



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

TESIS DOCTORAL

TÍTULO DEL PROYECTO DE TESIS DOCTORAL

***Heterotheca inuloides* como bioestimulante en el crecimiento y
calidad de frutillas en condiciones de estrés salino**

Para obtener el grado de
Doctora en Ciencias Agropecuarias

PRESENTA

M. en C. Aracely Hernández Pérez

Directora

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

Codirector

Dr. José Manuel Pinedo Espinoza

Asesores

Dr. Antonio Juárez Maldonado

Dr. César Uriel López Palestina

Tulancingo de Bravo, Hgo., México., agosto de 2026



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Agropecuarias

Institute of Agricultural Sciences

Área Académica de Ingeniería Agroindustrial e Ingeniería en Alimentos

Academic Area of Agroindustrial engineering and Food Engineering

Asunto: Autorización de impresión.

Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado

Directora de Administración Escolar

Presente.

El Comité Tutorial de la **TESIS** del programa educativo de posgrado titulado **"Heterotheca inuloides como bioestimulante en el crecimiento y calidad de frutillas en condiciones de estrés salino"**, realizado por la sustentante **Aracely Hernández Pérez** con número de cuenta **102169**, perteneciente al programa de **Doctorado en Ciencias Agropecuarias**, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 110 del Reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Por lo que la sustentante deberá cumplir los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

Atentamente

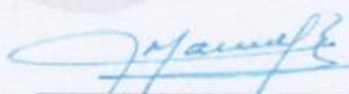
"Amor, Orden y Progreso"

Santiago Tulantepec de Lugo Guerrero, Hidalgo a 9 de junio de 2026

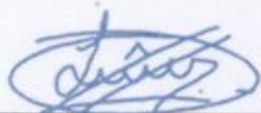
El Comité Tutorial



**Dra. Alma Delia
Hernández Fuentes**

**Dr. José Manuel Pinedo
Espinoza**



**Dr. Antonio Juárez
Maldonado**



**Dr. César Uriel López
Palestina**

"Amor, Orden y Progreso"



Av. Universidad No. 135, Col. San Miguel Huatengo, Santiago
Tulantepec. C.P. 42775. Hidalgo, Mexico.
Teléfono: 7717172000 Ext. 42021
ricardo_navarro@uaeh.edu.mx

uaeh.edu.mx

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT-CVU/becario: 285156) por la beca otorgada para realizar los estudios de Doctorado en Ciencias Agropecuarias en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, inscrito en el Programa Nacional de Posgrado de Calidad (PNPC).

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes, por darme la oportunidad de realizar este trabajo bajo su dirección, por su apoyo y disposición, por permitirme formar parte de su equipo de trabajo, por la ayuda y sabiduría que me ha transmitido.

Dr. Antonio Juárez Maldonado, por el interés mostrado y estar al pendiente de la culminación de este trabajo. Sus aportaciones a esta tesis han sido de mucha importancia.

Dr. José Manuel Pinedo Espinoza, por sus conocimientos y recomendaciones a este proyecto de investigación.

Dr. César Uriel López Palestina, cuyas observaciones y constructivos comentarios han sido cruciales para la consolidación de este trabajo.

Ha sido un honor y un privilegio aprender bajo su tutela.

Agradezco también a la Dra. Yolanda González García, Dr. Zeus Pinedo Guerrero, Dr. Sergio Soto Pimentel, Dra. Iridiam Hernández Soto, Dra. Anay Montaña Herrera y al M. en C. César Andrés Cabrera López por sus aportaciones a este trabajo, han sido de mucha ayuda.

DEDICATORIA

DIOS gracias por tu amor y misericordia.

A ti **ANA JULIETA**, por ser la fuente de mi esfuerzo y ser la principal motivación para nunca rendirme ante los retos de la vida.

A ti **FLORA**, por ser el pilar más importante, por demostrarme siempre tu cariño y apoyo incondicional sin importar nuestras diferencias de opinión.

De manera muy especial a ti **KIKA**, mi admiración siempre, besos al cielo. Te extraño todo el tiempo.

A ti **CARMEN, VALE Y ROMIS**, por ser y estar siempre.

A ti **SEVERO**, que desde el cielo me iluminas para seguir con mis proyectos.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	IV
ÍNDICE DE CUADROS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
RESUMEN GENERAL	1
SUMMARY	2
INTRODUCCIÓN GENERAL	3
OBJETIVOS	5
Objetivo general	5
Objetivos específicos	5
HIPÓTESIS	5
JUSTIFICACIÓN	6
CAPÍTULO I	7
REVISION DE LITERATURA: EXTRACTOS VEGETALES COMO BIOESTIMULANTES EN CULTIVOS BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS SALINO	7
RESUMEN	7
1. INTRODUCCION	8
1.1 Bioestimulación	9
1.1.1 Bioestimulantes	11
1.2 Extractos botánicos	11
1.2.1 Extractos botánicos con acción bioestimulante	13
1.2.2 Modo de aplicación de los extractos de plantas	15
1.3 Salinización del suelo	15
1.3.1 Estrés salino en cultivos agrícolas	17
1.3.2 Cambios morfológicos de cultivos bajo estrés salino	19
1.3.3 Cambios fisiológicos de cultivos bajo estrés salino	20
1.3.4 Cambios moleculares de cultivos bajo estrés salino	21
1.3.5 Adaptación de los cultivos al estrés salino	22
1.4 Aplicación de extractos vegetales en cultivos bajo estrés salino	23
2. CONCLUSIONES	26
3. REFERENCIAS	27

CAPÍTULO II.....	37
EXTRACTO DE <i>Heterotheca inuloides</i> Cass. COMO BIOESTIMULANTE DEL CRECIMIENTO Y CALIDAD DE FRAMBUESA (<i>Rubus idaeus</i> L.) EN CONDICIONES DE ESTRÉS SALINO.....	37
RESUMEN	37
1. INTRODUCCIÓN	38
2. MATERIALES Y MÉTODOS	39
2.1 Material vegetal.....	39
2.2 Preparación del extracto de árnica	40
2.3 Caracterización del extracto de árnica	40
2.3.1 Fenoles totales	40
2.3.2 Flavonoides	40
2.3.3 Actividad antioxidante por DPPH y ABTS	41
2.4 Establecimiento del cultivo	41
2.5 Preparación del extracto de árnica	42
2.6 Diseño de tratamientos	42
2.7 Manejo del cultivo	42
2.8 Variables de estudio.....	43
2.8.1 Variables agronómicas.....	43
2.8.2 Variables fisicoquímicas.....	43
2.9 Variables antioxidantes	44
2.9.1 Antocianinas	44
2.9.2 Vitamina C	44
2.10 Azúcares totales, azúcares reductores y azúcares no reductores	44
2.11 Actividad antioxidante enzimática	45
2.12 Marcadores de estrés	46
2.13 Prolina.....	46
2.14 Análisis Estadístico.	47
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
3.1 Extracto de árnica	47
3.2 Morfología.....	48
3.3 Variables agronómicas.....	49
3.4 Variables fisicoquímicas de los frutos.....	51

3.5 Compuestos bioactivos de los frutos	54
3.6 Capacidad antioxidante.....	56
3.7 Azúcares totales, azúcares reductores y azúcares no reductores	57
3.8 Compuestos enzimáticos antioxidantes	59
3.9 Marcadores de estrés	61
3.10 Prolina.....	62
4. CONCLUSIONES.....	63
5. REFERENCIAS.....	64
CAPÍTULO III.....	72
APLICACIÓN FOLIAR DE EXTRACTO DE <i>Heterotheca inuloides</i> Cass. COMO MODULADOR FISIOLÓGICO, ANTIOXIDANTE Y DE LA CALIDAD DEL FRUTO EN FRESA (<i>Fragaria x ananassa</i> Duchesne ex Rozier) BAJO ESTRÉS SALINO	72
RESUMEN	72
1. INTRODUCCIÓN	73
2. MATERIALES Y MÉTODOS	75
2.1 Establecimiento del cultivo	75
2.2 Obtención de la muestra vegetal y preparación de la solución de extracto de árnica.....	75
2.3 Diseño y aplicación de los tratamientos	76
2.4 Variables de estudio.....	76
2.4.1 Variables agronómicas y calidad postcosecha.....	76
2.5 Compuestos no enzimáticos y actividad antioxidante.....	78
2.6 Actividad antioxidante enzimática	80
2.6.1 Actividad de la superóxido dismutasa (SOD; EC 1.15.1.1).....	80
2.6.2 Actividad de la catalasa (CAT; EC 1.11.1.6)	81
2.6.3 Actividad del ascorbato peroxidasa (APx; EC 1.11.1.11)	81
2.6.4 Actividad del guayacol peroxidasa (POD; EC 1.11.1.7)	81
2.6.5 Actividad de la polifenoloxidasas (PPOs; E.C. 1.14.18.1 y E.C. 1.10.3.1).....	82
2.7 Biomarcadores de estrés	82
2.7.1 Peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂).....	82
2.7.2 Concentración de malondialdehído (MDA).....	82
2.8 Análisis Estadístico	83
3. RESULTADOS	83

3.1 Variables agronómicas y calidad postcosecha	83
3.2 Compuestos no enzimáticos y actividad antioxidante.....	91
3.3 Compuestos enzimáticos	94
3.4 Biomarcadores de estrés	94
4. DISCUSIONES	95
5. CONCLUSIONES.....	101
5. REFERENCIAS.....	102
ANEXOS	109

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Capítulo I	7
Cuadro 1 Efectos de salinidad del suelo en el crecimiento de los cultivos y su potencial de rendimiento.....	18
Cuadro 2. Efecto del extracto vegetales en cultivos bajo estrés salino.....	23
Capítulo II	37
Cuadro 1. Rendimiento, fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante (ABTS y DPPH) del extracto etanólico al 80% de <i>Heterotheca inuloides</i>	47
Cuadro 2. Color (L*, °Hue, Croma) de frutos de plantas de frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>) bajo condiciones de estrés salino (NaCl) y aplicación de extracto de árnica (<i>Heterotheca inuloides</i>).....	53
Capítulo III	72
Cuadro 1. Color de los frutos de plantas de fresa de la variedad Camino Real bajo condiciones de estrés salino y con la aplicación de un extracto de árnica.....	91
Cuadro 2. Actividad enzimática en frutos de plantas de fresa de la variedad Camino Real bajo condiciones de estrés salino y con la aplicación de un extracto de árnica.....	94
Cuadro 3. Biomarcadores de estrés en frutos de plantas de fresa de la variedad Camino Real bajo condiciones de estrés salino y con la aplicación de un extracto de árnica.....	95

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO II	37
Figura 1. Apariencia morfológica de plantas de frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>) tratadas con extracto de árnica (<i>Heterotheca inuloides</i>) y sometida a estrés salino (NaCl).....	48
Figura 2. Variables agronómicas de los frutos de frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>) tratadas con extracto de árnica (<i>Heterotheca inuloides</i>) y sometidos a estrés salino (NaCl).....	50
Figura 3. Características fisicoquímicas de los frutos de frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>) tratadas con extracto de árnica (<i>Heterotheca inuloides</i>) y sometidos a estrés salino (NaCl).....	52
Figura 4. Fenoles totales, flavonoides totales, antocianinas y ácido ascórbico de los frutos de frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>) tratadas con extracto de árnica (<i>Heterotheca inuloides</i>) y sometidos a estrés salino (NaCl).....	55
Figura 5. Antioxidante por ABTS (lipofílicos-hidrofílicos) y DPPH (hidrofílicos) de los frutos de frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>) tratadas con extracto de árnica (<i>Heterotheca inuloides</i>) y sometidos a estrés salino (NaCl).....	57
Figura 6. Azúcares totales, azúcares reductores y azúcares no reductores de frutos de frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>) tratadas con extracto de árnica (<i>Heterotheca inuloides</i>) y sometidos a estrés salino (NaCl).....	58
Figura 7. Actividad antioxidante enzimática por SOD (superóxido dismutasa), CAT (catalasa), POD (peroxidasa) y APX (ascorbato peroxidasa) de frutos de frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>) tratadas con extracto de árnica	

(<i>Heterotheca inuloides</i>) y sometido a estrés salino (NaCl).....	60
---	----

Figura 8. Marcadores de estrés por polifenol oxidasa (PPO), peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂) y peroxidación lipídica (MDA) de frutos de frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>) tratadas con extracto de árnica (<i>Heterotheca inuloides</i>) y sometido a estrés salino (NaCl).....	62
---	----

Figura 9. Prolina de frutos de frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>) tratadas con extracto de árnica (<i>Heterotheca inuloides</i>) y sometido a estrés salino (NaCl).....	63
--	----

CAPÍTULO III	72
---------------------------	----

Figura 1. Peso fresco y seco de las diferentes partes de la planta de fresa	86
--	----

Figura 2. Efectos fenotípicos de plantas de fresa bajo condiciones de estrés salino y con la aplicación de extracto de árnica tras la primera aplicación del tratamiento correspondiente.....	87
---	----

Figura 3. Calidad postcosecha en frutos de fresa	88
--	----

Figura 4. Efectos de la salinidad y la aplicación de extracto sobre la composición química de frutos de fresa	90
---	----

Figura 5. Efectos de la salinidad y la aplicación de extracto sobre compuestos no enzimáticos y capacidad antioxidante.....	93
---	----

RESUMEN GENERAL

México es un líder mundial en la producción y exportación de frutillas, con una producción estimada de 190, 411.55 t para frambuesa y 73, 561,494.00 t para fresa para el 2023. Estos frutos contienen polifenoles, vitaminas y minerales componentes con gran aporte nutrimental. Por lo tanto, el consumo de estas frutillas ayuda a prevenir diversas enfermedades crónico degenerativas, sin embargo, estos cultivos son muy sensibles a la salinidad del suelo, la cual genera un daño a las plantas, ante esta grave problemática, está el uso de extractos de plantas como una alternativa para mitigar el daño por salinidad, debido a que son ricos en metabolitos secundarios que son encargados de regular el metabolismo redox promoviendo así el crecimiento y rendimiento de los cultivos. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del extracto de árnica (*Heterotheca inuloides*) como promotor de crecimiento y calidad de frambuesa y fresa en condiciones de estrés salino. Para frambuesa se tuvieron cinco tratamientos: 0mM+0EXHi; 30mM+EXHi; 50mM+EXHi; 80mM+EXHi y 0mM+EXHi. Para fresa se tuvieron seis tratamientos 0mM+0ppmEXHi; 0mM+1000ppmEXHi; 0mM+2000ppmEXHi; 50mM+0ppmEXHi; 50mM+1000ppmEXHi y 50mM+2000ppmEXHi. Para el cultivo de las frambuesas se incrementó altura de la planta, diámetro del tallo, tamaño de fruto, peso de fruto y rendimiento de frutos, con la aplicación de extracto de árnica y sin aplicación de NaCl; en plantas sometidas a estrés salino y aplicación de extracto de árnica se incrementó el contenido de fenoles totales, flavonoides, actividad antioxidante, azúcares totales, así como, la actividad de superóxido dismutasa y peroxidasa. Para el cultivo de las fresas se observó un aumento significativo del peso fresco y peso seco de hojas, peciolo, corona y raíz con aplicación del extracto de árnica y sin NaCl; en plantas sometidas a estrés salino y aplicación de extracto de árnica se incrementó el contenido de fenoles totales, flavonoides, actividad antioxidante, azúcares totales, así como, la actividad de superóxido dismutasa, ascorbato peroxidasa y peroxidasa. La salinidad alteró los procesos fisiológicos y fisicoquímicos en plantas de frambuesa y fresa, frente a esta condición, el extracto de *H. inuloides* favoreció la acumulación de metabolitos secundarios y activo mecanismos antioxidantes

SUMMARY

Mexico is a world leader in the production and export of berries, with an estimated production of 190,411.55 metric tons of raspberries and 73,561,494.00 metric tons of strawberries by 2023. These fruits contain polyphenols, vitamins, and minerals, which provide significant nutritional benefits. Therefore, consuming these berries helps prevent various chronic degenerative diseases; however, these crops are highly sensitive to soil salinity, which causes damage to the plants. In response to this serious problem, the use of plant extracts is being explored as an alternative to mitigate salinity damage, as they are rich in secondary metabolites responsible for regulating redox metabolism, thereby promoting crop growth and yield. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of arnica extract (*Heterotheca inuloides*) as a promoter of growth and quality in raspberries and strawberries under saline stress conditions. For raspberries, five treatments were used: 0 mM + 0 EXHi; 30 mM + EXHi; 50 mM + EXHi; 80 mM + EXHi; and 0 mM + EXHi. For strawberries, six treatments were used: 0 mM + 0 ppm EXHi; 0 mM + 1000 ppm EXHi; 0 mM + 2000 ppm EXHi; 50 mM + 0 ppm EXHi; 50 mM + 1000 ppm EXHi; and 50 mM + 2000 ppm EXHi. For raspberry cultivation, plant height, stem diameter, fruit size, fruit weight, and fruit yield increased with the application of arnica extract and without the application of NaCl; in plants subjected to salt stress and treated with arnica extract, the content of total phenols, flavonoids, antioxidant activity, total sugars, as well as superoxide dismutase and peroxidase activity, increased. For strawberry cultivation, a significant increase in the fresh and dry weight of leaves, petioles, crowns, and roots was observed with the application of arnica extract and without NaCl; in plants subjected to salt stress and treated with arnica extract, the content of total phenols, flavonoids, antioxidant activity, and total sugars increased, as did the activity of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and peroxidase. Salinity altered physiological and physicochemical processes in raspberry and strawberry plants; in response to this condition, *H. inuloides* extract promoted the accumulation of secondary metabolites and activated antioxidant mechanisms.

INTRODUCCIÓN GENERAL

México es líder mundial en la producción de frutillas (González-Ramírez et al., 2020), con una producción anual de 219,000 t de frambuesa y 73,561,494.00 t para fresa (SIAP, 2025). En cuanto a la fresa, existen más de 20 especies y 600 variedades diferentes, se caracteriza por altos niveles de vitamina C y folatos, así como minerales y compuestos polifenólicos de tipo antocianinas y taninos (Schulz y Chim, 2019). Por otro lado, la frambuesa incluye 429 especies (Shoukat et al., 2022), es apreciada por su alto contenido de vitaminas, minerales, fibra soluble, azúcares, ácido cítrico y compuestos fenólicos, como antocianinas y ácido elágico (Bezerra et al., 2024). Estas sustancias bioactivas estimulan las defensas antioxidantes, neutralizan los radicales libres, suministrar la expresión de genes, por lo tanto, brinda protección contra el daño de estrés oxidativo (Pereira et al., 2025). Por consiguiente, el consumo de estas frutillas rojas brinda efectos protectores contra enfermedades de tipo cardiovascular, cáncer, Alzheimer, diabetes y depresión (Bezerra et al., 2024).

Actualmente la salinidad en el suelo es uno de los problemas globales que afecta gravemente la productividad agrícola (Alkharabsheh et al., 2021). Las frutillas muestran una baja tolerancia a la salinidad, es decir concentraciones por arriba de 1 dS m^{-1} para fresa (Passa et al., 2026) y de $1,0$ a $1,5 \text{ dS m}^{-1}$ para frambuesa (Neocleous y Vasilakakis 2007) desencadenan estrés iónico y osmótico (Zahedi et al., 2019), además, desnaturalizar proteínas y ácidos nucleicos, induce la peroxidación lipídica y aumenta las especies reactivas de oxígeno (ROS)(Behera et al., 2022), provocando una reducción en el crecimiento y rendimiento de los cultivos (Zahedi et al., 2019).

Para contrarrestar el daño a los cultivos por sal, se han empleado fertilizantes químicos (Mohanavelu et al, 2021), sin embargo, el uso constante ha provocado contaminación ambiental y una reducción en la calidad de los alimentos (Beyk-Khormizi et al., 2023). Por lo tanto, es importante emplear productos ecológicos y eficientes para contrarrestar los daños por salinidad en los cultivos. Los bioestimulantes hechos a base de extractos vegetales son una solución económica y ecológica para mejorar la productividad de los

cultivos frente al estrés salino y con ello reducir el uso de fertilizantes químicos (Pereira et al., 2025). Esto se debe a que presenta metabolitos de tipo fenólico, vitaminas, fitohormonas, que se encargan de modular las reacciones celulares y procesos fisiológicos aminorando los efectos del estrés salino sobre los cultivos (Martínez-Lorente et al., 2024). *Heterotheca inuloides* Cass. es una planta que crece en México, tiene compuestos fitoquímicos como el kaempferol, quercetina, catequina, luteolina, guayacol, ácido elágico, fenol, ácido cafeico, ácido vainílico, ácido gálico, entre otros, que son de interés bioestimulante (Rodríguez-Chávez et al., 2017).

Diversos estudios han demostrado la eficacia del uso de extractos vegetales contra la salinidad en cultivos (Ahmad et al., 2022). Latif y Mohamed (2016) reportan que el extracto de *Moringa oleifera* Lam. mejoró los parámetros morfológicos y fisiológicos de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). ElSayed et al. (2022) observaron que el extracto de *Cupressus macrocarpa* Hartw. ex Gord. aumentó las enzimas antioxidantes, contenido de AsA, GSH y prolina, en plantas de calabaza (*Cucurbita pepo* L.). Aboualhamed y Loutfy (2020) reportaron que los extractos de *Ocimum basilicum* L. mejoró la actividad enzimática antioxidante de peroxidación lipídica en plantas de haba (*Vicia faba* L.). Mahmoudand y Dahab (2018) evaluaron el efecto del extracto de *Rosmarinus officinalis* L. en plántulas de manzano (*Malus domestica* L.) y observaron un incremento de fenoles y azúcares solubles totales. Abdelhamid et al. (2024) demostraron que al aplicar extracto de *Vitex agnus-castus* L. en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) aumentó el crecimiento de las plantas y el contenido de pigmentos fotosintéticos, la actividad de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD) y la glutatión peroxidasa (GPX).

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto del extracto de árnica (*Heterotheca inuloides*) como promotor de crecimiento y calidad de frutillas (frambuesa y fresa) en condiciones de estrés salino.

Objetivos específicos

- Obtener el extracto de árnica (*Heterotheca inuloides*) por maceración usando disolventes polares (etanol 80 %).
- Cuantificar los compuestos antioxidantes presentes en los extractos de árnica (*Heterotheca inuloides*).
- Determinar la capacidad antioxidante del extracto de árnica (*Heterotheca inuloides*).
- Evaluar el grado de tolerancia de las plantas de frambuesa (*Rubus idaeus*) y fresa (*Fragaria x ananassa*) a diferentes concentraciones de NaCl.
- Determinar las variables agronómicas y fisicoquímicas de los frutos de frambuesa y fresa.
- Evaluar el efecto del extracto de árnica y salinidad sobre el sistema antioxidante enzimático y no enzimático de frutos de frambuesa y fresa.

HIPÓTESIS

La aplicación del bioestimulante hecho a base de extracto árnica (*Heterotheca inuloides*) promueve el crecimiento vegetativo y la calidad de los frutos de frambuesa (*Rubus idaeus*) y fresa (*Fragaria x ananassa*) en condiciones de estrés salino.

JUSTIFICACIÓN

La frambuesa y fresa son frutos apreciados por el aporte de compuestos polifenólicos (antocianinas, flavonoles, flavonas), taninos, flavonoides, vitaminas y minerales, por lo que se ha generado una alta demanda del consumo de estos frutos (Schulz y Chim, 2019) en Europa y América del Norte (Bojkovska et al., 2021). Estos compuestos presentan propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas, antivascuales y neurodegenerativas (Aguilar et al., 2023). Sin embargo, uno de los factores que limitan el desarrollo y producción de estas frutillas es la presencia de una elevada concentración de sales solubles en el suelo, lo que repercute negativamente en la productividad agrícola y la salud del suelo. ya que induce daño a la membrana, ocasionando una fuga de sustancias que causan desequilibrios hídricos y plasmólisis, alteración en las especies reactivas de oxígeno (ROS), cambios en el flujo y la dinámica de nutrientes que conducen al daño celular (Behera et al., 2022). Como una alternativa al problema de salinidad, surge el uso de bioestimulantes a base de extractos vegetales. Se ha observado que los metabolitos secundarios de tipo fenólico (ácido gálico, ácido ferúlico, ácido vainílico), fitohormonas (ácido indolacético, brasinoesteroides, metil-jasmonato) de plantas han mostrado actividades bioestimulantes al mitigar el estrés por salinidad (Ben Mrid et al., 2021). Al respecto, se menciona que el mecanismo de acción específico de los extractos botánicos como bioestimulantes podría relacionarse con la disponibilidad de compuestos bioactivos como los compuestos fenólicos, compuestos osmoprotectores, antioxidantes, vitaminas y fitohormonas, compuestos que se reportan en árnica (*Heterotheca inuloides*) (Rodríguez-Chávez et al., 2017). Esta planta crece abundantemente en México, se emplea tradicionalmente entre la población con fines medicinales, como antiinflamatorio, analgésico y ulcerogénico (Hernández-Caracheo et al., 2023).

CAPÍTULO I

REVISION DE LITERATURA: EXTRACTOS VEGETALES COMO BIOESTIMULANTES EN CULTIVOS BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS SALINO

RESUMEN

La salinidad ha impactado a los suelos agrícolas, esto es un problema global que ha afectado a 950 millones de hectáreas a nivel mundial, por lo que, es un desafío del campo agrícola, ya que, limita la producción de cultivos y con ello afecta la seguridad alimentaria. La salinidad induce estrés iónico, osmótico y oxidativo, afectando procesos metabólicos, fisiológicos y anatómicos de la planta. Una de las estrategias para mitigar el estrés salino es el uso de los extractos vegetales, los cuales son ricos en compuestos bioactivos como flavonoides, fitohormonas, vitaminas, minerales. Estos compuestos se sintetizan para modular respuestas adaptativas al estrés salino como la activación de genes de defensa que conduce a la tolerancia de la planta al estrés salino, mejora la absorción y asimilación de nutrientes en los cultivos, también se genera un aumento en la actividad enzimática antioxidante SOD, POD, CAT, APX y antioxidantes no enzimáticos como fenoles, flavonoides, carotenoides y ascorbato, por lo que se ve favorecido el rendimiento y calidad en los cultivos. En esta revisión, se discute el impacto de la aplicación de los extractos vegetales en la productividad y calidad de cultivos alimentarios bajo estrés salino.

PALABRAS CLAVE: Agricultura sostenible; seguridad alimentaria; extractos vegetales; salinización; metabolitos secundarios y rendimiento.

1. INTRODUCCION

En la actualidad, el sector agrícola enfrenta múltiples desafíos para seguir alimentando a la población humana que se incrementa rápidamente (Jayanthi et al., 2025). La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) informó que la salinidad del suelo, de origen antropogénico (malas prácticas de riego) y origen natural (escasez de lluvia) (Tomaz et al., 2020), representa una amenaza para la productividad y la sostenibilidad de la agricultura (Jayanthi et al., 2025), ya que, es un factor ambiental que afecta a 950 millones de hectáreas a nivel mundial (Liang et al., 2024). Este problema se está agravando, especialmente en tierras agrícolas con riego intensivo (Jayanthi et al., 2025) de aguas contaminadas y uso de fertilizantes químicos (Singh 2022). Los altos niveles de cloruro de sodio, sulfatos de sodio, calcio y magnesio, junto con el carbonato y bicarbonato de sodio (Srivastava et al., 2019) presentes en el suelo o en el medio nutritivo afectan los procesos fisiológicos, bioquímicos y genéticos de las plantas, pero también el rendimiento y la calidad del fruto (Naeem et al., 2020). Bajo condiciones de salinidad, las plantas tienen dos fases de respuesta: la primera es la denominada fase rápida que es el déficit de agua, mientras que la segunda es la acumulación de sal y toxicidad denominada la fase lenta (Machado y Serralheiro, 2017). En ambas fases disminuye la transpiración, conductancia estomática y disponibilidad de CO₂, lo que altera el proceso fotosintético, la respiración, y fijación de nitrógeno, lo que conduce a una reducción del rendimiento de los cultivos (Alkharabsheh et al., 2021). Las pérdidas económicas globales debidas a la salinización del suelo superan los 27 mil millones de dólares al año (Singh 2022).

Se han empleado algunas estrategias para contrarrestar el daño a los cultivos alimentarios por salinidad entre ellas, el uso de fertilizantes químicos (Mohanavelu et al, 2021). Sin embargo, el uso indiscriminado y concentraciones elevadas provocan efectos negativos en la calidad de los alimentos y deterioro ambiental (Beyk-Khormizi et al., 2023). Por lo tanto, es importante emplear productos ecológicos y eficientes para contrarrestar los daños por salinidad en los cultivos. Los bioestimulantes hechos a base

de extractos vegetales es una solución óptima para mejorar la productividad de los cultivos frente al estrés salino (Bulgari et al., 2019). Debido a que, contienen metabolitos secundarios que estimulan a la planta a un mejor ajuste osmótico y activación de enzimas antioxidantes que neutralizan los radicales libres de plantas bajo estrés salino (Han et al., 2024).

Los extractos vegetales contienen altas concentraciones de compuestos bioactivos, (Garza-Alonso et al., 2022). El ácido gálico, ácido salicílico, ácido ferúlico, ácido cafeico, ácido ascórbico, brasinoesteroides, ácido abscísico (Zhang et al., 2024), son de interés bioestimulante ya que, se sintetizan para modular respuestas adaptativas al estrés salino (Godínez-Mendoza et al., 2023). Entre ellas, el aumento de pigmentos fotosintéticos, intercambio gaseoso y compartimentación iónica para una mejor aclimatación (Ahmad et al., 2022). Se activan genes de defensa como *Nax1*, *Nax2*, *HKT* que conduce a la tolerancia de la planta al estrés salino (Saini et al., 2024). También, se mejora la absorción y asimilación de nutrientes como N, P, K, Fe, Zn y Mn en cultivos (Ahmad et al., 2022). Así mismo, se genera un aumento en la actividad enzimática antioxidante (SOD, POD, CAT, APx) y antioxidantes no enzimáticos (fenoles, flavonoides, ácido ascórbico) (Ahmad y Anjum 2020).

Por lo anterior, esta revisión, tiene como objetivo presentar información sobre el impacto del uso de extractos vegetales en cultivos alimentarios bajo condiciones de estrés salino.

1.1 Bioestimulación

La bioestimulación es un proceso que depende de la interacción entre los genotipos de las plantas y los estímulos ambientales (estresores), físicos, químicos y biológicos externos (González-Morales et al., 2021). Después de la acción de un agente ambiental bioestimulante ocurre una secuencia de procesos, los cuales son la percepción, transducción, señalización y efectores o respuesta. La percepción se refiere a la captura de la información del ambiente externo o interno de las plantas, esta información o señales son percibidas a través de receptores o cambios fisicoquímicos en las membranas o paredes celulares (Garza-Alonso et al., 2022). Existen diferentes

mecanismos de percepción, como los patrones moleculares de daño en biomoléculas, entre estos están los responsables de reconocer patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), patrones moleculares asociados a daños (DAMPs) (Garza-Alonso et al., 2022). La percepción de DAMPs y PAMPs por los PRR (sitios de reconocimiento ubicados en proteínas receptoras de las plantas) desencadenan la producción y liberación de nuevos DAMPs que modulan la respuesta inmunitaria de la planta (Hou et al., 2019).

La planta posee varios receptores proteicos ubicados en la membrana celular, estas proteínas les permite detectar algunos factores estresantes ambientales como plagas, salinidad, sequia, bajas y altas temperaturas (Godínez-Mendoza et al., 2023). Una vez que los receptores específicos perciben el estímulo, se lleva a cabo la transducción de las señales que ocurre de forma simultánea con la percepción (Garza-Alonso et al., 2022). Algunas moléculas que participan en este proceso son las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPKs) responsables de iniciar una cascada de señalización que induce una respuesta de bioestimulación en las plantas mediante la modificación de la expresión génica (Garza-Alonso et al., 2022). Hay iones como el Ca^{2+} que son elementos esenciales en la señalización que modifica la proteostasis de la célula. El ácido abscísico (ABA) es una fitohormona que participa en la señalización celular, en particular cuando las membranas perciben algún estímulo externo, la concentración citoplasmática de ABA aumenta, regulando genes relacionados con la resistencia al estrés ambiental (Jayakannan et al., 2015).

Los efectores o respuesta se da por medio de cambios en la expresión génica del organismo que modifica las cantidades de las proteínas que conforman un nuevo proteoma, este proteoma desencadena modificaciones en el metaboloma e ionoma de las células, cambiando su actividad y capacidad metabólica, lo cual conduce al proceso de adaptación frente al entorno cambiante (Vargas-Hernández et al., 2017).

1.1.1 Bioestimulantes

Un bioestimulante es una sustancia natural o microorganismo que se utiliza para estimular la eficiencia del uso de nutrientes en los cultivos (Di Sario et al., 2025), con el objetivo de mejorar una o más de las siguientes características de la planta: i) eficiencia en el uso de nutrientes, ii) tolerancia al estrés abiótico, iii) rasgos de calidad, o iv) disponibilidad de nutrientes confinados en el suelo” (Rouphael y Colla, 2020). Los bioestimulantes naturales más utilizados en la producción de cultivos están basados en ácidos húmicos, en hidrolizados de proteínas, en oligosacáridos, en metabolitos secundarios de algas y plantas, e inóculos microbianos (Jiang et al., 2024). Sin embargo, otros bioestimulantes son composta, biocarbón, nanomateriales, así como la aplicación exógena de señalizadores como H_2O_2 , H_2S , NO , y estímulos físicos como luz UV, magnetismo y temperatura alta-baja (Garza-Alonso et al., 2022). El uso de bioestimulantes en la agricultura ha ido ganando interés en la agricultura con la finalidad de mejorar la productividad y la calidad de los cultivos (Yakhin et al., 2017). Así también, con la intención de reducir el uso de fertilizantes y pesticidas, minimizando el impacto de las actividades agrícolas sobre el medio ambiente (Zhang et al., 2024).

El uso de bioestimulantes vegetales es una estrategia para aumentar la resiliencia y la productividad de los cultivos a los desafíos ambientales abióticos (Di Sario et al., 2025).

1.2 Extractos botánicos

Los extractos botánicos son una mezcla compleja de diversos metabolitos secundarios obtenidos de tejidos vegetales frescos o secos (Garza-Alonso et al., 2022), provienen de distintas partes de la planta como hojas, tallos, bulbos, flores, raíces, semillas o frutos (Witt et al., 2025). Dentro de estos metabolitos secundarios se encuentran los polisacáridos, minerales, fitohormonas, aminoácidos, entre otros (Garza-Alonso et al., 2022). La composición química de los extractos está influenciada por factores como la ubicación geográfica, las condiciones edafoclimáticas, el horario de cosecha, parte de la planta utilizada, los solventes y técnica empleados para la extracción (Witt et al., 2025).

La extracción de compuestos bioactivos generalmente implica métodos físicos (convencionales y no convencionales) y métodos químicos (disolventes orgánicos y álcalis) (Han et al., 2024).

En cuanto a los métodos físicos empleados, están los métodos convencionales como la maceración, percolación e infusión (Benaiges y Guillén 2007), que han sido ampliamente utilizadas, debido a su facilidad de uso, eficiencia y menos costo (Lezoul et al., 2020). Los métodos de extracción no convencionales como la extracción asistida por microondas (MAE), la extracción asistida por ultrasonido (UAE), la extracción con fluidos supercríticos (SFE) y la extracción con líquidos presurizados (PLE) combinados con solventes GRAS (Cannavacciuolo et al., 2024), son técnicas que facilitan la penetración del solvente en los tejidos vegetales, emplean una temperatura de extracción baja y un tiempo corto de extracción (Lezoul et al., 2020).

Los métodos químicos, son el agua y disolventes orgánicos (metanol y etanol), son rentables y sencillos de manejar (Han et al., 2024), estos disolventes se utilizan generalmente para la extracción de compuestos como fenoles y flavonoides (Abubakar y Haque 2020). Mientras que, los disolventes como el hexano, cloroformo y diclorometano se emplean para la extracción de compuestos como terpenos (Gurjar et al., 2012). Aunado a esto, hay factores como seguridad, costo, reactividad, recuperación, viscosidad que se deben considerar en la selección de disolventes (Abubakar y Haque 2020). Otro de los métodos químicos es el uso de la extracción alcalina en condiciones de alta presión, es un método altamente efectivo, ya que logra altas tasas de extracción y tiene una degradación moderada de los polisacáridos (Han et al., 2024).

En general, la calidad de los extractos vegetales se ve influenciada principalmente por tres parámetros: la parte de la planta utilizada, el solvente empleado para la extracción y el método de extracción (Han et al., 2024).

1.2.1 Extractos botánicos con acción bioestimulante

Los bioestimulantes a base de extractos de plantas, constan de un amplio espectro de metabolitos secundarios (Han et al., 2024). Entre ellos, se encuentran los polisacáridos, polifenoles, macrocronutrientes, micronutrientes, vitaminas, ácidos grasos y fitohormonas (Tudu et al., 2022). Al aplicarse por aspersión o vía suelo, genera efectos positivos sobre el crecimiento y la productividad de los cultivos. Esto se debe a un incremento en la absorción de nutrientes, la fotosíntesis y la defensa antioxidante, al tiempo que regulan la homeostasis osmótica (Teklić et al., 2021). Además, mejoran el crecimiento, el rendimiento y la calidad al activar genes que responden al estrés ambiental (Moustakas y Moustaka 2026).

Existen metabolitos como los terpenos y fenoles, que participan en funciones protectoras en condiciones de estrés ambiental (Franzoni et al., 2022). Los terpenos modulan o aumentan su concentración en condiciones de estrés salino (Martínez-Lorente et al., 2024). Específicamente la fitoalexinas, que funcionan como compuestos de defensa, ya que se acumulan después del tratamiento con bioestimulantes (Franzoni et al., 2022). Los compuestos fenólicos como los ácidos fenólicos, los flavonoides, las antocianinas y los carotenoides participan en los mecanismos de defensa de las plantas (Franzoni et al., 2022), es decir, fortalecen las barreras estructurales, previenen el crecimiento de patógenos y neutralizan especies reactivas de oxígeno peligrosas (Saini et al., 2024). Además, funcionan como moléculas de señalización que desencadenan la activación de genes de defensa y el desarrollo de resistencia sistémica adquirida (SAR), ofreciendo así una protección frente a estrés abiótico de tipo hídrico, salino y térmico (Franzoni et al., 2022).

La complejidad química de los extractos botánicos ha dificultado dilucidar con claridad los modos de acción específicos (Espinosa-Antón et al., 2025). Sin embargo, se sabe que los mecanismos de acción tienen relación con el metabolismo y la señalización molecular (Arinaitwe et al., 2025).

Dentro de los mecanismos principales está el rol que desempeñan las fitohormonas como las auxinas, citoquininas y giberelinas, que son las de regular la división celular, la elongación y la diferenciación celular (Arinaitwe et al., 2025). Mejorando así, la germinación de las semillas, el desarrollo de las raíces y el vigor de la planta en general, ayudando a las plantas a hacer frente al estrés ambiental (Khoulati et al., 2025).

Los bioestimulantes bajo estrés abiótico, inducen el ajuste osmótico a través de la acumulación de osmolitos como la prolina y glicina betaína, que ayudan a mantener la turgencia en las células (Arinaitwe et al., 2025). Además, mitigan el estrés oxidativo al regular positivamente las enzimas antioxidantes, como la superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa y los genes sensibles al estrés que codifican proteínas protectoras, por ejemplo, las proteínas de choque térmico (HSP) y las proteínas en la embriogénesis tardía (LEA) (Arinaitwe et al., 2025).

El ácido gálico, el ácido salicílico, el ácido ferúlico y el ácido cafeico presentes en extractos de plantas (Zhang et al., 2024), se sintetizan para modular respuestas adaptativas al estrés salino (Godínez-Mendoza et al., 2023), mediante la activación de genes de defensa como *MAX2*, *miR393*, *IAA30*, *AtGA2ox7* y *OsGA2ox5* que conduce a la tolerancia de la planta al estrés salino (Saini et al., 2024) y con ello mejorar las características agrícolas deseables en los cultivos, como el rendimiento y la calidad (Godínez-Mendoza et al., 2023).

La efectividad de los extractos vegetales depende de la concentración (Ahmad et al., 2022), es decir, a concentraciones altas pueden afectar negativamente el crecimiento y desarrollo de las plantas debido a la fitotoxicidad de algunos metabolitos secundarios como alcaloides, fenoles y terpenos (Han et al., 2024).

Los bioestimulantes vegetales han atraído la atención de científicos, empresas industriales y agricultores (Rouphael y Colla, 2020), ya que, pueden ayudar al sector agrícola a abordar problemas de estrés ambiental y con ello aumentar la producción de forma sostenible (Zulfiqar et al., 2020). Sin embargo, hay desafíos que abordar como la

elucidación de los mecanismos moleculares que rigen los impactos de los extractos de plantas (Han et al., 2024). También la evaluación de los efectos fisiológicos y el mecanismo de acción de los compuestos bioactivos presentes en los extractos vegetales, ya que, este proceso permitirá elegir qué compuestos se utilizarán, en qué dosis y en qué momento del crecimiento de la planta (Ben-Mrid et al., 2021).

1.2.2 Modo de aplicación de los extractos de plantas

El método para aplicar extractos de plantas juega un papel crucial en las respuestas generadas por la planta (Han et al., 2024). Los tipos de aplicación más comunes son la pulverización foliar, soluciones añadidas al suelo o una combinación de ambas (Dropek et al., 2019). Se recomienda que la aplicación sea por la mañana cuando los estomas están abiertos y la tasa de asimilación está en su punto máximo (Bulgari et al., 2019). Los extractos de plantas se pueden aplicar al suelo o al medio de cultivo mediante fertilización, llovizna o goteo (Han et al., 2024). Sin embargo, la concentración de extractos de plantas también afecta su eficacia ya que a concentraciones altas pueden afectar negativamente el desarrollo de la planta (Dropek et al., 2019). Debido a la presencia de aleloquímicos que pueden afectar la forma y estructura de las células, además de, inhibir la división y elongación celular, el desequilibrio en el sistema antioxidante, aumenta la permeabilidad de la membrana celular, afectar las actividades enzimáticas, limita la absorción de agua y nutrientes (Kumar et al., 2024).

1.3 Salinización del suelo

La salinización es la acumulación continua de sales solubles como cloruros, sulfatos, nitratos en el suelo y el agua (Tomaz et al., 2020). La salinización es un fenómeno global y ambiental que degrada la calidad del agua suministrada a sectores agrícolas, cambia la composición química de los recursos hídricos e incrementa el daño a los suelos (Okur y Örcen 2020). Los problemas de salinización son más graves en condiciones calientes y secas que en condiciones frías y húmedas (Ravindran et al., 2007), esto debido a la temperatura alta y baja humedad que provocan una evaporación del agua, quedando las sales que se acumulan en la superficie del suelo (Tomaz et al., 2020). Esto representa un

desafío ambiental ya que, limita la productividad de las plantas, particularmente en climas áridos y semiáridos (Soni et al., 2017). Según la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura), alrededor de 950 millones de hectáreas a nivel mundial están afectadas por la salinidad (Ma et al., 2025), de las cuales el 20 % es suelo cultivable (Negacz et al., 2022). La salinización del suelo se está extendiendo de 1 a 2 millones de ha al año a nivel mundial (Devkota et al., 2022). La acumulación de sales en el suelo se debe a procesos naturales, como la descomposición de minerales como el carbonato de calcio en rocas calizas, también sulfatos de calcio presente en el yeso y por el aumento de las aguas subterráneas salinas, es decir, que el cloruro de sodio es igual o superior a 10,000 mg/L (Tomaz et al., 2020). Así mismo, es ocasionada por actividades humanas como el uso indebido de la tierra, el pastoreo excesivo, los incendios forestales, la urbanización, la industrialización, el riego no controlado, el riego con agua de baja calidad e intrusión de agua de mar a agua subterránea en áreas cercanas a los mares (Negacz et al., 2022).

La salinidad del suelo se determina mediante la conductividad eléctrica del extracto de saturación del suelo (CE_e), cuyas unidades de medida son dS/m (deciSiemens/metro) (Machado y Serralheiro 2020). Los suelos que han sido afectados por las sales, la USDA (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos) los clasifica en suelos salinos, con una CE mayor a 4 dS/m y un pH menor a 8.5, suelos sódicos con una CE menor a 4 dS/m y un pH mayor a 8.5 y suelos salinos – sódicos con una CE mayor a 4 dS/m y un pH inferior a 8.5 (Demo et al., 2025). El agua de acuerdo con la concentración de salinidad se clasifica en, baja salinidad con una CE de 10^{-3} a 0.0025 dS/m, salinidad moderada con una CE de 0.0025 a 0.0225 (dS/m) y salinidad elevada con una CE arriba de 0.0225 dS/m (Chhabra, 2022).

Los métodos tradicionales para recuperar o mejorar los suelos salinizados, incluyen, la lixiviación del exceso de sales (Singh et al., 2018), zanjas de drenaje, el uso de tuberías subterráneas para la descarga de sales y la implementación de una barrera a la profundidad de las raíces para bloquear eficazmente el movimiento capilar del agua en el suelo (Shi et al., 2021). El acolchado del suelo mantiene la zona húmeda en la rizosfera,

y la concentración de sal en la zona de la raíz se diluye (Singh et al., 2018). Los anteriores métodos son aplicados en la recuperación del suelo salino que ha sido ampliamente utilizada en las prácticas agrícolas (Singh et al., 2018).

1.3.1 Estrés salino en cultivos agrícolas

En cuanto a la capacidad para tolerar los efectos de la salinidad, las plantas se dividen en dos categorías: glucófitas y halófitas (Cheeseman, 2015). Las plantas halófitas se desarrollan en ambientes salinos (Soni et al., 2017), llevan a cabo mecanismos fisiológicos y bioquímicos para contrarrestar los efectos perjudiciales del estrés salino, como la exclusión de iones tóxicos (Na^+ y Cl^-) o su compartimentación en vacuolas (Atzori et al., 2020), acumulación de solutos osmóticos (Zahid et al., 2023) y la síntesis de enzimas antioxidantes, como la catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), ascorbato peroxidasa (APX), glutatión peroxidasa (GPX) y peroxidasa (POD) y antioxidantes no enzimáticos de tipo fenólico, flavonoides, ascorbato (AsA) y glutatión (GSH) (Rahman y Rahman et al., 2021). Actualmente hay 2600 plantas halófitas (Merchaoui et al., 2022), las cuales pertenecen a familias como Poaceae, Cyperaceae y Juncaceae (Acosta-Motos et al., 2020). La tolerancia a la sal también depende de otros factores como el tipo y temperatura del suelo, los niveles de dióxido de carbono, el tiempo de exposición al estrés salino y las prácticas agronómicas como la fertilización, drenaje y lixiviación (Machado y Serralheiro 2020).

Las plantas glucófitas han evolucionado por adaptación bajo presiones selectivas naturales en ecosistemas con bajos niveles de sodio en el suelo (Cheeseman, 2015), por lo tanto, no pueden crecer con éxito en suelos salinos (Acosta-Motos et al., 2020), se estima que presentan un umbral de salinidad del 2.5 dS/m en agua de riego (Zörb et al., 2018). Los cultivos bajo condiciones salinas muestran una disminución en el potencial osmótico del agua, lo que dificulta que las raíces absorban al agua (Ahmad et al., 2020). Dañan a la membrana celular debido a la absorción excesiva de Na^+ (Ahmad et al., 2020), provocando una reducción en las funciones enzimáticas de la glucólisis, fotofosforilación y el ciclo de Krebs ocasionando una disminución de energía, de nutrientes y afectaciones

en el desarrollo de la planta (Singh y Sharma 2018). Posteriormente aparecen síntomas de daño como clorosis, marchitamiento y necrosis, por lo tanto, graves pérdidas de rendimiento agrícola en condiciones de salinidad moderada (Zörb et al., 2018).

La concentración de sal en el suelo impacta en el desarrollo de la planta y rendimiento de los cultivos (Cuadro 1). Los suelos sin concentración salina (0 a 2 dS/m), no afectan a los cultivos, con relación a, los suelos poco salinos (2 a 8 dS/m) hay una reducción en la producción de los cultivos vulnerables y en los suelos salinos (8 a 16 dS/m), solo los cultivos tolerantes pueden generar producción (Demo et al., 2026). En los cultivos agrícolas existe una variación en la tolerancia a la salinidad, es decir, los cultivos como la cebada, el trigo, pistacho, dátiles, higo, guayaba, olivo, granada son relativamente tolerantes, mientras que, cultivos como la almendra, manzana, albaricoque, aguacate, mora, arándano, kiwi, limón, mango, naranja, melocotón, pera, frambuesa y nuez son sensibles a la salinidad (Machado y Serralheiro 2020).

Cuadro 1. Efectos de salinidad del suelo en el crecimiento de los cultivos y su potencial de rendimiento.

Nivel de salinidad del suelo	CE (dS/m)	Efectos sobre los cultivos
Ninguna solución salina	0-2	No hay impacto negativo en los cultivos
Ligeramente salino	2-4	Reducción del rendimiento de cultivos vulnerables
Moderadamente salino	4-8	La mayoría de los cultivos tienen rendimientos limitados
Fuertemente salino	8-16	Solo los cultivos tolerantes pueden producir un rendimiento satisfactorio.
Muy fuertemente salino	>16	Puede ser adecuado únicamente para plantas halófitas.

Fuente: Adaptado de Demo et al. (2025). CE-Conductividad eléctrica, dS/m (deciSiemens/metro)

Las afectaciones asociadas a la salinidad del suelo empeoran en muchas regiones debido al cambio climático (Machado y Serralheiro 2017). Se requieren estrategias de mitigación para hacer frente al estrés salino (Ud Din et al., 2023). Actualmente existen prácticas sustentables para afrontar el estrés salino que amenaza la producción (Manja y Aoun 2019), las cuales son la aplicación de composta, bioestimulantes y biofertilizantes (Machado y Serralheiro 2020). La composta contiene nutrientes esenciales, microbios

beneficiosos y sustancias húmicas que mejoran las propiedades fisicoquímicas del suelo, propiciando un crecimiento favorable del cultivo en un ambiente de estrés salino (Ud Din et al., 2023). Los bioestimulantes son sustancias orgánicas o microorganismos que al aplicarse en el suelo o por aspersión a las hojas mitigan el estrés salino en cultivos frutales (Machado y Serralheiro 2020). Los biofertilizantes son preparaciones que contienen microorganismos como bacterias, algas y hongos que ayudan a proporcionar los nutrientes y proteger a la planta de distintos factores estresantes (Sharma et al., 2018). La aplicación de nutrientes minerales, es decir, macro y micronutrientes actúan como cofactores esenciales que estimulan la producción de enzimas antioxidantes y la eliminación de ROS, previniendo el daño estructural en la membrana celular generando un aumento del crecimiento y producción de frutos que crecen en condiciones salinas (Ahmad y Anjum 2023).

Existen técnicas que se emplean para desarrollar tolerancia al estrés en cultivos, como la mejora en el desarrollo transgénico con genes de inducción floral como *AP1*, *LFY*, *SOC1*, *FUL*, *FT*, *TFL1* y *BPMADS4* encargados de acelerar la floración en muchos cultivos frutales (Gottschalk et al., 2021). El desarrollo de portainjertos tolerantes a la salinidad, mediante la exclusión de iones Na^+ y Cl^- , y restringe su traslocación a las hojas y brotes (Machado y Serralheiro 2020). Así mismo, la selección *in vitro* mediante la inducción de una variación genética entre células, tejidos u órganos, su exposición a un factor estresante y la posterior regeneración a partir de las células supervivientes (Singh et al., 2018). Las técnicas de genómica a base de marcadores se utilizan para identificar y caracterizar las transcripciones, genes, proteínas y metabolitos vinculados a la adaptación del estrés salino en los cultivos frutales (Singh y Sharma 2018).

1.3.2 Cambios morfológicos de cultivos bajo estrés salino

La salinidad, particularmente originada por el cloruro de sodio en el suelo y agua de riego, puede afectar significativamente la morfología de la planta (Naeem et al., 2020), como en la biomasa total seca o fresca, la altura de la planta, la relación raíz/brote, el área foliar, el número de ramas, la germinación de la semilla. El incremento de la concentración de

sal aumenta los efectos nocivos en el crecimiento de la hoja, tallo y raíz de las plantas (Soltabayeva et al., 2021). Estos cambios morfológicos pueden aparecer en todas las etapas de desarrollo de la planta (Naeem et al., 2020).

El estrés salino reduce la longitud de la raíz, además, limita el alargamiento del brote, por lo tanto, afecta negativamente el desarrollo de las hojas (Soltabayeva et al., 2021). Dentro de los síntomas visibles del estrés salino se encuentra la necrosis en hojas viejas, que se inicia desde puntas y márgenes, y luego se extiende hacia la base de la hoja. También disminuye la vida útil de las hojas, la productividad neta y el rendimiento de los cultivos (Balal et al., 2021).

1.3.3 Cambios fisiológicos de cultivos bajo estrés salino

El estrés salino muestra efectos negativos en los procesos fisiológicos de los cultivos (Soltabayeva et al., 2021). La exposición inicial a la salinidad provoca una disminución en la absorción de agua, lo que conduce al estrés osmótico (Arif et al., 2020), y con ello una limitación en la expansión y división celular (Sadiq et al., 2021). La exposición a largo plazo provoca que las plantas sufran un estrés iónico mediante la acumulación de iones tóxicos (Na^+), lo que disminuye la absorción de nutrientes esenciales como el calcio (Ca^+) y el potasio (K^+) (Arif et al., 2020). Dichos cambios afectan la integridad estructural y funcional de los cloroplastos, específicamente el sistema de membranas y estructuras como cistoide, basidioma y lamelas del estroma (Naeem et al., 2020). La fotosíntesis es el proceso fisiológico más importante que ocurren en los cloroplastos (Wang et al., 2024), Dentro de ellos hay una reducción de la actividad del complejo fotosintético PSII debido a la desintegración de los centros de reacción del PSII (Arif et al., 2020). Además, hay un bloqueo de la cadena transportadora de electrones, lo que, acelera la acumulación de ROS, como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radicales superóxidos ($\text{O}_2^{\cdot-}$) y radicales hidroxilos ($\text{OH}^{\cdot}$) (Hasanuzzaman et al., 2022), causando daños oxidativos a las proteínas de los tilacoides, membranas y enzimas fotosintéticas como la RuBisCO y fructosa-1,6-bisfosfatasa (Soltabayeva et al., 2021).

Además, la salinidad reduce la densidad estomática, por lo tanto, dificulta la transpiración (Balal et al., 2021), lo que restringiría la absorción de CO_2 , este comportamiento puede reflejarse en una disminución en el desarrollo de la planta (Naeem et al., 2020).

Dependiendo de la duración y la gravedad del estrés, los cambios que pueden ocurrir en los procesos fisiológicos afectan el crecimiento, el desarrollo y la productividad de las plantas (Naeem et al., 2020).

1.3.4 Cambios moleculares de cultivos bajo estrés salino

El estrés salino desencadena cambios en la transcripción y el proteoma de las plantas. Algunos genes cambian su expresión bajo diversas concentraciones de sal (Soltabayeva et al., 2021). Como la regulación de los genes *SOS3/CBL4* que al unirse a Ca^{2+} , forma un complejo proteico que conduce a la activación del gen *SOS1* (Na^+ Antiporter), que provoca el flujo de sal del citosol a la vacuola (Arif et al., 2020).

Los genes *NHX1* conducen el transporte tóxico de Na^+ a la vacuola desde el citosol. Los genes *GMSALT3* se sobreexpresan y proporcionan tolerancia a la sal mediante la codificación de varios transportadores de membrana en xilema y floema (Arif et al., 2020). Los genes reducidos *OSCA1* actúan como un osmosensor, lo que ayuda a mitigar el efecto tóxico de la sal modulando el potencial osmótico. El gen *bo/TLP1* regula las vías de señalización mediadas por las fitohormonas etileno y auxina, la actividad de la hidrolasa y la expresión de variantes de histonas (Hasanuzzaman y fujita 2022).

La planta produce genes de factores de transcripción sensibles al estrés salino como la *MYB*, *WRKY*, *AP2/ERF*, *HOX*, *BHLH*, *NAC*, *ERF* y *AP2* que expresan y activan genes que proporcionan tolerancia de la planta a la salinidad (Arif et al., 2020). Este cambio de expresión génica ayuda a mantener la homeostasis celular que tiene un papel importante en la supervivencia de las plantas en condiciones desfavorables.

La creación de variaciones genéticas, así como la incorporación de genes tolerantes como donantes en los programas de mejora de cultivos, a través de la ingeniería genética es una necesidad para la mejora de los cultivos frente al estrés salino (Atta et al., 2023).

Sin embargo, se requiere más investigación en ingeniería genética, transcriptómica, proteómica y metabolómica, para determinar el mecanismo exacto de tolerancia a la salinidad de las plantas (Atta et al., 2023).

1.3.5 Adaptación de los cultivos al estrés salino

Las plantas durante el proceso de evolución han generado una serie de mecanismos y estrategias para adaptarse y resistir el estrés salino (Wu et al., 2022). Existen aquellas plantas llamadas halófitas que son tolerantes a la salinidad y glicófitas que son sensibles a la sal (Acosta-Motos et al., 2020). En respuesta al estrés salino las halófitas dependen de rasgos anatómicamente complejos como glándulas de sal, capacidad de secuestro vacuolar, mientras que las glicófitas han generado mecanismos como la exclusión de N^+ , el transporte iónico regulado y bases genéticamente modificables (Badavath y Saski 2026).

En respuesta al estrés salino, se activan sensores y receptores como *RLKs* (quinasas similares a receptores), *GIPC* (glicosilinositol fosforilceramida) y *FER* (Feronia) (Dabravolski y Isayenkov 2023), que reprograman la expresión genética a través de factores de transcripción como *DREB/CBF*, *NAC*, *MYB* y *WRKY*, que se unen a elementos cis en los promotores de genes y activan vías de señalización para normalizar la homeostasis osmótica y coordinar vías como la biosíntesis de osmolitos (Badavath y Saski 2026).

Los cambios transcripcionales impulsados por señales de estrés salino contribuyen a la modificación de la pared y reorganización del citoesqueleto que apoyan al equilibrio genético y la resiliencia al estrés (Wu et al., 2022).

A nivel celular, la presencia de sal puede alterar la ultraestructura de los cloroplastos, aumentando el riesgo de fotoinhibición (Badavath y Saski 2026). Las plantas mitigan estos efectos a través de procesos coordinados como osmorregulación, eliminación de ROS, aclimatación fotosintética, señalización de fitohormonas y exclusión y compartimentación de iones (Hameed et al., 2021). Así mismo, los fitorreguladores de crecimiento vegetal como ácido abscísico (ABA), auxinas, citoquininas, ácido salicílico, jasmonatos, poliaminas, giberelinas y brasinoesteroides están involucrados en la regulación del sistema de defensa y la adaptación de la planta bajo estrés salino, específicamente el ABA puede impulsar diversas respuestas de defensa, como el cierre estomático, cambios metabólicos y ajustes en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Zahid et al., 2023).

Además, las plantas pueden promover la biosíntesis y acumulación de solutos como los azúcares solubles, proteínas solubles y prolina, estas sustancias pueden mantener el nivel normal de presión osmótica, así como proteger la membrana celular y la actividad proteica (Zhang et al., 2024).

1.4 Aplicación de extractos vegetales en cultivos bajo estrés salino

La salinidad es un factor ambiental que reduce la productividad de los cultivos agrícolas hasta en un 50% (Singh, 2022). La salinidad favorece la acumulación de Na^+ y Cl^- en los tejidos vegetales, la presencia de estos dos iones puede generar estrés oxidativo mediante la acumulación de superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y radicales hidroxilos ($\cdot\text{OH}$) (Machado, 2017). Estas ROS dañan proteínas (modificación oxidativa de la metionina y la cisteína) y ácidos nucleicos (mutaciones génicas, afecta la unión de los factores de transcripción y causa desaminación de las purinas) en las plantas (Carvajal, 2019). Para protegerse de las ROS, las plantas acumulan prolina, la cual, aumenta las actividades antioxidantes enzimáticas (SOD, GR, GPX y GS), además de, las actividades no enzimáticas (fenoles, flavonoides), lo que mejora la tolerancia de la planta al estrés salino (Abdelhamid et al., 2024).

El uso de bioestimulantes a base de extractos de plantas está ganando popularidad en la agricultura, ya que no contiene productos químicos sintéticos que dañan la salud de los consumidores y el medio ambiente, además, regula procesos fisiológicos y metabólicos en los cultivos induciendo a un aumento en la cantidad y calidad del rendimiento y mejorar la tolerancia al estrés (Ahmad et al., 2022). Actualmente, existen algunos estudios que reportan el uso de extractos vegetales y su mecanismo de acción contra la salinidad. Se ha informado que la aplicación exógena del extracto de hojas de moringa (*Moringa oleífera* Lam.) ricas en vitamina A y C, hierro, calcio, riboflavina, b-caroteno, fenólicos, citoquininas y zeatina protege las plantas de frijol contra el estrés salino al incrementar la actividad del sistema antioxidante (Howladar, 2014; Rady y Mohamed 2015; Latif y Mohamed 2016). Por otra parte, se ha demostrado que la aplicación de extractos de *Ocimum basilicum* L. aumenta la prolina, azúcares y proteínas solubles, así como la catalasa y peroxidasa de habas (*Vicia faba* L.) (Aboualhamed y Loutfy 2020). Además, se ha determinado que, al remojar las semillas de frijol en los extractos de *Moringa oleífera* Lam., y semillas de guisantes en extracto acuoso de hojas de *Typha angustifolia* L. estimula la producción de metabolitos secundarios como polifenoles, flavonoides y alcaloides. Al remojar las semillas de guisantes en extractos de raíz de *Glycyrrhiza glabra* L. se observó un incremento en la fotosíntesis y la actividad enzimática antioxidante de CAT, SOD, APx y GR, esto debido a la glicirrina presente en la raíz. La pulpa (*Garcinia mangostana* L.) y extracto de granos de maíz (*Zea mays* L.) son fuente de fitohormonas (ácido giberélico, citoquininas), minerales (nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio), osmoprotectores (azúcares solubles, prolina) y antioxidantes (ácido ascórbico, glutatión) que al aplicarlos a las plántulas de frijol mitigó el estrés salino, al mejorar el sistema antioxidante enzimático y no enzimático (Rady et al., 2019; Suryaman et al., 2021). Se ha demostrado que el extracto de hoja de *Cupressus macrocarpa* Hartw. ex Gord. incrementó el crecimiento de plantas de calabaza al mejorar la fotosíntesis y los mecanismos de defensa antioxidante, esto puede atribuirse a que el extracto de hoja de *C. macrocarpa* está enriquecido con polifenoles, flavonoides, α -tocoferol, glutatión, azúcares y aminoácidos (ElSayed et al., 2022). Otro estudio demostró que la combinación de los extractos de semillas de *Foeniculum vulgare* Mill. y *Ammi visnaga* (L.) Lam. son excelentes fuentes de macro y micronutrientes, α -tocoferol y

compuestos fenólicos que podrían mitigar el estrés salino de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. al mejorar el sistema antioxidante tanto enzimáticos (CAT, POX, APX y SOD) como no enzimáticos (carotenoides) (Desoky et al., 2020). Mahmoudand y Dahab (2019) emplearon aceite de *Rosmarinus officinalis* Spen. que es rico en linalol, limoneno y alcanfor que al aplicarlos al cultivo de manzana (*Malus domestica* Borkh.), generó un incremento en la concentración de ácido ascórbico, fenoles y flavonoides. Un estudio reciente demostró que al aplicar extracto de *Vitex agnus-castus* L. que es rico en polifenoles y flavonoides como la apigenina, casticina vitexina, isovitexina y luteolina mejoró el sistema de defensa antioxidante (SOD, IDH, GPX y GR) del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Abdelhamid et al., 2024). Además, la aplicación del extracto del fruto maduro de *Crataegus oxyacantha* L. mitiga los impactos negativos de la sal al aumentar los niveles de aminoácidos, azúcares solubles y clorofila en las hojas del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Naboulsi et al., 2022). Todos estos estudios se resumen en el Cuadro 1.

En general, la aplicación directa de extractos vegetales muestra un gran potencial para mitigar la salinidad, debido a la compleja y diversa composición de metabolitos secundarios que participan en una serie de rutas metabólicas en las plantas que estimulan los mecanismos reguladores internos promoviendo así el desarrollo de las plantas y una mejor calidad y productividad en los cultivos (Han et al., 2024).

Cuadro 2. Efecto del extracto vegetales en cultivos bajo estrés salino.

Extracto vegetal	Tipo de extracto	Método de aplicación	Especie en estudio	Resultados	Referencia
<i>Moringa oleifera</i> Lam.	Hojas	Pulverización foliar	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Aumentó el contenido total de azúcares, GST, MDA, H ₂ O ₂ y O ₂ ^{•-}	(Latif y Mohamed 2016)
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill. y <i>Ammi visnaga</i> L.	Semillas	Pulverización foliar	<i>Vigna unguiculata</i> L. Walp.	Aumentó el contenido de Na ⁺ , la fuga EL y los biomarcadores de estrés oxidativo MDA, H ₂ O ₂ y O ₂ ^{•-} Actividad enzimática por CAT, POX, APx y SOD	(Desoky et al., 2020)
<i>Garcinia mangostana</i> L.	Pulpa	Remojo de semillas	<i>Vigna radiata</i> (L.) R. Wilczek	Incrementó la altura de la planta, área de hojas, el rendimiento y actividad enzimática de la POD	(Suryaman et al., 2021)
<i>Moringa oleifera</i> Lam.	Hojas	Remojo de semillas	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Se mostró un aumento en los contenidos de osmoprotectores y la actividad de antioxidantes enzimáticos de la SOD, CAT, APx, GR y no enzimáticos AsA disminución en los marcadores de estrés H ₂ O ₂ , MDA y O ₂ ^{•-}	(Rady et al., 2013)
<i>Beta vulgaris</i> L.	Raíz	Pulverización foliar	<i>Solanum melongena</i> L.	Mejóro el crecimiento, rendimiento, transpiración, conductancia estomática	(Abbas et al., 2010)
<i>Daucus carota</i> L.	Raíz	Remojo de semillas	<i>Lupinus termis</i> L.	Aumentó el contenido de pigmentos fotosintéticos, azúcares solubles totales, proteínas, alcaloides, ascorbato y actividades enzimáticas de CAT, POD	(Nessim y Kasim 2019)

y MDA

<i>Zea mays</i> L.	Granos	Semillas y pulverización foliar	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Aumentó el crecimiento, rendimiento, pigmentos fotosintéticos, azúcares solubles, prolina, actividad enzimática de la SOD y CAT, contenido de AsA y GSH	(Rady et al., 2019)
<i>Typha angustifolia</i> L.	Hojas	Remojo de semillas	<i>Pisum sativum</i> var. Lincoln	Mejóro los valores de prolina, azúcares totales, K ⁺ , clorofila y carotenoides	(Ghezal et al., 2016)
<i>Moringa oleifera</i> Lam.	Hojas	Pulverización foliar	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Incrementó la concentración de clorofilas totales, carotenoides totales, azúcares solubles totales, prolina, vitamina C	(Rady y Mohamed 2015)
<i>Moringa oleifera</i> Lam.	Hojas	Pulverización foliar	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Aumentó los pigmentos fotosintéticos de las hojas, el contenido enzimático antioxidante SOD, CAT, POD y GR y prolina	(Howladar, 2014)
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Hojas	Pulverización foliar	<i>Vicia faba</i> L.	Incrementó la actividad enzimática antioxidante de CAT, POD, APx y el contenido de iones	(Aboualhamed y Loutfy, 2020)
<i>Cupressus macrocarpa</i> Hartw. ex Gord.	Hojas	Remojo de semillas	<i>Cucurbita pepo</i> L.	Aumentó el peso fresco y peso seco de la planta, contenido de clorofila, azúcares solubles, prolina y proteína, actividad enzimática CAT, APX, SOD, GPX	(ElSayed et al., 2022)
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Raíz	Remojo de semillas	<i>Pisum sativum</i> L.	Incrementó el contenido fotosintético, prolina, azúcares solubles y actividad enzimática antioxidante de CAT, SOD, APx y GR	(Desoky et al. 2019)
<i>Rosmarinus officinalis</i> Spen.	Planta completa	-----	<i>Malus domestica</i> Borkh.	Incrementó de la concentración de ácido ascórbico, fenoles y flavonoides	(Mahmoudand y Dahab 2019)

<i>Crataegus oxyacantha</i> L.	Fruto maduro	Aplicaciones foliares	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Aumentó los niveles de aminoácidos, azúcares solubles y clorofila. mejora en las actividades de las enzimas antioxidantes SOD, GPx, GST y GR	(Naboulsi et al., 2022)
<i>Vitex agnus-castus</i> L.	Hojas	Aplicaciones foliares	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Aumentó el crecimiento de la planta y contenido del pigmento fotosintético, así mismo, las actividades enzimáticas como SOD, IDH, GPX y GR	(Abdelhamid et al., 2024)

CAT: catalasa; POD: peroxidasa; APX: ascorbato peroxidasa; SOD: superóxido dismutasa; GPx: glutatión peroxidasa IDH: isocitrato deshidrogenasa; GR: glutatión reductasa; GST: glutatión S-transferasa GR: glutatión reductasa; MDA: malondialdehído; AsA: ácido ascórbico; GSH; H₂O₂: peróxido de hidrógeno; O₂^{•-}: superóxido; EL: electrolitos.

2. CONCLUSIONES

Los extractos vegetales pueden emplearse como bioestimulantes para combatir la salinidad en los cultivos, ya que contienen metabolitos secundarios como ácido gálico, ácido salicílico, ácido ferúlico, ácido cafeico, ácido ascórbico, brasinoesteroides y ácido abscísico que facilitan la señalización de estrés, la regulación genética, el metabolismo redox y la síntesis de algunas proteínas fotosintéticas, mitocondriales y transportadoras de agua que mejoran la calidad y productividad de los cultivos bajo estrés salino.

3. REFERENCIAS

- Abbas, W., Ashraf, M., y Akram, N. A. (2010). Alleviation of salt-induced adverse effects in eggplant (*Solanum melongena* L.) by glycinebetaine and sugarbeet extracts. *Scientia horticulturae*, 125(3), 188-195.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.04.008>
- Abdelhamid, E., Zoulfa, R., Nada, N., Zakia, Z., Bouchra, B., Azzouz, K., y Mohamed, N. (2024). Chaste plant extract is a promising biostimulant for tomato plants growth under salt stress. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(21), 26845-26856.
<https://doi.org/10.1007/s13399-022-03454-5>
- Aboualhamed, M. F., y Loutfy, N. (2020). *Ocimum basilicum* leaf extract induces salinity stress tolerance in faba bean plants. *Egyptian Journal of Botany*, 60(3), 681-690.
<https://doi.org/>
- Abubakar, AR, y Haque, M. (2020). Preparación de plantas medicinales: Procedimientos básicos de extracción y fraccionamiento con fines experimentales. *Revista de Farmacia y Ciencias Bioaliadas*, 12 (1), 1-10.
- Acosta-Motos, J.R., Penella, C., Hernández, J.A., Díaz-Vivancos, P., Sánchez-Blanco, M.J., Navarro, J.M., y Barba-Espín, G. (2020). Towards a sustainable agriculture: Strategies involving phytoprotectants against salt stress. *Agronomy*, 10 (2), 194.
<https://doi.org/10.3390/agronomy10020194>
- Ahmad, A., Blasco, B., y Martos, V. (2022). Combating salinity through natural plant extracts based biostimulants: A review. *Frontiers in Plant Science*, 13, 862034.
- Ahmad, R., y Anjum, MA (2020). Bases fisiológicas y moleculares de la tolerancia a la salinidad en cultivos frutales. *Fruit Crops*, 445–464.
- Ahmad, R., y Anjum, MA. (2023). Mineral nutrition management in fruit trees under salt stress: a review. *Erwerbs-obstbau*, 65(2), 397-405.
- Alkharabsheh, HM, Seleiman, MF, Hewedy, OA, Battaglia, ML, Jalal, RS, Alhammad, BA, Schillaci, C., Ali, N. y Al-Doss, A. (2021). Respuestas de cultivos extensivos y estrategias de gestión para mitigar la salinidad del suelo en la agricultura moderna: Una revisión. *Agronomía*, 11 (11), 2299.
- Arif, Y., Singh, P., Siddiqui, H., Bajguz, A., y Hayat, S. (2020). Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156, 64-77.

- Arinaitwe, U., Yabwalo, D. N., y Hangamaisho, A. (2025). Unlocking the Potential of Biostimulants: A Review of Classification, Mode of Action, Formulations, Efficacy, Mechanisms, and Recommendations for Sustainable Intensification. *International Journal of Plant Biology*, 16(4), 122.
- Atta, K., Mondal, S., Gorai, S., Singh, A. P., Kumari, A., Ghosh, T., y Jespersen, D. (2023). Impacts of salinity stress on crop plants: improving salt tolerance through genetic and molecular dissection. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1241736.
- Atzori, G., Nissim, W., Macchiavelli, T., Vita, F., Azzarello, E., Pandolfi, C., Mancuso, S. (2020). *Tetragonia tetragonioides* (Pallas) Kuntz. as promising salt-tolerant crop in a saline agricultural context. *Agricultural Water Management*, 240, 106261. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106261>
- Badavath, H., y Saski, C. A. (2026). Plant adaptation to salinity: physiological pathways and prospects for crop improvement—A review. *Genes*, 17(3), 253.
- Balal, R. M., Shahid, M. A., Khan, N., Sarkhosh, A., Zubair, M., Rasool, A., y Nasim, W. (2021). Morphological, physiological, and biochemical modulations in crops under salt stress. In *Building Climate Resilience in Agriculture: Theory, Practice and Future Perspective* (pp. 195-210). Cham: Springer International Publishing.
- Benaiges, A., y Guillén, P. (2007). *Extractos botánicos. Análisis de productos cosméticos*, 345–363. <https://doi.org/10.1016/b978-044452260-3/50044-9>
- Ben-Mrid, R., Benmrid, B., Hafsa, J., Boukcim, H., Sobeh, M., y Yasri, A. (2021). Secondary metabolites as biostimulant and bioprotectant agents: A review. *Science of the Total Environment*, 777. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146204>
- Beyk-Khormizi, A., Sarafriz-Ardakani, MR, Hosseini Sarghein, S., Moshtaghioun, SM, Mousavi-Kouhi, SM y Taghavizadeh Yazdi, ME (2023). Efecto del fertilizante orgánico en el crecimiento y los parámetros fisiológicos de una planta medicinal tradicional en condiciones de estrés salino. *Horticulturae*, 9 (6), 701. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9060701>
- Bulgari, R., Franzoni, G., y Ferrante, A. (2019). Biostimulants Application in horticultural crops under abiotic stress conditions. *Agronomy*, 9(6), 306. <https://doi.org/10.3390/agronomy9060306>
- Cannavacciuolo, C., Pagliari, S., Celano, R., Campone, L., y Rastrelli, L. (2024). Critical analysis of green extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, and optimization strategies-A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 117627. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.117627>

- Carvajal Carvajal, C. (2019). Reactive oxygen species: Training, function and oxidative stress. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36(1), 91-100.
- Cheeseman, J. M. (2015). The evolution of halophytes, glycophytes and crops, and its implications for food security under saline conditions. *New Phytologist*, 206(2), 557-570. <https://doi.org/10.1111/nph.13217>
- Chhabra, R. (2022). Irrigation water: Quality criteria. In *Salt-affected soils and marginal waters: global perspectives and sustainable management* (pp. 431-486). Cham: Springer International Publishing.
- Dabravolski, S. A., y Isayenkov, S. V. (2023). The regulation of plant cell wall organisation under salt stress. *Frontiers in plant science*, 14, 1118313.
- Demo, A. H., Gameda, M. K., Abdo, D. R., Guluma, T. N., y Adugna, D. B. (2025). Impact of soil salinity, sodicity, and irrigation water salinity on crop production and coping mechanism in areas of dryland farming. *Agrosystems, Geosciences y Environment*, 8(1), e70072.
- Desoky, E. S. M., ElSayed, A. I., Merwad, A. R. M., y Rady, M. M. (2019). Stimulating antioxidant defenses, antioxidant gene expression, and salt tolerance in *Pisum sativum* seedling by pretreatment using licorice root extract (LRE) as an organic biostimulant. *Plant physiology and biochemistry*, 142, 292-302. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.07.020>
- Devkota, K. P., Devkota, M., Rezaei, M., y Oosterbaan, R. (2022). Managing salinity for sustainable agricultural production in salt-affected soils of irrigated drylands. *Agricultural Systems*, 198, 103390. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2022.103390>
- Di Sario, L., Boeri, P., Matus, J. T., y Pizzio, G. A. (2025). Plant biostimulants to enhance abiotic stress resilience in crops. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(3), 1129.
- Drobek, M., Frąc, M., y Cybulska, J. (2019). Plant biostimulants: Importance of the quality and yield of horticultural crops and the improvement of plant tolerance to abiotic stress-a review. *Agronomy*, 9(6). <https://doi.org/10.3390/agronomy9060335>
- ElSayed, A. I., Rafudeen, M. S., Ganie, S. A., Hossain, M. S., y Gomaa, A. M. (2022). Seed priming with cypress leaf extract enhances photosynthesis and antioxidative defense in zucchini seedlings under salt stress. *Scientia Horticulturae*, 293, 110707. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110707>

- Espinosa-Antón, A. A., Hernández-Herrera, R. M., Pizano-Andrade, J. C., y Salcedo-Pérez, E. (2025). Botanical extracts with biostimulant potential for agriculture in Mexico: a review. *Biotecnia*, 27.
- Franzoni, G., Cocetta, G., Prinsi, B., Ferrante, A., y Espen, L. (2022). Biostimulants on crops: Their impact under abiotic stress conditions. *Horticulturae*, 8(3), 189. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8030189>
- Garza-Alonso, CA, Olivares-Sáenz, E., González-Morales, S., Cabrera-De la Fuente, M., Juárez-Maldonado, A., González-Fuentes, JA, Tortella, G., Valdés-Caballero, MV, y Benavides-Mendoza, A. (2022). Bioestimulación de la fresa: de los mecanismos de acción al crecimiento de las plantas y la calidad del fruto. *Plantas*, 11 (24), 3463. <https://doi.org/10.3390/plants11243463>
- Ghezal, N., Rinez, I., Sbai, H., Saad, I., Farooq, M., Rinez, A., y Haouala, R. (2016). Improvement of *Pisum sativum* salt stress tolerance by bio-priming their seeds using *Typha angustifolia* leaves aqueous extract. *South African Journal of Botany*, 105, 240-250. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.04.006>
- González, R. G. (2023). Plant hormesis: Revising of the concepts of biostimulation, elicitation and their application in a sustainable agricultural production. *Science of the Total Environment*, 894, 164883. <https://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164883>
- González-Morales, S., Solís-Gaona, S., Valdés-Caballero, M. V., Juárez-Maldonado, A., Loredó-Treviño, A., y Benavides-Mendoza, A. (2021). Transcriptomics of biostimulation of plants under abiotic stress. *Frontiers in Genetics*, 12, 583888. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.583888>
- Gottschalk, C., Zhang, S., Schwallier, P., Rogers, S., Bukovac, M. J., y Van Nocker, S. (2021). Genetic mechanisms associated with floral initiation and the repressive effect of fruit on flowering in apple (*Malus x domestica* Borkh). *PLoS One*, 16(2), e0245487.
- Gurjar, M. S., Ali, S., Akhtar, M., y Singh, K. S. (2012). Efficacy of plant extracts in plant disease management. <https://doi.org/10.4236/as.2012.33050>
- Hameed, A., Ahmed, M. Z., Hussain, T., Aziz, I., Ahmad, N., Gul, B., y Nielsen, B. L. (2021). Effects of salinity stress on chloroplast structure and function. *Cells*, 10(8), 2023.
- Han, M., Kasim, S., Yang, Z., Deng, X., Saidi, N. B., Uddin, M. K., y Shuib, E. M. (2024). Plant Extracts as Biostimulant Agents: A Promising Strategy for Managing

- Environmental Stress in Sustainable Agriculture. *Phyton* (0031-9457), 93(9). <https://doi.org/10.32604/phyton.2024.054009>
- Hasanuzzaman, M., y Fujita, M. (2022). Plant responses and tolerance to salt stress: physiological and molecular interventions. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 4810.
- Hou, S., Liu, Z., Shen, H., y Wu, D. (2019). Damage-associated molecular pattern-triggered immunity in plants. *Frontiers in plant science*, 10, 646. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00646>
- Howladar, S. M. (2014). A novel Moringa oleifera leaf extract can mitigate the stress effects of salinity and cadmium in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 100, 69-75. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.11.022>
- Jayakannan, M., Bose, J., Babourina, O., Rengel, Z., y Shabala, S. (2015). Salicylic acid in plant salinity stress signalling and tolerance. *Plant Growth Regulation*, 76, 25-40.
- Jayanthi, B., Ravi, M. S., Jothi, G., Hariharan, M., Dixit, S., Singh, S., y Raja, R. K. (2025). Enzyme evolution and antioxidant defense in salt-stressed Kunthali rice: A pathway to sustainable biocatalytic solutions for crop improvement. *International Journal of Biological Macromolecules*, 142385. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.142385>
- Jiang, Y., Yue, Y., Wang, Z., Lu, C., Yin, Z., Li, Y., y Ding, X. (2024). Plant Biostimulant as an environmentally friendly alternative to modern agriculture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(10), 5107-5121. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c09074>
- Kataria, S., y Verma, S. K. (2018). Salinity stress responses and adaptive mechanisms in major glycophytic crops: the story so far. *Salinity Responses and Tolerance in Plants, Volume 1: Targeting Sensory, Transport and Signaling Mechanisms*, 1-39. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75671-4_1
- Khoulati, A., Ouahhoud, S., Taibi, M., Ezrari, S., Mamri, S., Merah, O., y Saalaoui, E. (2025). Harnessing biostimulants for sustainable agriculture: innovations, challenges, and future prospects. *Discover Agriculture*, 3(1), 56.
- Kumar, S., Shenoy, S., Swamy, R. S., Ravichandiran, V., y Kumar, N. (2024). Fluoride-induced mitochondrial dysfunction and approaches for its intervention. *Biological Trace Element Research*, 202(3), 835-849.

- Latif, H. H., y Mohamed, H. I. (2016). Exogenous applications of moringa leaf extract effect on retrotransposon, ultrastructural and biochemical contents of common bean plants under environmental stresses. *South African journal of botany*, 106, 221-231. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.07.010>
- Lezoul, NEH, Belkadi, M., Habibi, F. y Guillén, F. (2020). Procesos de extracción con varios disolventes de compuestos bioactivos totales en diferentes órganos de tres plantas medicinales. *Molecules*, 25 (20), 4672. <https://doi.org/10.3390/molecules>
- Liang, X., Li, J., Yang, Y., Jiang, C., y Guo, Y. (2024). Designing salt stress-resilient crops: Current progress and future challenges. *Journal of integrative plant biology*, 66(3), 303-329. <https://doi.org/10.1111/jipb.13599>
- Ma, W., Wang, Y., Li, K., Lu, C., Hou, D., Li, Y., Liu, H., Wu, L., y Li, J. (2025). Physiological responses and assessment of salt tolerance of different blueberry cultivars under chloride stress. *Agronomy*, 15(2), 494. <https://doi.org/10.3390/agronomy15020494>
- Machado, R., y Serralheiro, R. (2020). Salt stress alleviation through fertilization in fruit crops. In *Fruit crops* (pp. 465-480). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818732-6.00033>
- Machado, RMA y Serralheiro, RP (2017). Salinidad del suelo: Efecto en el crecimiento de cultivos hortícolas. Prácticas de manejo para prevenir y mitigar la salinización del suelo. *Horticulturae*, 3 (2), 30. <https://doi.org/10.3390/horticulturae3020030>
- Mahmoud, G. A., Abbas, M. S., Soliman, A. S., y Selim, A. (2019). Effect of essential oils treatments on quality characteristics of Anna apple (*Malus domestica* Borkh) fruits during cold storage. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 19(6), 448-459. <https://doi.org/10.5829/idosi.aejaes.2019.448.459>
- Manja, K., y Aoun, M. (2019). The use of nets for tree fruit crops and their impact on the production: A review. *Scientia Horticulturae*, 246, 110-122. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.10.050>
- Martínez-Lorente, S. E., Martí-Guillén, J. M., Pedreño, M. Á., Almagro, L., y Sabater-Jara, A. B. (2024). Higher plant-derived biostimulants: mechanisms of action and their role in mitigating plant abiotic stress. *Antioxidants*, 13(3), 318.
- Merchaoui, H., Ksouri, R., Abdelly, C., y Hanana, M. (2022). Halophytes. tn: an innovative database for *Tunisian halophyte* plant identification, distribution and characterization. *Database*, 2022, baab082.
- Mohanavelu, A., Naganna, S. R., y Al-Ansari, N. (2021). Irrigation induced salinity and sodicity hazards on soil and groundwater: An overview of its causes, impacts and

- mitigation strategies. *Agriculture*, 11(10), 983.
<https://doi.org/10.3390/agriculture11100983>
- Moustakas, M., y Moustaka, J. (2026). "Molecular Mechanisms of Plant Biostimulants". *International Journal of Molecular Sciences*, 27(1), 517.
- Naboulsi, I., Ben Mrid, R., Ennoury, A., Zouaoui, Z., Nhiri, M., Ben Bakrim, W., y Aboulmouhajir, A. (2022). *Crataegus oxyacantha* extract as a biostimulant to enhance tolerance to salinity in tomato plants. *Plants*, 11(10), 1283.
<https://doi.org/10.3390/plants11101283>
- Naeem, M., Iqbal, M., Shakeel, A., Ul-Allah, S., Hussain, M., Rehman, A., y Ashraf, M. (2020). Genetic basis of ion exclusion in salinity stressed wheat: implications in improving crop yield. *Plant Growth Regulation*, 92(3), 479-496.
- Negacz, K., Malek, Ž., de Vos, A., y Vellinga, P. (2022). Saline soils worldwide: Identifying the most promising areas for saline agriculture. *Journal of arid environments*, 203, 104775. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2022.104775>
- Nessim, A., y Kasim, W. (2019). Physiological impact of seed priming with CaCl₂ or carrot root extract on *Lupinus termis* plants fully grown under salinity stress. *Egyptian Journal of Botany*, 59(3), 763-777. <https://doi.org/10.21608/ejbo.2019.8026.1289>
- Neocleous, D., y Vasilakakis, M. (2007). Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. 'Autumn Bliss'). *Scientia horticulturae*, 112(3), 282-289.
- Okur, B. y Örcen, N. (2020). Salinización del suelo y cambio climático. Cambio climático e interacciones del suelo, 331–350. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818032-7.00012>
- Passa, K., Gerakari, M., Goufa, M., Tani, E., y Papatotiropoulos, V. (2026). Salinity Stress in Strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.): Biological Intervention Strategies and Breeding Approaches for Salt-Tolerant Cultivars. *Plants*, 15(3), 432.
- Rady, M. M., Talaat, N. B., Abdelhamid, M. T., Shawky, B. T., y Desoky, E. S. M. (2019). Maize (*Zea mays* L.) grains extract mitigates the deleterious effects of salt stress on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) growth and physiology. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 94(6), 777-789.
<https://doi.org/10.1080/14620316.2019.1626773>
- Rady, M. M., Varma, B., y Howladar, S. M. (2013). Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings overcome NaCl stress as a result of presoaking in *Moringa oleifera* leaf extract. *Scientia Horticulturae*, 162, 63-70.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.07.046>

- Rady, M. M., y Mohamed, G. F. (2015). Modulation of salt stress effects on the growth, physio-chemical attributes and yields of *Phaseolus vulgaris* L. plants by the combined application of salicylic acid and *Moringa oleifera* leaf extract. *Scientia Horticulturae*, 193, 105-113. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.07.003>
- Rahman, M. S., y Rahman, M. S. (2021). Effects of elevated temperature on prooxidant-antioxidant homeostasis and redox status in the American oyster: Signaling pathways of cellular apoptosis during heat stress. *Environmental Research*, 196, 110428.
- Ravindran, K. C., Venkatesan, K., Balakrishnan, V., Chellappan, K. P., y Balasubramanian, T. (2007). Restoration of saline land by halophytes for Indian soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(10), 2661–2664. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.02.005>
- Rouphael, Y., y Colla, G. (2020). Editorial: Biostimulants in agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 11, 40. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00040>
- Sadiq, A., Khumalo, N. P., y Bayat, A. (2024). Development and validation of novel keloid-derived immortalized fibroblast cell lines. *Frontiers in Immunology*, 15, 1326728.
- Saini, N., Anmol, A., Kumar, S., Wani, A. W., Bakshi, M., y Dhiman, Z. (2024). Exploring phenolic compounds as natural stress alleviators in plants-a comprehensive review. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 102383. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2024.102383>
- Sharma, S., Rana, V. S., Kumari, M., y Mishra, P. (2018). Biofertilizers: boon for fruit production. *J. Pharm. Phytochem*, 7, 3244-3247.
- Shi, X., Wang, H., Song, J., Lv, X., Li, W., Li, B., y Shi, J. (2021). Impact of saline soil improvement measures on salt content in the abandonment-reclamation process. *Soil and Tillage Research*, 208, 104867. <https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104867>
- Singh, A. (2022). Soil salinity: A global threat to sustainable development. *Soil Use and Management*, 38(1), 39-67.
- Singh, A. N. S. H. U. M. A. N., Sharma, D. K., Kumar, R., Kumar, A. S. H. W. A. N. I., Yadav, R. K., y Gupta, S. K. (2018). Soil salinity management in fruit crops: a review of options and challenges. *Engineering Practices for Management of Soil Salinity-Agricultural, Physiological, and Adaptive Approaches*. New Jersey: Apple Academic Press Inc, 39-85.

- Singh, A., y Sharma, P. C. (2018). Recent insights into physiological and molecular regulation of salt stress in fruit crops. *Adv. Plants Agric. Res*, 8(2), 171-183. DOI: 10.15406/apar.2018.08.00309
- Soltabayeva, A., Ongaltay, A., Omondi, J. O., y Srivastava, S. (2021). Morphological, physiological and molecular markers for salt-stressed plants. *Plants*, 10(2), 243.
- Soni, A., Dhakar, S., y Kumar, N. (2017). Mechanisms and strategies for improving salinity tolerance in fruit crops. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(8), 1917-1924.
- Srivastava, P., Wu, Q. S., y Giri, B. (2019). Salinity: an overview. *Microorganisms in saline environments: strategies and functions*, 3-18.
- Suryaman, M., Sunarya, Y., Istarimila, I., y Fudholi, A. (2021). Effect of salinity stress on the growth and yield of mungbean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) treated with mangosteen pericarp extract. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 36, 102132. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102132>
- Teklić, T., Parađiković, N., Špoljarević, M., Zeljković, S., Lončarić, Z., y Lisjak, M. (2021). Linking abiotic stress, plant metabolites, biostimulants and functional food. *Annals of Applied Biology*, 178(2), 169-191. <https://doi.org/10.1111/aab.12651>
- Tomaz, A., Palma, P., Alvarenga, P. y Gonçalves, MC (2020). *Riesgo de salinidad del suelo en un escenario de cambio climático y su efecto en el rendimiento de los cultivos. Cambio climático e interacciones del suelo*, 351–396. doi:10.1016/b978-0-12-818032-7.00013-8
- Tudu, C. K., Dey, A., Pandey, D. K., Panwar, J. S., y Nandy, S. (2022). Role of plant derived extracts as biostimulants in sustainable agriculture: A detailed study on research advances, bottlenecks and future prospects. En *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 159-179). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85579-2.00017-4>
- Ud Din, MM, Khan, MI, Azam, M., Ali, MH, Qadri, R., Naveed, M. y Nasir, A. (2023). Efecto de la adición de biocarbón y compost en la mitigación del estrés salino y la mejora de la calidad del fruto del tomate. *Agronomía*, 13 (9), 2197. <https://doi.org/10.3390/agronomy13092197>
- Vargas-Hernández, M., Macias-Bobadilla, I., Guevara-González, R. G., Romero-Gómez, S. D. J., Rico-García, E., Ocampo-Velázquez, R. V., y Torres-Pacheco, I. (2017). Plant hormesis management with biostimulants of biotic origin in agriculture. *Frontiers in plant science*, 8, 1762. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01762>

- Wang, X., Chen, Z., y Sui, N. (2024). Sensitivity and responses of chloroplasts to salt stress in plants. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1374086.
- Witt, KL, van Benthem, J., Kobets, T., Chen, G., Kelber, O., Krzykwa, J., y Pfuhler, S. (2025). Propuesta de estrategia de cribado para evaluar el potencial genotóxico de productos y extractos botánicos. *Toxicología de Alimentos y Química*, 115277.
- Wu, Y., Zhang, S., Huang, X., Lyu, L., Li, W., y Wu, W. (2022). Genome-wide identification of WRKY gene family members in black raspberry and their response to abiotic stresses. *Scientia Horticulturae*, 304, 111338. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111338>
- Yakhin, O. I., Lubyantsev, A. A., Yakhin, I. A., y Brown, P. H. (2017). Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02049>
- Zahid, G., Iftikhar, S., Shimira, F., Ahmad, H. M., y Kaçar, Y. A. (2023). An overview and recent progress of plant growth regulators (PGRs) in the mitigation of abiotic stresses in fruits: A review. *Scientia Horticulturae*, 309, 111621. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111621>
- Zhang, X., Yin, J., Ma, Y., Peng, Y., Fenton, O., Wang, W., y Chen, Q. (2024). Unlocking the potential of biostimulants derived from organic waste and by-product sources: improving plant growth and tolerance to abiotic stresses in agriculture. *Environmental Technology and Innovation*, 34, 103571. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2024.103571>
- Zörb, C., Geilfus, C. M., y Dietz, K. J. (2019). Salinity and crop yield. *Plant biology*, 21, 31-38. <https://doi.org/10.1111/plb.12884>
- Zulfiqar, F., Casadesús, A., Brockman, H. y Munné-Bosch, S. (2020). Una visión general de los bioestimulantes naturales de origen vegetal para la horticultura sostenible, con especial atención a los extractos de hojas de moringa. *Plant Science*, 295, 110194.

CAPÍTULO II

EXTRACTO DE *Heterotheca inuloides* Cass. COMO BIOESTIMULANTE DEL CRECIMIENTO Y CALIDAD DE FRAMBUESA (*Rubus idaeus* L.) EN CONDICIONES DE ESTRÉS SALINO

RESUMEN

La frambuesa (*Rubus idaeus* L.) se ve afectada por diferentes tipos de estrés, entre ellos se encuentra el estrés salino; esto provoca una disminución en la producción y calidad del fruto. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del extracto de árnica en plantas de frambuesa bajo condiciones de estrés salino (cuatro concentraciones de cloruro de sodio, 0 mM, 30 mM, 50 mM y 80 mM) y con aplicación de extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹) y plantas sin aplicación de cloruro de sodio y sin aplicación de extracto. En plantas expuestas a estrés salino con la aplicación de extracto de árnica aumenta la concentración de antocianinas, fenoles, flavonoides, actividad antioxidante por ABTS, azúcares totales, enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa y peroxidasa en frutos de frambuesa var. Adelita. Estos resultados sugieren que la aplicación de extracto de *H. inuloides* en plantas de frambuesa bajo estrés salino fortalece el sistema antioxidante enzimático y no enzimático en frutos de frambuesa var. Adelita.

PALABRAS CLAVE: Agricultura orgánica, bioproductos, compuestos enzimáticos y compuestos no enzimáticos

1. INTRODUCCIÓN

En México se tuvo una producción de frambuesa de 178,667.24 toneladas en el 2022, colocando a nuestro país como uno de los principales productores a nivel mundial. Las frambuesas mexicanas se han exportado a 33 países, aunque el principal país importador es Estados Unidos (SIAP, 2022). La frambuesa (*Rubus idaeus* L.), es una baya con un alto contenido de compuestos nutricionales y bioactivos (Kotula et al., 2022). Son apreciados por el aporte de compuestos como fructosa, glucosa, proteínas, minerales (K, Ca, Mg, Fe, Zn y Mn), ácido ascórbico, carotenoides y compuestos fenólicos (antocianinas, flavonoides y ácidos fenólicos), por lo que se ha generado una alta demanda el consumo de estos frutos (Schulz y Chim, 2019), debido a que, presentan propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas, antivascuales y neurodegenerativas (Aguilar et al., 2023). Sin embargo, uno de los principales factores que limitan el crecimiento y producción de frambuesa es la presencia de salinidad del suelo (Ali et al., 2020). Ya que, esta limita la entrada del agua a las plantas, lo que origina deshidratación celular, toxicidad iónica, desequilibrio nutricional y aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales afectan lípidos, proteínas y ADN causando daño celular (González-García et al., 2021). Como una alternativa al problema de salinidad, surge el uso de bioestimulantes. En este sentido se ha observado que los metabolitos secundarios de tipo fenólico (ácido gálico, ácido ascórbico, ácido ferúlico, ácido vainílico), fitohormonas (ácido indolacético, brasinoesteroides, metil-jasmonato) de plantas han mostrado actividades bioestimulantes al mitigar el estrés por salinidad (Ben Mrid et al., 2021). Al respecto, se han realizado trabajos con extractos vegetales como bioestimulantes, (Hassanein et al., 2019), utilizaron extractos de *Moringa oleífera* y *Moringa peregreña* como bioestimulantes de albahaca dulce cultivada bajo estrés salino, y observaron un aumento en el crecimiento, peso fresco y peso seco de los brotes. (Ertani et al., 2013), examinaron los efectos del bioestimulante a base de *Medicago sativa* en plantas de maíz estresadas por sal, y encontraron que el extracto aumentó la biomasa. (Grajkowski y Ochmian, 2007), probaron la influencia de tres bioestimulantes, Atonik SL, Biochikol 020 PC y Tytanit, en el rendimiento y la calidad de frutos de frambuesa (Pokusa,

Polka y Poranna Rosa) y observaron una mayor firmeza, tamaño, contenido de sólidos solubles totales y vitamina C en los frutos. Aguilar et al. (2023), aplicaron ácidos húmicos, fúlvicos y extractos de algas como bioestimulantes en frambuesa generando un aumento en el contenido de flavonoides, antocianinas, ácido palmítico y contenido de °Brix en frutos. Garza-Alonso et al. (2022) probaron extractos de *Moringa oleifera* en fresa, obteniendo una mayor firmeza, sólidos solubles totales, vitamina C, antocianinas y rendimiento.

Al respecto, se menciona que el mecanismo de acción específico de los extractos botánicos como bioestimulantes podría relacionarse con la disponibilidad de compuestos bioactivos como los compuestos fenólicos, compuestos osmoprotectores, antioxidantes, vitaminas y fitohormonas, compuestos que se reportan en árnica (*Heterotheca inuloides*) (Rodríguez-Chávez et al., 2017), esta planta crece abundantemente en México, se emplea tradicionalmente entre la población con fines antiinflamatorio, analgésico y ulcerogénico (Gené et al., 1998). Por lo anterior, el objetivo del trabajo fue evaluar el efecto del extracto de árnica en plantas de frambuesa bajo condiciones de estrés salino, sobre las características agronómicas, fisicoquímicas, enzimáticas y metabolitos secundarios con actividad antioxidante.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material vegetal

Se utilizó la parte aérea de la planta (hojas y flores) de árnica (*Heterotheca inuloides*), las cuales fueron colectadas en el municipio de San Diego Texmelucan, Puebla, México, ubicado al N 19°17'3.52", O 98°26'19.86" con una altitud de 2580 msnm. Su clima es templado y subhúmedo con lluvias en verano. Las flores y hojas de árnica se llevaron al laboratorio pos-cosecha del Instituto de Ciencias (ICAp) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), y se ultracongelaron a -75°C durante 48 horas (ultracongelador, Thermo Scientific 303, EE. UU), posteriormente se liofilizaron (Liofilizadora Labconco, Modelo 79480, Kansas City, MO, EE. UU), y se molieron con un

molino de cuchillas (RTSCH GM-200, Haan Alemania) a 9000 rpm durante 50 s hasta obtener un polvo fino.

2.2 Preparación del extracto de árnica

Las hojas y flores de árnica se mezclaron con 1000 mL de etanol al 80 %, se maceraron por 7 días y se filtró utilizando papel filtro Whatman no. 2. El disolvente orgánico se eliminó por destilación a presión reducida con un rotavapor (BUCHI R-215), conectado a una bomba de vacío (BUCHI Vacuum Pump V-700), se destiló a 45 °C y 75 rpm, el extracto se almacenó a 5 °C y se determinó el rendimiento del extracto mediante la siguiente fórmula de acuerdo con (García *et al.*, 2010):

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{PE}{PI} \times 100$$

Donde:

PE = Peso obtenido después de la extracción

PI = Peso inicial del material vegetal a extraer

2.3 Caracterización del extracto de árnica

2.3.1 Fenoles totales

Mediante el ensayo Folin-Ciocalteu, descrito por (Singleton *et al.*, 1999), se determinaron fenoles totales, por espectrofotometría con base a una reacción de óxido-reducción en donde el solvente empleado para la preparación de las muestras fue etanol al 80 %. Posteriormente, 0.5 mL de la muestra se mezcló con 0.5 mL del reactivo Folin Ciocalteu al 50 % en agua. La mezcla se dejó reposar durante 7 min, después se le agregó 1.5 mL de carbonato de sodio al 7.5 % y la mezcla se dejó reaccionar en la oscuridad durante 60 min. se midió la absorbancia a 725 nm en un espectrofotómetro (modelo 6715 UV/visible, Jenway, Techne Inc. EUA). Los resultados finales se expresaron en equivalente de ácido gálico por mg de extracto.

2.3.2 Flavonoides

El contenido de flavonoides totales se determinó por el método de (Rosales *et al.*, 2011). Usando el mismo disolvente descrito anteriormente en la preparación de la muestra. 2

mL de la muestra se mezcló con 1.5 mL de nitrito de sodio y 2 mL de agua, esta mezcla se dejó reposar en la oscuridad por 5 min. Se añadió a la mezcla 1.5 mL de tricloruro de aluminio y 1 mL de hidróxido de sodio y se dejó reposar durante otros 20 min. La absorbancia se midió a 415 nm en un espectrofotómetro (modelo 6715 UV/visible, Jenway, Techne Inc. EUA). Los resultados se expresaron como mg equivalentes de quercetina por mg de extracto.

2.3.3 Actividad antioxidante por DPPH y ABTS

La actividad antioxidante se determinó mediante DPPH para compuestos lipofílicos y por ABTS^{•+} para compuestos lipofílicos e hidrofílicos. Para determinar la actividad antioxidante por el método de ABTS^{•+} se empleó la metodología descrita por Re *et al.* (1999). Primero se preparó el radical ABTS^{•+}, mezclando ABTS a 7mM y persulfato de potasio a 2.45 mM, la solución se dejó en agitación constante y en completa oscuridad durante 16 horas. Después se mezcló 0.1 mL de muestra con la solución ABTS^{•+} y se dejó reposar durante 6 min. Posteriormente, se midió la absorbancia a 734 nm en un espectrofotómetro (modelo 6715 UV/visible, Jenway, Techne Inc. EUA). Los resultados se expresaron en micromolares equivalentes de Trolox por gramo de peso seco ($\mu\text{M TE g}^{-1}$ PS).

Por otro lado, la actividad antioxidante por el método DPPH, se realizó de acuerdo con la metodología Brand- Williams *et al.* (1995). Se preparó una solución etanólica a 6×10^{-5} M de DPPH, la cual se dejó en agitación en completa oscuridad durante 2 horas. Posteriormente, se mezcló 0.5 mL de la muestra con el reactivo DPPH y se dejó reaccionar durante 1h a 4°C, después, se midió la absorbancia a 517nm. Los resultados se expresaron en micromolares equivalentes de Trolox por gramo de peso seco ($\mu\text{M TE g}^{-1}$ PS).

2.4 Establecimiento del cultivo

El experimento se realizó durante los meses de marzo a octubre de 2022 en el invernadero del ICAp de la UAEH, con temperaturas que oscilaron entre $22 \pm 2^\circ\text{C}$ y la humedad relativa se mantuvo en $\geq 70\%$, se utilizaron plántulas de frambuesa var. 'Adelita',

provenientes de Michoacán, México, las cuales se trasplantaron en bolsas de plástico de polietileno negro de 4 L. Se utilizó como sustrato una mezcla de peat moss y perlita agrolita, en una proporción (1:1) en volumen base. Se realizó un riego diariamente, aplicando por bolsa 1000 mL de la solución nutritiva Steiner, 25 % durante la etapa vegetativa, 50 % durante la etapa de floración, 75% durante el cuajado del fruto y 100 % durante el llenado y cosecha del fruto, según la metodología descrita por (Steiner, 1961).

2.5 Preparación del extracto de árnica

Se diluyeron 1 g de extracto etanólico de árnica con 2 mL de etanol, posteriormente se añadieron 1000 mL de agua destilada y 1 mL L⁻¹ del adherente Bionex, se agitaron a 350 rpm a 15°C en un agitador magnético (marca VELP SCIENTIFICA modelo Multistirrer), durante 25 minutos.

2.6 Diseño de tratamientos

Se utilizaron tres concentraciones de cloruro de sodio 30mM, 50mM y 80 mM y una concentración de EXHi (1000 mg L⁻¹). Se tuvieron cinco tratamientos: T1, Plantas sin aplicación de cloruro de sodio y sin aplicación de extracto de árnica (0mM+0EXHi); T2, plantas con aplicación de 30 mM de cloruro de sodio y extracto de árnica (1000 mg L⁻¹) (30mM+EXHi); T3, plantas con aplicación de 50 mM de cloruro de sodio y extracto de árnica (1000 mg L⁻¹) (50mM+EXHi); T4, plantas con aplicación de 80mM de cloruro de sodio y extracto de árnica (1000 mg L⁻¹) (80mM+EXHi) y T5, plantas sin aplicación de cloruro de sodio y extracto de árnica (1000 mg L⁻¹) (0mM+EXHi).

2.7 Manejo del cultivo

Las aplicaciones foliares del extracto de árnica se realizaron a los 30, 45, 60, 75 y 90 días después del trasplante de las plantas de frambuesa. La aplicación foliar del extracto se realizó asperjando uniformemente el haz y envés de las hojas y se utilizaron 75 mL por planta, en cada aplicación. Los frutos se cosecharon a las 17 semanas después del trasplante considerando la madurez comercial, cuando el color de la superficie del fruto estuviera de color rojo.

2.8 Variables de estudio

2.8.1 Variables agronómicas

La altura de la planta se midió utilizando una cinta métrica. El número de flores y número de frutos por planta se realizó mediante un conteo. El peso del fruto se realizó mediante una balanza digital (Scout Pro OHAUS) y el diámetro de tallo, diámetro ecuatorial y diámetro polar de frutos, se midió con un vernier digital (CALIPER).

2.8.2 Variables fisicoquímicas

Los sólidos solubles totales, se determinaron mediante un refractómetro digital (PR ATAGO Co. Ltd., Minato, Tokio, Japón), con una escala de 0-45 %, expresando los valores en °Brix. El pH se determinó con un potenciómetro digital (550 OAKTON), Color del fruto (L^* , a^* y b^*) mediante un colorímetro HunterLab (Minolta CM508d, Minolta Camera Co. Ltd., Osaka, Japón), según (Monroy-Gutiérrez et al., 2017). La acidez titulable se realizó de acuerdo con el método de la AOAC 942.15 (1995). A la muestra (10 g) se le agregaron 50 mL de agua destilada, se molió (licuadora Osterizer) Blender Classic Mod BLSTBC4129-'13), se midió el volumen total y se tomaron 10 mL de la muestra y se adicionaron 3 gotas de fenoftaleína al 1 % y se tituló con NaOH 0.1 N. El porcentaje de acidez se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ ácido cítrico} = (mLNaOH * NNaOH * meq * VT100)/(A * g)$$

Dónde:

$mL NaOH$ = mililitros de hidróxido de sodio gastados en la titulación.

N = es la normalidad del hidróxido de sodio.

meq = miliequivalentes del ácido cítrico (0.064).

VT = corresponde al volumen de la muestra preparada.

A = alícuota tomada para la medición.

g = peso de la muestra

Los frutos se almacenaron en un ultracongelador (Thermo Scientific 303, EE.UU), a una temperatura de -75 °C, después se liofilizaron (Labconco, Modelo 79480, Kansas City, MO, EE.UU.) durante 72 h, posteriormente, se molieron con un molino de cuchillas (RTSCH GM-200, Haan Alemania) y se almacenaron a 5 °C hasta su análisis.

2.9 Variables antioxidantes

Las metodologías para la determinación de fenoles totales Singleton et al. (1999), flavonoides totales Rosales et al. (2011) y actividad antioxidante por ABTS Brand-Williams et al. (1995) y DPPH Re et al. (1999), se encuentran descritas en el apartado de la caracterización del extracto de árnica.

2.9.1 Antocianinas

La determinación de antocianinas se llevó a cabo mediante la metodología (Giusti y Wrolstad, 2001), la muestra liofilizada se mezcló con 2 mL de etanol al 80 %, posteriormente la mezcla fue centrifugada a 4000 x g por 10 minutos. Se colocó 400 μ L de sobrenadante en un tubo al cual se le agregó 1600 μ L de la solución (acetato de sodio al 0.4 M y cloruro de potasio al 0.25 M). Se agitó en un vortex y se midió la absorbancia de cada solución a 510 y 700 nm en un Lector de microplacas (Marca ALLSHENG Modelo AMR-100). El contenido total de antocianinas se expresó en mg 100 g⁻¹ PS.

2.9.2 Vitamina C

La determinación de vitamina C se realizó de acuerdo con la metodología desarrollada por Dürüst et al. (1997). La muestra (10 mg) se mezcló con 10 mL de solución de ácido metafosfórico al 3% (v/v), se sónico por 15 minutos en un baño ultrasónico (Mod. 32V118A, Freeport, IL, EUA) y la mezcla sonicada fue centrifugada a 10,000 x g por 10 min. Se agregaron 2 mL de sobrenadante a 2 mL de tampón a pH 4 (ácido acético glacial: acetato de sodio al 5 % (p/v), 1:1), 3 mL de dicloroindofenol y 15 mL de xileno, mezclándose fuertemente. Se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (modelo 6715 UV/Vis, Jenway, Techne Inc., Staffordshire, Reino Unido) a 520 nm. Los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de ácido ascórbico por gramo de peso seco (mg AA g⁻¹ PS).

2.10 Azúcares totales, azúcares reductores y azúcares no reductores

El contenido total de azúcares se determinó empleando la metodología de Zahedi-Hosseini, et al. (2019). Se mezcló 10 mg de muestra liofilizada con 10 mL de agua destilada. Las muestras se centrifugaron a 10,000 x g durante 10 min a 4 °C (Thermo Scientific Mod. ST 16R, Alemania). El sobrenadante se combinó con 5 mL de antrona, se

llevó a ebullición durante 10 min, después se dejó enfriar a temperatura ambiente, y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (Mod. 6715 UV/Visible, Jenway, Techne Inc, USA), a 625 nm. Los resultados, se expresaron como miligramos de glucosa equivalente por gramo de peso seco (mg EG g⁻¹ PS).

El contenido de azúcares reductores se evaluó según lo establecido por el método DNS (ácido 3,5 dinitrosalicílico) de acuerdo con Ávila et al. (2012). Se mezcló 0.5 mL del reactivo DNS con 10 mg de muestra liofilizada. Los tubos se colocaron en ebullición por 5 min, la reacción se detuvo con agua fría con hielo y se añadió 5 mL de agua destilada, los tubos se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro (Mod. 6715 UV/Visible, Jenway, Techne Inc, USA) a 540 nm.

El contenido de los azúcares no reductores se obtuvo por diferencia entre azúcares totales y azúcares reductores. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de glucosa por gramo de peso seco (mg EG g⁻¹ PS).

2.11 Actividad antioxidante enzimática

La actividad de la superóxido dismutasa y la catalasa se evaluó de acuerdo con los métodos de (Balois-Morales et al., 2008). Una muestra conocida de pera se mezcló con 5 mL de una solución tampón de fosfato 0,05 M, pH 7,8, que se centrifugó a 10.000 x g durante 15 minutos a 4 °C después. La actividad de la SOD se evaluó mediante el seguimiento de la inhibición de la reacción fotoquímica del nitroazul de tetrazolio (NBT). Los resultados se expresaron en unidades internacionales por gramo de proteína (U mg⁻¹ proteína), donde 1 U es la cantidad de enzima necesaria para provocar una inhibición del 50 % de la reducción de la NBT. Mientras que la actividad de la catalasa se determinó mediante el cambio de absorbancia durante 3 min a 240 nm. La actividad de la enzima ascorbato peroxidasa se evaluó según el método propuesto por (Proietti et al., 2013). La actividad APx se calculó en función del coeficiente de extinción molar del ascorbato (2,8 mM⁻¹cm⁻¹).

La actividad de la peroxidasa de guayacol se realizó mediante la oxidación de guayacol a tetraguayacol, según el método descrito por (Vanegas et al., 2022). La formación de tetraguayacol se registró cada 10 s durante 3 min a una longitud de onda de 470 nm. La actividad de las oxidasas de polifenol se siguió mediante la oxidación de catecol a o-diquinona a una longitud de onda de 470 nm durante 3 min, según el método propuesto por Vanegas et al. (2022). Los resultados de estas enzimas se expresaron en unidades internacionales por gramo de proteína (U mg^{-1} proteína). El contenido de proteína se determinó mediante el método de (Bradford, 1976), utilizando albúmina sérica bovina (BSA) como estándar.

2.12 Marcadores de estrés

La determinación de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) se realizó según Junglee et al. (2014). Para su cuantificación se utilizó una curva estándar de H_2O_2 ; los resultados se expresaron como nanomoles de H_2O_2 por gramo de peso seco (nmol g^{-1} PS).

La peroxidación lipídica fue evaluada por Pasquariello et al. (2013) cuantificando los niveles de malondialdehído (MDA), que forma un complejo coloreado cuando reacciona con ácido tiobarbitúrico (TBA) a una absorción máxima de 532 nm. La concentración de MDA se calculó con base en el coeficiente de extinción molar de $1.56 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Los resultados se expresaron como milimoles de malondialdehído por gramo de peso seco (mM MDA g^{-1} PS).

2.13 Prolina

La prolina se determinó de acuerdo con la metodología descrita por Bates et al. (1973), con algunas modificaciones, y se expresó como mg g^{-1} de PS. 50 mg de tejido liofilizado se homogeneizaron con 1000 μL de ácido sulfosalicílico (3%), y la muestra se centrifugó a $15.000 \times g$ a temperatura ambiente durante 5 min y se filtró en papel Whatman No. 2. Posteriormente, 200 μL del filtrado se mezclaron con 200 μL de ninhidrina ácida y 200 μL de ácido acético glacial en un tubo de ensayo durante 1 hora a 100°C , y la reacción se terminó en un baño de hielo. La mezcla de reacción se extrajo con 1000 μL de tolueno y se mezcló vigorosamente con un agitador de tubos de ensayo durante 20 s. El cromóforo

que contenía tolueno se aspiró de la fase acuosa y se calentó a temperatura ambiente, y se leyó la absorbancia a 250 nm utilizando tolueno como blanco. Para cuantificar la cantidad de prolina en las muestras, se utilizó un estándar de 1-prolina.

2.14 Análisis Estadístico.

Se tuvieron tres repeticiones por tratamiento y nueve plantas por cada tratamiento en un diseño de bloques completos al azar. Se llevó a cabo un análisis de varianza y la media LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$) para analizar las variables agronómicas, fisicoquímicas, compuestos bioactivos y enzimáticos no antioxidantes se utilizó el software Infostat (v2020).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Extracto de árnica

El extracto acuoso al 80 % de árnica (*Heterotheca inuloides*) presentó un rendimiento de 12.82 %, un contenido de fenoles totales y flavonoides totales de 69.71 ± 2.02 mg EAG/g MS y 228.62 ± 0.63 mg Q/g MS respectivamente, para la actividad antioxidante por ABTS el valor fue de $345.48 \mu\text{M TE/g}$ y para DPPH el valor fue de $154.97 \mu\text{M TE/g}$ (Cuadro 1).

Cuadro 1. Rendimiento, fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante (ABTS y DPPH) del extracto etanólico al 80% de *Heterotheca inuloides*.

Extracto	Disolvente	Rendimiento (%)	Fenoles (mg EAG/g)	Flavonoides (mg EQ/g)	ABTS ($\mu\text{M TE/g MS}$)	DPPH ($\mu\text{M TE/g MS}$)
<i>Heterotheca inuloides</i>	Etanol 80%	12.82%	69.71 ± 2.02	228.62 ± 0.63	345.48 ± 0.37	154.97 ± 0.40

EAG: Equivalentes de ácido gálico EQ: Equivalente de quercetina; TE Equivalente de Trolox. Los resultados se expresan como la media $\pm$ SD de tres repeticiones.

El rendimiento del extracto fue mayor que el obtenido por García-Pérez et al. (2016), esto puede deberse a la solubilidad de los metabolitos secundarios con los disolventes empleados, además de la naturaleza y cantidad de fitoquímicos extraídos (Dirar et al., 2019). En cuanto a los fenoles totales, flavonoides totales y la actividad antioxidante por

ABTS y DPPH, dependen en gran medida del disolvente, polaridad del disolvente, técnica empleada y de la parte vegetal utilizada para la extracción (Wakeel et al., 2019).

3.2 Morfología

En la Figura 1, se observa que las plantas de frambuesa sin estrés salino y con aplicación de extracto de árnica mostraron un crecimiento vigoroso y sin daño foliar; sin embargo en plantas con aplicación salina a baja concentración y extracto de árnica (30mM+EXHi), se muestra clorosis en las hojas apicales de la planta, mientras que en las plantas con salinidad media y extracto de árnica (50mM+EXHi), se observa clorosis en las hojas basales de la planta y con una dosis alta de salinidad y extracto de árnica (80mM+EXHi) se muestra un daño foliar visible mediante la aparición de lesiones necróticas en las hojas y muerte de la planta.



nM+0EXHi

0mM+EXHi

30mM+EXHi

50mM+EXHi

80mM+EXHi

Figura 1. Apariencia morfológica de plantas de frambuesa (*Rubus idaeus*) tratadas con extracto de árnica (*Heterotheca inuloides*) y sometida a estrés salino (NaCl). Tratamientos: 0 mM+0EXHi: plantas sin NaCl ni extracto de árnica (control); 30 mM+EXHi: plantas tratadas con 30 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 50 mM+EXHi plantas tratadas con 50 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 80 mM+EXHi: plantas tratadas con 80 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 0 mM+EXHi: plantas tratadas con extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹), pero sin NaCl.

En general se observaron afectaciones en la biomasa y los rasgos morfológicos de las plantas de frambuesa sometidas con NaCl y EXHi, el estrés salino redujo la capacidad

de la planta para absorber agua, afectando la transpiración y fotosíntesis de las hojas (Taffouo et al., 2017), también se desencadena la síntesis del etileno, hormona que provoca la abscisión de las hojas y con ello una reducción del área foliar (Acosta-Motos et al., 2017). Por otro lado, la aplicación de EXHi, mostró un incremento en el desarrollo de las plantas de frambuesa, esto se debe a que, el extracto de árnica es rico en antioxidantes como kaempferol y catequinas que al aplicarlo de forma exógena al cultivo mejora el espesor y la expansión de las hojas, incrementa el parénquima esponjoso y turgencia en la célula, además de promover el crecimiento (Ahmad et al., 2022).

3.3 Variables agronómicas

Las plantas bioestimuladas con extracto de árnica (0mM+EXHi), mostraron un aumento del 9.2 % y 40.6 % en altura de planta y diámetro del tallo respectivamente, en comparación con las plantas sin aplicación de sal y sin aplicación de extracto (0mM+0EXHi), sin embargo en las plantas estresadas a distintas concentraciones salinas se redujo la altura de planta en un 14.0 % (30mM+EXHi); 53.0 % (50mM+EXHi) y 48.0 % (80mM+EXHi), y en diámetro de tallo en un 14.5 % (30mM+EXHi), 23.2 % (50mM+EXHi) y 42.0 % (80mM+EXHi) (Figura 2). Esto se debe al estrés osmótico que genera el estrés salino, donde hay una limitación en la entrada de agua a las plantas (Bistgani et al., 2019), produciendo pérdida de turgencia, deshidratación celular, toxicidad iónica, aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), afectando a las proteínas, lípidos, ADN y ocasionando daño celular (González-García et al., 2021).

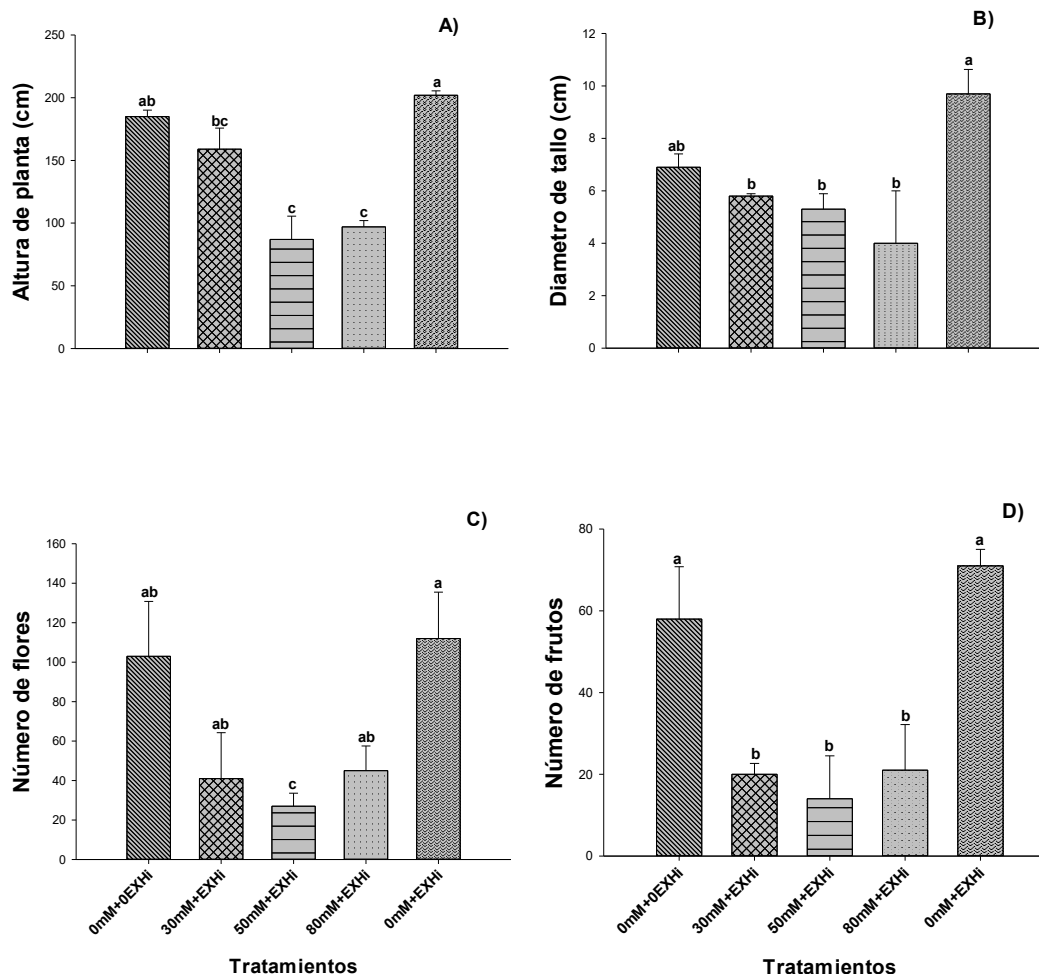


Figura 2. Variables agronómicas de los frutos de frambuesa (*Rubus idaeus*) tratadas con extracto de árnica (*Heterotheca inuloides*) y sometidos a estrés salino (NaCl). (A) altura de la planta, (B) diámetro del tallo, (C) número de flores y (D) número de frutos. Tratamientos: 0 mM+0EXHi: plantas sin NaCl ni extracto de árnica (control); 30 mM+EXHi: plantas tratadas con 30 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 50 mM+EXHi plantas tratadas con 50 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 80 mM+EXHi: plantas tratadas con 80 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 0 mM+EXHi: plantas tratadas con extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹), pero sin NaCl. Los valores con diferentes letras en cada columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el control de acuerdo con el LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$). Los datos se expresan como media $\pm$ error estándar (n = 9).

La aplicación foliar del extracto de árnica en las plantas de frambuesa incrementó la altura de planta y diámetro de tallo, esto se debe a la presencia de varios compuestos fitoquímicos como K, P, Ca y fitohormonas como el ácido indolacético y las giberelinas presentes en las hojas de las plantas, que al aplicarlas de forma exógena influyen en cada fase de crecimiento y desarrollo de la planta (Arif et al., 2023). Al respecto Neocleous y Vasilakakis (2007), observaron que el aumento en la concentración de sal

en la solución nutritiva condujo a una disminución en la capacidad fotosintética de las hojas y con ello a una disminución en el crecimiento de las plantas de frambuesa, mientras que Hassanein et al. (2019), indican que al aplicar extractos de *Moringa oleífera* y *M. peregreña*, aumentaron el número de ramas de plantas de albahaca dulce cultivadas con estrés salino.

3.4 Variables fisicoquímicas de los frutos

Los frutos de las plantas de frambuesa con mayor tamaño y peso fueron aquellos bioestimulados con extracto de árnica y sin aplicación de sal (0mM+EXHi) con valores 15.1% y 12.8% respectivamente con relación a los frutos de las plantas de frambuesa sin aplicación de extracto y sin aplicación de sal (0mM+0EXHi) (Figura 3 ABC). En lo que respecta a los frutos de las plantas de frambuesa con una concentración elevada de sal y aplicación de extracto (80mM+EXHi), se obtuvo un menor tamaño y peso en los frutos, con respecto a las plantas sin aplicación de sal y sin aplicación de extracto, con valores de 3.9% de longitud, 14.6% de diámetro y peso de 33.7% (Figura 3 ABC). Esto puede deberse a la excesiva absorción de iones de sodio y cloro, que disminuye la presión de turgencia celular y aumenta las especies reactivas de oxígeno (ROS), ocasionando un daño en proteínas, lípido y ADN (Pinedo-Guerrero et al., 2020). Sin embargo, cuando se aplica el extracto de planta hay una mejora en el tamaño y peso de los frutos, esto se debe, a la presencia de citoquininas fitohormonas presentes en los extractos que promueven la división y expansión celular, generando un aumento de tamaño en el fruto. Estos resultados son similares a los reportados por Nasir et al. (2016) en mandarina y Ahmed et al. (2019) en pepino, ellos aplicaron extracto de *Moringa olifeira* en plantas cultivadas en suelos salinos dando como resultado un crecimiento y rendimiento positivo en frutos en comparación con el testigo.

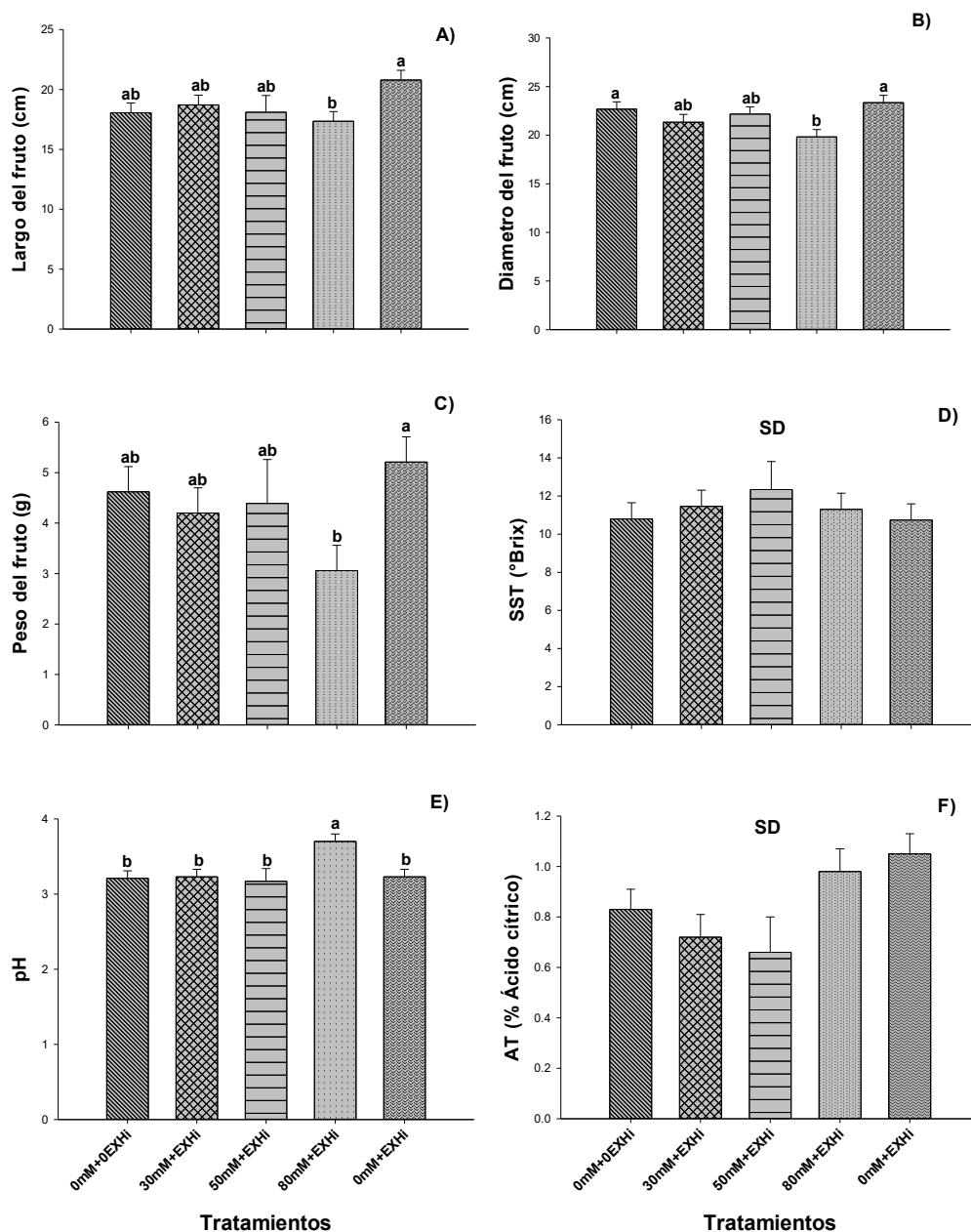


Figura 3. Características fisicoquímicas de los frutos de frambuesa (*Rubus idaeus*) tratadas con extracto de árnica (*Heterotheca inuloides*) y sometidos a estrés salino (NaCl). (A) largo del fruto, (B) diámetro del fruto, (C) peso del fruto, (D) sólidos solubles totales (TSS), (E) potencial hidrógeno (pH) y (F) acidez titulable (TA). Tratamientos: 0 mM+0EXHi: plantas sin NaCl ni extracto de árnica (control); 30 mM+EXHi: plantas tratadas con 30 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 50 mM+EXHi plantas tratadas con 50 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 80 mM+EXHi: plantas tratadas con 80 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 0 mM+EXHi: plantas tratadas con extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹), pero sin NaCl. Los valores con diferentes letras en cada columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el control de acuerdo con el LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$). Los datos se expresan como media $\pm$ error estándar (n = 9).

Con relación al color, los valores más altos de croma (pureza) y Hue (tono), se observaron en los frutos de frambuesa sin aplicación de extracto y sin aplicación de NaCl (0mM+0EXHi) y con la aplicación de la concentración más baja de sal y con aplicación de extracto (30mM+EXHi), sin embargo no se observaron diferencias significativas en los valores de L* (brillantez del fruto), cuanto mayor es el valor de L*, significa que el fruto es más brillante y el consumidor tiene cierta preferencia por estos frutos (Alves et al., 2023) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Color (L*, °Hue, Croma) de frutos de plantas de frambuesa (*Rubus idaeus*) bajo condiciones de estrés salino (NaCl) y aplicación de extracto de árnica (*Heterotheca inuloides*).

Tratamientos	Color		
	L*	°Hue	Croma
0mM+0EXHi	39.00±0.68 ^a	13.92±0.70 ^a	19.14±1.04 ^a
30mM+EXHi	40.09±0.73 ^a	13.90±0.76 ^a	19.04±1.13 ^a
50mM+EXHi	40.29±1.44 ^a	12.65±1.50 ^{ab}	18.40±2.21 ^{ab}
80mM+EXHi	38.88±1.73 ^a	9.98±1.80 ^b	12.50±2.65 ^b
0mM+EXHi	40.83±0.73 ^a	11.95±0.76 ^{ab}	16.57±1.12 ^{ab}

0 mM+0EXHi: plantas sin NaCl ni extracto de árnica (control); 30 mM+EXHi: plantas tratadas con 30 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 50 mM+EXHi plantas tratadas con 50 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 80 mM+EXHi: plantas tratadas con 80 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 0 mM+EXHi: plantas tratadas con extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹), pero sin NaCl. Los valores con diferentes letras en cada columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el control de acuerdo con el LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$). Los datos se expresan como media $\pm$ error estándar (n = 9).

Se observó una disminución del 28.31% (Hue) y 35.64% (Croma) en los frutos estresados con alta concentración salina y estimulados con extracto de árnica (80mM+EXHi), en comparación con las plantas control. Al respecto Zushi et al. (2009) mencionan que condiciones de estrés abiótico interrumpe o restringen los procesos metabólicos normales como la senescencia del fruto. Stavang et al. (2015), reportan que el color, es un parámetro para la aceptabilidad del fruto por parte del consumidor y los cambios en

los parámetros de color indican reacciones degradativas durante el procesamiento y almacenamiento del fruto.

3.5 Compuestos bioactivos de los frutos

Con respecto al contenido de fenoles totales y flavonoides totales (Figura 4 AB) no se observaron diferencias estadísticas significativas en los frutos de las plantas de frambuesa expuestas a distintas concentraciones de NaCl y aplicación de extracto de árnica (30mM+EXHi, 50mM+EXHi y 80mM+EXHi), sin embargo, aunque no se observaron diferencias significativas se observó un ligero aumento de fenoles con un 19.6% (30mM+EXHi), 20.4% (50mM+EXHi) y 21.9% (80mM+EXHi) y en flavonoides con un 28.9% (30mM+EXHi), 26.9% (50mM+EXHi) y 24.4% (80mM+EXHi), con relación al testigo (0mM+0EXHi), esto se debe a que las plantas sintetizan ácidos fenólicos y flavonoides en condiciones de estrés salino, lo que ayuda a la planta a hacer frente a las limitaciones ambientales. Sharma et al. (2019), mencionan que la vía del fenilpropanoide se activa en condiciones de estrés abiótico generando una acumulación de compuestos fenólicos que tienen el potencial de eliminar especies reactivas de oxígeno. Por lo tanto, el aumento de fenoles y flavonoides puede ayudar a reducir el estrés oxidativo en las plantas. Se ha reportado que el uso de bioestimulantes hechos a base de extractos vegetales puede contribuir a la producción de compuestos antioxidantes, es decir, que al aplicar EXHi de forma exógena a las plantas de frambuesa, éste añadió compuestos de tipo fenólico como ácido gálico y quercetina que inhiben la oxidación del DNA y kaempferol que atrapa ROS (Ferrari, 2004). Drobek et al. (2019), mencionan que los extractos de *Moringa olifeira* mitigan el estrés salino, al aumentar el contenido de fenoles, y flavonoides, lo que reduce el nivel de especies reactivas de oxígeno.

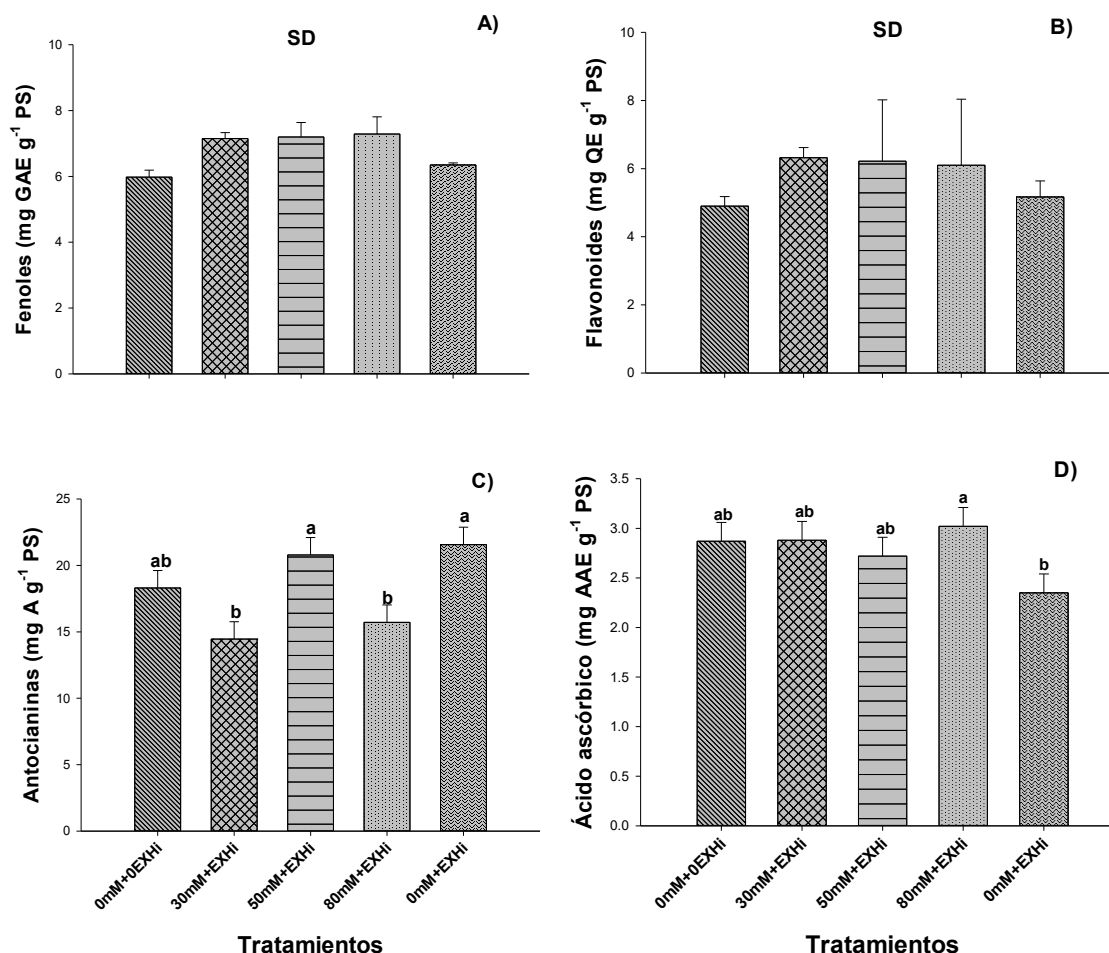


Figura 4. Fenoles totales, flavonoides totales, antocianinas y ácido ascórbico de los frutos de frambuesa (*Rubus idaeus*) tratadas con extracto de árnica (*Heterotheca inuloides*) y sometidas a estrés salino (NaCl). (A) fenoles, (B) flavonoides (C) antocianinas y (D) ácido ascórbico. Tratamientos: 0 mM+0EXHi: plantas sin NaCl ni extracto de árnica (control); 30 mM+EXHi: plantas tratadas con 30 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 50 mM+EXHi plantas tratadas con 50 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 80 mM+EXHi: plantas tratadas con 80 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 0 mM+EXHi: plantas tratadas con extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹), pero sin NaCl. Los valores con diferentes letras en cada columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el control de acuerdo con el LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$). Los datos se expresan como media $\pm$ error estándar (n = 9).

Con relación al contenido de antocianinas (Figura 4 C), los frutos de frambuesa de las plantas bajo condiciones de salinidad presentaron una disminución en un 21.03% y 14.15% para 30mM+EXHi y 80mM+EXHi respectivamente en relación con el testigo, esto es por la presencia de sal en las plantas, ya que la sal condujo a los genes que codifican las enzimas involucradas a no influir en la biosíntesis de antocianinas. Por otra parte, el

contenido de antocianinas puede estar influenciado por las condiciones climáticas, así como por el grado de madurez de los frutos (Palonen y Weber, 2019). La aplicación del extracto de árnica en las plantas de frambuesa incrementó el contenido de antocianinas en el fruto, en un 17.80%, con relación al control, esto se debe a que el extracto de árnica es rico en antioxidantes y esto facilita los procesos de mitigación del estrés a través del aumento de expresión de genes relacionados, así como, el incremento de enzimas (Mrid *et al.*, 2021), como la fenilalanina amoniaco-liasa (PAL), chalcona isomerasa (CHI), glucosa (UDP) para la biosíntesis de antocianinas (Deng *et al.*, 2019).

En el contenido de ácido ascórbico (Figura 4 D), hubo un aumento de 5.22% en los frutos de las plantas bajo condiciones de una concentración alta de sales y con aplicación del extracto de árnica (80mM+EXHi). Al respecto se ha reportado que la incorporación de sal a la solución nutritiva aumenta el contenido de ácido ascórbico (Zhang *et al.*, 2016). Esto sugiere que, el ácido ascórbico juega un papel vital en la adaptación de las plantas a condiciones salinas ya que induce la biosíntesis de ácido ascórbico o bien inactiva su degradación (León-Calvario *et al.*, 2020).

3.6 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante por la técnica ABTS (Figura 5 A) fue mayor en los frutos de las plantas sometidas a baja concentración de NaCl y aplicación de extracto (30mM+EXHi) en un 21.44% con respecto a los frutos de las plantas sin aplicación de extracto y sin estrés salino. Al respecto, Ben Mrid *et al.* (2021) menciona que los extractos de plantas son fuentes eficientes de eliminadores de ROS que son necesarios para mitigar los radicales tóxicos y estabilizar la homeostasis celular, específicamente el EXHi, presenta compuestos antioxidantes de interés bioestimulante que llevan a cabo esas funciones, los cuales son Kaempferol, quercetina, α -tocoferol (Rodríguez-Chávez *et al.*, 2017). Nasir *et al.* (2016), encontraron que los antioxidantes totales aumentaron en mandarina tratada con extracto de Moringa, así mismo, Ahmed *et al.* (2019), observaron un aumento en antioxidantes en calabaza tratadas con *Moringa olifeira* bajo estrés salino, esto se atribuye a que algunos extractos vegetales poseen un amplio espectro de antioxidantes

en las hojas, que al aplicarse de forma exógena a los cultivos de interés, modifican tanto el metabolismo primario y secundario de las plantas cultivadas incrementado el nivel de antioxidantes del fruto.

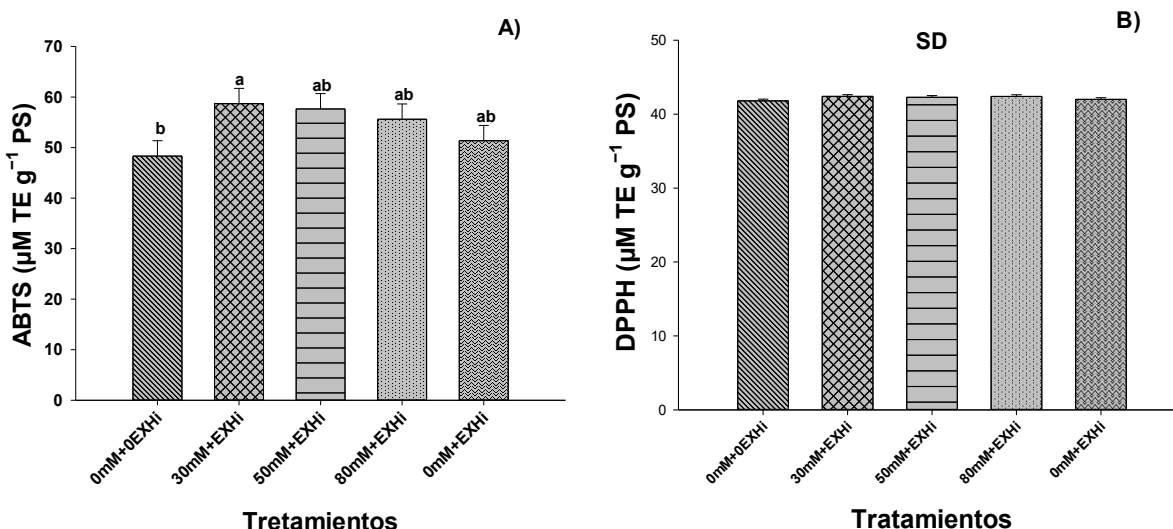


Figura 5. Antioxidante por ABTS (lipofílicos-hidrofílicos) y DPPH (hidrofílicos) de los frutos de frambuesa (*Rubus idaeus*) tratadas con extracto de árnica (*Heterotheca inuloides*) y sometidos a estrés salino (NaCl): (A) ABTS y (B) DPPH. Tratamientos: 0 mM+0EXHi: plantas sin NaCl ni extracto de árnica (control); 30 mM+EXHi: plantas tratadas con 30 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 50 mM+EXHi plantas tratadas con 50 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 80 mM+EXHi: plantas tratadas con 80 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 0 mM+EXHi: plantas tratadas con extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹), pero sin NaCl. Los valores con diferentes letras en cada columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el control de acuerdo con el LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$). Los datos se expresan como media $\pm$ error estándar (n = 9).

En lo que respecta a la actividad antioxidante por DPPH, no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (Figura 5 B), estos resultados son similares a lo reportado por Martínez et al. (2020), no hubo impacto del estrés salino en la actividad antioxidante (DPPH) en cultivo de tomate silvestre y domesticado, esto podría deberse a las condiciones ambientales en la que se desarrolla el cultivo, ya que pueden afectar la composición de compuestos fenólicos de la planta y por lo tanto afectar su capacidad antioxidante (Ordóñez-Díaz et al., 2021).

3.7 Azúcares totales, azúcares reductores y azúcares no reductores

Con relación al contenido de azúcares totales se observó un incremento en los frutos de las plantas bajo condiciones de estrés salino y aplicación de extracto (Figura 6 A) con valores de 6.7% (30mM+EXHi), 6.7% (50mM+EXHi) y 8.9% (0mM+EXHi) con relación al

testigo. Esto puede deberse al alto contenido de azúcar y almidón que tienen los extractos de algunas plantas, que al aplicarse a los cultivos participan en la translocación de azúcares y carbohidratos hacia los frutos promoviendo la activación de enzimas requeridas en reacciones bioquímicas, generando un incremento en el contenido de azúcares totales (Arif et al., 2023). Estos resultados coincidieron con los obtenidos por Mona, (2013) que encontró que al aplicar extracto de *M. oleifera* sobre rúcula aumentó los azúcares totales.

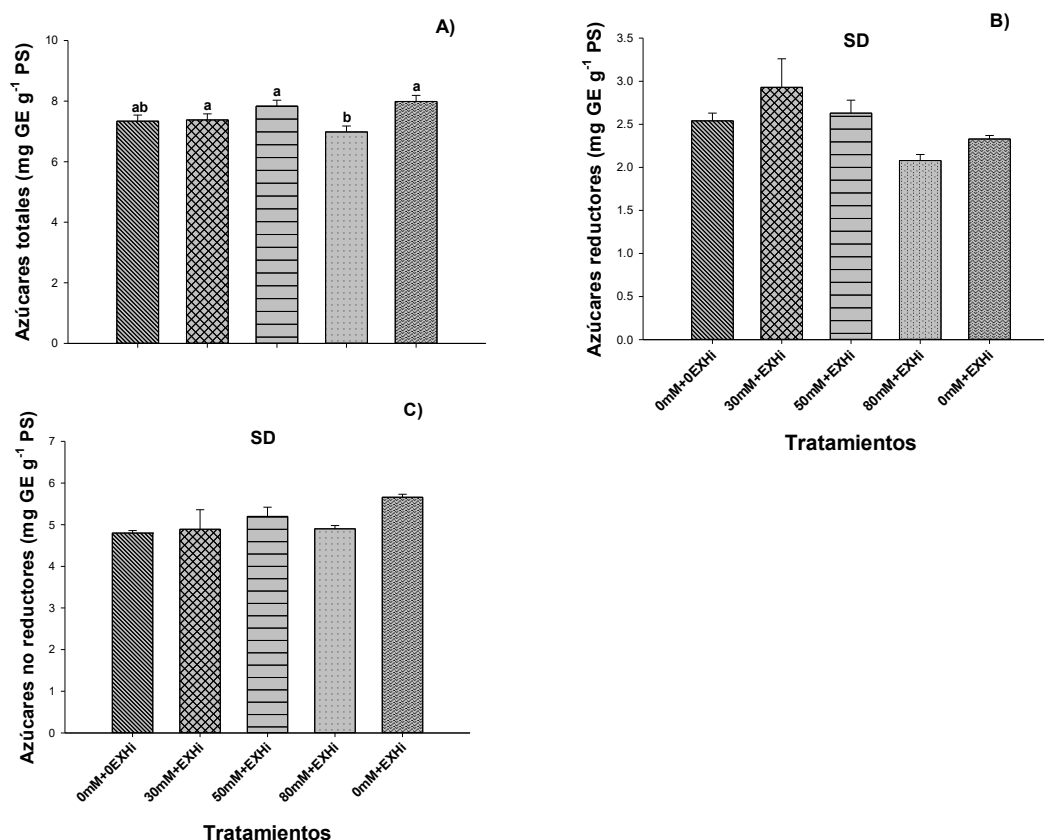


Figura 6. Azúcares totales, azúcares reductores y azúcares no reductores de frutos de frambuesa (*Rubus idaeus*) tratadas con extracto de árnica (*Heterotheca inuloides*) y sometidos a estrés salino (NaCl): (A) azúcares totales, (B) azúcares reductores y (C) azúcares no reductores. Tratamientos: 0 mM+0EXHi: plantas sin NaCl ni extracto de árnica (control); 30 mM+EXHi: plantas tratadas con 30 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 50 mM+EXHi plantas tratadas con 50 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 80 mM+EXHi: plantas tratadas con 80 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 0 mM+EXHi: plantas tratadas con extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹), pero sin NaCl. Los valores con diferentes letras en cada columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el control de acuerdo con el LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$). Los datos se expresan como media $\pm$ error estándar (n = 9).

Con relación a los azúcares reductores y no reductores (Figura 6 AB) no se encontraron diferencias estadísticas significativas, esto podría deberse a la influencia de factores como la radiación solar, temperatura, disponibilidad de agua, contenido mineral del suelo, riego y fertilización en los cultivos (Fu et al., 2015).

3.8 Compuestos enzimáticos antioxidantes

Para mantener la homeostasis de ROS y reducir el daño oxidativo causado por el estrés salino, las plantas han desarrollado un sistema antioxidante enzimático como el superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), peroxidasa (POD) y ascorbato peroxidasa (APx). La actividad de las enzimas SOD y POD se incrementaron con la aplicación de EXHi y estrés por NaCl (Figura 7 AC). En lo que respecta a la SOD aumentó en un 62.5% (30mM+EXHi), 175.0% (50mM+EXHi), 200.0% (80mM+EXHi) y 250% (0mM+EXHi). La actividad de POD incrementó en un 73.13%, 51.67%, 30.97% y 15.16% en los tratamientos 30mM+EXHi, 50mM+EXHi, 0mM+EXHi y 80mM+EXHi, respectivamente. Al respecto, se sabe que el estrés salino genera una alta producción de ROS, estas moléculas se pueden eliminar con la sobreexpresión de genes de las enzimas antioxidantes SOD y POD, estos genes se pueden utilizar como indicadores moleculares para predecir y confirmar el estrés salino de las plantas (Hao et al., 2021). En este sentido, la aplicación exógena de extractos de plantas mejora la tolerancia a la sal en cultivos, a través de vías de señalización y expresión génica como *GIPC*, *MOCA1*, *ANNEXIN4*, *ANN4*, *HKT1*, *NTHK1*, *SOS2*, *PKB5*, *SOS3* y *SCaBP8* (Ahmad et al., 2022), la transducción de señales de estos genes son regular la homeostasis iónica en la membrana mejorando así la resistencia a la sal (Hao et al., 2021). Estos resultados concuerdan con (ElSayed et al., 2022), en donde se observó un incremento en la actividad enzimática de calabaza al aplicar extractos de *Cupressus macrocarpa*.

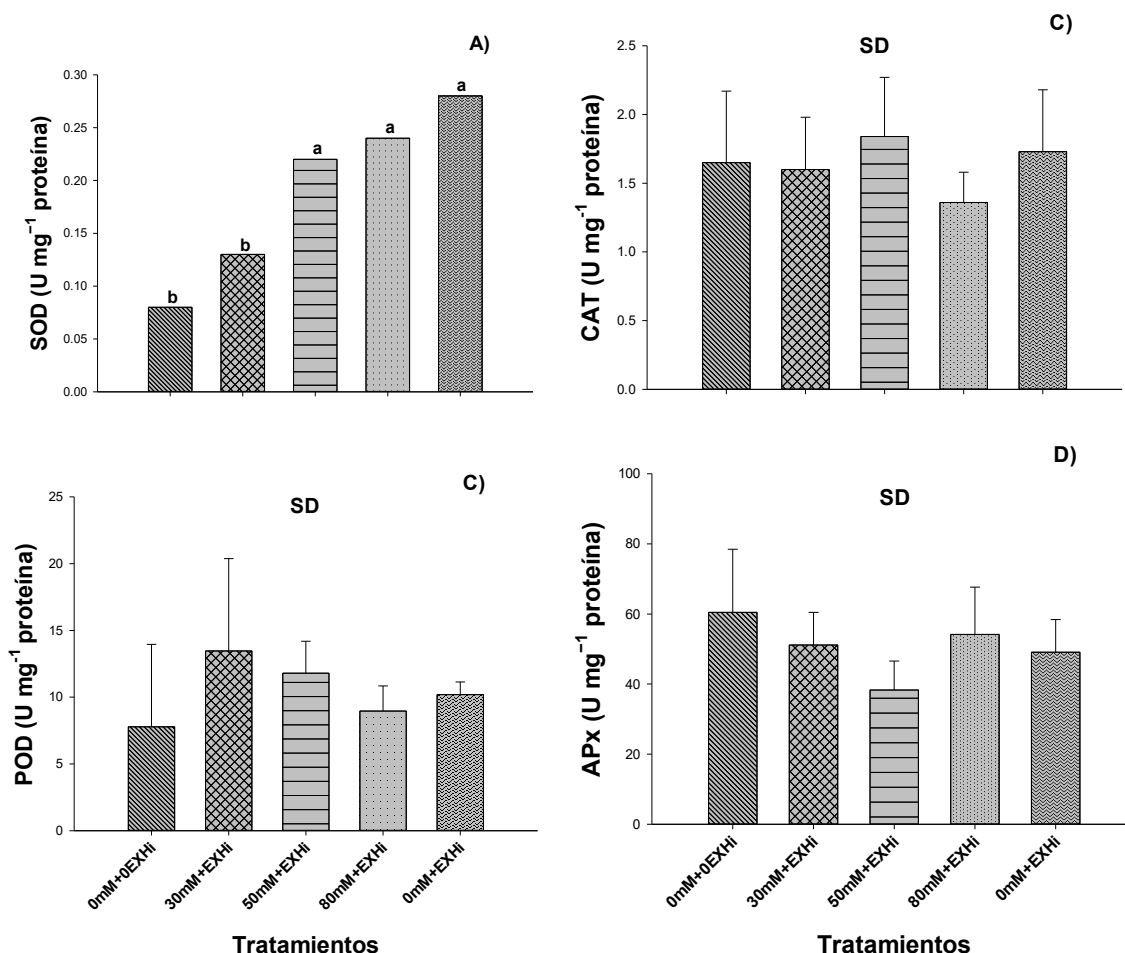


Figura 7. Actividad antioxidante enzimática por SOD (superóxido dismutasa), CAT (catalasa), POD (peroxidasa) y APx (ascorbato peroxidasa) de frutos de frambuesa (*Rubus idaeus*) tratadas con extracto de árnica (*Heterotheca inuloides*) y sometido a estrés salino (NaCl): (A) SOD, (B) CAT, (C) POD y (D) APx. Tratamientos: 0 mM+0EXHi: plantas sin NaCl ni extracto de árnica (control); 30 mM+EXHi: plantas tratadas con 30 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 50 mM+EXHi plantas tratadas con 50 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 80 mM+EXHi: plantas tratadas con 80 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 0 mM+EXHi: plantas tratadas con extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹), pero sin NaCl. Los valores con diferentes letras en cada columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el control de acuerdo con el LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$). Los datos se expresan como media $\pm$ error estándar (n = 9).

Las enzimas antioxidantes CAT y APx, no mostraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (Figura 7 CD) sin embargo, hubo una disminución del 3.04% (30mM+EXHi), 17.58% (80mM+EXHi) para CAT, en el caso de APx registró un 10.41% (80mM+EXHi), 15.4% (30mM+EXHi), 18.67% (0mM+EXHi) y 36.71% (50mM+EXHi) con relación al control. Esto se debe a la presencia de quercetina y

catequinas que son compuestos presentes en el extracto de árnica (Rodríguez-Chávez et al., 2017), estos componentes atrapan los radicales superóxido (Ferrari, 2004), por lo tanto, disminuye las enzimas desintoxicantes como ascorbato peroxidasa y catalasa. Así mismo, se debió a la exposición de las plantas a un estrés salino a largo plazo lo que llevó a diversos ajustes genómicos, dicha variación genética puede dar como resultado una regulación negativa, incluso ninguna expresión (Ben et al., 2021), además de que la expresión de genes está regulada de acuerdo con la etapa de crecimiento y condiciones ambientales (González-Gordo et al., 2022).

3.9 Marcadores de estrés

Se observó que la actividad de los marcadores de estrés polifenol oxidasa (PPO), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y malondialdehído (MDA) se modificaron en los frutos de las plantas de frambuesa sometidas a distintas concentraciones de salinidad y aplicación de extracto de árnica (Figura 8). El estrés por salinidad inhibió la actividad enzimática de la PPO en un 28.6% para 30mM+EXHi y 50mM+EXHi, así como, un 57.2% para 80mM+EXHi y 0mM+EXHi en comparación con el testigo (Figura 8 B). Al respecto, Ben et al. (2021) mencionan que los extractos de plantas tienen compuestos antioxidantes que tienen la capacidad de atrapar los radicales superóxido, por lo tanto, previene un aumento de los marcadores de estrés, entre estos compuestos están la quercetina y catequinas que están presentes en el extracto de árnica (Rodríguez-Chávez et al., 2017). Además, se ha informado que la actividad de la PPO puede disminuir o aumentar en respuesta a la salinidad, estos cambios específicos dependen del tipo de cultivo, además de los diferentes mecanismos de adaptación de las plantas en respuesta al estrés salino (Barbieri et al., 2012). Con relación al H_2O_2 , (Figura 8 A), hubo una disminución en la actividad de este marcador de estrés en un 33.8% (30mM+EXHi), 36.6% (50mM+EXHi), 52.1% (80mM+EXHi) y 50.7% (0mM+EXHi), estos resultados indican que la protección contra el estrés oxidativo inducido por la sal fue diferente, posiblemente se deba a que los frutos están protegidos contra estrés oxidativo inducido por la sal, además de, las propiedades enzimáticas antioxidantes de las frambuesas pueden verse influenciadas por varios factores externos como la iluminación, las temperaturas de almacenamiento,

así como los compuestos volátiles naturales presentes en los frutos (Martínez et al., 2021). El contenido de malondialdehído (MDA), aumentó en promedio un 10.29% (30mM+EXHi), 15.37% (80mM+EXHi) y 17.4% (0mM+EXHi), con relación al control (0mM+0EXHi) (Figura 8 C). Estos resultados señalan que una alta concentración de MDA indica que hay una pérdida de integridad y daño a las membranas celulares que están bajo estrés salino debido a un exceso de ROS (González-García et al., 2022). En particular, la mayor concentración de MDA en los frutos de frambuesa fue con la aplicación de EXHi, esto puede deberse a una menor tolerancia de las frambuesas a este micronutriente (Hernández-Fuentes et al., 2023).

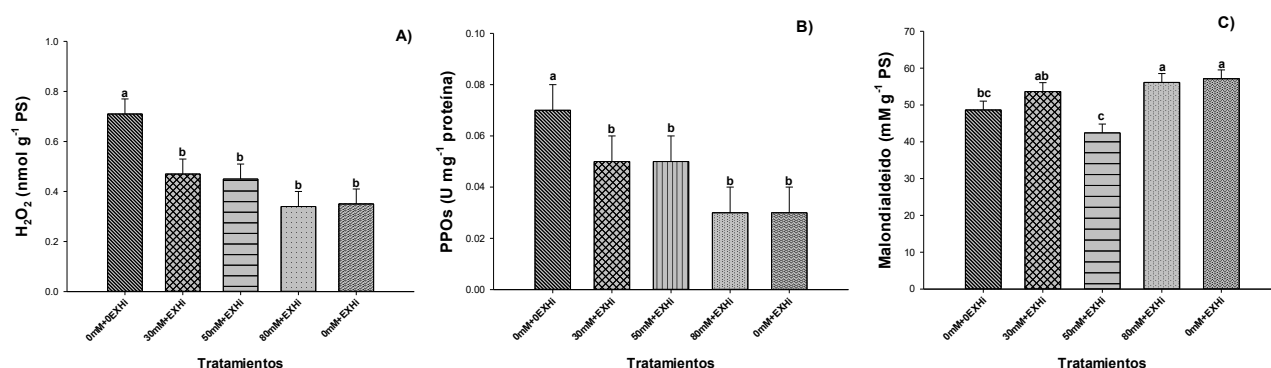


Figura 8. Marcadores de estrés por polifenol oxidasa (PPO), peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y peroxidación lipídica (MDA) de frutos de frambuesa (*Rubus idaeus*) tratadas con extracto de árnica (*Heterotheca inuloides*) y sometido a estrés salino (NaCl): (A) PPO, (B) H₂O₂ y (C) MDA. Tratamientos: 0 mM+0EXHi: plantas sin NaCl ni extracto de árnica (control); 30 mM+EXHi: plantas tratadas con 30 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 50 mM+EXHi plantas tratadas con 50 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 80 mM+EXHi: plantas tratadas con 80 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 0 mM+EXHi: plantas tratadas con extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹), pero sin NaCl. Los valores con diferentes letras en cada columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el control de acuerdo con el LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$). Los datos se expresan como media $\pm$ error estándar (n = 9).

3.10 Prolina

El contenido de prolina disminuyó en los frutos de las plantas de frambuesa con aplicación de extracto de árnica y sales (Figura 9), en un 64.05% (30mM+EXHi), 41.49% (50mM+EXHi), 74.29% (80mM+EXHi) y 9.95% (0mM+EXHi), sin embargo, la concentración de prolina se mantuvo con la aplicación de EXHi con relación a los frutos de las plantas sin aplicación de extracto de árnica y sin sal, esta disminución podría deberse a que la prolina no participa en los mecanismos de protección contra la ROS

inducidas por la salinidad (Marček et al., 2015), además, se ha reportado que los cultivares sensibles a la salinidad acumulan menor cantidad de prolina (Pirlak y Eşitken, 2004).

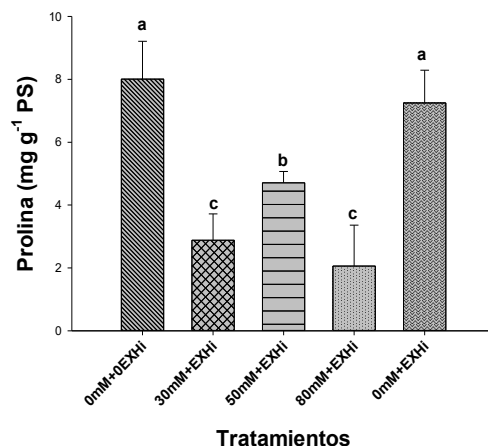


Figura 9. Prolina de frutos de frambuesa (*Rubus idaeus*) tratadas con extracto de árnica (*Heterotheca inuloides*) y sometido a estrés salino (NaCl). Tratamientos: 0 mM+0EXHi: plantas sin NaCl ni extracto de árnica (control); 30 mM+EXHi: plantas tratadas con 30 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 50 mM+EXHi plantas tratadas con 50 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 80 mM+EXHi: plantas tratadas con 80 mM de NaCl y extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹); 0 mM+EXHi: plantas tratadas con extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹), pero sin NaCl. Los valores con diferentes letras en cada columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el control de acuerdo con el LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$). Los datos se expresan como media $\pm$ error estándar (n = 9).

4. CONCLUSIONES

La aplicación del extracto hidroalcohólico de hojas de *Heterotheca inuloides* tuvo efectos positivos en las plantas de frambuesa que no fueron sometidas a estrés salino, incrementando altura de la planta, diámetro del tallo, tamaño de fruto, peso de fruto y rendimiento de frutos. En plantas sometidas a estrés salino, la aplicación de extracto de *Heterotheca inuloides* incrementó el contenido de fenoles totales, flavonoides, actividad antioxidante por ABTS, azúcares totales, así como, la actividad enzimática de superóxido dismutasa y peroxidasa en los frutos de frambuesa. Estos hallazgos sugieren que el extracto hidroalcohólico de hojas de *Heterotheca inuloides* puede ser una alternativa viable y ecológica para mitigar los efectos adversos de la salinidad en los cultivos de frambuesa al fortalecer y activar el mecanismo del sistema antioxidante enzimático y no enzimático de los frutos de frambuesa var. Adelita.

5. REFERENCIAS

- Abd El-Mageed, T. A., Semida, W. M., y Rady, M. M. (2017). Moringa leaf extract as biostimulant improves water use efficiency, physio-biochemical attributes of squash plants under deficit irrigation. *Agricultural Water Management*, 193. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2017.08.004>
- Abdelgawad, K. F., El-Mogy, M. M., Mohamed, M. I. A., Garchery, C., y Stevens, R. G. (2019). Increasing ascorbic acid content and salinity tolerance of cherry tomato plants by suppressed expression of the ascorbate oxidase gene. *Agronomy*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/agronomy9020051>
- Acosta-Motos, J. R., Ortuño, M. F., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sánchez-Blanco, M. J., y Hernández, J. A. (2017). Plant responses to salt stress: Adaptive mechanisms. *In Agronomy* (Vol. 7, Issue 1). <https://doi.org/10.3390/agronomy7010018>
- Aguilar, N. A. S., Fuentes, J. A. G., Luis Alonso Valdez Aguilar, López Pérez, M. G., Maclas, J. M., Benavides-Mendoza, A., y Morales, S. G. (2023). Effect of elicitors and biostimulants on the content of bioactive compounds in raspberry fruits. *Horticultural Science*, 50(2). <https://doi.org/10.17221/98/2021-HORTSCI>
- Ahmad, A., Blasco, B., y Martos, V. (2022). Combating salinity through natural plant extracts based biostimulants: A review. *In Frontiers in Plant Science* (Vol. 13). <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.862034>
- Ahmed, S., Ahmed, S., Roy, S. K., Woo, S. H., Sonawane, K. D., y Shohael, A. M. (2019). Effect of salinity on the morphological, physiological and biochemical properties of lettuce (*Lactuca sativa* L.) in Bangladesh. *Open Agriculture*, 4(1). <https://doi.org/10.1515/opag-2019-0033>
- Ali, Q., Shehzad, F., Waseem, M., Shahid, S., Hussain, A. I., Haider, M. Z., Habib, N., Hussain, S. M., Javed, M. T., y Perveen, R. (2020). Plant-based biostimulants and plant stress responses. in plant ecophysiology and adaptation under climate change: mechanisms and perspectives I: General consequences and plant responses. https://doi.org/10.1007/978-981-15-2156-0_22
- Alves, A. da S., de Oliveira, F. de A., da Silva, D. D., dos Santos, S. T., Oliveira, R. R. T., y Góis, H. M. de M. N. (2023). Production and quality of mini watermelon under salt stress and K⁺/Ca²⁺ ratios. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 27(6). <https://doi.org/10.1590/1807-1929/AGRIAMBI.V27N6P441-446>

- Arif, Y., Bajguz, A., y Hayat, S. (2023). *Moringa oleifera* Extract as a Natural Plant Biostimulant. In *Journal of Plant Growth Regulation* (Vol. 42, Issue 3). <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10630-4>
- Ávila-Núñez, R., Rivas Pérez, B., y Hernández Motzezak Marluy Chirinos, R. (2012). Content of total, reducing and non-reducing sugars in *Agave cocui* Trelease. *MULTICIENCIAS*, 12(2).
- Balois-Morales, R., Colinas-León, M. T., Peña-Valdivia, C. B., Chávez-Franco, S. H., y Alia-Tejacal, I. (2008). Sistema enzimático antisenescencia, catalasa-superóxido dismutasa, de frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus*) almacenados con frío. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 14(3), 295-299.
- Barbieri, G., Vallone, S., Orsini, F., Paradiso, R., de Pascale, S., Negre-Zakharov, F., y Maggio, A. (2012). Stomatal density and metabolic determinants mediate salt stress adaptation and water use efficiency in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Plant Physiology*, 169(17). <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.07.001>
- Bates, L. S., Waldren, R. P., y Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1). <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Bistgani, Z. E., Hashemi, M., DaCosta, M., Craker, L., Maggi, F., y Morshedloo, M. R. (2019). Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. *Industrial Crops and Products*, 135. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.055>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., y Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. In *LWT - Food Science and Technology* (Vol. 28, Issue 1). [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Denaxa, N. K., Nomikou, A., Malamos, N., Liveri, E., Roussos, P. A., y Papatotiropoulos, V. (2022). Salinity effect on plant growth parameters and fruit bioactive compounds of two strawberry cultivars, coupled with environmental conditions monitoring. *Agronomy*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/agronomy12102279>
- Deng, Q., Xia, H., Lin, L., Wang, J., Yuan, L., Li, K., Zhang, J., Lv, X., y Liang, D. (2019). SUNRED, a natural extract-based biostimulant, application stimulates anthocyanin production in the skins of grapes. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39455-0>
- Dirar, A. I., Alsaadi, D. H. M., Wada, M., Mohamed, M. A., Watanabe, T., y Devkota, H. P. (2019). Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and

- biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 120. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.07.003>
- Drobek, M., Frąc, M., y Cybulska, J. (2019). Plant biostimulants: Importance of the quality and yield of horticultural crops and the improvement of plant tolerance to abiotic stress-a review. *Agronomy*, 9(6). <https://doi.org/10.3390/agronomy9060335>
- Dürüst, N., Sümengen, D., y Dürüst, Y. (1997). Ascorbic Acid and Element Contents of Foods of Trabzon (Turkey). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6). <https://doi.org/10.1021/jf9606159>
- ElSayed, A. I., Rafudeen, M. S., Ganie, S. A., Hossain, M. S., y Gomaa, A. M. (2022). Seed priming with cypress leaf extract enhances photosynthesis and antioxidative defense in zucchini seedlings under salt stress. *Scientia Horticulturae*, 293. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110707>
- Ertani, A., Schiavon, M., Muscolo, A., y Nardi, S. (2013). Alfalfa plant-derived biostimulant stimulate short-term growth of salt stressed *Zea mays* L. plants. *Plant and Soil*, 364(1–2). <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1335-z>
- Ferrari, C. K. B. (2004). Functional foods, herbs and nutraceuticals: Towards biochemical mechanisms of healthy aging. *Biogerontology*, 5(5). <https://doi.org/10.1007/s10522-004-2566-z>
- Fu, Y., Zhou, X., Chen, S., Sun, Y., Shen, Y., y Ye, X. (2015). Chemical composition and antioxidant activity of Chinese wild raspberry (*Rubus hirsutus* Thunb.). *LWT*, 60(2). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.002>
- García, L., Verde, J., Castro, R., Chávez, A., Oranday, A., Núñez, A., y Rivas, C. (2010). Actividad biológica de un extracto de orujo de uva mexicana. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 41(4).
- García-Pérez, J., Cuéllar-Bermúdez, S. P., Arévalo-Gallegos, A., Rodríguez-Rodríguez, J., Iqbal, H. M. N., y Parra-Saldivar, R. (2016). Identification of bioactivity, volatile and fatty acid profile in supercritical fluid extracts of Mexican arnica. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(9). <https://doi.org/10.3390/ijms17091528>
- Garza-Alonso, C. A., Olivares-Sáenz, E., González-Morales, S., Cabrera-De la Fuente, M., Juárez-Maldonado, A., González-Fuentes, J. A., Tortella, G., Valdés-Caballero, M. V., y Benavides-Mendoza, A. (2022). Strawberry Biostimulation: From Mechanisms of Action to Plant Growth and Fruit Quality. *In Plants* (Vol. 11, Issue 24). <https://doi.org/10.3390/plants11243463>

- Gené, R. M., Segura, L., Adzet, T., Marin, E., y Iglesias, J. (1998). *Heterotheca inuloides*: Anti-inflammatory and analgesic effect. *Journal of Ethnopharmacology*, 60(2). [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00155-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00155-4)
- Giusti, M. M., y Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00(1). <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- González-García, Y., Cárdenas-álvarez, C., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A., Cabrera-De-la-fuente, M., Sandoval-Rangel, A., Valdés-Reyna, J., y Juárez-Maldonado, A. (2021). Effect of three nanoparticles (Se, Si and Cu) on the bioactive compounds of bell pepper fruits under saline stress. *Plants*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/plants10020217>
- González-García, Y., López-Vargas, E. R., Pérez-Álvarez, M., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A., Valdés-Reyna, J., Pérez-Labrada, F., y Juárez-Maldonado, A. (2022). Seed Priming with Carbon Nanomaterials Improves the Bioactive Compounds of Tomato Plants under Saline Stress. *Plants*, 11(15). <https://doi.org/10.3390/plants11151984>
- Grajkowski, J., y Ochmian, I. (2007). Influence of three biostimulants on yielding and fruit quality of three primocane raspberry cultivars. *Hortorum Cultus*, 6(2)
- Hao, S., Wang, Y., Yan, Y., Liu, Y., Wang, J., y Chen, S. (2021). A review on plant responses to salt stress and their mechanisms of salt resistance. In *Horticulturae* (Vol. 7, Issue 6). <https://doi.org/10.3390/horticulturae7060132>
- Hassanein, R. A., Abdelkader, A. F., y Faramawy, H. M. (2019). Moringa leaf extracts as biostimulants-inducing salinity tolerance in the sweet basil plant. *Egyptian Journal of Botany*, 59(2). <https://doi.org/10.21608/ejbo.2019.5989.1242>
- Hernández-Fuentes, A. D., Montaña-Herrera, A., Pinedo-Espinoza, J. M., Pinedo-Guerrero, Z. H., y López-Palestina, C. U. (2023). Changes of the antioxidant system in pear (*Pyrus communis* L.) fruits by foliar application of copper, selenium, iron, and zinc nanoparticles. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100885>
- Junglee, S., Urban, L., Sallanon, H., y Lopez-Lauri, F. (2014). Optimized assay for hydrogen peroxide determination in plant tissue using potassium iodide. *American Journal of Analytical Chemistry*, 05(11). <https://doi.org/10.4236/ajac.2014.511081>
- Kotuła, M., Kapusta-Duch, J., Smoleń, S., y Doskočil, I. (2022). Phytochemical Composition of the Fruits and Leaves of Raspberries (*Rubus idaeus* L.)—

Conventional vs. Organic and Those Wild Grown. Applied Sciences (Switzerland), 12(22). <https://doi.org/10.3390/app122211783>

León-Calvario, I., la Fuente, M. C. de, Benavides-Mendoza, A., Juárez-Maldonado, A., y Sandoval-Rangel, A. (2020). Tomato grafted and cultivated in saline medium and its relation on nutraceutical compounds of the fruits. *Pakistan Journal of Botany*, 52(3). [https://doi.org/10.30848/PJB2020-3\(6\)](https://doi.org/10.30848/PJB2020-3(6))

Marček, T., Velić, D., Sabo, M., Dugalić, K., Velić, N., y Klarik, D. A. (2015). Antioxidative response in two *Rubus* species exposed to salinity. Web page <http://sa.agr.hr>, 595, 595.

Martínez, C., Valenzuela, J. L., y Jamilena, M. (2021). Genetic and pre-and postharvest factors influencing the content of antioxidants in cucurbit crops. In *Antioxidants* (Vol. 10, Issue 6). <https://doi.org/10.3390/antiox10060894>

Martínez, J. P., Fuentes, R., Farías, K., Lizana, C., Alfaro, J. F., Fuentes, L., Calabrese, N., Bigot, S., Quinet, M., y Lutts, S. (2020). Effects of salt stress on fruit antioxidant capacity of wild (*Solanum chilense*) and domesticated (*Solanum lycopersicum* var. cerasiforme) tomatoes. *Agronomy*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/agronomy10101481>

Mona, M. A. (2013). The potential of *Moringa oleifera* extract as a biostimulant in enhancing the growth, biochemical and hormonal contents in rocket (*Eruca vesicaria* subsp. sativa) plants. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 5(3). <https://doi.org/10.5897/ijppb2012.026>

Monroy-Gutiérrez, T., Martínez-Damián, M. T., Barrientos-Priego, A. F., Gallegos-Vázquez, C., Rodríguez-Pérez, J. E., y Colinas-León, M. T. B. (2017). Evaluación de algunas características físicas y químicas de frutos de xocotuna, tuna y xoconostle en poscosecha. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(1), 189-197.

Mrid, R., Benmrid, B., Hafsa, J., Boukcim, H., Sobeh, M., y Yasri, A. (2021). Secondary metabolites as biostimulant and bioprotectant agents: A review. In *Science of the Total Environment* (Vol. 777). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146204>

Nasir, M., Khan, A. S., Basra, S. M. A., y Malik, A. U. (2016). Foliar application of moringa leaf extract, potassium and zinc influence yield and fruit quality of 'Kinnow' mandarin. *Scientia Horticulturae*, 210. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.07.032>

Neocleous, D., y Vasilakakis, M. (2007). Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. 'Autumn Bliss'). *Scientia Horticulturae*, 112(3). <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.12.025>

- Ordóñez-Díaz, J. L., Cardenosa, V., Muñoz-Redondo, J. M., Ferreres, F., Pereira-Caro, G., Medrano, E., y Moreno, D. A. (2021). Impact of abiotic stresses (nitrogen reduction and salinity conditions) on phenolic compounds and antioxidant activity of strawberries. *Processes*, 9(6), 1044.
- Palonen, P., y Weber, C. (2019). Fruit color stability, anthocyanin content, and shelf life were not correlated with ethylene production rate in five primocane raspberry genotypes. *Scientia Horticulturae*, 247. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.088>
- Pasquariello, M. S., Rega, P., Migliozi, T., Capuano, L. R., Scortichini, M., y Petriccione, M. (2013). Effect of cold storage and shelf life on physiological and quality traits of early ripening pear cultivars. *Scientia Horticulturae*, 162. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.08.034>
- Pinedo-Guerrero Z. H., Cadenas-Pliego, G., Ortega-Ortiz, H., González-Morales, S., Benavides-Mendoza, A., Valdés-Reyna, J., y Juárez-Maldonado, A. (2020). Form of silica improves yield, fruit quality and antioxidant defense system of tomato plants under salt stress. *Agriculture (Switzerland)*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/agriculture10090367>
- Pirlak, L., y Eşitken, A. (2004). Salinity effects on growth, proline and ion accumulation in strawberry plants. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science*, 54(3). <https://doi.org/10.1080/0906471040030249>
- Proietti, P., Nasini, L., del Buono, D., D'Amato, R., Tedeschini, E., y Businelli, D. (2013). Selenium protects olive (*Olea europaea* L.) from drought stress. *Scientia Horticulturae*, 164. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.09.034>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., y Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10). [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rodríguez-Chávez, J. L., Egas, V., Linares, E., Bye, R., Hernández, T., Espinosa-García, F. J., y Delgado, G. (2017). Mexican Arnica (*Heterotheca inuloides* Cass. Asteraceae: Astereae): Ethnomedical uses, chemical constituents and biological properties. *In Journal of Ethnopharmacology* (Vol. 195). <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.11.021>
- Rosales, M. A., Cervilla, L. M., Sánchez-Rodríguez, E., Rubio-Wilhelmi, M. del M., Blasco, B., Ríos, J. J., Soriano, T., Castilla, N., Romero, L., y Ruiz, J. M. (2011). The effect of environmental conditions on nutritional quality of cherry tomato fruits: Evaluation

of two experimental Mediterranean greenhouses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(1). <https://doi.org/10.1002/jsfa.4166>

Schulz, M., y Chim, J. F. (2019). Nutritional and bioactive value of Rubus berries. *In Food Bioscience* (Vol. 31). <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100438>

Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., y Zheng, B. (2019). Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *In Molecules* (Vol. 24, Issue 13). <https://doi.org/10.3390/molecules24132452>

Singleton, V. L., Orthofer, R., y Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

Stavang, J. A., Freitag, S., Foito, A., Verrall, S., Heide, O. M., Stewart, D., y Sønsteby, A. (2015). Raspberry fruit quality changes during ripening and storage as assessed by colour, sensory evaluation and chemical analyses. *Scientia Horticulturae*, 195. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.045>

Steiner, A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil*, 15(2). <https://doi.org/10.1007/BF01347224>

Taffouo, V. D., Nouck, A. E., Nyemene, K. P. J., Tonfack, L. B., Meguekam, T. L., y Youmbi, E. (2017). Effects of salt stress on plant growth, nutrient partitioning, chlorophyll content, leaf relative water content, accumulation of osmolytes and antioxidant compounds in pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 45(2). <https://doi.org/10.15835/nbha45210928>

Turmanidze, T., Gulua, L., Jgenti, M., y Wicker, L. (2017). Potential antioxidant retention and quality maintenance in raspberries and strawberries treated with calcium chloride and stored under refrigeration. *Brazilian Journal of Food Technology*, 20. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.8916>

Vanegas-Cano, L. J., Martínez Peralta, S. T., Coy Barrera, E., y Ardila Barrantes, H. D. (2022). Early responses at symplastic stem level associated with the salicylic acid pathway in the interaction carnation (*Dianthus caryophyllus*, Caryophyllaceae)-Fod (*Fusarium oxysporum* f. Sp. dianthi). *Acta Biológica Colombiana*, 27(2). <https://doi.org/10.15446/ABC.V27N2.85778>

- Wakeel, A., Jan, S. A., Ullah, I., Shinwari, Z. K., y Xu, M. (2019). Solvent polarity mediates phytochemical yield and antioxidant capacity of *Isatis tinctoria*. *PeerJ*, 2019(10). <https://doi.org/10.7717/peerj.7857>
- Zahedi, S. M., Hosseini, M. S., Daneshvar Hakimi Meybodi, N., y Teixeira da Silva, J. A. (2019). Foliar application of selenium and nano-selenium affects pomegranate (*Punica granatum* cv. Malase Saveh) fruit yield and quality. *South African Journal of Botany*, 124. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.05.019>
- Zhang, P., Senge, M., y Dai, Y. (2016). Effects of salinity stress on growth, yield, fruit quality and water use efficiency of tomato under hydroponics system. *Reviews in Agricultural Science*, 4(0). <https://doi.org/10.7831/ras.4.46>
- Zushi, K., Matsuzoe, N., y Kitano, M. (2009). Developmental and tissue-specific changes in oxidative parameters and antioxidant systems in tomato fruits grown under salt stress. *Scientia Horticulturae*, 122(3). <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.06.001>

CAPÍTULO III

APLICACIÓN FOLIAR DE EXTRACTO DE *Heterotheca inuloides* Cass. COMO MODULADOR FISIOLÓGICO, ANTIOXIDANTE Y DE LA CALIDAD DEL FRUTO EN FRESA (*Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier) BAJO ESTRÉS SALINO

RESUMEN

La fresa (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) es uno de los cultivos hortícolas de mayor importancia económica y nutracéutica a nivel mundial; sin embargo, su producción es altamente sensible a la salinidad, lo que afecta el crecimiento, el metabolismo antioxidante y la calidad del fruto. Se planteó la hipótesis de que la aplicación foliar de extractos de *Heterotheca inuloides* Cass. Podría modular las respuestas fisiológicas, antioxidantes y de calidad en plantas de fresa bajo estrés salino. El objetivo fue evaluar el efecto de diferentes concentraciones del extracto en plantas de fresa de la variedad Camino Real sometidas a salinidad. Se utilizó un diseño completamente al azar en condiciones de invernadero y con manejo agronómico convencional, mediante fertirriego; y aplicaciones foliares periódicas del extracto. Los tratamientos fueron: Control, plantas sin NaCl ni extracto; T1, sin NaCl + 1,000 ppm EXHi; T2, sin NaCl + 2,000 ppm EXHi; T3, 50 mM NaCl sin extracto; T4, 50 mM NaCl + 1,000 ppm EXHi; y T5, 50 mM NaCl + 2,000 ppm EXHi. Los resultados mostraron que T1 incrementó el peso fresco y seco de los órganos vegetativos hasta en 101 % y 139 %, respectivamente, mientras que, bajo salinidad, T4 incrementó el peso, el largo y el diámetro del fruto en 144 %, 106 % y 106 %, respectivamente. Asimismo, T4 y T5 incrementaron los fenoles (102 y 109 %), ABTS (105 y 111 %), DPPH (101 y 105 %), SOD (103 y 105 %) y POD (194 y 160 %). Sin embargo, H₂O₂ y PPO aumentaron hasta un 257% y un 358%, respectivamente, en comparación con el control. Se concluye que EXHi actuó como modulador fisiológico y antioxidante, amortiguando el daño inducido por la salinidad en la fresa.

PALABRAS CLAVE: Bioestimulante vegetal; calidad postcosecha; compuestos bióticos; estrés abiótico; metabolismo antioxidante.

1. INTRODUCCIÓN

La salinidad del suelo y del agua de riego constituye uno de los principales factores abióticos que limitan la productividad agrícola a nivel mundial, particularmente en sistemas intensivos (Ouzemou et al., 2025). La acumulación de sales solubles genera un estrés osmótico e iónico que restringe la absorción de agua por la planta, provoca desequilibrios nutricionales y altera procesos fisiológicos clave, como el balance hídrico y la estabilidad celular (Dou et al., 2026). Asimismo, la salinidad induce modificaciones en el sistema de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que afecta el metabolismo vegetal y ocasiona una disminución del crecimiento, del rendimiento y de la calidad de los cultivos (Behera et al., 2022). En este contexto, la fresa (*Fragaria × ananassa*) es un cultivo hortícola altamente susceptible al estrés salino, ya que la presencia de sales en el suelo y en el agua de riego constituye uno de los principales factores ambientales que limitan su productividad y su calidad comercial (Ferreira et al., 2019). La exposición a condiciones salinas provoca alteraciones fisiológicas, como la limitación de la entrada de agua, desequilibrio hídrico y plasmólisis celular, además de cambios en el flujo y la dinámica de los nutrientes, lo que impacta negativamente en el crecimiento vegetativo, la floración y la formación del fruto (Behera et al., 2022).

A pesar de esta sensibilidad, la fresa es uno de los frutos más importantes a nivel mundial debido a su alta demanda, valor económico y amplia aceptación por parte del consumidor (Mulla et al., 2026). Su producción se ha incrementado de manera sostenida en las últimas décadas, posicionándola como uno de los cultivos frutícolas de mayor relevancia en sistemas de agricultura intensiva y de exportación (Aldrighetti, et al., 2026). Este fruto es apreciado tanto por su calidad organoléptica como por su aporte nutrimental, ya que contiene vitaminas, minerales, fibra dietética y compuestos antioxidantes, atributos que contribuyen a sus beneficios para la salud humana (Denaxa et al., 2022; Cosme et al., 2022; Richardson et al., 2022). Por ello, mantener altos estándares de rendimiento y calidad en la producción de fresa es un objetivo estratégico para la seguridad alimentaria, la rentabilidad agrícola y la sostenibilidad de los sistemas productivos.

Ante la problemática que representa la salinidad, una alternativa sustentable es el uso de bioestimulantes elaborados a partir de extractos vegetales (Sible et al., 2021). La aplicación exógena de estos extractos mejora el metabolismo vegetal mediante la modulación de mecanismos moleculares, factores de transcripción y niveles hormonales, lo que, en conjunto, favorece el desarrollo de plantas más tolerantes al estrés salino (Johnson et al., 2024). El mecanismo de acción de los extractos botánicos como bioestimulantes se ha relacionado con la disponibilidad de compuestos bioactivos, como compuestos fenólicos, osmoprotectores, antioxidantes, vitaminas y fitohormonas. Estos metabolitos han sido reportados en la árnica (*Heterotheca inuloides*) (Rodríguez-Chávez et al., 2017), una planta ampliamente distribuida en México y utilizada tradicionalmente por sus propiedades antiinflamatorias y analgésicas (Gené et al., 1998). La riqueza fitoquímica de esta especie sugiere un alto potencial para modular las respuestas fisiológicas y antioxidantes en plantas sometidas a estrés abiótico.

Actualmente, diversos estudios han demostrado que la aplicación foliar de extractos vegetales en el cultivo de fresa (*Fragaria × ananassa*) constituye una estrategia viable para mejorar el crecimiento vegetativo, el rendimiento y la calidad del fruto, particularmente mediante la estimulación del metabolismo primario, el balance nutrimental y la acumulación de compuestos bioactivos (Szparaga et al., 2021; Kocira et al., 2021; Arif et al., 2023). Sin embargo, pese a estos avances, la evidencia científica disponible se ha centrado mayoritariamente en sistemas de cultivo sin la imposición de estrés salino. Con base en lo anterior, se plantea la hipótesis de que la aplicación foliar de extracto de *Heterotheca inuloides* puede mitigar los efectos negativos del estrés salino en plantas de fresa, mejorando su desempeño agronómico y la calidad del fruto mediante la regulación de procesos fisiológicos y antioxidantes. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del extracto de árnica aplicado foliarmente en plantas de fresa cultivadas bajo condiciones de estrés salino sobre variables agronómicas y características fisicoquímicas, así como sobre la respuesta del sistema antioxidante, tanto enzimático como no enzimático. La novedad de este trabajo radica en la evaluación del extracto de *Heterotheca inuloides* como alternativa bioestimulante poco explorada en

fresa bajo estrés salino, aportando evidencia científica sobre su potencial para mejorar la tolerancia a la salinidad y mantener la productividad y la calidad del fruto, en un enfoque de agricultura sostenible.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Establecimiento del cultivo

El experimento se realizó en un invernadero con cubierta de polietileno en el Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (20°03'40"N 98°23'00"O, 2360 msnm). La temperatura osciló entre $22 \pm 2^\circ\text{C}$, la humedad relativa se mantuvo $\geq 70\%$. Se utilizaron 54 plántulas de fresa var. 'Camino Real'; las cuales se trasplantaron en bolsas de plástico de polietileno negro de 2 L. Se utilizó como sustrato una mezcla de peat moss y perlita agrolita, en una proporción (1:1) en volumen base. Para los tratamientos de estrés salino, se agregaron 50 mM de NaCl a la solución Steiner (C.E.- 6.44 dSm^{-1} y pH - 6.71), con riego salino 4 veces por semana (Keutgen y Pawelzik, 2009), desde la 6.^a semana del trasplante hasta el final del ciclo del cultivo (28 semanas). Se aplicaron por bolsa 500 mL de la solución nutritiva al 25 % durante la etapa vegetativa, al 50 % durante la etapa de floración, al 75 % durante el cuajado del fruto y al 100 % durante el llenado y la cosecha del fruto, según la metodología descrita por Steiner (1961).

2.2 Obtención de la muestra vegetal y preparación de la solución de extracto de árnica

Las hojas y flores de árnica fueron recolectadas en el municipio de San Diego Texmelucan, Puebla, México, una región con clima templado subhúmedo y precipitación predominante en verano. El material vegetal fresco se trasladó al laboratorio de poscosecha del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, donde se sometió a ultracongelación a -75°C durante 48 h en un ultracongelador (Thermo Scientific, modelo ULT2540-9-A41) con la finalidad de preservar los compuestos termosensibles. Posteriormente, las muestras se deshidrataron por liofilización (Labconco, modelo 79480) hasta peso constante y se pulverizaron en un molino de cuchillas (Retsch GM-200) a 9,000 rpm durante 50 s, obteniendo un polvo fino

y homogéneo. Para obtener el extracto, el material vegetal seco se sometió a extracción sólido-líquido con etanol al 80% (v/v) como disolvente. La mezcla se mantuvo en maceración durante siete días a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) y protegida de la luz. Posteriormente, el extracto crudo se separó por filtración sobre papel Whatman No. 2 y el solvente se eliminó mediante evaporación a presión reducida en un rotavapor (BUCHI R-215) acoplado a una bomba de vacío (BUCHI V-700), a 45 °C y 75 rpm. El extracto concentrado se almacenó en frascos ámbar a 5 °C hasta su uso. El rendimiento y la caracterización se han reportado por Hernández-Pérez et al., 2025. A partir del extracto concentrado se prepararon soluciones hidroalcohólicas a concentraciones finales de 1,000 y 2,000 mg L⁻¹, diluidas en 1,000 mL de agua destilada. A cada solución se añadió un adherente agrícola (Bionex®) a una concentración de 2 mL L⁻¹ para mejorar su estabilidad y adherencia. Las mezclas se homogenizaron en un agitador magnético multiposición (VELP Scientifica, modelo Multistirrer) a 350 rpm y 15 °C durante 25 min, asegurando la adecuada dispersión del extracto previo a su aplicación experimental.

2.3 Diseño y aplicación de los tratamientos

El diseño experimental contempló la aplicación de cloruro de sodio (NaCl) a una concentración de 50 mM y dos dosis del extracto hidroalcohólico de árnica (EXHi: 1,000 y 2,000 mg L⁻¹), generando seis tratamientos: Control: plantas sin NaCl ni extracto; T1, sin NaCl + 1,000 ppm EXHi; T2, sin NaCl + 2,000 ppm EXHi; T3, 50 mM NaCl sin extracto; T4, 50 mM NaCl + 1,000 ppm EXHi; y T5; 50 mM NaCl + 2,000 ppm EXHi. La bioestimulación se realizó vía foliar mediante aspersion directa del extracto sobre el haz y envés de las hojas, utilizando un rociador manual y aplicando 50 mL por planta en cada evento. Se efectuaron cinco aplicaciones, con un intervalo de 7 días entre cada una. Los frutos se cosecharon seis meses después del trasplante, según el estado de madurez comercial, determinado por la coloración roja uniforme en la superficie del fruto.

2.4 Variables de estudio

2.4.1 Variables agronómicas y calidad postcosecha

Se llevó a cabo la separación manual de los órganos de la planta de fresa, distinguiendo hoja, pecíolo, corona y raíz; cada uno de estos componentes se cuantificó con una

balanza digital (Scout Pro OHAUS). Posteriormente, las muestras vegetales se colocaron en bolsas de papel estraza para su resguardo. El peso del fruto se determinó con una balanza digital (Scout Pro OHAUS). El diámetro ecuatorial y el diámetro polar de los frutos se midieron con un calibrador digital (CALIPER).

Los frutos cosechados se emplearon para cuantificar sólidos solubles totales (°Brix), pH, color, firmeza, acidez titulable, azúcares totales, azúcares reductores y no reductores. Los sólidos solubles totales (SST) se determinaron mediante un refractómetro digital (ATAGO Co. Ltd., Minato, Tokio, Japón) con un rango de medición de 0–45%, y los resultados se reportaron en °Brix. El pH se midió con un potenciómetro digital (modelo 550, Oakton). El color externo del fruto se evaluó mediante los parámetros cromáticos L*, a* y b*, utilizando un colorímetro HunterLab (modelo CM508d, Minolta Camera Co. Ltd., Osaka, Japón), de acuerdo con la metodología descrita por Monroy-Gutiérrez et al. (2017). La firmeza de la pulpa se determinó con un texturómetro TA.XTPlus estuvo equipado con una sonda de 5 mm de diámetro y los resultados se expresaron en newtons (N). La acidez titulable se cuantificó siguiendo el método 942.15 de la AOAC (1995); para ello, se pesaron 10 g de muestra y se homogeneizaron con 50 mL de agua destilada en una licuadora (Osterizer Blender Classic, modelo BLSTBC4129-13). Posteriormente, se registró el volumen total del homogenizado y se tomó una alícuota de 10 mL, a la cual se añadieron tres gotas de fenolftaleína al 1 % como indicador y se tituló con NaOH 0.1 M hasta alcanzar el punto final de la reacción. El porcentaje de acidez se calculó a partir del volumen de hidróxido de sodio consumido, la normalidad del titulante, el equivalente del ácido cítrico, el volumen total de la muestra preparada, la alícuota utilizada y el peso inicial de la muestra.

El contenido de azúcares totales se determinó según la metodología descrita por Zahedi et al. (2019). Para ello, se homogenizaron 0.1 g de muestra liofilizada con 10 mL de agua destilada y posteriormente las muestras se centrifugaron a $10,000 \times g$ durante 10 min a 4 °C (Thermo Scientific, modelo ST 16R, Alemania). El sobrenadante obtenido se mezcló con 5 mL de reactivo de antrona y la mezcla se llevó a ebullición durante 10 min; posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente y la absorbancia se registró a 625

nm en un espectrofotómetro (Genesys 150 UV/Visible, Daly City, CA, EUA). Los azúcares reductores se cuantificaron mediante el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) de acuerdo con Ávila-Núñez et al. (2012); para ello, 0,1 g de muestra liofilizada se mezcló con 0,5 mL del reactivo DNS y los tubos se sometieron a ebullición durante 5 min. La reacción se detuvo mediante enfriamiento en agua con hielo y, posteriormente, se añadieron 5 mL de agua destilada; una vez que las muestras alcanzaron la temperatura ambiente, se midió la absorbancia a 540 nm en el mismo espectrofotómetro. El contenido de azúcares no reductores se estimó como la diferencia entre los azúcares totales y los reductores. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de glucosa por gramo de peso seco (mg EG g⁻¹ PS).

2.5 Compuestos no enzimáticos y actividad antioxidante

El contenido de fenoles totales se cuantificó mediante el método colorimétrico basado en el reactivo de Folin–Ciocalteu, según el procedimiento descrito por Singleton et al. (1999). Para el análisis, se combinaron 0.5 mL del sobrenadante obtenido de la muestra con 0.5 mL del reactivo Folin–Ciocalteu previamente diluido al 50 % con agua destilada. La mezcla se dejó reposar durante algunos minutos y posteriormente se incorporaron 1.5 mL de una solución de carbonato de sodio al 7.5 %. El sistema de reacción se mantuvo en la oscuridad durante 60 min para permitir el desarrollo del color. Finalizado este periodo, la absorbancia se registró a 725 nm con un espectrofotómetro (Genesys 150 UV/Visible, Daly City, CA, EUA). Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de peso seco (mg EAG g⁻¹ PS).

El contenido de flavonoides totales se determinó mediante un método colorimétrico basado en la formación de complejos con cloruro de aluminio, conforme al procedimiento descrito por Rosales et al. (2011). Para ello, 2 mL del sobrenadante de la muestra se mezclaron con 1.5 mL de solución de nitrito de sodio y 2 mL de agua destilada. La mezcla se mantuvo en reposo durante 5 min a la oscuridad. Posteriormente se añadieron 1.5 mL de tricloruro de aluminio y 1 mL de hidróxido de sodio, permitiendo que la reacción continuara durante 20 min adicionales. La intensidad de color desarrollada se midió a 415 nm en un espectrofotómetro (Genesys 150 UV/Visible, Daly City, CA, EUA), y los

resultados se reportaron como miligramos equivalentes de quercetina por gramo de peso seco (mg EQ g⁻¹ PS).

El contenido total de antocianinas se evaluó mediante el método de pH diferencial descrito por Giusti y Wrolstad (2001). Para este análisis se prepararon soluciones amortiguadoras de cloruro de potasio (0.025 M) y de acetato de sodio (0.4 M). Se tomaron 500 µL del sobrenadante de la muestra y se distribuyeron en dos tubos de reacción: en el primero se añadieron 4.5 mL de solución de cloruro de potasio y en el segundo 4.5 mL de solución de acetato de sodio. Las mezclas se mantuvieron a 25 °C durante 15 min para estabilizar la reacción. Posteriormente se tomaron alícuotas para su lectura espectrofotométrica a 510 y 700 nm utilizando el mismo equipo. El contenido de antocianinas se expresó en miligramos por gramo de peso seco (mg A g⁻¹ PS).

El contenido de ácido ascórbico se determinó según el procedimiento descrito por Dürüst et al. (1997). En este caso, 0.1 g de muestra se homogenizaron con 10 mL de solución de ácido metafosfórico al 3 % (v/v). La mezcla se sometió a sonicación durante 15 min en un baño ultrasónico (modelo 32V118A, Freeport, IL, EUA) para favorecer la extracción del compuesto. Posteriormente, el extracto se centrifugó a 10,000 × g durante 10 min. Del sobrenadante obtenido se tomaron 2 mL, los cuales se mezclaron con 2 mL de tampón a pH 4 (preparado con ácido acético glacial y acetato de sodio al 5 % en proporción 1:1), 3 mL de dicloroindofenol y 15 mL de xileno, agitando vigorosamente para asegurar la reacción. Finalmente, la absorbancia se registró a 520 nm en un espectrofotómetro (Genesys 150 UV/Visible, Daly City, CA, EUA), y los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido ascórbico por gramo de peso seco (mg AA g⁻¹ PS).

La capacidad antioxidante se evaluó mediante los ensayos basados en los radicales ABTS•+ y DPPH•. El método ABTS•+ [2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)] se aplicó según la metodología descrita por Re et al. (1999). Para la generación del radical, se preparó una solución mezclando ABTS a 7 mM con persulfato de potasio a 2.45 mM en proporción 1:1, la cual se mantuvo en la oscuridad, bajo agitación constante, durante 16 h para permitir la formación del radical estable. Posteriormente, 0.1 mL del

sobrenadante de la muestra se combinó con 3.0 mL de la solución del radical ABTS^{•+} y la mezcla se dejó reaccionar durante 6 min antes de registrar la absorbancia a 734 nm con un espectrofotómetro (Genesys 150 UV/Visible, Daly City, CA, EUA). La actividad antioxidante se expresó en micromoles equivalentes de Trolox por gramo de peso seco ($\mu\text{M TE g}^{-1}\text{ PS}$).

La actividad antioxidante mediante el ensayo DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) se determinó de acuerdo con el procedimiento descrito por Brand-Williams et al. (1995). El radical DPPH[•] Se preparó en una solución etanólica a una concentración de $6 \times 10^{-5}\text{ M}$, manteniéndose en agitación durante 2 h en condiciones de oscuridad. Para el análisis, 0.3 mL del sobrenadante de la muestra se mezcló con 2.5 mL de la solución del radical DPPH[•] y la mezcla se incubó durante 1 h a 4 °C en oscuridad. Posteriormente, la absorbancia se midió a 517 nm con el mismo espectrofotómetro. Los resultados obtenidos se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de peso seco ($\mu\text{M TE g}^{-1}\text{ PS}$).

2.6 Actividad antioxidante enzimática

2.6.1 Actividad de la superóxido dismutasa (SOD; EC 1.15.1.1)

La actividad de superóxido dismutasa, se evaluó de acuerdo con el método propuesto por Balois-Morales et al. (2008). Se mezcló 0.1 g de fresa liofilizada con 5 mL de una solución extractora de buffer de fosfatos, pH 7.8, 0.05 M, se centrifugó a 10,000 x g durante 15 minutos a 4 °C. La mezcla para la determinación de la SOD consistió en sobrenadante, buffer de fosfatos 0.05 M a pH 7.8, EDTA 0.1 mM, L-metionina 12 mM, NBT 0.075 mM y riboflavina 0.002 mM. Esta mezcla se dejó reaccionar por 15 min con una lámpara con luz fluorescente de 20 watts, pasado el tiempo se procedió a leer las absorbancias a 560 nm (Genesys, 150 UV/Visible, Daly City, CA, EUA). El contenido de proteínas se determinó mediante el método de Bradford (1976), utilizando albúmina sérica bovina (BSA) como estándar. Los resultados se expresaron en unidades internacionales por gramo de proteína ($\text{U mg}^{-1}\text{ de proteína}$), donde 1 U es la cantidad de enzima necesaria para causar el 50% de la inhibición de la reducción de NBT.

2.6.2 Actividad de la catalasa (CAT; EC 1.11.1.6)

La actividad de la catalasa se determinó según el método descrito por Balois-Morales et al. (2008), con algunas modificaciones. A 0.1 g de muestra liofilizada se añadió 5 mL de una solución tampón de fosfato de sodio 25 mM, pH 7.8, posteriormente fue centrifugado a $10,000 \times g$ a 4°C durante 15 minutos. La mezcla de reacción consistió en buffer de fosfatos 25 mM, pH 7.8, EDTA 0.8 mM, extracto enzimático (sobrenadante) y H_2O_2 a 20 mM. El cambio de absorbancia se registró durante 3 min a 240 nm (Genesys 150 UV/Visible, Daly City, CA, EUA). Los resultados se expresaron en unidades internacionales por gramo de proteína (U mg^{-1} de proteína).

2.6.3 Actividad del ascorbato peroxidasa (APx; EC 1.11.1.11)

Se determinó la actividad de la enzima ascorbato peroxidasa según el método propuesto por Proietti et al. (2013), con ligeras modificaciones. Para la extracción de la enzima se utilizó buffer de potasio 50 mM, pH 7.0, el cual fue mezclado con 0.1 g de muestra liofilizada posteriormente fue centrifugada a $12,000 \times g$ durante 20 minutos a 4°C . Para la reacción, se mezclaron buffer de potasio 50 mM, pH 7.0, ascorbato sódico 10 mM, extracto enzimático y H_2O_2 a 30 mM. Se evaluó el cambio de absorbancia a 290 nm, durante 2 min a 25°C , en un espectrofotómetro (Genesys, 150 UV/Visible, Daly City, CA, EUA). La actividad de APx se calculó con base en el coeficiente de extinción molar del ascorbato ($2.8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Los resultados se reportaron en unidades internacionales por gramo de proteína (U mg^{-1} de proteína).

2.6.4 Actividad del guayacol peroxidasa (POD; EC 1.11.1.7)

La cuantificación de la actividad de la guayacol peroxidasa (POD), se realizó por la oxidación del guayacol a tetraguayacol, de acuerdo al método descrito en Vanegas et al. (2020). La mezcla de reacción consistió en buffer de fosfatos 100 mM, pH 5.0, guayacol 40 mM, H_2O_2 40 mM y extracto enzimático. La formación de tetraguayacol, fue registrada cada 10 s durante 3 min a una longitud de onda de 470 nm (Genesys, 150 UV/Visible, Daly City, CA, EUA). Los resultados se expresaron en unidades internacionales por gramo de proteína (U mg^{-1} de proteína).

2.6.5 Actividad de la polifenoloxidasas (PPOs; E.C. 1.14.18.1 y E.C. 1.10.3.1)

La determinación de la actividad polifenoloxidasas (PPO), se realizó de acuerdo al método propuesto por Vanegas et al. (2020). Para la reacción, se mezcló una muestra conocida del sobrenadante con 2.2 mL de catecol a 100 mM en buffer de fosfatos de sodio a pH 6.5 (100 mM). La actividad de la PPO se siguió mediante la oxidación del catecol a o-diquinona a una longitud de onda de 470 nm (Genesys 150 UV/Visible, Daly City, CA, EUA) durante 3 min. Los resultados se expresaron en unidades internacionales por miligramo de proteína ($U\text{ mg}^{-1}$ de proteína).

2.7 Biomarcadores de estrés

2.7.1 Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)

La determinación del peróxido de hidrógeno se realizó de acuerdo a Junglee et al. (2014). En una mezcla de 0.1 g de material liofilizado con buffer de fosfatos de sodio 10 mM, pH 7, ácido tricloroacético al 0.1% y yoduro de potasio 1 M, la cual fue sometida a un baño ultrasónico durante 10 min a 40 kHz; posteriormente, se centrifugó a 10,000 x g durante 10 min. Las muestras se dejaron reaccionar por 20 min más a temperatura ambiente (20-22 °C), pasado el tiempo, se midieron las absorbancias a una longitud de onda de 390 nm (Genesys, 150 UV/Visible, Daly City, CA, EUA). Los resultados se expresaron en nanomoles de H_2O_2 por gramo de peso seco ($nmol\text{ g}^{-1}$ PS).

2.7.2 Concentración de malondialdehído (MDA)

La peroxidación de los lípidos se evaluó mediante la cuantificación de la concentración de Malondialdehído (MDA), siguiendo el método de Pasquariello et al. (2015), con algunas modificaciones. 0.1 g de fresa liofilizada se mezcló con ácido tricloroacético al 10% (p/v). La solución se llevó a calentar en un baño de agua en ebullición por 10 min; pasado el tiempo, se bajó la temperatura de la muestra a temperatura ambiente y posteriormente fue centrifugada a 15,000 x g durante 10 minutos a 4 °C. El sobrenadante se mezcló con una solución de ácido tricloroacético al 15%, que contenía 0,5% de ácido tiobarbitúrico ($C_4H_4N_2O_2S$). Se midió la absorbancia a 535 nm (Genesys, 150 UV/Visible, Daly City, CA, EUA). La actividad de MDA se calculó con base en el

coeficiente de extinción molar de $1.56 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Los resultados se expresaron en milimoles de malondialdehído por gramo de peso seco ($\text{mM MDA g}^{-1} \text{ PS}$).

2.8 Análisis Estadístico

Se realizaron tres repeticiones por tratamiento y nueve plantas por repetición, en un diseño de bloques completos al azar. Se llevó a cabo un análisis de varianza y la prueba LSD de Fisher ($\alpha \leq 0.05$) para evaluar las variables agronómicas, fisicoquímicas, de compuestos bioactivos y de enzimas no antioxidantes; se utilizó el software Infostat (2020).

3. RESULTADOS

3.1 Variables agronómicas y calidad postcosecha

El análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$) indicó que no existen diferencias significativas de los tratamientos sobre el peso fresco (PF) y peso seco (PS) de hoja, pecíolo, raíz y corona (Figura 1). Se muestra que el peso fresco (PF) incrementó significativamente por la aplicación foliar de 1000/2000 ppm de EXHi (T1 y T2) en un 60.8 y 20.7 % (hoja) (Figura 1A); 38.6 y 30.6 % (pecíolo) (Figura 1C); 99.9 y 20.2 % (raíz) (Figura 1G) y 101.0 y 57.0 % (corona) (Figura 1E), respectivamente, con relación al control (Figura 2). Asimismo, el peso seco (PS) aumentó por la aplicación de 1000/2000 ppm de EXHi (T1 y T2) en 57.6 y 12.9 % (hoja) (Figura 1B); 37.5 y 28.6 % (pecíolo) (Figura 1D); 41.6 y 27.3 % (raíz) (Figura 1H); 139.3 y 85.1 % (corona) (Figura 1F); Se muestra una tendencia de reducción en el peso fresco en los tratamientos en condiciones salinas y aplicación de 1000/2000 ppm de EXHi (T4 y T5), en 10 y 15 % (hoja) (Figura 1A) con respecto al control; en el caso del pecíolo se presentó un incremento con T4 del 103 y una reducción con T5 del 12 % (Figura 1C); con respecto a la raíz T4 mostro un incremento del 142% y T5 una reducción del 12% Figura 1G); en el peso fresco de la corona se mostraron incrementos con T4 y T5 del 182 y 121 % (Figura 1E). El peso seco de las hojas se redujo con T4 y T5 en un 22 % y 22 % respecto al control (Figura 1B); dicho comportamiento se replicó en el peso seco del pecíolo, con 12 % y 29 % respectivamente, en el mismo sentido de comparación (Figura 1D). En la raíz,

el tratamiento T4 se incrementó en un 104% y T5 se redujo en un 23% (Figura 1H), mientras que en la corona T4 y T5 incrementaron el peso seco en 152% y 102%, respectivamente (Figura 1D).

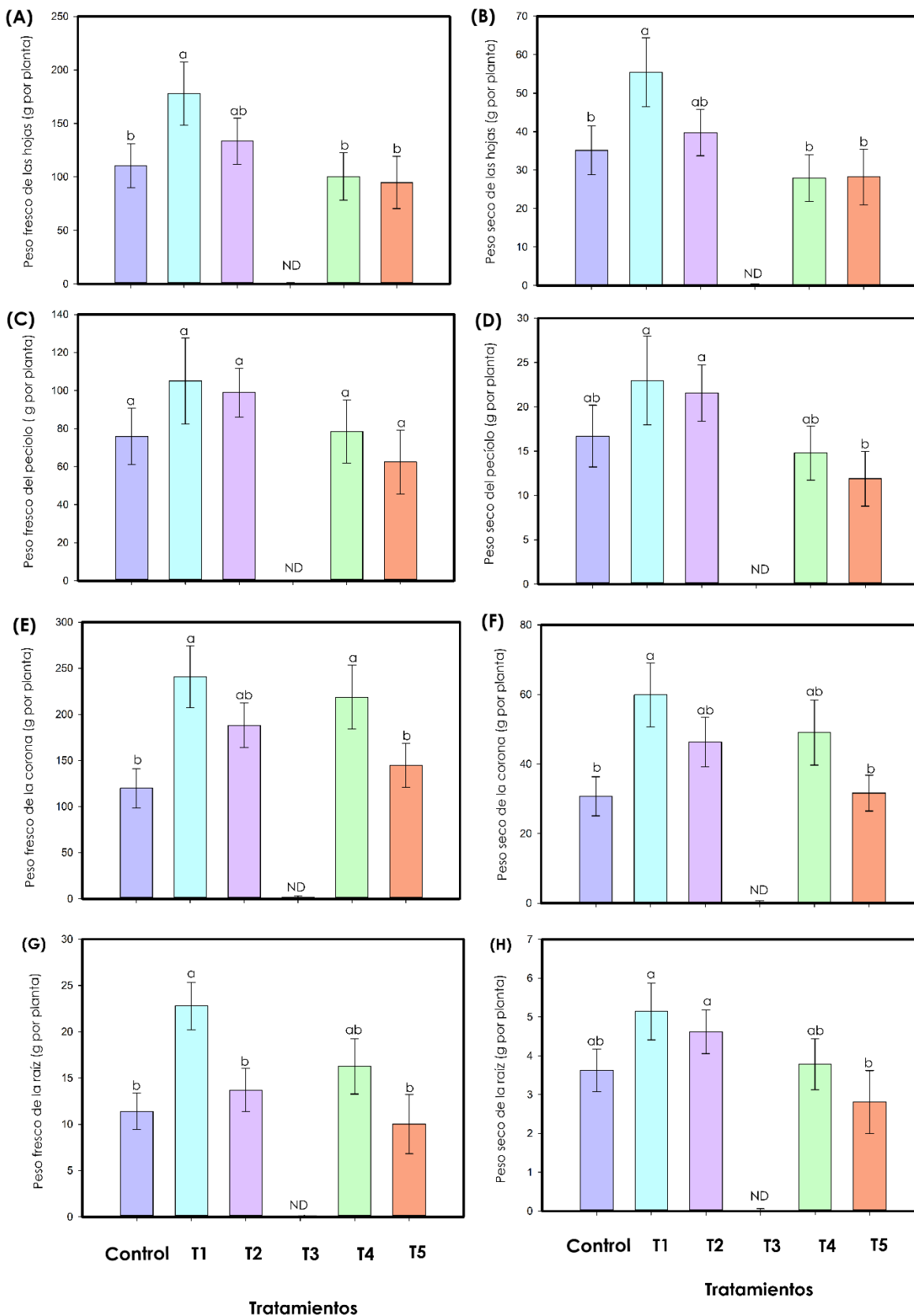


Figura 1. Peso fresco y seco de las diferentes partes de la planta de fresa. (A) Peso fresco de las hojas; (B) Peso seco de las hojas; (C) Peso fresco del pecíolo; (D) Peso seco del pecíolo; (E) Peso fresco de la corona; (F) Peso seco de la corona; (G) Peso fresco de la raíz; (H) Peso seco de la raíz. Control: plantas sin NaCl y sin extracto de *H. inuloides*; T1: plantas sin NaCl y 1000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T2: plantas sin NaCl y 2000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T3: plantas con 50 mM de NaCl y sin extracto de *H. inuloides*; T4: plantas con 50mM de NaCl y 1000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T5: plantas con 50mM de NaCl y 2000 ppm de extracto de *H. inuloides*. Los valores representan la media $\pm$ el error estándar de tres repeticiones. Las letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($\alpha \leq 0,05$) según la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD). ND= No se observó desarrollo en las plantas de fresa debido al efecto inhibitorio de la concentración salina aplicada, lo que impidió la obtención de datos experimentales para este tratamiento

En la Figura 3, se muestra que no hubo diferencias estadísticas significativas en las variables de peso, largo y diámetro del fruto; sin embargo, se observaron incrementos en los frutos de las plantas con estrés salino y aplicación de 1000 ppm de EXHi (T4), en el peso del fruto este se incrementó un 144% con T4 con respecto al control (Figura 3A), mientras que en el largo del fruto hubo un incremento del 106% en el mismo sentido de comparación (Figura 3B), con respecto al diámetro del fruto T4 y T5 produjeron incrementos del 106% y 102% con respecto al control (Figura 3C), respectivamente. La mayor concentración de azúcares solubles totales (SST) se registró en los frutos de plantas de fresa con aplicación de 1000 ppm de EXHi y ausencia de salinidad (T2); esta aumentó en un 123%, mientras que en el tratamiento T4 aumentó en un 110% respecto al control (Figura 3D). Con respecto a la firmeza (Figura 3E), se observaron valores más altos en los frutos de las plantas de fresa con 1000 ppm de EXHi (T1) y de las plantas con estrés salino y 1000 ppm de EXHi (T4), de 130% y 117%, respectivamente, en relación con el control. En el pH de los frutos de fresa analizados (Figura 3F). No hubo diferencias significativas en el pH de los frutos de fresa analizados. Sin embargo, con el tratamiento con T4 se observó un ligero incremento del 101% respecto al control.

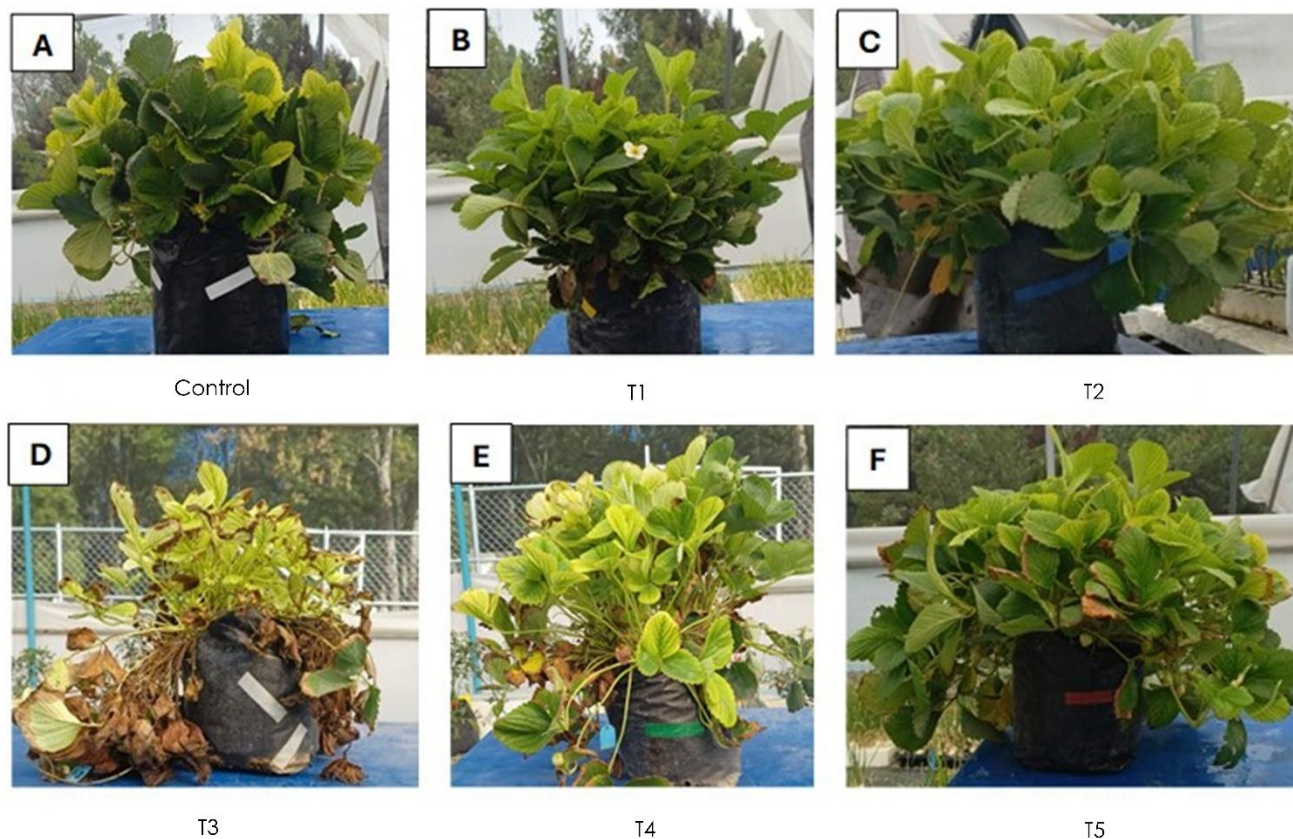


Figura 2. Efectos fenotípicos de plantas de fresa bajo condiciones de estrés salino y con la aplicación de extracto de árnica tras la primera aplicación del tratamiento correspondiente. (A) Control, plantas cultivadas sin NaCl ni extracto, con crecimiento normal y follaje verde característico. (B) T1: plantas sin NaCl y tratadas con 1000 ppm de extracto de *H. inuloides*, que presentan mayor desarrollo foliar y una coloración verde uniforme. (C) T2, plantas sin NaCl y tratadas con 2000 ppm de extracto de *H. inuloides*, mostrando abundante biomasa aérea y hojas vigorosas. (D) T3, plantas expuestas a 50 mM de NaCl sin aplicación de extracto, con síntomas severos de estrés salino, incluyendo clorosis, necrosis foliar, marchitez y reducción del crecimiento. (E) T4, plantas tratadas con 50 mM de NaCl y 1000 ppm de extracto de *H. inuloides*, donde se observa una atenuación parcial de los daños ocasionados por la salinidad, con mayor conservación del follaje y menor necrosis en comparación con T3. (F) T5: plantas tratadas con 50 mM de NaCl y 2000 ppm de extracto de *H. inuloides*, que presentan una recuperación visual más evidente, con mayor densidad foliar, mejor coloración y menor afectación por estrés salino en comparación con el tratamiento salino sin extracto.

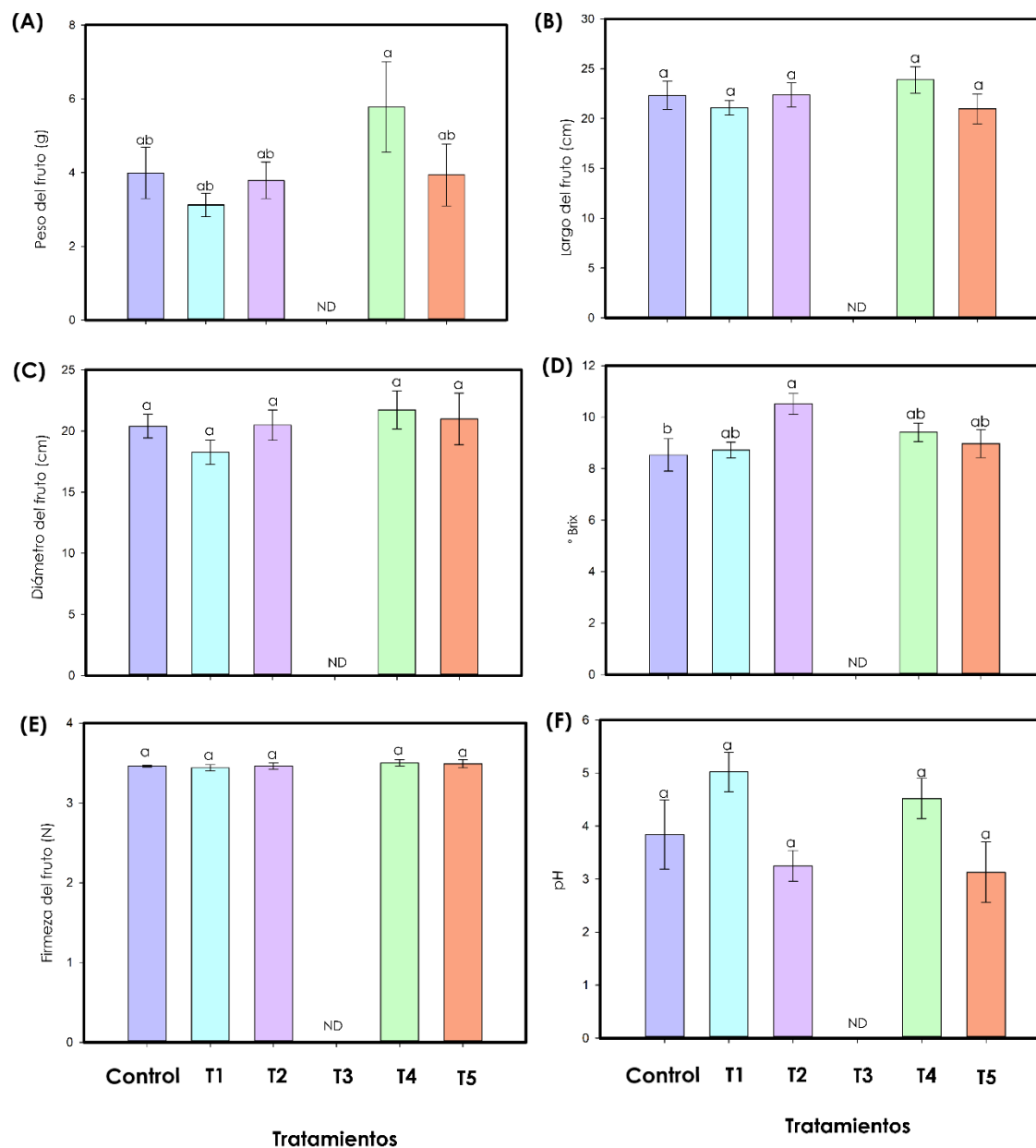


Figura 3. Calidad postcosecha en frutos de fresa: (A) Peso del fruto; (B) Largo del fruto; (C) Diámetro del fruto; (D) Sólidos solubles totales ; (E) Firmeza del fruto; (F) pH del fruto. Control: plantas sin NaCl y sin extracto de *H. inuloides*; T1: plantas sin NaCl y 1000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T2: plantas sin NaCl y 2000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T3: plantas con 50 mM de NaCl y sin extracto de *H. inuloides*; T4: plantas con 50mM de NaCl y 1000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T5: plantas con 50mM de NaCl y 2000 ppm de extracto de *H. inuloides*. Los valores representan la media $\pm$ el error estándar de tres repeticiones. Las letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($\alpha \leq 0.05$) según la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD). ND= No se observó desarrollo en las plantas de fresa debido al efecto inhibitorio de la concentración salina aplicada, lo que impidió la obtención de datos experimentales para este tratamiento.

A pesar de que no se encontraron diferencias estadísticas significativas en la acidez titulable (AT) de los frutos de fresa analizados (Figura 4A), se observaron incrementos del 152% en plantas estimuladas con 1000/2000 ppm de EXHi (T1 y T2), así como en plantas con estrés salino y 1000/2000 ppm de EXHi (T4 y T5), con 113% y 146%, respectivamente, en comparación con el control. Se observó una mayor concentración de azúcares totales (Figura 4B), azúcares reductores (Figura 4C) y azúcares no reductores (ANR) (Figura 4D) en frutos de fresa sin estrés salino y con la aplicación de 1000 ppm de EXHi (T1), con valores de 108%, 125% y 108%, respectivamente, en comparación con el tratamiento control. Por otra parte, se observó una disminución en el contenido de azúcares totales, azúcares reductores y azúcares no reductores en plantas de fresa sometidas a estrés salino y con aplicación de 1000/2000 ppm de EXHi (T4 y T5), con valores del 7% y 2 % (azúcares totales); 17% (azúcares reductores) y 7% y 1% (azúcares no reductores), respectivamente, con relación al control.

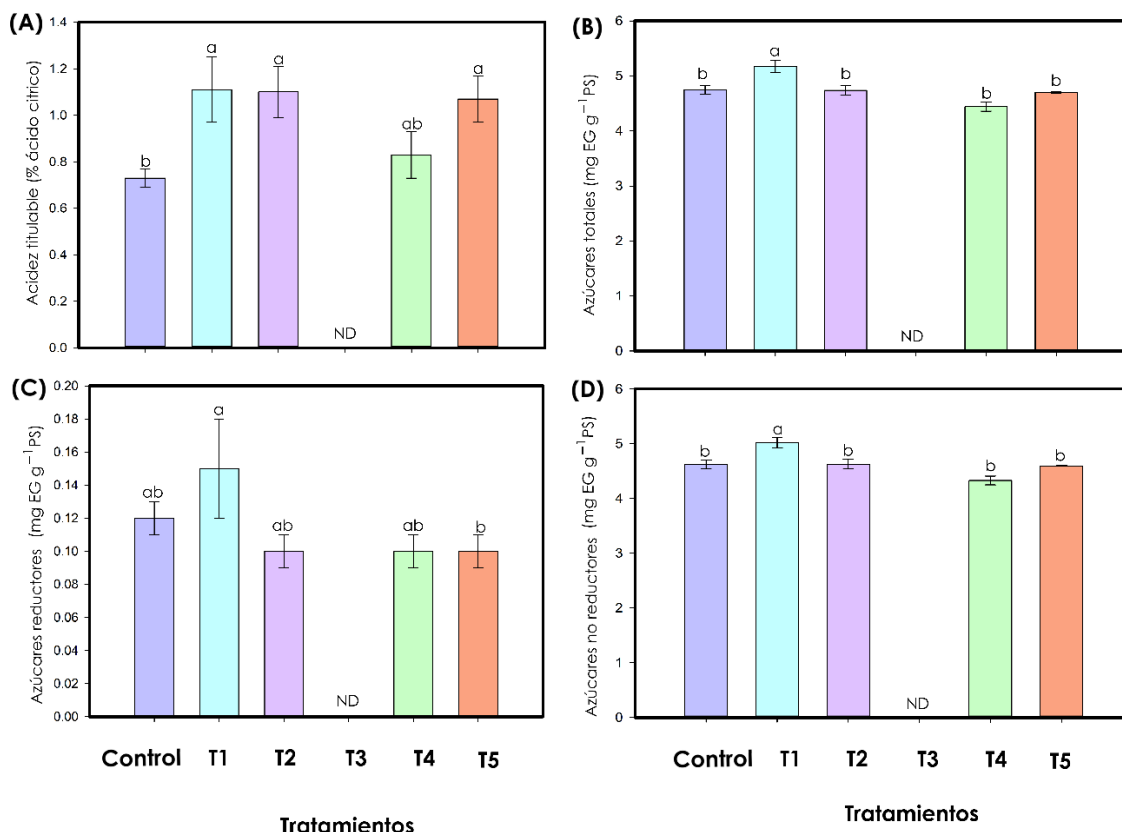


Figura 4. Efecto de la salinidad y la aplicación de extracto sobre la composición química de frutos de fresa: (A) Acidez titulable; (B) Azúcares totales; (C) Azúcares reductores; (D) Azúcares no reductores. Control: plantas sin NaCl y sin extracto de *H. inuloides*; T1: plantas sin NaCl y 1000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T2: plantas sin NaCl y 2000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T3: plantas con 50 mM de NaCl y sin extracto de *H. inuloides*; T4: plantas con 50mM de NaCl y 1000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T5: plantas con 50mM de NaCl y 2000 ppm de extracto de *H. inuloides*. Los valores representan la media $\pm$ el error estándar de tres repeticiones. Las letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($\alpha \leq 0,05$) según la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD). ND= No se observó desarrollo en las plantas de fresa debido al efecto inhibitorio de la concentración salina aplicada, lo que impidió la obtención de datos experimentales para este tratamiento.

En lo que respecta al color del fruto (Cuadro 1), el análisis estadístico, acompañado de una prueba de medias LSD, indica que no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos; el tratamiento T1 fue 107% superior a T4, mientras que T2 fue 105% inferior al control. Para el valor de a^* , los tratamientos T1 y T4 fueron del 111% y 110%, respectivamente, respecto al control. Finalmente, en los valores de b^* , T5 redujo este parámetro en un 129% respecto al control.

Cuadro 1. Color de los frutos de plantas de fresa de la variedad Camino Real bajo condiciones de estrés salino y con la aplicación de un extracto de árnica.

Tratamientos	Color		
	L *	a *	b *
Control	48.49±1.14 ^a	33.18±1.68 ^{ab}	23.84±3.42 ^{ab}
T1	48.09±1.13 ^a	37.12±1.30 ^a	25.11±1.96 ^{ab}
T2	45.79±0.63 ^{ab}	35.66±1.68 ^{ab}	23.45±2.51 ^{ab}
T3	ND	ND	ND
T4	44.88±0.73 ^b	37.07±1.65 ^a	26.01±2.56 ^a
T5	45.35±1.59 ^{ab}	32.43±1.63 ^b	18.34±1.38 ^b

L = luminosidad; a* = verde a rojo, b* = azul a amarillo. Control: plantas sin NaCl y sin extracto de *H. inuloides*; T1: plantas sin NaCl y 1000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T2: plantas sin NaCl y 2000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T3: plantas con 50 mM de NaCl y sin extracto de *H. inuloides*; T4: plantas con 50mM de NaCl y 1000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T5: plantas con 50mM de NaCl y 2000 ppm de extracto de *H. inuloides*. Los valores representan la media ± el error estándar de tres repeticiones. Las letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($\alpha \leq 0,05$) según la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD). ND= No se observó desarrollo en las plantas de fresa debido al efecto inhibitorio de la concentración salina aplicada, lo que impidió la obtención de datos experimentales para este tratamiento

3.2 Compuestos no enzimáticos y actividad antioxidante

En la Figura 5 se presentan los contenidos de fenoles totales, flavonoides, capacidad antioxidante, ácido ascórbico y antocianinas en los frutos de fresa. Los resultados indican que existen diferencias significativas entre los tratamientos ($\alpha \leq 0,05$); la concentración de fenoles (Figura 5A) en los frutos de las plantas de fresa con presencia salina y la aplicación de 1000/2000 ppm de EXHi (T4 y T5) registraron un incremento del 102% y del 109%, respectivamente, en comparación con el control. Se observó una disminución significativa en la concentración de flavonoides (Figura 5B) en los frutos de las plantas de fresa sometidas a estrés salino y a la aplicación de 1000/2000 ppm de EXHi (T4 y T5), de 34% y 44%, respectivamente, y en aquellas plantas con aplicación de 1000/2000 ppm de EXHi (T1 y T2), la disminución fue de 43% y 93%, en comparación con el control. En la Figura 5C y Figura 5D se muestran los datos de la capacidad antioxidante obtenidos

mediante los ensayos ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)) y DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo). Con respecto a ABTS (Figura 5C), el T4 y el T5 mostraron incrementos del 105% y del 111%, respectivamente, en comparación con el control. Con respecto al ensayo DPPH (Figura 5D), se observa un incremento de la actividad antioxidante en los frutos de plantas de fresa bajo estrés salino y con la aplicación de 1000/2000 ppm de EXHi (T4 y T5), en 101% y 105%, respectivamente, en comparación con el control. El ácido ascórbico (Figura 5E) se incrementó en los frutos de las plantas de fresa bajo estrés salino y con la aplicación de 2000 ppm de EXHi (T5) en 121%, y con el tratamiento (T2) en 115%, respectivamente, con respecto al control. El contenido de antocianinas (Figura 5F) se incrementó en un 105% en plantas bajo estrés salino y con 2000 ppm de EXHi (T5) y un 124% en frutos de plantas de fresa con aplicación de 2000 ppm de EXHi (T2), con respecto al control.

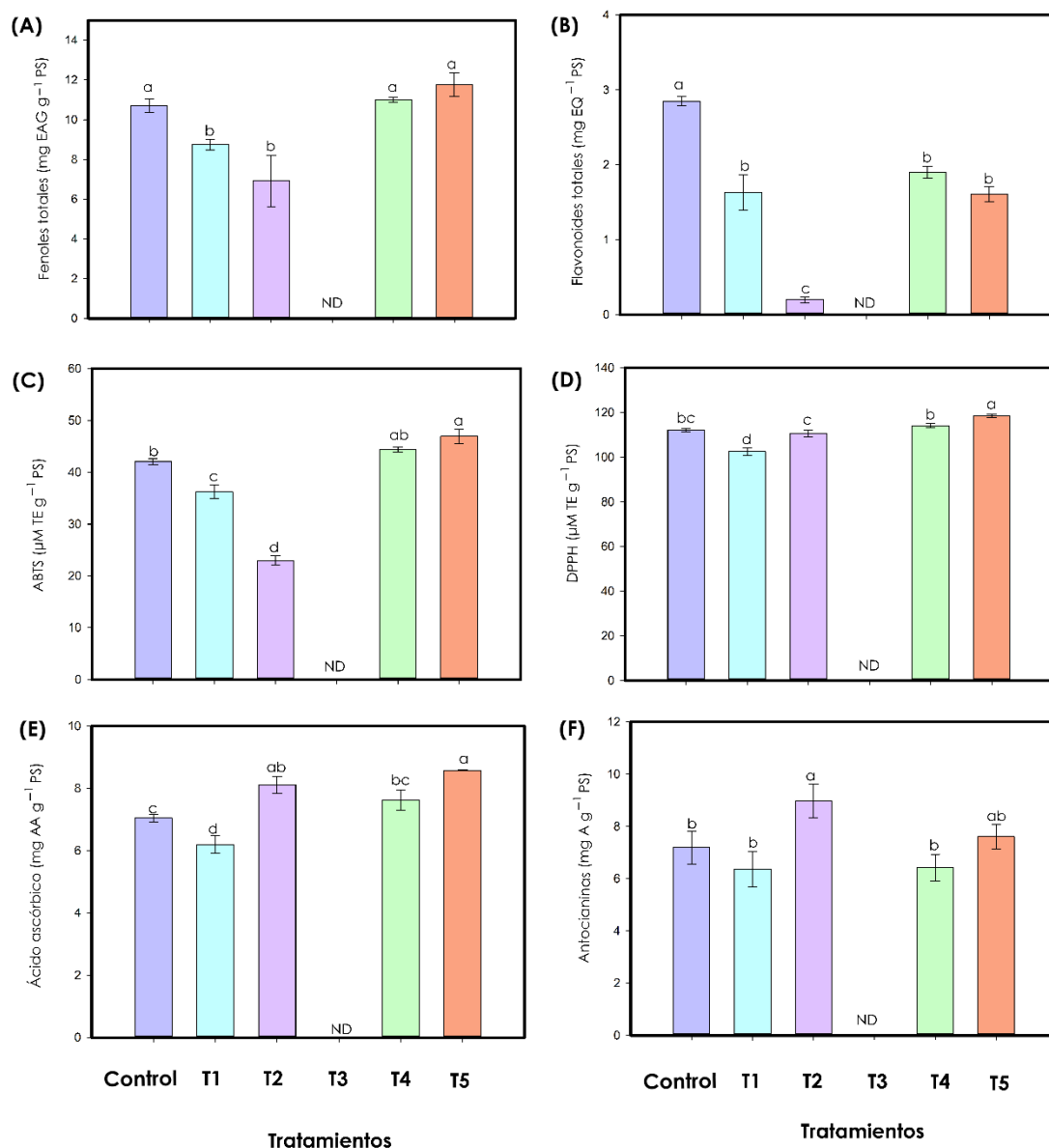


Figura 5. Efecto de la salinidad y la aplicación de extracto sobre compuestos no enzimáticos y capacidad antioxidante: (A) Fenoles; (B) Flavonoides; (C) ABTS; (D) DPPH; (E) Ácido ascórbico; (F) Antocianinas. Control: plantas sin NaCl y sin extracto de *H. inuloides*; T1: plantas sin NaCl y 1000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T2: plantas sin NaCl y 2000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T3: plantas con 50 mM de NaCl y sin extracto de *H. inuloides*; T4: plantas con 50mM de NaCl y 1000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T5: plantas con 50mM de NaCl y 2000 ppm de extracto de *H. inuloides*. Los valores representan la media $\pm$ el error estándar de tres repeticiones. Las letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($\alpha \leq 0,05$) según la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD). ND= No se observó desarrollo en las plantas de fresa debido al efecto inhibitorio de la concentración salina aplicada, lo que impidió la obtención de datos experimentales para este tratamiento.

3.3 Compuestos enzimáticos

Los resultados indican diferencias significativas entre los tratamientos ($\alpha \leq 0,05$) en los compuestos enzimáticos (Cuadro 2). En los frutos sometidos a estrés salino y con aplicación de 1000/2000 ppm de EXHi (T4 y T5) se observó un incremento de la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y guayacol peroxidasa (GPX) (Cuadro 2) con valores de 103% y 105% (SOD), 103% y 105% (CAT) y 194% y 160% (GPX), respectivamente, con relación al control. Del mismo modo, la ausencia de salinidad y la aplicación de 1000 ppm de EXHi (T1) llevaron a incrementos del 117% y del 165% en las actividades de SOD y APx, respectivamente, en comparación con el control.

Cuadro 2. Actividad enzimática en frutos de plantas de fresa de la variedad Camino Real bajo condiciones de estrés salino y con la aplicación de un extracto de árnica.

Tratamientos	superóxido dismutasa SOD (U mg ⁻¹ de proteína)	Catalasa CAT (U mg ⁻¹ de proteína)	Ascorbato peroxidasa APx (U mg ⁻¹ de proteína)	Guayacol peroxidasa (U mg ⁻¹ de proteína)
Control	8.97±0.06 ^c	2.36±0.36 ^a	42.77±4.71 ^{bc}	14.71±1.86 ^b
T1	10.50± 0.06 ^a	0.76±0.24 ^b	70.95±7.88 ^a	14.74±1.31 ^b
T2	8.64±0.07 ^d	0.95±0.30 ^b	47.08±6.27 ^b	16.21±3.39 ^b
T3	ND	ND	ND	ND
T4	9.30±0.22 ^b	2.44±0.21 ^a	39.97±7.67 ^{bc}	28.59±3.28 ^a
T5	9.45±0.05 ^b	2.50±0.39 ^a	30.76±3.91 ^c	23.63±1.58 ^a

Control: plantas sin NaCl y sin extracto de *H. inuloides*; T1: plantas sin NaCl y 1000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T2: plantas sin NaCl y 2000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T3: plantas con 50 mM de NaCl y sin extracto de *H. inuloides*; T4: plantas con 50mM de NaCl y 1000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T5: plantas con 50mM de NaCl y 2000 ppm de extracto de *H. inuloides*. Los valores representan la media ± el error estándar de tres repeticiones. Las letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($\alpha \leq 0,05$) según la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD).

3.4 Biomarcadores de estrés

En el Cuadro 3 se observa que los contenidos de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y de polifenol oxidasa (PPO) de las fresas se incrementaron con la presencia de salinidad y

con la aplicación de 1000/2000 ppm de EXHi (T4 y T5), en un 238% y 257% (H₂O₂) y en 180% y 358% (PPO), respectivamente, en comparación con el control. La peroxidación lipídica aumentó en un 118% con el tratamiento T2 en comparación con el control.

Cuadro 3. Biomarcadores de estrés en frutos de plantas de fresa de la variedad Camino Real bajo condiciones de estrés salino y con la aplicación de un extracto de árnica.

Tratamientos	Peróxido de hidrógeno H ₂ O ₂ (nmol g ⁻¹ de PS)	Peroxidación lipídica malondialdehído (mM MDA g ⁻¹ de PS)	Polifenol oxidasa PPO (U mg ⁻¹ de proteína)
Control	36.21±2.38 ^b	29.37±0.67 ^b	4.09±0.59 ^c
T1	50.82± 10.91 ^{ab}	31.74±0.73 ^{ab}	4.30±0.67 ^c
T2	76.85±29.28 ^{ab}	34.77±1.68 ^a	4.19±0.49 ^c
T3	ND	ND	ND
T4	86.46±12.08 ^{ab}	31.68±2.32 ^{ab}	7.40±1.05 ^b
T5	93.10±28.73 ^a	33.70±1.14 ^a	14.66±1.81 ^a

Control: plantas sin NaCl y sin extracto de *H. inuloides*; T1: plantas sin NaCl y 1000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T2: plantas sin NaCl y 2000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T3: plantas con 50 mM de NaCl y sin extracto de *H. inuloides*; T4: plantas con 50mM de NaCl y 1000 ppm de extracto de *H. inuloides*; T5: plantas con 50mM de NaCl y 2000 ppm de extracto de *H. inuloides*. Los valores representan la media ± el error estándar de tres repeticiones. Las letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($\alpha \leq 0,05$) según la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD).

4. DISCUSIONES

La hipótesis planteada en este estudio se acepta parcialmente, ya que la aplicación foliar del extracto de *Heterotheca inuloides* (EXHi) promovió respuestas fisiológicas, fisicoquímicas y bioquímicas favorables en plantas de fresa y amortiguó el daño inducido por la salinidad. El extracto fortaleció los mecanismos antioxidantes y favoreció la acumulación de ciertos metabolitos asociados a la tolerancia al estrés; sin embargo, no logró revertir por completo el desbalance oxidativo provocado por el NaCl, particularmente en variables relacionadas con biomarcadores de daño celular.

El efecto en plantas sometidas únicamente a salinidad evidencia que el NaCl afectó la expansión celular, la acumulación de biomasa y el metabolismo energético (Figura 2). La acumulación de Na^+ y Cl^- en los tejidos vegetales disminuye el potencial osmótico, lo que limita la absorción de agua y reduce la turgencia celular (Balasubramaniam et al., 2023). Esto favorece el cierre estomático mediado por ABA mediante la activación de los receptores *PYR/PYL/RCAR*, de las fosfatasa PP2C y de las quinasas SnRK2, lo que reduce la conductancia estomática y la fijación de CO_2 (Zhao et al., 2021). Como consecuencia, disminuyen la actividad fotosintética, la síntesis de ATP y de NADPH y la generación de fotoasimilados necesarios para el crecimiento vegetal (Hongqiao et al., 2021). Además, la reducción de la actividad del fotosistema II y la alteración de la cadena transportadora de electrones favorecen la formación excesiva de ROS, en particular del radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) y del H_2O_2 , lo que provoca daño oxidativo en membranas y proteínas (Traye et al., 2025). González-Jiménez et al. (2020) reportaron respuestas similares en fresa bajo salinidad, en las que el crecimiento y la biomasa disminuyeron debido a desequilibrios osmóticos y oxidativos.

En contraste, la aplicación foliar de EXHi incrementó el peso fresco y el peso seco de la hoja, el pecíolo, la raíz y la corona en ausencia de salinidad, lo que indica un efecto bioestimulante sobre el metabolismo primario (Figura 1). Este comportamiento puede explicarse por la presencia de compuestos fenólicos, ácidos hidroxicinámicos y metabolitos antioxidantes en *Heterotheca inuloides*, como el ácido ferúlico, el ácido cafeico y las cumarinas, que pueden modular procesos hormonales relacionados con el crecimiento celular (Lin et al., 2022; El-Nakhel et al., 2022). Estos compuestos podrían favorecer la actividad de enzimas asociadas con asimilación de nitrógeno y metabolismo de carbono, además de estimular la síntesis de auxinas y giberelinas relacionadas con expansión celular y diferenciación tisular. Asimismo, el fortalecimiento del sistema antioxidante probablemente permitió mantener la integridad de las membranas y de los cloroplastos, lo que favoreció una mayor eficiencia fotosintética y la acumulación de biomasa (Boutahiri et al., 2024).

Aunque el EXHi no evitó por completo la reducción del crecimiento bajo salinidad, sí amortiguó parcialmente el efecto negativo del NaCl frente al tratamiento salino sin extracto (Figuras 1 y 2). Algunos metabolitos fenólicos pueden participar indirectamente en la señalización celular y en la activación de genes relacionados con la defensa antioxidante y el transporte vacuolar de Na^+ , incluidos componentes de la vía SOS (Salt Overly Sensitive), como SOS1, SOS2 y SOS3, asociados con la exclusión y compartimentalización de sodio (Ketehouli et al., 2019). Curiosamente, mientras la biomasa vegetativa disminuyó bajo salinidad, el peso, el largo y el diámetro del fruto se incrementaron de manera particular con la aplicación de 1000 ppm de EXHi (Figura 3). Este comportamiento sugiere una redistribución fisiológica de fotoasimilados hacia los órganos reproductivos como mecanismo adaptativo ante el estrés (Llanos et al., 2015). En condiciones salinas, las plantas suelen modificar la partición del carbono y priorizar las estructuras reproductivas, lo que favorece la acumulación de solutos compatibles y metabolitos osmóticos en el fruto (Shadid et al., 2020). Además, la aplicación de 1000 ppm probablemente estableció un equilibrio metabólico adecuado entre la bioestimulación y el estrés oxidativo, lo que favoreció la movilización de sacarosa, glucosa y fructosa hacia el fruto (Goncalves et al., 2025).

Los sólidos solubles totales incrementaron principalmente en ausencia de salinidad y aplicación de 2000 ppm de EXHi (Figura 3D), indicando una mayor acumulación de azúcares y compuestos solubles en el fruto; Los SST representan principalmente sacarosa, glucosa, fructosa y otros metabolitos osmóticamente activos derivados del metabolismo fotosintético (Liu et al., 2025). El incremento observado sugiere una mayor eficiencia en el transporte y la acumulación de carbohidratos, posiblemente relacionada con una mayor actividad fotosintética y la movilización de fotoasimilados desde tejidos fuente hacia tejidos de reserva (Liu et al., 2020). Además, bajo estrés salino, parte del incremento en SST puede relacionarse con el ajuste osmótico mediante la acumulación de solutos compatibles como azúcares solubles y compuestos fenólicos (Parihar et al., 2025). El incremento del pH y de la acidez titulable en frutos (Figuras 3 y 4) tratados con EXHi indica modificaciones en el metabolismo de los ácidos orgánicos y en la respiración

celular. Estos cambios podrían estar asociados a alteraciones en el flujo metabólico entre la glucólisis y el ciclo de Krebs, en particular a la acumulación de ácido cítrico, ácido málico y otros intermediarios orgánicos relacionados con la calidad del fruto. La aplicación de extractos vegetales puede modificar la respiración y metabolismo energético, favoreciendo acumulación diferencial de compuestos orgánicos y cambios fisicoquímicos asociados con sabor y estabilidad del fruto (Ikram et al., 2025).

Los azúcares totales, reductores y no reductores aumentaron en ausencia de salinidad y con la aplicación de 1000 y 2000 ppm de EXHi (Figura 4C y 4D), lo que sugiere una mejora de la fotosíntesis, del metabolismo del carbono y del transporte de carbohidratos. Los azúcares reductores, principalmente glucosa y fructosa, se obtienen por hidrólisis de la sacarosa catalizada por invertasas, mientras que los azúcares no reductores corresponden principalmente a sacarosa acumulada en tejidos de reserva (Mendi et al., 2024). El incremento observado sugiere una mayor actividad de enzimas implicadas en el metabolismo de la sacarosa, como la sacarosa fosfato sintasa (SPS), la sacarosa sintasa e invertasas. Sin embargo, bajo salinidad, estos azúcares disminuyeron incluso con la aplicación de EXHi, lo que indica que el estrés osmótico afectó el metabolismo fotosintético y la partición del carbono (Lu y Jiang, 2010). Chen et al. (2021) reportaron que la salinidad altera genes relacionados con el metabolismo y el transporte de azúcares en frutos de fresa, incluidos los transportadores de hexosas e invertasas vacuolares.

El color del fruto mostró una mayor intensidad principalmente en ausencia de salinidad y aplicación de 1000 ppm de EXHi (Cuadro 1). Este comportamiento puede relacionarse con una mayor acumulación de pigmentos fenólicos y antociánicos derivados de la vía de los fenilpropanoides (Petoumenou y Liava 2025). Las antocianinas predominantes en la fresa, como pelargonidina-3-glucósido y cianidina-3-glucósido, derivan de la actividad de enzimas clave como fenilalanina amonio liasa (PAL), chalcona sintasa (CHS), flavanona-3-hidroxilasa (F3H), dihidroflavonol reductasa (DFR) y antocianidina sintasa (ANS) (Wang et al., 2025). El incremento de color probablemente refleja una activación parcial de estas rutas metabólicas inducida por el extracto.

Por otro lado, el incremento de fenoles totales bajo salinidad y con la aplicación de EXHi evidencia una fuerte activación del metabolismo fenólico como respuesta antioxidante frente al estrés oxidativo (Figura 5A). Los compuestos fenólicos participan en la neutralización de ROS mediante la donación de electrones y de protones, estabilizando radicales libres y protegiendo las membranas celulares (Rao et al., 2025). Lu et al. (2025) indicaron que el estrés salino activa la vía de los fenilpropanoides y favorece la acumulación de metabolitos fenólicos como mecanismo adaptativo. En contraste, los flavonoides disminuyeron considerablemente con 2000 ppm de EXHi en ausencia de salinidad (Figura 5B). Esto sugiere una redistribución metabólica en la vía fenilpropanoide, en la que la planta posiblemente priorizó la síntesis de otros metabolitos antioxidantes más eficientes bajo las condiciones evaluadas, como fenoles simples y antocianinas (Ninkuu et al., 2025). Esta respuesta podría estar asociada a la regulación diferencial de genes biosintéticos como *CHS*, *F3H* y *FLS* (Sharma et al., 2019). La actividad antioxidante determinada mediante ABTS y DPPH aumentó principalmente bajo salinidad y con la aplicación de EXHi (Figuras 5C y 5D), lo que indica una activación importante del sistema antioxidante no enzimático. El ensayo ABTS refleja la capacidad de neutralización tanto hidrofílica como lipofílica, mientras que el DPPH se asocia más con la capacidad reductora de compuestos fenólicos y flavonoides (Shahidi y Samarasinghe, 2025). El incremento en ambos ensayos sugiere una mayor acumulación de metabolitos antioxidantes, capaces de estabilizar radicales libres y de disminuir parcialmente el daño oxidativo inducido por NaCl (Wołosia et al., 2021).

El comportamiento del ácido ascórbico y de las antocianinas dependió de la dosis del extracto. El ácido ascórbico disminuyó con 1000 ppm de EXHi en ausencia de salinidad (Figuras 5E y 5F), mientras que las antocianinas aumentaron principalmente con 2000 ppm de EXHi. Esto sugiere una regulación diferencial del metabolismo antioxidante no enzimático. El ácido ascórbico participa directamente en el ciclo ascorbato-glutatión mediante la acción de enzimas como la APx, la monodehidroascorbato reductasa (MDHAR) y la dehidroascorbato reductasa (DHAR), mientras que las antocianinas actúan como antioxidantes secundarios y fotoprotectores (Foyer y Kunert, 2024).

La activación del sistema antioxidante enzimático fue una de las respuestas más importantes observadas bajo salinidad y con la aplicación de EXHi. El incremento de SOD, CAT, POD y APx indica una respuesta antioxidante intensa frente a las ROS (Cuadro 2). La SOD cataliza la conversión del radical superóxido en H_2O_2 ; posteriormente, CAT, POD y APx participan en la detoxificación de H_2O_2 en agua y oxígeno (Rosa et al., 2021). El fuerte incremento de POD y APx sugiere una elevada demanda de detoxificación oxidativa y de estabilización de la pared celular; esta respuesta probablemente involucró la activación transcripcional de genes antioxidantes regulados por ABA, ROS y señales de calcio (Caverzan et al., 2012). Passa et al. (2026) reportaron respuestas similares en fresa bajo estrés salino, asociadas con la regulación de enzimas antioxidantes y el mantenimiento parcial del estado redox celular. A pesar de la activación antioxidante inducida por EXHi, los niveles de H_2O_2 , PPO y MDA aumentaron de manera considerable en condiciones de salinidad (Cuadro 3). Esto indica que el estrés oxidativo persistió incluso en presencia del extracto. El H_2O_2 actúa tanto como molécula señalizadora como agente oxidante, participando en la activación de genes defensivos y en la señalización redox. Sin embargo, su acumulación excesiva favorece el daño oxidativo y la peroxidación lipídica (Habbit, 2014). El incremento de MDA confirma alteraciones importantes en las membranas celulares derivadas del exceso de ROS y evidencia que el nivel de estrés impuesto superó parcialmente la capacidad antioxidante de la planta (Cadena-Ramos et al., 2025).

La elevada actividad de PPO también refleja una intensa activación del metabolismo oxidativo y del metabolismo fenólico. La PPO cataliza la oxidación de compuestos fenólicos a quinonas, un proceso asociado con respuestas defensivas, la lignificación y la protección frente al estrés (Zou et al., 2025). Su incremento probablemente estuvo relacionado con la acumulación de fenoles inducida por EXHi y con la necesidad de mantener activos los mecanismos antioxidantes bajo estrés salino.

5. CONCLUSIONES

Los resultados evidencian que la salinidad alteró profundamente procesos fisiológicos, fisicoquímicos y bioquímicos en plantas de fresa, afectando el crecimiento, el metabolismo del carbono y el equilibrio redox. Frente a esta condición, el extracto de *Heterotheca inuloides* actuó como modulador metabólico capaz de activar mecanismos antioxidantes, favorecer la acumulación de metabolitos bioactivos y mejorar parcialmente variables relacionadas con la calidad del fruto. Sin embargo, la persistencia de biomarcadores de estrés indica que el extracto promovió principalmente una respuesta de tolerancia y de amortiguamiento metabólico, más que una eliminación completa del daño oxidativo inducido por la salinidad. Estos hallazgos sugieren que el extracto de *Heterotheca inuloides* puede ser una alternativa viable para mitigar los efectos adversos de la salinidad en los cultivos de fresa al fortalecer y activar el sistema antioxidante, tanto enzimático como no enzimático, de los frutos de fresa var. Camino real.

5. REFERENCIAS

- Aldrighetti, A., Tahir, M. W., y Pertot, I. (2026). Sequential use of pre-flowering chemical fungicides and post-flowering natural products effectively controls strawberry powdery mildew while resulting in low residues in fruit. *Crop Protection*, 107572. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2026.107572>.
- Arif, Y., Bajguz, A., y Hayat, S. (2023). *Moringa oleifera* extract as a natural plant biostimulant. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(3), 1291-1306. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10630-4>.
- Balasubramaniam, T., Shen, G., Esmaeili, N., y Zhang, H. (2023). Plants' response mechanisms to salinity stress. *Plants*, 12(12), 2253. <https://doi.org/10.3390/plants12122253>.
- Balois-Morales, R., Colinas-León, M. T., Peña-Valdivia, C. B., Chávez-Franco, S. H., y Alia-Tejacal, I. (2008). Sistema enzimático antisenescencia, catalasa-superóxido dismutasa, de frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus*) almacenados con frío. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 14(3), 295-299.
- Behera, T. K., Krishna, R., Ansari, W. A., Aamir, M., Kumar, P., Kashyap, S. P., Pandey, S., y Kole, C. (2022). Approaches involved in the vegetable crops salt stress tolerance improvement: Present status and way ahead. *Frontiers in Plant Science*, 12, 787292. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.787292>.
- Boutahiri, S., Benrkia, R., Tembeni, B., Idowu, O. E., y Olatunji, O. J. (2024). Effect of biostimulants on the chemical profile of food crops under normal and abiotic stress conditions. *Current Plant Biology*, 40, 100410. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2024.100410>.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2). [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., y Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1). [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- Cadena-Ramos, A. I., Rodríguez-Piña, A. L., y De-la-Peña, C. (2025). ROS and autophagy in plant stress responses: adaptive partners in survival. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110991. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2025.110991>.
- Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S. B., Ribeiro, C. W., Lazzarotto, F., y Margis-Pinheiro, M. (2012). Plant responses to stress: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant

protection. Genetics and molecular biology, 35, 1011-1019. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572012000600016>

Chen, T., Zhang, Z., Li, B., Qin, G., y Tian, S. (2021). Molecular basis for optimizing sugar metabolism and transport during fruit development. *Abiotech*, 2(3), 330-340. <https://doi.org/10.1007/s42994-021-00061-2>.

Cosme, F., Pinto, T., Aires, A., Morais, M. C., Bacelar, E., Anjos, R., Ferreira-Cardoso, J., Oliveira, I., Vilela, A., y Gonçalves, B. (2022). Red fruits composition and their health benefits—A review. *Foods*, 11(5), 644. <https://doi.org/10.3390/foods11050644>.

Denaxa, N.-K., Nomikou, A., Malamos, N., Liveri, E., Roussos, P. A., y Papasotiropoulos, V. (2022). Salinity effect on plant growth parameters and fruit bioactive compounds of two strawberry cultivars, coupled with environmental conditions monitoring. *Agronomy*, 12(10), 2279. <https://doi.org/10.3390/agronomy12102279>.

Dou, W., Li, R., Guo, C., Zhao, Y., Geng, W., Han, L., y Zhang, W. (2026). Effects of water conservation methods on soil amelioration and crop yield in saline–alkali soil across China: A meta-analysis. *Geoderma*, 466, 117705. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2026.117705>.

Dürüst, N., Sümengen, D., y Dürüst, Y. (1997). Ascorbic acid and element contents of foods of trabzon (Turkey). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6). <https://doi.org/10.1021/jf9606159>.

El-Nakhel, C., Cozzolino, E., Ottaiano, L., Petropoulos, S. A., Nocerino, S., Pelosi, M. E., y Di Mola, I. (2022). Effect of biostimulant application on plant growth, chlorophylls and hydrophilic antioxidant activity of spinach (*Spinacia oleracea* L.) grown under saline stress. *Horticulturae*, 8(10), 971. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8100971>.

Ferreira, J. F. S., Liu, X., y Suarez, D. L. (2019). Fruit yield and survival of five commercial strawberry cultivars under field cultivation and salinity stress. *Scientia Horticulturae*, 243, 401-410. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.07.016>.

Foyer, C. H., & Kunert, K. (2024). The ascorbate–glutathione cycle coming of age. *Journal of Experimental Botany*, 75(9), 2682-2699. <https://doi.org/10.1093/jxb/erae023>.

Gené, R. M., Segura, L., Adzet, T., Marin, E., y Iglesias, J. (1998). *Heterotheca inuloides*: Anti-inflammatory and analgesic effect. *Journal of Ethnopharmacology*, 60(2). [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00155-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00155-4).

- Giusti, M. M., y Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00(1). <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>.
- Gonçalves, B., Santos, M., Silva, V., Rodrigues, A., Oliveira, I., Lopes, T., y Guinan, K. J. (2025). Biostimulants in Fruit Crop Production: Impacts on Growth, Yield, and Fruit Quality. *Horticulturae*, 11(12), 1452. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11121452>.
- González-Jiménez, S. L., Castillo-González, A. M., García-Mateos, M., Valdez-Aguilar, L. A., Ybarra-Moncada, C., y Avitia-García, E. (2020). Respuesta de fresa cv. Festival a la salinidad. *Revista fitotecnia mexicana*, 43(1), 53-60. <https://doi.org/10.35196/rfm.2020.1.53>.
- Habibi, G. (2014). Hydrogen peroxide (H₂O₂) generation, scavenging and signaling in plants. In *Oxidative damage to plants* (pp. 557-584). Academic Press.
- Hernández-Pérez, A., Juárez-Maldonado, A., Santiago-Saenz, Y. O., Hernández-Soto, I., Pinedo-Espinoza, J. M., y Hernández-Fuentes, A. D. (2025). EXTRACT OF *Heterotheca inuloides* CASS. AS A BIOSTIMULANT OF THE GROWTH AND QUALITY OF *Rubus idaeus* L. UNDER SALT STRESS: Arnica in raspberries under salinity. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 11(1). <https://doi.org/10.30973/aap/2025.10.0111017>.
- Hongqiao, L., Suyama, A., Mitani-Ueno, N., Hell, R., y Maruyama-Nakashita, A. (2021). A low level of NaCl stimulates plant growth by improving carbon and sulfur assimilation in *Arabidopsis thaliana*. *Plants*, 10(10), 2138. <https://doi.org/10.3390/plants10102138>.
- Ikram, M., Khalid, B., Batool, M., Ullah, M., Zitong, J., Rauf, A., y Wang, B. (2025). Secondary metabolites as biostimulants in salt stressed plants: mechanisms of oxidative defense and signal transduction. *Plant Stress*, 16, 100891. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2025.100891>.
- Johnson, R., Joel, J. M., y Puthur, J. T. (2024). Biostimulants: The futuristic sustainable approach for alleviating crop productivity and abiotic stress tolerance. *Journal of Plant Growth Regulation*, 43(3), 659-674.
- Junglee, S., Urban, L., Sallanon, H., y Lopez-Lauri, F. (2014). Optimized assay for hydrogen peroxide determination in plant tissue using potassium iodide. *American Journal of Analytical Chemistry*, 05(11). <https://doi.org/10.4236/ajac.2014.511081>.
- Ketehouli, T., Idrice Carther, K. F., Noman, M., Wang, F. W., Li, X. W., y Li, H. Y. (2019). Adaptation of plants to salt stress: characterization of Na⁺ and K⁺ transporters and

role of CBL gene family in regulating salt stress response. *Agronomy*, 9(11), 687. <https://doi.org/10.3390/agronomy9110687>.

Keutgen, A. J., y Pawelzik, E. (2009). Impacts of NaCl stress on plant growth and mineral nutrient assimilation in two cultivars of strawberry. *Environmental and Experimental Botany*, 65(2-3), 170-176. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.08.002>.

Kocira, S., Szparaga, A., Krawczuk, A., Bartoš, P., Zaguła, G., Plawgo, M., y Černý, P. (2021). Plant material as a novel tool in designing and formulating modern biostimulants—analysis of botanical extract from *Linum usitatissimum* L. *Materials*, 14(21), 6661. <https://doi.org/10.3390/ma14216661>

Lin, L. Z., y Harnly, J. M. (2012). LC-PDA-ESI/MS identification of the phenolic components of three compositae spices: chamomile, tarragon, and Mexican arnica. *Natural Product Communications*, 7(6), 1934578X1200700615.

Liu, H. T., Ji, Y., Liu, Y., Tian, S. H., Gao, Q. H., Zou, X. H., y Duan, K. (2020). The sugar transporter system of strawberry: genome-wide identification and expression correlation with fruit soluble sugar-related traits in a *Fragaria* × *ananassa* germplasm collection. *Horticulture Research*, 7. <https://doi.org/10.1038/s41438-020-00359-0>.

Liu, S., Zhang, F., Li, W., Wang, Y., Wu, S., & Wan, X. (2025). Sugar transporters and their essential roles in plant male reproductive development. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110993. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2025.110993>.

Llanos, H. B., Gutiérrez, C. R. D. C., y Cárdenas, M. G. (2015). Análisis de crecimiento funcional, acumulación de biomasa y translocación de materia seca de ocho hortalizas cultivadas en invernadero. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 2(1), 76-86.

Lu, M., Riaz, M., Tong, K., Hao, W., Yang, Y., Zhao, X., y Yan, L. (2025). Boron-induced phenylpropanoid metabolism, Na⁺/K⁺ homeostasis and antioxidant defense mechanisms in salt-stressed soybean seedlings. *Journal of Hazardous Materials*, 491, 138036. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2025.138036>.

Lu, S., Li, T., y Jiang, J. (2010). Effects of salinity on sucrose metabolism during tomato fruit development. *African journal of Biotechnology*, 9(6), 842-849.

Mehdi, F., Galani, S., Wickramasinghe, K. P., Zhao, P., Lu, X., Lin, X., y Liu, X. (2024). Current perspectives on the regulatory mechanisms of sucrose accumulation in sugarcane. *Heliyon*, 10(5). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e27277>.

Mulla, M. F. Z., Shonte, T., Costa, D., Walsh, L., Gaffney, M. T., y Pathania, S. (2026). The effects of silicon biostimulant treatment and active modified atmosphere packaging

on the quality and shelf life of strawberry (cv. Elsanta) fruit. *Journal of Stored Products Research*, 116, 102978. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2026.102978>.

Ninkuu, V., Aluko, O. O., Yan, J., Zeng, H., Liu, G., Zhao, J., y Dakora, F. D. (2025). Phenylpropanoids metabolism: Recent insight into stress tolerance and plant development cues. *Frontiers in Plant Science*, 16, 1571825. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1571825>.

Ouzemou, J. E., Laamrani, A., El Battay, A., y Whalen, J. K. (2025). Predicting soil salinity based on soil/water extracts in a semi-arid region of Morocco. *Soil Systems*, 9(1), 3. <https://doi.org/10.3390/soilsystems9010003>.

Parihar, P., Jaiswal, J. P., Verma, A. K., y Kumar, A. (2025). Sucrose synthase dynamics and its potential role in heat stress tolerance in cereals. *Frontiers in Plant Science*, 16, 1652076. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1652076>

Pasquariello, M. S., Rega, P., Migliozi, T., Capuano, L. R., Scortichini, M., y Petriccione, M. (2013). Effect of cold storage and shelf life on physiological and quality traits of early ripening pear cultivars. *Scientia Horticulturae*, 162. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.08.034>.

Passa, K., Gerakari, M., Goufa, M., Tani, E., y Papasotiropoulos, V. (2026). Salinity Stress in Strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.): Biological Intervention Strategies and Breeding Approaches for Salt-Tolerant Cultivars. *Plants*, 15(3), 432. <https://doi.org/10.3390/plants15030432>.

Petoumenou, D. G., y Liava, V. (2025). Sustainable foliar applications to improve grapevine responses to drought, high temperatures, and salinity: impacts on physiology, yields, and berry quality. *Plants*, 14(14), 2157. <https://doi.org/10.3390/plants14142157>.

Proietti, P., Nasini, L., Del Buono, D., D'Amato, R., Tedeschini, E., y Businelli, D. (2013). Selenium protects olive (*Olea europaea* L.) from drought stress. *Scientia Horticulturae*, 164. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.09.034>.

Rao, M. J., Duan, M., Zhou, C., Jiao, J., Cheng, P., Yang, L., y Zheng, B. (2025). Antioxidant defense system in plants: reactive oxygen species production, signaling, and scavenging during abiotic stress-induced oxidative damage. *Horticulturae*, 11(5), 477. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11050477>.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., y Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).

- Richardson, M. L., Arlotta, C. G., y Lewers, K. S. (2022). Yield and nutrients of six cultivars of strawberries grown in five urban cropping systems. *Scientia Horticulturae*, 294, 110775. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110775>
- Rodríguez-Chávez, J. L., Egas, V., Linares, E., Bye, R., Hernández, T., Espinosa-García, F. J., y Delgado, G. (2017). Mexican Arnica (*Heterotheca inuloides* Cass. Asteraceae: Astereae): Ethnomedical uses, chemical constituents and biological properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 195. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.11.021>
- Rosa, A. C., Corsi, D., Cavi, N., Bruni, N., y Dosio, F. (2021). Superoxide dismutase administration: A review of proposed human uses. *Molecules*, 26(7), 1844. <https://doi.org/10.3390/molecules26071844>
- Rosales, M. A., Cervilla, L. M., Sánchez-Rodríguez, E., Rubio-Wilhelmi, M. del M., Blasco, B., Ríos, J. J., Soriano, T., Castilla, N., Romero, L., y Ruiz, J. M. (2011). The effect of environmental conditions on nutritional quality of cherry tomato fruits: Evaluation of two experimental Mediterranean greenhouses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(1). <https://doi.org/10.1002/jsfa.4166>
- Shahid, M. A., Sarkhosh, A., Khan, N., Balal, R. M., Ali, S., Rossi, L., y Garcia-Sanchez, F. (2020). Insights into the physiological and biochemical impacts of salt stress on plant growth and development. *Agronomy*, 10(7), 938. <https://doi.org/10.3390/agronomy10070938>.
- Shahidi, F., y Samarasinghe, A. (2025). How to assess antioxidant activity? Advances, limitations, and applications of in vitro, in vivo, and ex vivo approaches. *Food Production, Processing and Nutrition*, 7(1), 1-107.
- Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019). Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules*, 24(13), 2452. <https://doi.org/10.3390/molecules24132452>.
- Sible, C. N., Seebauer, J. R., y Below, F. E. (2021). Plant biostimulants: A categorical review, their implications for row crop production, and relation to soil health indicators. *Agronomy*, 11(7), 1297. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071297>.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., y Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).

- Steiner, A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil*, 15(2). <https://doi.org/10.1007/BF01347224>.
- Szparaga, A., Kocira, S., y Kapusta, I. (2021). Identification of a biostimulating potential of an organic biomaterial based on the botanical extract from *Arctium lappa* L. roots. *Materials*, 14(17), 4920. <https://doi.org/10.3390/ma14174920>.
- Traye, I. D., Oli, N. M., Weng, X., Li, K., Suliman, M. S. E., Guo, X., y Xu, Y. (2025). Salinity tolerance in wheat: Mechanisms and breeding approaches. *Plants*, 14(11), 1641. <https://doi.org/10.3390/plants14111641>.
- Vanegas Cano, L. J., Martínez Peralta, S. T., Coy Barrera, E., y Ardila Barrantes, H. D. (2022). Early responses at symplastic stem level associated with the salicylic acid pathway in the interaction carnation (*Dianthus caryophyllus*, Caryophyllaceae)-Fod (*Fusarium oxysporum* F. Sp. Dianthi). *Acta Biológica Colombiana*, 27(2). <https://doi.org/10.15446/ABC.V27N2.85778>.
- Wang, F., Wang, J., Ji, G., Kang, X., Li, Y., Hu, J., y Wang, S. (2025). Regulation of anthocyanins and quality in strawberries based on light quality. *Horticulturae*, 11(4), 377. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11040377>.
- Wołosiak, R., Drużyńska, B., Derewiaka, D., Piecyk, M., Majewska, E., Ciecierska, M., ... y Pakosz, P. (2021). Verification of the conditions for determination of antioxidant activity by ABTS and DPPH assays—A practical approach. *Molecules*, 27(1), 50. <https://doi.org/10.3390/molecules27010050>
- Zhao, S., Zhang, Q., Liu, M., Zhou, H., Ma, C., y Wang, P. (2021). Regulation of plant responses to salt stress. *International journal of molecular sciences*, 22(9), 4609. <https://doi.org/10.3390/ijms22094609>.
- Zou, H., Xiao, Q., Li, G., Wei, X., Tian, X., Zhu, L., y Li, M. (2025). Revisiting the advancements in plant polyphenol oxidases research. *Scientia Horticulturae*, 341, 113960. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2025.113960>

ANEXOS



Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Departamento de Botánica

Calzada Antonio Narro No. 1923, Colonia Buenavista
Saltillo, Coahuila, México. C.P. 25315
Tel. (844) 4-11-02-52 y 4-11-02-53 Ext. 2252 y 2253
e-mail: botanica@uaaan.edu.mx Página Web: www.uaaan.edu.mx



2023
Francisco
VILA

Saltillo, Coahuila a 6 de marzo de 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO (UAEH)

A QUIEN CORRESPONDA:

A través del presente le informo que la estancia de investigación de la MC. Aracely Hernández Pérez realizada en nuestra institución ha sido concluida satisfactoriamente. La estancia de investigación fue realizada en el Laboratorio de Fisiología Vegetal del Departamento de Botánica durante el periodo comprendido del 6 de diciembre de 2022 al 6 de marzo de 2023 bajo la asesoría de su servidor. El trabajo realizado dentro del laboratorio consistió en la evaluación de compuestos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, y el procesamiento de datos y escritura de informe. Los resultados obtenidos forman parte de su proyecto de tesis doctoral titulado "Extractos vegetales como bioestimulantes en el crecimiento y calidad de frutillas en condiciones de estrés salino", que actualmente desarrolla en el Doctorado en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo bajo la dirección de la Dra. Alma Delia Hernández Fuentes.

Sin otro particular le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE

ALMA TERRA MATER



Dr. Antonio Juárez Maldonado



Profesor Investigador del Departamento de Botánica

CCP.

MC. Aracely Hernández Pérez.-Estudiante de estancia

Archivo

"Vive el Centenario"

Extract of *Heterotheca inuloides* Cass. as a biostimulant of the growth and quality of *Rubus idaeus* L. under salt stress

Extracto de *Heterotheca inuloides* Cass. como bioestimulante del crecimiento y calidad de *Rubus idaeus* L. bajo de estrés salino

Aracely Hernández-Pérez¹, Antonio Juárez-Maldonado², Yair Olovaldo Santiago-Saenz¹, Iridiam Hernández-Soto¹, José Manuel Pinedo-Espinoza^{3*}, Alma Delia Hernández-Fuentes^{1*}

¹Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Av. Universidad Km 1, Rancho Universitario, 43600, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México.

²Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Botánica, Calzada Antonio Narro 1923, 25315, Saltillo, Coahuila, México.

³Universidad Autónoma de Zacatecas, Unidad Académica de Agronomía, Carretera Zacatecas-Guadalajara Km 15.5, 98000, Cieneguillas, Zacatecas, México.

*Corresponding authors: almah@uah.edu.mx; pinedozac_uaz@uaz.edu.mx

Fecha de recepción:

31 de octubre de 2024

Fecha de aceptación:

6 de julio de 2025

Publicado en línea:

19 de septiembre de 2025

Este es un artículo en acceso abierto que se distribuye de acuerdo a los términos de la licencia Creative Commons.



Reconocimiento-

NoComercial-

CompartirIgual 4.0

Internacional

(CC BY-NC-SA 4.0)

ABSTRACT

Raspberry (*Rubus idaeus* L.) is susceptible to various environmental stressors, which reduces fruit yield and quality. The aim of this study was to evaluate the effect of arnica (*Heterotheca inuloides* Cass.) extract on raspberry plants under salt stress conditions. Plants were subjected to four sodium chloride (NaCl) concentrations (0 mM, 30 mM, 50 mM, and 80 mM), with or without the application of arnica extract (1,000 mg L⁻¹). A control group without NaCl or extract application was also included. In plants exposed to salt stress, the application of *H. inuloides* extract led to increased concentration of anthocyanins, phenols, flavonoids, total sugars, and antioxidant activity (ABTS), as well as enhanced enzymatic activity of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) in fruits of the Adelita raspberry variety. These findings suggest that *H. inuloides* extract can strengthen both enzymatic and non-enzymatic antioxidant systems in raspberries, offering a potential eco-friendly strategy to mitigate the adverse effects of salinity on crop productivity and fruit quality. raspberry plants under salt stress strengthens the enzymatic and non-enzymatic antioxidant system in var raspberry fruits var. Adelita.

KEYWORDS

Agriculture organic; bioproducts; enzymatic compounds; non-enzymatic compounds.

RESUMEN

La frambuesa (*Rubus idaeus* L.) se ve afectada por diferentes tipos de estrés, entre ellos se encuentra el estrés salino; esto provoca una disminución en la producción y calidad del fruto. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del extracto de árnica en plantas de frambuesa bajo condiciones de estrés salino (cuatro concentraciones de cloruro de sodio, 0 mM, 30 mM, 50 mM y 80 mM) y con aplicación de extracto de árnica (1,000 mg L⁻¹) y plantas sin aplicación de cloruro de sodio y sin aplicación de extracto. En plantas expuestas a estrés salino con la aplicación de extracto de árnica aumenta la concentración de antocianinas, fenoles, flavonoides, actividad antioxidante por ABTS, azúcares totales, enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa y peroxidasa en frutos de frambuesa var. Adelita. Estos resultados sugieren que la aplicación de extracto de *H. inuloides* en plantas de frambuesa bajo estrés salino fortalece el sistema antioxidante enzimático y no enzimático en frutos de frambuesa var. Adelita.

PALABRAS CLAVE

Agricultura orgánica; bioproductos; compuestos enzimáticos; compuestos no enzimáticos.



BUAP



La Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

A través de la Facultad de Ciencias Químicas

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

A: Aracely Hernández-Pérez, Antonio Juárez- Maldonado, César Uriel López-Palestina , José Manuel Pinedo-Espinoza , Alma Delia Hernández-Fuentes

Por su participación en la **EXPOSICIÓN DE CARTELES** con el tema:

“Impacto de árnica en peso fresco, peso seco y clorofila en frambuesa sometidas a estrés salino.”

Dentro de las actividades del:

“V Congreso Internacional Multidisciplinario de Investigación Científica”

Pensar bien, para vivir mejor.

H. Puebla de Zaragoza, a 18 de octubre de 2024

Dr. Henoc Flores Segura
Director de la Facultad



IICNC24-TLP- 40

**La Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Agronomía**



otorga la presente

CONSTANCIA A:

Aracely Hernández Pérez, Antonio Juárez- Maldonado, César Uriel López-Palestina, José Manuel Pinedo-Espinoza, Alma Delia Hernández- Fuentes

Por la presentación del trabajo titulado:

“Extracto de árnica (*Heterotheca inuloides*) como bioestimulante en el crecimiento de frambuesa en condiciones de estrés salino“

En la modalidad: Póster

En el II Congreso Nacional de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y Sustentabilidad

Realizado del 29 al 31 de octubre de 2024

M.C. Carlos Alberto Hernández Martínez
Director de la Facultad de Agronomía

Dra. Sugey R. Sinagawa García
Coordinadora del Congreso

