0.13 a	1.75 ± 0.13 c	1.76 ± 0.19 a	1.72 ± 0.22 c
S.K	2.08 ± 0.13 ab	1.90 ± 0.60 a	1.98 ± 0.14 a	2.16 ± 0.14 bc	2.43 ± 0.19 a	3.06 ± 0.23 b
C.W	1.79 ± 0.13 b	2.71 ± 0.60 a	1.83 ± 0.14 a	1.99 ± 0.14 bc	2.11 ± 0.19 a	2.09 ± 0.19 bc
Pasilla	1.63 ± 0.14 b	1.48 ± 0.65 a	1.84 ± 0.16 b	2.11 ± 0.15 bc	2.40 ± 0.24 b	2.71 ± 0.23 ab
N.C	2.51 ± 0.12 a	3.4 ± 0.60 a	2.60 ± 0.13 a	2.73 ± 0.13 a	3.14 ± 0.16 a	3.18 ± 0.16 a

La tabla 10 muestra las alturas del tallo de plántula (cm) obtenidas para las diferentes dosis de melatonina aplicada (0, 10, 50 y 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) y en las seis semanas de estudio.

Se muestran las diferencias significativas (al 95% de confianza), para cada semana de control. Se observa, que en global, para cada una de las fechas evaluadas, no existen diferencias estadísticamente significativas en la altura del tallo de las plántulas, en función de la aplicación de melatonina, independientemente de la concentración. Aunque las mayores alturas de tallo se alcanzan con la dosis de 50 μM , siendo incluso la dosis de melatonina que mayor incrementa la altura del tallo de las plántulas de las diferentes variedades de *Capsicum*, bajo condiciones de salinidad.

Tabla 10. Efecto de las dosis de melatonina exógena sobre la altura (cm) del tallo de las plántulas de *Capsicum*, durante las seis semanas de estudio.

Melatonina ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	S1	S2	S3	S4	S5	S6
0	1.97 ± 0.17 a	2.61 ± 0.54 a	2.09 ± 0.12 a	2.24 ± 0.13 a	2.43 ± 0.18 a	2.38 ± 0.19 a
10	1.98 ± 0.13 a	1.92 ± 0.53 a	2.04 ± 0.12 a	2.08 ± 0.12 a	2.20 ± 0.17 a	2.57 ± 0.19 a
50	2.05 ± 0.14 a	2.67 ± 0.54 a	1.98 ± 0.12 a	2.26 ± 0.12 a	2.63 ± 0.17 a	2.91 ± 0.16 a
100	2.17 ± 0.14 a	1.96 ± 0.53 a	2.15 ± 0.12 a	2.24 ± 0.12 a	2.40 ± 0.16 a	2.50 ± 0.16 a

4.1.3. Resultados en clorofila, antocianos y polifenoles en función de las variedades de *Capsicum* y dosis de melatonina en condiciones de salinidad

La tabla 11 muestra los valores promedio y los niveles de significación al 95% de confianza, del contenido en clorofilas, antocianos y polifenoles de las plántulas de *Capsicum* para las diferentes entradas estudiadas.

Se observa que la respuesta a los diferentes parámetros bioquímicos (clorofilas, antocianos y polifenoles) de las plantas de *Capsicum* sometidas a estrés salino, es diferente en función de la variedad. Así, las variedades Pasilla, California Wonder y Piquillo presentaron la mayor concentración en clorofilas, entre 15.10 y 12.97 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Los resultados indican que las concentraciones de clorofila presentes en las plántulas de

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

la variedad Pasilla difieren significativamente de las concentraciones de las variedades Ecu-994, Serrano Kike y Numex Conquistador.

Las menores concentraciones en clorofilas se corresponden con las mayores concentraciones en antocianos. Así, la variedad de *Capsicum* Serrano Kike es la de mayor acumulación en antocianos, con diferencias estadísticamente significativas, frente a los valores que muestran las variedades Piquillo, California Wonder, Pasilla y Numex Conquistador. Por otro lado, los niveles más altos de flavonoides se alcanzan para California Wonder, con diferencias frente a los niveles de Ecu-944 y Serrano Kike.

Tabla 11. Concentraciones en clorofila, antocianos y polifenoles en función de las variedades de *Capsicum* en condiciones de salinidad.

Variedad	Clorofilas ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)		Antocianos ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)		Flavonoides ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	
Piquillo	12.97 \pm 1.21	ab	0.266 \pm 0.03	c	0.678 \pm 0.05	ab
Ecu-994	7.37 \pm 1.53	d	0.408 \pm 0.04	ab	0.542 \pm 0.06	b
S.K	9.68 \pm 1.02	cd	0.465 \pm 0.02	a	0.587 \pm 0.04	b
C.W	13.22 \pm 1.02	ab	0.295 \pm 0.02	c	0.723 \pm 0.04	a
Pasilla	15.10 \pm 1.22	a	0.292 \pm 0.03	c	0.635 \pm 0.05	ab
N.C	11.69 \pm 1.02	bc	0.382 \pm 0.03	b	0.612 \pm 0.04	ab

La tabla 12 muestra los valores promedio y los niveles de significación al 95% de confianza, del contenido en clorofilas, antocianos y polifenoles de las plántulas de *Capsicum* sometidas a diferentes concentraciones de melatonina. En los tratamientos que se aplicó melatonina contribuyeron a mitigar el estrés salino (8.0 dS/m) en variedades de *Capsicum*, favoreciendo la mayor concentración de clorofilas y menores concentraciones en antocianos. No se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes concentraciones de melatonina aplicada, siendo la dosis de 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de melatonina, donde se registran los mayores niveles de clorofilas, mientras que las menores concentraciones en antocianos se localizan en las hojas de las plantas de *Capsicum* tratadas con 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de melatonina.

Los contenidos en flavonoides, no muestran diferencias estadísticamente significativas, en las hojas de las plántulas de *Capsicum* estudiadas, cuando se aplica melatonina, tras ser tratadas las plantas con la concentración salina correspondiente a 8.0 dS/m de conductividad eléctrica en NaCl.

Algunos autores (Ruiz y Medina, 2011; Phimchan *et al.*, 2012) encontraron que la concentración de flavonoides puede variar en diferentes etapas fenológicas y entre

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

genotipos de la misma especie, esto también se observó en condiciones de estrés hídrico en variedades de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* (Ricardez-Miranda *et al.*, 2021).

Tabla 12. Concentraciones en clorofila, antocianos y polifenoles en plantas de *Capsicum* en función de las concentraciones de melatonina en condiciones de salinidad.

Melatonina ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Clorofilas ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)		Antocianos ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)		Flavonoides ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	
0	8.73 ± 1.09	b	0.403 ± 0.03	a	0.598 ± 0.04	a
10	12.96 ± 0.84	a	0.344 ± 0.02	ab	0.642 ± 0.03	a
50	12.07 ± 0.94	a	0.353 ± 0.03	ab	0.674 ± 0.04	a
100	12.95 ± 0.95	a	0.306 ± 0.03	b	0.604 ± 0.04	a

4.1.4. Resultados en prolina, antioxidantes totales, contenido relativo de agua y fuga de electrolitos en función de las variedades de *Capsicum* y dosis de melatonina en condiciones de salinidad

El contenido de prolina juega un papel importante en las plantas, protegiéndolas de diversos tipos de estrés y también ayudando a recuperarse rápidamente después del mismo, actuando como un osmoregulador en las plantas (Korkmaz *et al.*, 2021).

La tabla 13 muestra los valores promedio y los niveles de significación al 95% de confianza, del contenido en prolina, antioxidantes totales (ATO), el contenido relativo de agua (RCW) y la fuga de electrolitos (%), en condiciones de salinidad de las plántulas de diferentes variedades de *Capsicum*, sometidas a las concentraciones de melatonina.

Una de las respuestas bioquímicas más importantes al estrés es la síntesis de prolina. Los niveles de prolina en los tejidos de las plantas sometidas a estrés salino, muestran diferencias significativas, en función de las variedades. Los genotipos Ecu-994 y California Wonder concentraron un mayor contenido de prolina, permitiendo a la planta mitigar el estrés por la salinidad. Mientras que los genotipos Piquillo y Numex Conquistador muestran las concentraciones más bajas de prolina, con diferencias significativas frente al resto de contenidos en prolina.

Para hacer frente a condiciones ambientales adversas, como las de salinidad, las plantas tienen un sistema antioxidante que ayuda a controlar y eliminar especies reactivas de oxígeno (ROS) (Gill y Tuteja, 2010). La evaluación del contenido en antioxidantes totales en las hojas de las plantas muestra que las variedades de pimiento de Serrano Kike y Piquillo presentan mayor capacidad antioxidante total. Esta capacidad antioxidante de las plantas se puede ver incrementada por el efecto de la melatonina, ya que presenta efecto

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

antioxidante, que está directamente relacionada con la tolerancia a la salinidad (Ashraf y Ali, 2008).

Tabla 13. Concentraciones de prolina, antioxidantes totales (ATO) y contenido relativo de agua (RCW) en función de las variedades de *Capsicum* en condiciones de salinidad.

Variedad	Prolina ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)		ATO ($\mu\text{mol}/100\text{ g}$)		RCW (%)	Fuga Electrolitos (%)		
Piquillo	3846.46 \pm 348.84	c	585.17 \pm 55.08	a	1.93 \pm 0.04	c	27.41 \pm 4.61	b
Ecu-994	8853.55 \pm 526.62	a	nd*		1.91 \pm 0.02	c	nd	
S.K	5716.62 \pm 275.53	b	679.99 \pm 38.95	a	1.90 \pm 0.04	c	60.46 \pm 3.55	a
C.W	6885.01 \pm 353.19	ab	nd		2.15 \pm 0.03	a	59.67 \pm 3.55	a
Pasilla	5836.62 \pm 508.94	b	109.10 \pm 41.01	c	1.95 \pm 0.03	bc	55.62 \pm 4.61	a
N.C	3960.62 \pm 221.83	c	413.14 \pm 22.49	b	2.03 \pm 0.02	b	33.15 \pm 2.96	b

*nd= datos no disponibles

El contenido de agua relativo en hojas (RWC) presentó bajas concentraciones en el material vegetal de variedades como Piquillo, Ecu-994, Serrano Kike y Pasilla, existiendo diferencias significativas frente a los niveles de este parámetro en las hojas de la variedad California Wonder, esto implica que las plantas sometidas a estrés de Piquillo, Ecu-994, Serrano Kike y Pasilla, podrían haberse afectado más que los otros genotipos. A diferencia de la entrada California Wonder que presentó el mayor valor de RCW en hojas que podría estar relacionado con el aumento de la resistencia al estrés salino (Cui *et al.*, 2017).

La fuga relativa de electrolitos presentó diferencias estadísticamente significativas en función del genotipo, con mayores valores en variedades como Serrano Kike, California Wonder y Pasilla, que fueron las entradas que presentaron una menor tolerancia al estrés por sal.

La tabla 14 muestra los valores promedio y los niveles de significación al 95% de confianza, del contenido en prolina, antioxidantes totales (ATO), contenido relativo de agua (RCW) y la fuga de electrolitos (%), de las plántulas de *Capsicum* sometidas a diferentes concentraciones de melatonina. Se observa que, de forma generalizada, los niveles de prolina se incrementan en las hojas de las plántulas de pimiento, a medida que disminuye la dosis de melatonina, de forma que la no aplicación de melatonina y la dosis de 10 μM generan mayores concentraciones en prolina, con diferencias significativas frente a los tratamientos con mayor concentración en melatonina.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

Al utilizar concentraciones de 50 μM de melatonina se llega a obtener la mayor capacidad antioxidante (671.44 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$), siendo las diferencias encontradas estadísticamente diferentes al resto. El control en la aplicación de melatonina también genera una capacidad antioxidante en las hojas de *Capsicum*, mientras que las aplicaciones de 10 y 100 μM de melatonina son las que generan los menores valores de capacidad antioxidante, sin diferencias entre ellas.

Por otro lado, el contenido relativo de agua (RCW) es significativamente menor cuando la aplicación de melatonina es de 10 μM , con diferencias frente a los valores del resto de dosis (50 y 100 μM de melatonina) y el testigo.

La fuga relativa de electrolitos no presentó un efecto significativo en función de las diferentes concentraciones de melatonina aplicadas, esto puede ser debido a que la fuga relativa de electrolitos, está relacionada con la peroxidación lipídica y daño de los tejidos vegetales (Demidchik *et al.*, 2014), que aumenta con la salinidad, y la concentración salina aplicada ha sido idéntica en todos los casos.

Tabla 14. Concentraciones de prolina, antioxidantes totales (ATO) y contenido relativo de agua (RCW) en plantas de *Capsicum* en función de las concentraciones de melatonina en condiciones de salinidad.

Melatonina ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Prolina ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	ATO ($\mu\text{mol}/100\text{ g}$)	RCW (%)	Fuga Electrolitos (%)
0	7191.03 \pm 308.40 a	460.06 \pm 32.99 b	2.00 \pm 0.04 a	47.91 \pm 3.81 a
10	6847.57 \pm 254.16 a	147.97 \pm 38.25 c	1.88 \pm 0.03 b	41.49 \pm 3.81 a
50	4922.29 \pm 257.14 b	671.44 \pm 33.65 a	2.02 \pm 0.03 a	50.15 \pm 3.07 a
100	4438.36 \pm 383.39 b	219.53 \pm 32.53 c	2.00 \pm 0.02 a	49.50 \pm 3.07 a

4.1.5. Resultados en los niveles minerales en función de las variedades de *Capsicum* y dosis de melatonina en condiciones de salinidad

El contenido mineral se determinó al final del ensayo. En este momento, y debido a la acción del estrés salino, muchas plántulas habían muerto, y el resto presentaban un tamaño pequeño, por lo que alcanzar la cantidad de materia necesaria para la determinación mineral era complejo. Por ello, aprovechando todo el material vegetal existente, el contenido mineral del material vegetal se ha determinado por un lado en el conjunto de las hojas y por otro lado tomando las partes del tallo y de la raíz. La tabla 15 muestra los valores promedio obtenidos del material vegetal final para los contenidos (mg/100 g) en calcio, cobre, hierro, potasio, magnesio, manganeso, sodio, fósforo y zinc

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

en hojas de *Capsicum* en función de las concentraciones de melatonina y variedad. La tabla 16 muestra los mismos valores para el material de tallo y raíces conjunto.

En los casos donde no aparece el dato es porque las nuestras puntuales (plántulas) no llegaron al final del ciclo de estudio.

Se observa que las plantas no tratadas con melatonina resistieron mal el estrés causado por la aplicación de la concentración salina, llegando a sobrevivir solamente las de la variedad Numex Conquistador. A medida que se incrementan las dosis de melatonina aplicada, la capacidad de resistencia de la planta es mayor y el grado de supervivencia mayor. Se observa que variedades como Piquillo, Serrano Kike y California Wonder son las que menor resistencia han presentado al estrés salino.

Tabla 15. Concentraciones (mg/100 g) de calcio, cobre, hierro, potasio, magnesio, manganeso, sodio, fósforo y zinc en hojas de *Capsicum* en función de las concentraciones de melatonina y variedad.

Melatonina ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Variedad	Hojas								
		[Ca]	[Cu]	[Fe]	[K]	[Mg]	[Mn]	[Na]	[P]	[Zn]
0	Piquillo									
0	Ecu-994									
0	S.K									
0	C.W									
0	Pasilla									
0	N.C	83.921		0.398	241.271	2.099	0.311	55.564	123.408	
10	Piquillo									
10	Ecu-994	186.065	0.496	2.325	413.067	43.271	1.038	138.332	242.105	0.223
10	S.K									
10	C.W									
10	Pasilla									
10	N.C	89.057	0.022	0.857	176.700	16.284	0.466	54.596	88.534	1.635
50	Piquillo									
50	Ecu-994	150.985	0.874	3.451	483.641	77.561	0.814	118.226	140.232	0.175
50	S.K									
50	C.W									
50	Pasilla	182.322		3.587	281.097		1.084	83.538	300.386	0.211
50	N.C	247.912	1.794	2.090	322.159	111.059	0.871	117.265	351.079	2.148
100	Piquillo	136.099	1.328	0.277		4.000	1.000	105.369	136.085	0.662
100	Ecu-994	300.032	0.446	4.983	484.731		1.723	224.972	303.949	5.292
100	S.K	130.858	0.102	0.647	644.960		0.394	233.317	143.367	0.147
100	C.W	110.122	0.026	0.813	194.091	6.802	0.578	124.907	121.134	0.323
100	Pasilla	124.287	0.025	0.716	227.087	17.780	0.426	76.500	132.632	0.093
100	N.C	109.629		0.801	304.982	34.240	0.413	46.622	80.180	0.247

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

En las hojas los elementos minerales mayoritarios son el potasio, seguidos del fósforo, calcio, sodio y en menor medida los oligoelementos, siendo el hierro y el zinc los de mayor importancia. En el conjunto de tallo y raíces, los elementos mayoritarios son el calcio, potasio, fósforo y sodio, destacando el hierro como el oligoelemento mayoritario.

Ha resultado difícil estudiar diferencias significativas en los niveles minerales por la falta de homogeneidad de los datos, pero si son un valor importante en el estudio de correlaciones.

Tabla 16. Concentraciones (mg/100 g) de calcio, cobre, hierro, potasio, magnesio, manganeso, sodio, fósforo y zinc en el conjunto de tallo y raíz de *Capsicum* en función de las concentraciones de melatonina y variedad.

Melatonina ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Variedad	Tallo y Raíz								
		[Ca]	[Cu]	[Fe]	[K]	[Mg]	[Mn]	[Na]	[P]	[Zn]
0	Piquillo									
0	Ecu-994									
0	S.K	660.305	0.068	29.272	433.749	83.700	1.144	367.628	168.040	0.796
0	C.W	293.110		10.659	454.995	59.447	0.684	187.222	208.964	1.478
0	Pasilla									
0	N.C	164.537	0.014	8.023	254.225	53.906	0.376	56.268	77.440	0.440
10	Piquillo	313.870	0.527	13.620	328.837	50.884	0.682	55.521	147.469	1.009
10	Ecu-994	186.065	0.496	2.325	413.067	43.271	1.038	138.332	242.105	0.223
10	S.K	326.827		16.018	343.759	87.502	0.753	71.108	153.522	1.142
10	C.W	258.271	0.393	9.734	250.458	26.614	0.576	307.089	256.608	1.658
10	Pasilla									
10	N.C	225.439		9.101	264.690	60.110	0.503	203.410	99.898	0.340
50	Piquillo	240.800	0.619	8.747	294.233	79.892	0.466	157.077	104.179	0.459
50	Ecu-994	438.649	0.970	17.850	470.112	94.076	0.971	97.325	266.442	3.037
50	S.K	337.057	0.242	12.779	495.803	75.047	0.849	172.485	231.439	1.609
50	C.W									
50	Pasilla	403.365		10.689	277.688	77.491	1.764	168.838	279.307	5.150
50	N.C	501.409	0.890	24.327	226.611	63.467	1.107	35.428	255.157	2.307
100	Piquillo	105.369	1.361	0.662	133.150	0.391	1.133	228.252	24.421	0.572
100	Ecu-994	802.145	1.776	52.308	492.063	133.182	2.011	388.942	477.787	2.698
100	S.K	130.858	0.102	0.647	644.960		0.394	233.317	143.367	0.147
100	C.W	234.310	0.617	8.678	344.292	57.159	0.656	114.806	168.783	0.645
100	Pasilla	206.176	0.229	5.413	197.464	6.791	0.489	38.657	201.486	0.368
100	N.C	241.188	0.565	9.598	348.573	86.112	0.608	67.840	89.208	0.431

4.1.6. Correlaciones entre variedades

En este apartado se pretende evaluar las posibles relaciones simples entre los parámetros estudiados para evaluar el efecto de la melatonina exógena sobre los parámetros estimados en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino. La

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

tabla 17 muestra la matriz de los coeficientes de regresión. Los colores rojos representan correlaciones positivas y los colores azules se corresponden con correlaciones negativas. La intensidad del color muestra la fuerza entre la relación, mientras que la ausencia de color representa la correlación débil.

Tabla 17. Coeficientes de correlación de Pearson de las variables evaluadas, para el total de entradas de *Capsicum* y concentraciones de melatonina, en condiciones de salinidad.

		Correlaciones Pearson Producto-Momento																														
		-1,0 1,0																														
Prolina		-0,02	0,10	-0,09	0,15	0,55	0,60	-0,23	-0,05	-0,30	-0,44	-0,50	-0,43	-0,12	-0,35	-0,19	-0,49	-0,32	-0,08	0,32	0,02	0,01	0,38	-0,53	0,41	0,40	-0,25	0,40	0,20	0,34	0,22	
ATO		-0,02		-0,52	0,49	0,12	-0,21	0,28	0,20	0,09	0,13	0,09	0,19	0,22	0,48	0,56	0,23	0,31	0,55	0,34	0,50	0,45	0,28	0,14	0,51	0,22	-0,38	-0,22	0,16	-0,35	0,43	0,24
Antocianos		0,10	-0,52		-0,68	-0,12	0,38	-0,50	0,28	0,08	0,13	0,25	0,17	0,20	0,00	0,09	-0,01	0,12	0,04	0,03	-0,15	0,01	0,22	0,30	-0,48	0,19	0,27	0,12	0,08	0,37	-0,07	-0,19
Clorofila		-0,09	0,49	-0,68		-0,05	-0,31	0,47	-0,06	0,01	-0,01	-0,09	-0,02	0,07	0,13	0,10	0,06	-0,31	0,05	0,05	-0,09	0,15	-0,04	-0,08	0,47	0,08	-0,44	0,09	0,10	-0,32	0,11	0,29
Flavonoides		0,15	0,12	-0,12	-0,05		-0,16	0,09	-0,29	-0,02	-0,11	-0,02	0,01	-0,04	-0,06	0,01	-0,09	0,36	0,12	-0,21	0,32	-0,08	0,07	-0,13	0,10	-0,08	0,22	-0,19	-0,23	-0,04	-0,09	0,03
F. Electrolitos		0,55	-0,21	0,38	-0,31	-0,16		0,44	-0,17	-0,18	-0,26	-0,17	-0,21	-0,22	-0,02	-0,33	0,09	-0,12	-0,24	0,07	0,00	0,00	-0,48	0,17	-0,61	-0,07	0,29	-0,45	0,11	0,45	0,55	0,14
RCW		0,60	0,28	-0,50	0,47	0,09	0,44		0,08	0,08	0,10	0,13	0,16	0,16	0,08	0,05	0,08	-0,31	-0,10	0,00	-0,13	0,01	0,37	0,29	0,20	0,33	-0,31	0,20	0,04	0,19	0,10	0,29
Longitud S1		-0,23	0,20	0,28	-0,06	-0,29	-0,17	0,08		0,28	0,72	0,68	0,69	0,67	0,05	0,36	-0,19	-0,38	0,30	-0,13	-0,31	0,10	0,14	0,10	-0,04	0,09	-0,30	0,08	-0,07	-0,21	-0,20	-0,09
Longitud S2		-0,05	0,09	0,08	0,01	-0,02	-0,18	0,08	0,28		0,13	0,13	0,10	0,04	-0,12	0,31	-0,22	-0,19	-0,10	-0,19	-0,20	-0,05	0,13	-0,10	-0,16	-0,04	-0,22	-0,05	-0,17	-0,15	-0,23	-0,15
Longitud S3		-0,30	0,13	0,13	-0,01	-0,11	-0,26	0,10	0,72	0,13		0,89	0,86	0,88	0,00	0,20	-0,36	-0,34	0,11	-0,23	-0,22	0,07	0,18	-0,04	-0,11	0,01	-0,35	-0,12	-0,18	-0,14	-0,32	-0,22
Longitud S4		-0,44	0,09	0,25	-0,09	-0,02	-0,17	0,13	0,68	0,13	0,89		0,95	0,93	0,05	0,27	-0,32	-0,34	0,18	-0,20	-0,20	0,12	0,21	0,08	-0,13	0,05	-0,32	-0,10	-0,15	-0,12	-0,27	-0,17
Longitud S5		-0,50	0,19	0,17	-0,02	0,01	-0,21	0,16	0,69	0,10	0,86	0,95	0,99	0,99	0,16	0,43	-0,25	-0,25	0,36	-0,14	-0,19	0,24	0,24	-0,01	-0,11	-0,02	-0,29	-0,10	-0,16	-0,20	-0,25	-0,13
Longitud S6		-0,43	0,22	0,20	0,07	-0,04	-0,22	0,16	0,67	0,04	0,83	0,93	0,99	0,99	0,28	0,47	-0,14	-0,15	0,41	-0,02	-0,10	0,32	0,37	0,12	-0,09	0,10	-0,26	-0,02	-0,07	-0,17	-0,18	-0,07
H [Ca]		-0,12	0,48	0,00	0,13	-0,06	-0,02	0,08	0,05	-0,12	0,00	0,05	0,16	0,28	0,76	0,78	0,42	0,89	0,90	0,63	0,93	0,78	0,67	0,60	0,53	0,17	0,36	0,68	0,39	0,74	0,45	
H [Cu]		-0,35	0,56	0,09	0,10	0,01	-0,33	0,05	0,36	0,31	0,20	0,27	0,43	0,47	0,76	0,47	0,21	0,97	0,90	0,27	0,86	0,40	0,36	0,25	0,26	-0,13	0,22	0,31	-0,25	0,27	0,51	
H [Fe]		-0,19	0,23	-0,01	0,06	-0,09	0,09	0,08	-0,19	-0,22	-0,36	-0,32	-0,25	-0,14	0,78	0,47	0,42	0,81	0,94	0,45	0,66	0,63	0,80	0,65	0,26	0,60	0,89	0,54	0,90	0,77		
H [K]		-0,49	0,31	0,12	-0,31	0,36	-0,12	-0,31	-0,38	-0,19	-0,34	-0,34	-0,25	-0,15	0,42	0,21	0,42	0,67	0,37	0,76	0,28	0,21	0,18	0,12	0,13	0,88	-0,07	0,20	0,48	0,41	0,13	
H [Mg]		-0,32	0,55	0,04	0,05	0,12	-0,24	-0,10	0,30	-0,10	0,11	0,18	0,36	0,41	0,89	0,97	0,81	0,67	0,79	0,57	0,82	0,66	0,65	0,49	0,44	0,15	0,21	0,64	-0,25	0,62	0,70	
H [Mn]		-0,03	0,34	0,03	0,05	-0,21	0,07	0,00	-0,13	-0,19	-0,23	-0,20	-0,14	-0,02	0,90	0,50	0,94	0,37	0,79	0,56	0,56	0,78	0,77	0,76	0,75	0,66	0,22	0,54	0,87	0,59	0,88	0,59
H [Na]		0,32	0,50	-0,15	-0,09	0,32	0,00	-0,13	-0,31	-0,20	-0,22	-0,20	-0,19	-0,10	0,63	0,27	0,45	0,76	0,57	0,56	0,90	0,50	0,37	0,38	0,38	0,76	0,06	0,34	0,63	0,52	0,05	
H [P]		0,02	0,45	0,01	0,15	-0,08	0,00	0,01	0,10	-0,05	0,07	0,12	0,24	0,32	0,93	0,86	0,66	0,28	0,82	0,78	0,50	0,59	0,59	0,46	0,36	0,35	-0,02	0,18	0,89	0,20	0,56	0,48
H [Zn]		0,01	0,28	0,22	-0,04	0,07	-0,43	0,37	0,14	0,13	0,18	0,21	0,24	0,37	0,78	0,40	0,63	0,21	0,66	0,77	0,50	0,59	0,74	0,73	0,78	0,10	0,49	0,56	0,64	0,67	0,23	
T -R[Ca]		0,38	0,14	0,30	-0,03	-0,13	0,17	0,29	0,10	-0,10	-0,04	0,08	-0,01	0,12	0,67	0,36	0,80	0,18	0,65	0,76	0,37	0,46	0,74	0,64	0,95	0,17	0,72	0,82	0,41	0,65	0,50	
T -R [Cu]		-0,53	0,51	-0,48	0,47	0,10	-0,61	0,20	-0,04	-0,16	-0,11	-0,13	-0,11	-0,09	0,60	0,25	0,80	0,12	0,49	0,75	0,38	0,36	0,73	0,64	0,74	0,05	0,72	0,76	0,12	0,65	0,65	
T -R [Fe]		0,41	0,22	0,19	0,08	-0,08	-0,07	0,33	0,09	-0,04	0,01	0,05	-0,02	0,10	0,59	0,26	0,65	0,13	0,44	0,66	0,38	0,35	0,78	0,95	0,74	0,13	0,76	0,72	0,34	0,58	0,36	
T -R [K]		0,40	-0,38	0,27	-0,44	0,22	0,29	-0,31	-0,30	-0,22	-0,35	-0,32	-0,29	-0,26	0,17	-0,13	0,26	0,88	0,15	0,22	0,76	-0,02	0,10	0,17	0,05	0,13	0,12	0,16	0,50	0,26	-0,09	
T -R [Mg]		-0,25	-0,22	0,12	0,08	-0,19	-0,45	0,20	0,08	-0,05	-0,12	-0,10	-0,10	-0,02	0,36	0,22	0,60	-0,07	0,21	0,54	0,06	0,18	0,49	0,72	0,72	0,76	0,12	0,63	0,18	0,31	0,36	
T -R [Mn]		0,40	0,16	0,08	0,10	-0,23	0,11	0,04	-0,07	-0,17	-0,18	-0,15	-0,16	-0,07	0,88	0,31	0,89	0,20	0,64	0,87	0,34	0,98	0,56	0,82	0,76	0,72	0,16	0,63	0,34	0,79	0,71	
T -R [Na]		0,20	-0,35	0,37	-0,32	-0,04	0,45	0,19	-0,21	-0,15	-0,14	-0,12	-0,20	-0,17	0,39	-0,25	0,54	0,48	-0,25	0,59	0,63	0,20	0,64	0,41	0,12	0,34	0,50	0,18	0,34	0,46	-0,02	
T -R [P]		0,34	0,43	-0,07	0,11	-0,09	0,55	0,10	-0,20	-0,23	-0,32	-0,27	-0,25	-0,18	0,74	0,27	0,90	0,41	0,62	0,88	0,52	0,56	0,67	0,65	0,65	0,58	0,26	0,31	0,79	0,46	0,89	
T -R [Zn]		0,22	0,24	-0,19	0,29	0,08	0,14	0,29	-0,09	-0,15	-0,22	-0,17	-0,13	-0,07	0,45	0,51	0,77	0,13	0,70	0,59	0,05	0,48	0,23	0,50	0,65	0,36	-0,09	0,36	0,71	-0,02	0,89	

Bajo las condiciones de estrés salino, se observa que los coeficientes de relación entre la concentración de prolina y la altura de las plantas muestran una relación inversa de fuerza media (coeficiente de correlación próximo al 0.5), sobre todo con la altura de las plantas de las últimas tres semanas de evaluación, es decir que a medida que aumenta la altura de las plantas disminuye la concentración de prolina. Estas mismas tendencias inversas se muestran para el contenido en prolina frente a la concentración en K en las hojas y la concentración de Cu en los tallos y las raíces. Por otro lado, la prolina tiene una relación directa, con una fuerza media (coeficiente de correlación próximo al 0.5), con el contenido de flavonoides y el contenido relativo de agua (RCW) en las hojas, a su vez favorece al incremento de Fe, K y Mn en tallos y raíces.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

En respuesta al estrés salino, las plantas deben ajustarse osmóticamente para impedir la pérdida del agua, para ello acumulan los iones inorgánicos o sintetizan los compuestos bioquímicos, como la prolina, para disminuir el potencial osmótico de la célula, pero también mediante la combinación de ambos mecanismos. La síntesis de los osmolitos orgánicos requiere un coste energético mayor que el uso de iones inorgánicos, y este coste energético es responsable en parte, de la reducción del crecimiento y la de menor altura de las plántulas.

El contenido de antioxidantes (ATO) posee una relación directa media (coeficiente de correlación próximo al 0.5) con la concentración de clorofila en las hojas y el contenido mineral del Ca, Cu, Mg, Na y P en hojas y Cu, P en tallos y raíces. A su vez se observa que en las hojas de *Capsicum* de las condiciones del estudio, a medida que aumentan la capacidad antioxidante, disminuye significativamente la concentración de antocianos.

Bajo las condiciones de estrés salino, el contenido en antocianos se relaciona inversamente con la concentración en clorofilas, de forma que la concentración clorofílica de las hojas de *Capsicum* disminuye en favor del aumento de antocianos. Varios factores ambientales desencadenan la acumulación de antocianos, como la senescencia, hormonas, la radiación UV, el calor, el frío, la sequía, el estrés por salinidad, la deficiencia de nutrientes, la presencia de químicos e la infección por patógenos (Nakabayashi *et al.*, 2014). Se cree que los antocianos brindan protección bajo estos estreses y se sintetizan en la planta bajo estas situaciones, observándose en paralelo la disminución en la concentración en clorofilas (Xu *et al.*, 2017). La concentración en antocianos también se relaciona inversamente con la capacidad antioxidante total, el contenido relativo de agua (RCW) y el contenido en Cu en tallos y raíces. Estos resultados corroboran que la concentración de clorofila total en las hojas de las plántulas de *Capsicum* genera un incremento positivo en la capacidad antioxidante total, el RCW y el Cu en tallos y raíz en condiciones de estrés por sal. Y ocasiona una menor concentración de K en tallo y raíces.

También es interesante mencionar que el contenido de Na en hojas de *Capsicum* tiene una relación directa con la capacidad antioxidante total y la concentración de minerales como el Ca, K, Mg y Mn en hojas, pero en tallos y raíces el K, Na y P se fijan en mayor concentración al ser utilizados en los mecanismos de regulación osmótica en las plantas sometidas a condiciones de estrés.

La mayoría de relaciones positivas se producen entre los elementos del contenido mineral, de forma que el contenido en zinc de las hojas se relaciona muy fuertemente con

el cobre de los tallos y las raíces, indicando que cuanto más concentración de cobre exista en el tallo y las raíces, mayor concentración de zinc llega a las hojas. Estas relaciones están ampliamente justificadas desde el punto de vista fisiológico (Marschner, 2011).

4.2. DISCUSIÓN

La tensión ambiental como la sequía, la concentración salina, los efectos por las altas y bajas temperaturas, entre otros, pueden causar efectos adversos sobre el crecimiento y rendimiento de las plantas. Una de las vías clave para subyacer la tolerancia a la salinidad de las plantas a condiciones de estrés es su maquinaria de defensa antioxidante. En estudios recientes se ha visto que una mayor capacidad antioxidante o una menor acumulación de ROS, está ligada a la tolerancia del estrés (Suzuki *et al.*, 2014; Castañares y Bouzo, 2019; Kaya y Doganlar, 2019).

Sin embargo, cuando la capacidad antioxidante de las plantas es insuficiente, su resistencia se puede incrementar mediante la aplicación exógena de algunas enzimas antioxidantes, esenciales en los mecanismos de defensa de las plantas hacia la adaptación de la salinidad (Kadioglu *et al.*, 2011; Kaya y Doganlar, 2016; Al-Taey, 2017). En el presente estudio, la sustancia utilizada para aumentar la resistencia al estrés ha sido la melatonina, ya que puede desempeñar el papel de una molécula señal en condiciones de estrés de la planta (Arnao y Hernández-Ruiz, 2014).

Se ha encontrado que el estrés salino ha afectado a la germinación de todas las entradas de *Capsicum* ensayadas, a pesar que la entrada Serrano Kike (S.K) en los primeros días de evaluación presentó una óptima germinación y en la última fase se produjo la pudrición de semillas, esto pudo ocurrir por efecto saturación debido del alto potencial de germinación. Este genotipo presentó periodos más cortos para alcanzar el 50% de la germinación final (Penella-Casañ, 2015).

Los genotipos Numex Conquistador, Serrano Kike y Ecu-994, presentaron un efecto positivo a la aplicación de 10 μ M de melatonina exógena en la germinación. Mientras que las dosis altas (100 μ M) redujeron la germinación, esto podría estar ocasionado, como señala Posmyk *et al.* (2008), por el efecto tóxico sobre la semillas, de concentraciones altas de melatonina. Estudios similares obtuvieron la misma respuesta y su efecto tóxico en concentraciones altas de melatonina en melón, arroz y maíz (Liang *et al.*, 2015; Castañares y Bouzo, 2019; Ahmad *et al.*, 2021). Este efecto podría haber sucedido de

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

forma similar a lo que con las hormonas vegetales, donde la respuesta a niveles altos podría ocasionar inhibición (Arnao y Hernández-Ruiz, 2014).

La salinidad afectó negativamente al crecimiento de todas las entradas de *Capsicum* con incidiendo con los resultados de Kaya y Doganlar (2019). La melatonina juega un papel importante en el crecimiento y desarrollo de las plantas, mitigando los efectos de factores ambientales (Zhang *et al.*, 2015). En condiciones adversas, los niveles de melatonina tienen una mejor respuesta a la tolerancia al estrés de las plantas. Los resultados obtenidos en el presente trabajo, la melatonina no influyó en el efecto sobre el crecimiento, independientemente de las concentraciones de melatonina exógena, en las entradas de *Capsicum* evaluadas. A pesar que estudios (Kaya y Doganlar, 2016) en *Capsicum* encontraron que la melatonina endógena aumentó en plantas expuestas a estrés, llegando a discutir que esto favorezca a un posible crecimiento activo en bajas concentraciones de melatonina y un efecto inhibitorio a altas concentraciones, ya que actúa de manera similar a la auxina en las plántulas (Arnao y Hernández-Ruiz, 2014).

La altura de las plántulas sometidas a estrés salino, se ha visto afectada en todos los genotipos evaluados, excepto para el genotipo Numex Conquistador que presentó una mayor tolerancia durante el todo el periodo de evaluación. A su vez cabe resaltar Serrano Kike presentó un óptimo desarrollo generando tolerancia, en la primera semana de evaluación, y posteriormente presentó generó la mortalidad de las plántulas. Se podría considerar este genotipo modernamente resistente para este carácter. A diferencia de las entradas Ecu-994, California Wonder y Pasilla que experimentaron una mayor susceptibilidad, afectando a su crecimiento. Los resultados obtenidos coinciden con los resultados obtenidos por Penella-Casañ (2015) en la evaluación de algunas de estas entradas en condiciones de estrés salino e hídrico.

Los efectos del estrés por salinidad han reducido la concentración de clorofilas en las hojas, a pesar que la melatonina juega un papel importante en los procesos de regulación de la senescencia de las hojas y por tanto en el mantenimiento de la clorofila. Resultados similares se han obtenido por otros autores trabajando con *Capsicum* (Kaouther *et al.*, 2012). En diferentes estudios, donde las plantas no fueron sometidas a condiciones de estrés, la melatonina a diferentes concentraciones ralentizó la senescencia inducida, minimizando la pérdida total de clorofila en plantas (Arnao y Hernández-Ruiz, 2014; Han *et al.*, 2017; Ye *et al.*, 2020). Este efecto se ha asociado con la correlación positiva de los

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

antioxidantes y RCW y su acción sobre los genes de la enzima de la clorofila, como CLH (clorofilasa) (Arnao y Hernández-Ruiz, 2009).

Los genotipos Californina Wonder y Piquillo han presentado una mayor concentración de clorofila, capacidad antioxidante total y flavonoides en condiciones de estrés por sal. Además, a concentraciones de 50 μM de melatonina se podría alcanzar un efecto positivo, mitigando las consecuencias de acumulación de ROS en las plantas (Bojórquez *et al.*, 2014), favoreciendo la tolerancia a la salinidad. Estos resultados están directamente relacionados con la tolerancia a la sal de estos genotipos en los primeros estadios vegetativos. A pesar de que en investigaciones realizadas por Penella-Casañ (2015) se describe que algunas de estas entradas son susceptibles a la salinidad, al ser afectada la fotosíntesis, el contenido total de clorofila y el crecimiento.

En el presente estudio, el contenido relativo de agua (RWC) ha sido más bajo que el que muestran las hojas de pimiento que no han sido sometidas a condiciones de estrés por salinidad (Kaya y Doganlar, 2019). Hay estudios en la literatura que muestran la disminución de RWC en las plantas expuestas a estrés por sequía, salinidad, frío y herbicidas. Una disminución de RWC es reportado por Korkmaz *et al.* (2021) en hojas de pimiento (*Capsicum annuum* L.) expuestas al frío y salinidad (Kaya y Doganlar, 2019) y en las hojas de girasol expuestas a los herbicidas (Kaya y Yigit, 2014). En la presente investigación las concentraciones de 50 y 100 μM de melatonina exógena ha presentado efectos para aumentar significativamente el RWC en los genotipos de *Capsicum* evaluados, aunque la misma respuesta se ha obtenido frente al testigo, esto podría estar relacionado con el comportamiento a la tolerancia al estrés salino de los diferentes genotipos evaluados (Penella-Casañ, 2015). Cabe mencionar que no se pudo obtener una interacción entre las variedades evaluadas y los diferentes niveles de melatonina. Este aumento podría estar relacionado con el incremento a la resistencia al estrés por la melatonina (Arnao y Hernández-Ruiz, 2014; Kaya y Doganlar, 2016).

Además, valores altos de RCW, les permitieron a las plántulas en condiciones de estrés aumentar sus niveles de prolina, clorofila y fuga de electrolitos, que son parte del mecanismo de defensa de la planta. En plántulas de trigo expuestas a la sequía en las que se aplicó melatonina exógena se generó una respuesta al estrés al regular el equilibrio hídrico y mantener la turgencia de la célula vegetal (Cui *et al.*, 2017).

La prolina es un osmoregulador, protector de proteínas, membranas y protector estructural subcelular mediante la eliminación de ROS, importante en la adaptación de

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

las plantas a varios factores de estrés ambiental, como sequía y salinidad (Delauney y Verma, 1993; Rejeb *et al.*, 2014). En muchas plantas durante condiciones de estrés hay una sobre-expresión de las enzimas clave en la biosíntesis de osmolitos como la prolina. La acumulación de prolina, además de inducir ajuste osmótico, protege las membranas y las proteínas de la deshidratación y actúa como desintoxicador de radicales libres (Tamura *et al.*, 2003).

Se ha encontrado que con las concentraciones de 10 μ M de melatonina exógena, se acumulan mayores contenidos de prolina en las plántulas de *Capsicum*. Mientras que en las plántulas que no se aplicó melatonina se observó la misma respuesta, esto puede deberse a la variabilidad genotípica de las entradas, a la tolerancia y susceptibilidad al estrés salino, según se extrae de los estudios de Penella-Casañ (2015) en las que se evaluaron algunas de estas entradas en condiciones de estrés salino e hídrico.

Además, el contenido de prolina está correlacionado positivamente con la fuga de electrones, RWC y fue disminuyendo negativamente en su altura en las plántulas a partir de la tercera semana de observación y hasta la semana número seis. De manera similar a estos resultados, Anjum y Frooq (2012) y Kaya *et al.* (2019) determinaron que la acumulación de prolina aumenta, dependiendo de la severidad del estrés en plantas de pimiento. Además, Jahan *et al.* (2020) en su estudio sobre tomate, en el que aplicó melatonina exógena para aliviar el estrés oxidativo, las plántulas inhibieron significativamente su altura y longitud de raíz en altas concentraciones de melatonina. Así, el efecto de la melatonina puede verse afectado negativamente en las plántulas por la frecuencia de riego con melatonina. Esta información se debería considerar para futuras investigaciones, evaluando con los mismo niveles de melatonina.

La literatura científica aporta información sobre el efecto de la actividad de las enzimas antioxidantes presentes en las plantas, para soportar los daños oxidativos inducidos por la salinidad. Se ha demostrado que las plantas pretratadas con melatonina tienen una mayor actividad enzimática antioxidante, que las plántulas no tratadas (Li *et al.*, 2019). La aplicación de melatonina exógena empleada en el presente trabajo, puede estimular la compleja maquinaria antioxidante que la protege a la planta de daños oxidativos. Sin embargo, el efecto de la melatonina exógena empleada a las plántulas de *Capsicum* no ha presentado las diferencias esperadas, en función de las diferentes concentraciones de melatonina. Así, los flavonoides han estado presentes en las mismas concentraciones, independientemente de los niveles de melatonina aplicada, siendo los valores muy

similares a los del testigo, participando en la reducción del estrés oxidativo-ROS en la planta (Hernández *et al.*, 2009) en la misma medida.

Los antocianos tienen muchas funciones biológicas en las plantas superiores, proporcionan una variedad de colores a la planta, atrayente de insectos y también es una molécula importante en la defensa contra la radiación ultravioleta, la interacción planta-patógeno y eliminación de ROS, a pesar de que esta última, presenta varios interrogantes dentro del mecanismo de defensa de la planta (Mouradov y Spangenberg, 2014). En este estudio, entradas como Serrano Kike, Ecu-994 y Numex Conquistador han presentado altas concentraciones de antocianos, especialmente cuando se aplican dosis de 10 y 50 μM de melatonina. El efecto de que los antocianos confieren tolerancia al estrés por bajas temperaturas, sequía o alta salinidad en plantas no está de todo claro (Li *et al.*, 2016). Además el papel de la melatonina en la mejora de los parámetros fotosintéticos sigue siendo poco claro, los datos disponibles sugieren que la melatonina es vital no solo para ayudar a aliviar los efectos dañinos de los ROS producidos en los tejidos que realizan la fotosíntesis activa, sino que también participa en la percepción de la luz (Erland *et al.*, 2017; Ye *et al.*, 2020; Korkmaz *et al.*, 2021).

Otro condicionante importante en la tolerancia a la concentración salina es el contenido de Na, K y Ca, por la limitación al desarrollo de las plantas en gran medida. Se trata de una de las condiciones de estrés que las plantas enfrentan con mayor frecuencia. Al estar una planta expuesta a la sal recibe el Na^+ circundante y lo transporta a otras células, tejidos u órganos. Y esto en grandes concentraciones provoca una degradación del equilibrio osmótico y como resultado la división celular se inhibe y se ralentiza el crecimiento de las plantas (Maathuis *et al.*, 2014). En esta investigación el contenido de Na^+ en hojas en los genotipos evaluados, ha estado directamente correlacionado con el contenido K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn, P y Zn en hojas. Y también los contenidos de Na^+ en los tallos y raíces se correlaciona con el K^+ , Na^+ y P, este hallazgo es comparable con los resultados de Gharsallah *et al.* (2016) en entradas de tomate tolerantes sometidas a estrés salino, donde se observó un incremento de las concentraciones de Na^+ , Fe y Mn en raíces, manteniendo la homeostasis del K^+ durante todas las etapas de estrés salino. Así, en las plantas susceptibles se puede encontrar mayor concentración de Na^+ en hojas, debido al posible mecanismo de exclusión del Na^+ .

Es por esto que el K^+ se considera un elemento clave en la regulación en los procesos metabólicos de la planta, mediante la exclusión del Na^+ y ajuste osmótico, regulando a su

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

vez la homeostasis del Na^+/K^+ foliar en entradas tolerantes (Gharsallah *et al.*, 2016). Para mitigar ese efecto, en trabajos de Castañares y Bouzo (2019) se demostró que la aplicación de melatonina en dosis de 50 μM , se mantiene la relación de sodio y potasio en valores bajos, similares a los de las plantas no estresadas.

El Ca^{2+} es necesario para mantener una concentración apropiada de K^+ en los tejidos. Además, en concentraciones elevadas tiene un efecto beneficioso, al contribuir al mantenimiento de K^+ , mejorando la absorción de la sal en plantas tolerantes (Gharsallah *et al.*, 2016). Además el calcio, está en las señales que regulan la actividad estomática, donde el Ca^{2+} ha sido identificado como un componente principal que genera gran cantidad de interconexiones, así, aumento del calcio en el citosol, actúa como estímulo en las células guarda, en mecanismos de defensa, pero también induce la apertura, cierre e inhibición de estomas, y a su vez impide la acumulación del ácido abscísico que se activa en condiciones de estrés y que provoca una cascada de señales en la planta afectando a la fotosíntesis (Reyes *et al.*, 2013).

En el presente estudio se han encontrado fuertes relaciones positivas entre las concentraciones en Cu, Fe, Mg, Mn, Na, P y Zn de las hojas y Ca, Cu, Fe, Mn y P en tallos y raíces. Además, se ha encontrado que estas plantas estresadas por la alta concentración salina, han mostrado correlaciones positivas entre el Cu de hojas y la capacidad antioxidante (ATO), esto puede ser debido a que el Cu puede contribuir al estrés oxidativo, al aumentar el nivel de H_2O_2 , al formar parte de la canalización de la sobreproducción de ROS por las reacciones de Haber-Weiss y Fenton (Mosa *et al.*, 2018). Esta molécula se activa en respuesta a la producción de compuestos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos. Por tal motivo la actividad antioxidante de la planta crece a medida que el Cu se incrementa en el tejido vegetal de las hojas, para evitar la reducción de ROS. Este mecanismo ocasiona un antagonismo entre Cu y P, en brotes y en raíces (Adrees *et al.*, 2015). Por otro lado, el Zn a pesar de ser un catión divalente, no se vio afectado por el incremento del Cu en la planta. Efecto similar se encuentra en algunas investigaciones relacionadas, sobre el contenido del Mn que no se ve afectado, al actuar en algunos mecanismos antioxidantes a través de la membrana plasmática (Pérez-Labrada *et al.*, 2019; Dumont *et al.*, 2021).

CONCLUSIONES

V. CONCLUSIONES

Los hallazgos del presente estudio han demostrado que la melatonina exógena induce cambios bioquímicos en las plantas de *Capsicum*, reduciendo los efectos adversos al estrés salino. La concentración óptima propuesta en esta investigación es de 50 μM de melatonina al contribuir a la mitigación de los efectos de la acumulación de ROS, mejorando la concentración de antioxidantes en la planta que favorece a mitigar los efectos adversos al estrés salino. Las entradas Piquillo, Pasilla y Numex Conquistador presentaron la mejor respuesta a la tolerancia a la salinidad en estado de plántula. La melatonina no puede mitigar los efectos adversos en la germinación en condiciones de salinidad, pero si mejora su potencial germinativo en las semillas de pimiento.

La acumulación de la prolina se ha evidenciado ante el estrés causado por la concentración salina, por lo que se sugiere que esta acumulación se podría emplear como criterio en la selección de cultivares de *Capsicum* resistentes al estrés salino.

Dado que el pimiento se cultiva en el mundo generalmente de manera intensiva y bajo riego, lo que promueve la acumulación de sal en el suelo, la presente investigación podría ayudar a los productores a superar las dificultades durante las etapas iniciales del crecimiento del pimiento y contribuir en la seleccionar el mejor ideotipo en condiciones salinas o en la utilización como patrón tolerante a la salinidad.

BIBLIOGRAFÍA

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Adrees, M., Ali, S., Rizwan, M., Ibrahim, M., Abbas, F., Farid, M., ... Bharwana, S.A. (2015). *The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review*. Environmental Science and Pollution Research, 22(11): 8148-8162.
- Aguilar-Meléndez, A., Morrell, P.L., Roose, M.L., Kim, S.C. (2009). *Genetic diversity and structure in semiwild and domesticated chiles (Capsicum annuum; Solanaceae) from Mexico*. American Journal of Botany, 96(6): 1190-1202.
- Ahmad, S., Cui, W., Kamran, M., Ahmad, I., Meng, X., Wu, X., ... Han, Q. (2021). *Exogenous application of melatonin induces tolerance to salt stress by improving the photosynthetic efficiency and antioxidant defense system of maize seedling*. Journal of Plant Growth Regulation, 40(3): 1270-1283.
- Al-Taey, D.K. (2017). *Mitigation of salt stress by organic matter and GA3 on growth and peroxidase activity in pepper (Capsicum annum L.)*. Advances in Natural and Applied Sciences, 11(10): 1-11.
- Álvarez, S.P., Tapia, M.A.M., Vega, M.E.G., Ardisana, E.F.H., Medina, J.A.C., Zamora, G.L.F., Bustamante, D.V. (2019). *Nanotechnology and Plant Tissue Culture*. In: Ram Prasad (Ed.). Springer, Cham. Plant Nanobionics: Volume 1, Advances in the Understanding of Nanomaterials Research and Applications: 333-370.
- Anjum, S.A., Farooq, M., Xie, X.Y., Liu, X.J., Ijaz, M.F. (2012). *Antioxidant defense system and proline accumulation enables hot pepper to perform better under drought*. Scientia Horticulturae, 140: 66-73.
- Arnao, M.B., Hernández-Ruiz, J. (2009). *Protective effect of melatonin against chlorophyll degradation during the senescence of barley leaves*. Journal of pineal research, 46(1): 58-63.
- Arnao, M.B., Hernández-Ruiz, J. (2014). *Melatonin: plant growth regulator and/or biostimulator during stress?*. Trends in plant science, 19(12): 789-797.
- Ashraf, M., Ali, Q. (2008). *Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (Brassica napus L.)*. Environmental and experimental Botany, 63(1-3): 266-273.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

- Assouline, S., Möller, M., Cohen, S., Ben-Hur, M., Grava, A., Narkis, K., Silber, A. (2006). *Soil-plant system response to pulsed drip irrigation and salinity: Bell pepper case study*. Soil Science Society of America Journal, 70(5): 1556-1568.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D. (1973). *Rapid determination of free proline for water-stress studies*. Plant and soil, 39(1): 205-207.
- Bojórquez-Quintal, E., Velarde-Buendía, A., Ku-González, Á., Carillo-Pech, M., Ortega-Camacho, D., Echevarría-Machado, I., ... Martínez-Estévez, M. (2014). *Mechanisms of salt tolerance in habanero pepper plants (*Capsicum chinense* Jacq.): proline accumulation, ions dynamics and sodium root-shoot partition and compartmentation*. Frontiers in Plant Science, 5: 605.
- Campbell, C.R., Plank, C.O. (1998). *Preparation of plant tissue for laboratory analysis*. En: Handbook of Methods for Plant Analysis. Edited by Yash P. Kalra. 37-49 pp.
- Cao, Y.Y., Yang, M.T., Chen, S.Y., Zhou, Z.Q., Li, X., Wang, X.J., Bai, J.G. (2015). *Exogenous sucrose influences antioxidant enzyme activities and reduces lipid peroxidation in water-stressed cucumber leaves*. Biologia plantarum, 59(1): 147-153.
- Carretero Montero, L. (2002). Tolerancia a la salinidad de plantas de mandioca (*Manihot esculenta* Cranz): influencia de la micorriza. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla. 168 pp.
- Castañares, J.L., Bouzo, C.A. (2019). *Effect of Exogenous Melatonin on Seed Germination and Seedling Growth in Melon (*Cucumis melo* L.) Under Salt Stress*. Horticultural Plant Journal, 5(2): 79-87.
- Cui, G., Zhao, X., Liu, S., Sun, F., Zhang, C., Xi, Y. (2017). *Beneficial effects of melatonin in overcoming drought stress in wheat seedlings*. Plant Physiology and biochemistry, 118: 138-149.
- De Pascale, S., Ruggiero, C., Barbieri, G., Maggio, A. (2003). *Physiological responses of pepper to salinity and drought*. Journal of the American Society for Horticultural Science, 128(1): 48-54.
- Delauney, A.J., Verma, D.P.S. (1993). *Proline biosynthesis and osmoregulation in plants*. The plant journal, 4(2): 215-223.
- Demidchik, V., Straltsova, D., Medvedev, S.S., Pozhvanov, G.A., Sokolik, A., Yurin, V. (2014). *Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and*

- involvement in programmed cell death and metabolic adjustment*. Journal of experimental botany, 65(5): 1259-1270.
- Dubbels, R., Reiter, R.J., Klenke, E., Goebel, A., Schnakenberg, E., Ehlers, C., ... Schloot, W. (1995). *Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry*. Journal of pineal research, 18(1): 28-31.
- Dumont, E.R., Elger, A., Azéma, C., Michel, H.C., Surble, S., Larue, C. (2021). *Cutting-edge spectroscopy techniques highlight toxicity mechanisms of copper oxide nanoparticles in the aquatic plant *Myriophyllum spicatum**. Science of The Total Environment, 150001.
- Erland, L.A., Saxena, P.K., Murch, S.J. (2017). *Melatonin in plant signalling and behaviour*. Functional Plant Biology, 45(2): 58-69.
- FAO-FAOSTAT. (2020). *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)*. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- Farooq, M., Irfan, M., Aziz, T., Ahmad, I., Cheema, S.A. (2013). *Seed priming with ascorbic acid improves drought resistance of wheat*. Journal of Agronomy and Crop Science, 199(1): 12-22.
- Feldmann, F., Rutikanga, A. (2021). *Phenological growth stages and BBCH-identification keys of Chilli (*Capsicum annuum* L., *Capsicum chinense* JACQ., *Capsicum baccatum* L.)*. Journal of Plant Diseases and Protection1, 28(2): 549-555.
- Florido Bacallao, M., Bao Fundora, L. (2014). *Tolerancia a estrés por déficit hídrico en tomate (*Solanum lycopersicum* L.)*. Cultivos tropicales, 35(3): 70-88.
- Forcea-A. (2013). *Dualox Scientific+TM*. Medidor de clorofila & polifenoles. Disponible en : <http://shop.gabsystem.com/data/descargas/DUALEX%20SCIENTIFIC+.pdf>
- Gharsallah, C., Fakhfakh, H., Grubb, D., Gorsane, F. (2016). *Effect of salt stress on ion concentration, proline content, antioxidant enzyme activities and gene expression in tomato cultivars*. AoB Plants, 8, plw055.
- Gill, S.S.; Tuteja, N. (2010). *Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants*. Plant Physiol. Biochem., 48: 909-930.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

- Guija-Poma, E., Inocente-Camones, M.Á., Ponce-Pardo, J., Zarzosa-Norabuena, E. (2015). *Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante*. Horizonte Médico, 15(1), 57-60.
- Han, Q.H., Huang, B., Ding, C.B., Zhang, Z.W., Chen, Y.E., Hu, C., ... Yuan, M. (2017). *Effects of melatonin on anti-oxidative systems and photosystem II in cold-stressed rice seedlings*. Frontiers in Plant Science, 8: 785.
- Hernández, I., Alegre, L., Van Breusegem, F., Munné-Bosch, S. (2009). *How relevant are flavonoids as antioxidants in plants?*. Trends in plant science, 14(3): 125-132.
- ISTA. International Seed Testing Association. (2021). *International Rules for Seed Testing 2021. Seed Quality Assurance*. Disponible en: https://www.seedtest.org/en/international-rules-for-seed-testing-_content---1--1083.html
- Jahan, M.S., Guo, S., Baloch, A.R., Sun, J., Shu, S., Wang, Y., ... Roy, R. (2020). *Melatonin alleviates nickel phytotoxicity by improving photosynthesis, secondary metabolism and oxidative stress tolerance in tomato seedlings*. Ecotoxicology and environmental safety, 197: 110593.
- Kadioglu, A., Saruhan, N., Sağlam, A., Terzi, R., Acet, T. (2011). *Exogenous salicylic acid alleviates effects of long term drought stress and delays leaf rolling by inducing antioxidant system*. Plant Growth Regulation, 64(1): 27-37.
- Kaouther, Z., Mariem, B.F., Fardaous, M., Cherif, H. (2012). *Impact of salt stress (NaCl) on growth, chlorophyll content and fluorescence of Tunisian cultivars of chili pepper (*Capsicum frutescens* L.)*. Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 8(4): 236-252.
- Kaya, A., Yigit, E. (2014). *The physiological and biochemical effects of salicylic acid on sunflowers (*Helianthus annuus*) exposed to flurochloridone*. Ecotoxicology and environmental safety, 106: 232-238.
- Kaya, A., Doganlar, Z.B. (2016). *Exogenous jasmonic acid induces stress tolerance in tobacco (*Nicotiana tabacum*) exposed to imazapic*. Ecotoxicology and environmental safety, 124: 470-479.
- Kaya, A., Doganlar, Z.B. (2019). *Melatonin improves the multiple stress tolerance in pepper (*Capsicum annuum*)*. Scientia Horticulturae, 256: 108509.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

- Kenyon, L., Kumar, S., Tsai, W.S., Hughes, J.D.A. (2014). *Virus Diseases of Peppers (Capsicum spp.) and Their Control*. Advances in Virus Research, 90: 297-354.
- Korkmaz, A., Değer, Ö., Szafrńska, K., Köklü, S., Karaca, A., Yakupoğlu, G., Kocaçınar, F. (2021). *Melatonin effects in enhancing chilling stress tolerance of pepper*. Scientia Horticulturae, 289: 110434.
- Kraft, K., Brown, C.H., Nabhan, G.P., Luedelin, E., Ruiz, J.D.J.L., d'Eeckenbrugge, G.C. ... (2014). *Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, Capsicum annuum, in Mexico*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 111(17), 6165-6170.
- Leidi, E.O., Pardo, J.M. (2008). *Bases moleculares de la resistencia a estreses abiótico*. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla. En: La adaptación al ambiente y los estreses abióticos en la mejora vegetal. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 199-230.
- Lerner, A.B., Case, J.D., Takahashi, Y., Lee, T.H., Mori, W. (1958). *Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocyte SI*. Journal of the American Chemical Society, 80(10): 2587-2587.
- Li, P., Li, Y.J., Zhang, F.J., Zhang, G.Z., Jiang, X.Y., Yu, H.M., Hou, B.K. (2017). *The Arabidopsis UDP-glycosyltransferases UGT79B2 and UGT79B3, contribute to cold, salt and drought stress tolerance via modulating anthocyanin accumulation*. The Plant Journal, 89(1): 85-103.
- Li, J., Liu, J., Zhu, T., Zhao, C., Li, L., Chen, M. (2019). *The role of melatonin in salt stress responses*. International journal of molecular sciences, 20(7): 1735.
- Liang, C., Zheng, G., Li, W., Wang, Y., Hu, B., Wang, H., ... Chu, C. (2015). *Melatonin delays leaf senescence and enhances salt stress tolerance in rice*. Journal of pineal research, 59(1): 91-101.
- López-Serrano, L., Canet-Sanchis, G., Selak, G.V., Penella, C., San Bautista, A., López-Galarza, S., Calatayud, Á. (2020). *Physiological characterization of a pepper hybrid rootstock designed to cope with salinity stress*. Plant Physiology and Biochemistry, 148: 207-219.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

- Lozano, G., Moriones, E., Navas-Castillo, J. (2007). *First Report of Sweet Pepper (*Capsicum annuum*) as a Natural Host Plant for Tomato chlorosis virus*. Plant Disease, 88(2): 224-224.
- Maathuis, F.J., Ahmad, I., Patishtan, J. (2014). *Regulation of Na⁺ fluxes in plants*. Frontiers in plant science, 5: 467.
- Marschner, H. (2011). *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. New York: Academic.
- MAPAMA. (2020). *Mercados agrícolas y ganaderos; Hortícolas; Pimiento*. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/estadisticas/mercados_agricolas_ganaderos.aspx
- Mosa, K.A., El-Naggar, M., Ramamoorthy, K., Alawadhi, H., Elnaggar, A., Wartanian, S., ... Hani, H. (2018). *Copper nanoparticles induced genotoxicity, oxidative stress, and changes in superoxide dismutase (SOD) gene expression in cucumber (*Cucumis sativus*) plants*. Frontiers in plant science, 9: 872.
- Mouradov, A., Spangenberg, G. (2014). *Flavonoids: a metabolic network mediating plants adaptation to their real estate*. Frontiers in plant science, 5: 620.
- Nakabayashi, R., Yonekura-Sakakibara, K., Urano, K., Suzuki, M., Yamada, Y., Nishizawa, T. *et al.* (2014). *Enhancement of oxidative and drought tolerance in Arabidopsis by overaccumulation of antioxidant flavonoids*. Plant J., 77: 367–379.
- Nawaz, M.A., Huang, Y., Bie, Z., Ahmed, W., Reiter, R.J., Niu, M., Hameed, S. (2016). *Melatonin: Current Status and Future Perspectives in Plant Science*. Frontiers in Plant Science, 6: 1230.
- Orús, A. *Volumen de pimientos exportados desde España a los distintos países de la Unión Europea en 2020, por país(en toneladas)*. Obtenido de Statista: <https://es.statista.com/estadisticas/507383/exportaciones-de-pimientos-en-espana-por-pais-de-destino/>. Consultado el 4 de Marzo de 2021.
- Padilla, Y.G., Gisbert-Mullor, R., López-Serrano, L., López-Galarza, S., Calatayud, Á. (2021). *Grafting enhances pepper water stress tolerance by improving photosynthesis and antioxidant defense systems*. Antioxidants, 10(4): 576.

- Pardo, J.M. (2010). *Biotechnology of water and salinity stress tolerance*. Current Opinion in Biotechnology, 21(2): 185-196.
- Pardo-Hernández, M., López-Delacalle, M., Rivero, R.M. (2020). *ROS and NO regulation by melatonin under abiotic stress in plants*. Antioxidants, 9(11): 1078.
- Parisi, M., Alioto, D., Tripodi, P. (2020). *Overview of Biotic Stresses in Pepper (*Capsicum spp.*): Sources of Genetic Resistance, Molecular Breeding and Genomics*. International journal of molecular sciences, 21(7): 2587.
- Penella Casañ, C. (2015). *Screening pepper genotypes to obtain tolerant rootstocks to salt and water stress: physiological and agronomical responses of the grafted plants*. Doctoral dissertation. Universitat Politècnica de València. 269 pp.
- Penella, C., San Bautista, A., López Galarza, S., Calatayud, Á. (2016). *El injerto en pimiento como estrategia para hacer frente a estreses abióticos*. Vida Rural, 409: 68-71.
- Pereira-Dias, L., Fita, A., Vilanova, S., Sánchez-López, E., Rodríguez-Burruezo, A. (2020). *Phenomics of elite heirlooms of peppers (*Capsicum annuum* L.) from the Spanish centre of diversity: Conventional and high-throughput digital tools towards varietal typification*. Scientia Horticulturae, 265: 109245.
- Pérez-Labrada, F., López-Vargas, E.R., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A., Juárez-Maldonado, A. (2019). *Responses of tomato plants under saline stress to foliar application of copper nanoparticles*. Plants, 8(6): 151.
- Phimchan, P., Techawongstien, S., Chanthai, S., Bosland, P.W. (2012). *Impact of drought stress on the accumulation of capsaicinoids in *Capsicum* cultivars with different initial capsaicinoid levels*. HortScience, 47(9): 1204-1209.
- Posmyk, M.M., Kuran, H., Marciniak, K., Janas, K.M. (2008). *Presowing seed treatment with melatonin protects red cabbage seedlings against toxic copper ion concentrations*. Journal of pineal research, 45(1): 24-31.
- Rejeb, K.B., Abdelly, C., Savouré, A. (2014). *How reactive oxygen species and proline face stress together*. Plant Physiology and Biochemistry, 80: 278-284.
- Restrepo, H., Gómez, M.I., Garzón, A., Manrique, L., Alzate, F., López, J., Rodríguez, A. (2013). *Biochemical response of maize (*Zea mays* L.) seedlings to different*

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

- conditions of nighttime temperatures*. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas, 7(2): 252-262.
- Reyes, A.J., Álvarez-Herrera, J.G., Fernández, J.P. (2013). *Role of calcium in stomatal opening and closing and their interactions with compatible solutes. A review*. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas, 7(1): 111-122.
- Ricardez-Miranda, L.E., Lagunes-Espinoza, L.C., Hernández-Nataren, E., Palma-López, D.J., Conde-Martínez, F.V. (2021). *Water restriction during the vegetative and reproductive stages of Capsicum annuum var. glabriusculum, and its effect on growth, secondary metabolites and fruit yield*. Scientia Horticulturae, 285: 110129.
- Rodríguez, M., Canales, E., Borrás-Hidalgo, O. (2005). *Molecular aspects of abiotic stress in plants*. Biotecnología Aplicada, 22(1); 1-10.
- Rodríguez Buitrón, R. (2015). *Respuesta de cultivares de patata a la salinidad y potencial efecto protector del metil jasmonato frente al estrés salino*. Tesis Doctoral. Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agrària. Departament d'Hortofructicultura, Botànica i Jardineria. Universitat de Lleida. 221 pp.
- Ruiz, N., Medina, F. (2011). *Water Deficit Affects the Accumulation of Capsaicinoids in Fruits of Capsicum chinense Jacq*. HortScience, 46(3): 487-492.
- SNAVM. (2012). *Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de Plagas*. Obtenido de *Capsicum annuum*. Disponible en: <https://www.sinavimo.gob.ar/cultivo/capsicum-annuum>
- Sun, C., Liu, L., Wang, L., Li, B., Jin, C., Lin, X. (2021). *Melatonin: A master regulator of plant development and stress responses*. Journal of Integrative Plant Biology, 63(1): 126-145.
- Suzuki, N., Rivero, R.M., Shulaev, V., Blumwald, E., Mittler, R. (2014). *Abiotic and biotic stress combinations*. New Phytologist, 203(1): 32-43.
- Tamura, T., Hara, K., Yamaguchi, Y., Koizumi, N., Sano, H. (2003). *Osmotic stress tolerance of transgenic tobacco expressing a gene encoding a membrane-located receptor-like protein from tobacco plants*. Plant Physiol., 131: 454-462.
- Xu, Z., Mahmood, K., Rothstein, S.J. (2017). *ROS induces anthocyanin production via late biosynthetic genes and anthocyanin deficiency confers the hypersensitivity to ROS-generating stresses in Arabidopsis*. Plant and Cell Physiology, 58(8): 1364-1377.

Efecto de la melatonina exógena sobre la germinación y crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum*) bajo estrés salino

Ye, J., Yang, W., Li, Y., Wang, S., Yin, L., Deng, X. (2020). *Seed pre-soaking with melatonin improves wheat yield by delaying leaf senescence and promoting root development*. *Agronomy*, 10(1): 84.

Zhang, N., Sun, Q., Zhang, H., Cao, Y., Weeda, S., Ren, S., Guo, Y.D. (2015). *Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants*. *Journal of experimental botany*, 66(3): 647-656.