

# EFFECTO DEL ÁCIDO SALICÍLICO EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Alfonso Larqué-Saavedra<sup>1\*</sup>; Rodolfo Martín-Mex<sup>2</sup>; Ángel Nexticapan-Garcéz<sup>2</sup>; Silvia Vergara-Yoisura<sup>1</sup>; Maribel Gutiérrez-Rendón<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Unidad de Recursos Naturales, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. Calle 43 Núm. 130. Chuburná de Hidalgo. C. P. 97200. Mérida, Yucatán. MÉXICO.

Correo-e: [larque@cicy.mx](mailto:larque@cicy.mx) (\*Autor responsable).

<sup>2</sup>Laboratorio GeMBio, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. Calle 43 No. 130. Chuburná de Hidalgo. C. P. 97200. Mérida, Yucatán. MÉXICO.

## RESUMEN

A plántulas de tomate (*lycopersicon esculentum* Mill.) se les asperjaron concentraciones bajas de ácido salicílico (AS) para estimar su efecto en el crecimiento de la raíz y del tallo. Las plántulas fueron cultivadas en condiciones de invernadero y crecidas en macetas con un sustrato de cosmopeat y perlita (2:1) que se mantuvieron en condiciones óptimas de humedad, y fertilizadas con una solución nutritiva de 380 mg·L<sup>-1</sup> de N, P y K. Se asperjaron diferentes concentraciones de AS 1.0, 0.01 y 0.0001 µM y un testigo con agua. El AS se aplicó a los nueve y 13 días después de la emergencia y siete días después de la última aspersión, las plántulas fueron cosechadas para estimar el efecto. Las macetas fueron dispuestas con un diseño completamente al azar con 24 repeticiones por tratamiento. Los resultados señalan que el AS incrementa significativamente la altura, el área foliar, el peso fresco y seco del vástago, así como la longitud, el perímetro y el área de la raíz. El tratamiento de 1µM de AS, incrementó la longitud de la raíz 43 %, 14.8 % el tamaño del tallo y 38.6 % el área foliar en comparación con el control. Se presentan los patrones de dosis respuesta estimados de los parámetros mencionados.

**PALABRAS CLAVE ADICIONALES:** ácido salicílico (AS), tomate, crecimiento, vástago, raíz.

## EFFECT OF SALICILIC ACID ON THE GROWTH OF TOMATO (*Lycopersicon esculentum* Mill.) SEEDLINGS

### ABSTRACT

Tomato seedlings were sprayed with low concentration of salicylic acid (SA) as to estimate its effect on root and shoot growth. The seedlings were cultivated under greenhouse conditions in pots with a mixture of cosmopeat and agrolite (2:1) that was fertilized with a solution of 380mg.liter<sup>-1</sup> of N, P and K and kept well watered. SA was spread at any of the following SA concentrations 1.0, 0.01, and 0.0001µM or water as a control treatment. SA was applied at 9 and 13 days after the emergence of the seedling and 7 days afterwards they were harvested for the measurements. Pots were arranged in a totally random design with 24 replicates per treatment. The results showed that SA increases significantly height, leaf area, fresh and dry weight of the shoot as well as length, perimeter and area of the root. AS at 1µM increased root length by 43%, 14.8% shoot size and 38.6% leaf area as compared with the water control. Doses-response curves are presented for the measurements taken.

**ADDITIONAL KEY WORDS:** Salicylic acid (AS), Tomato, growth, shoot, root.

### INTRODUCCIÓN

Los primeros estudios para ver el efecto de la aplicación del ácido salicílico (AS) en plantas, reportaron que esta molécula favorece el proceso de enraizamiento en frijol (Basu *et al.*, 1969) y el cierre estomático (Larqué-Saavedra, 1978, 1979). Se han publicado desde entonces

numerosos artículos que dan constancia de que el AS tiene efectos positivos en las plantas cultivadas.

Entre otros reportes en los que se menciona que las aplicaciones de AS afectan positivamente varios procesos fisiológicos, resaltan los relacionados con plantas bajo condiciones de estrés, como sequía (Horvath *et al.*, 2007;

Tasgn *et al.*, 2003; Singh y Usha, 2003) fitotoxicidad (Metwally *et al.*, 2003) y bajas temperaturas (Janda *et al.*, 1999; Farooq *et al.*, 2008).

Se ha estimado su efecto en la estimulación de la oxidación mitocondrial (Raskin, 1992), en la acumulación de compuestos fenólicos y cumarinas (Kovacik *et al.*, 2008), en la embriogénesis somática en cultivo de tejidos (Luo *et al.*, 2001; Quiroz-Figueroa *et al.*, 2001), en el incremento de biomasa en soya (Gutiérrez-Coronado *et al.*, 1998), en pinos (San Miguel *et al.*, 2003), maíz (Gunes *et al.*, 2007) y trigo (Shakirova *et al.*, 2003). Se ha reportado también que altas concentraciones de AS causa estrés oxidativo, que la planta es incapaz de restaurar, llegando en ocasiones a causar la muerte (Yalpani *et al.*, 1992).

En otra línea de investigación paralela, en los últimos 20 años se ha descubierto que el AS endógeno está involucrado en las respuestas fisiológicas a patógenos, campo en donde se ha desarrollado una gran cantidad de información referente a su producción endógena a nivel celular en la llamada resistencia sistémica adquirida (SAR) (Chaturvedi y Shah, 2007; Maksimov y Yarullina, 2007).

En años recientes nuestro grupo de trabajo ha descrito dos respuestas de las plantas a la aplicación del AS. La primera se refiere al hecho de que el AS incrementa significativamente el crecimiento radical (Gutiérrez-Coronado *et al.*, 1998), efecto que fue también demostrado utilizando bioensayos de raíces transformadas de *Catharanthus roseus* (Echevarría *et al.*, 2007). La segunda es que concentraciones a nivel de picomoles o femtomoles son suficientes para producir efectos morfofisiológicos significativos con bioensayos especializados (Echevarría *et al.*, 2007; Quiroz-Figueroa *et al.*, 2001).

El presente estudio se realizó con el objetivo de establecer en una primera etapa un patrón dosis respuesta del efecto de bajas concentraciones de AS en el crecimiento y desarrollo del vástago y raíz de tomate.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill. cv. Maya) de crecimiento determinado tipo saladet, fueron sembradas en charolas de poliestireno de 200 cavidades con un volumen unitario de 30 cm<sup>3</sup>. Las cavidades de las charolas fueron llenadas con una mezcla (2:1) de sustrato Cosmopeat y Perlita mantenidas con suficiente humedad. A los 9 y 13 días después de la emergencia, las plántulas fueron asperjadas con AS con alguno de los tratamientos de 1.0; 0.01 y 0.0001 µM AS o agua como testigo.

Las soluciones de ácido salicílico (Merck) utilizadas en el presente estudio, fueron preparadas siguiendo la metodología definida por Gutiérrez Coronado-*et al.* (1998).

Posteriormente cada plántula fue trasplantada a una maceta, con el mismo sustrato. La fertilización de las plantas se realizó con una solución nutritiva de 380 mg·L<sup>-1</sup> de N, P y K. Para la prevención y control de enfermedades se utilizó

1ml·L<sup>-1</sup> de propamocarb (Previcur N®, Bayer Cropscience) y carbendazim (Derosal 500D®, Bayer Cropscience). Las plántulas fueron cultivadas en un invernadero con apertura cenital y plástico con 25 % de sombra y en condiciones óptimas de humedad, hasta la cosecha de las mismas que ocurrió 20 días después de la emergencia de las plantas. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 24 repeticiones por tratamiento.

Las variables evaluadas fueron: altura, medida con una regla desde la base del tallo hasta el ápice terminal de la planta. Las plántulas fueron seccionadas en hojas, tallos y raíces. El área foliar se determinó utilizando un medidor de área foliar L1-3100 (LI-COR, Inc., USA); el peso fresco del vástago (hojas y tallo) se pesó con una balanza analítica, y para el peso seco de hojas y tallos se colocaron en una estufa con circulación forzada de aire a una temperatura de 70 °C durante 72 h, e igualmente fueron pesados.

La longitud, perímetro y área de la raíz se cuantificó siguiendo la metodología descrita por Kaspar y Ewing (1997), definida como Rootedge y fue adaptada para nuestro estudio y fue diseñada para medir el largo de las raíces. Se utiliza un escáner de escritorio para obtener imágenes binarias y estas imágenes digitalizadas son la base para determinar las variables de la raíz, utilizando un algoritmo específico. Para la presente investigación, las raíces se tiñeron y se colocaron en una placa de vidrio para utilizar la citada metodología.

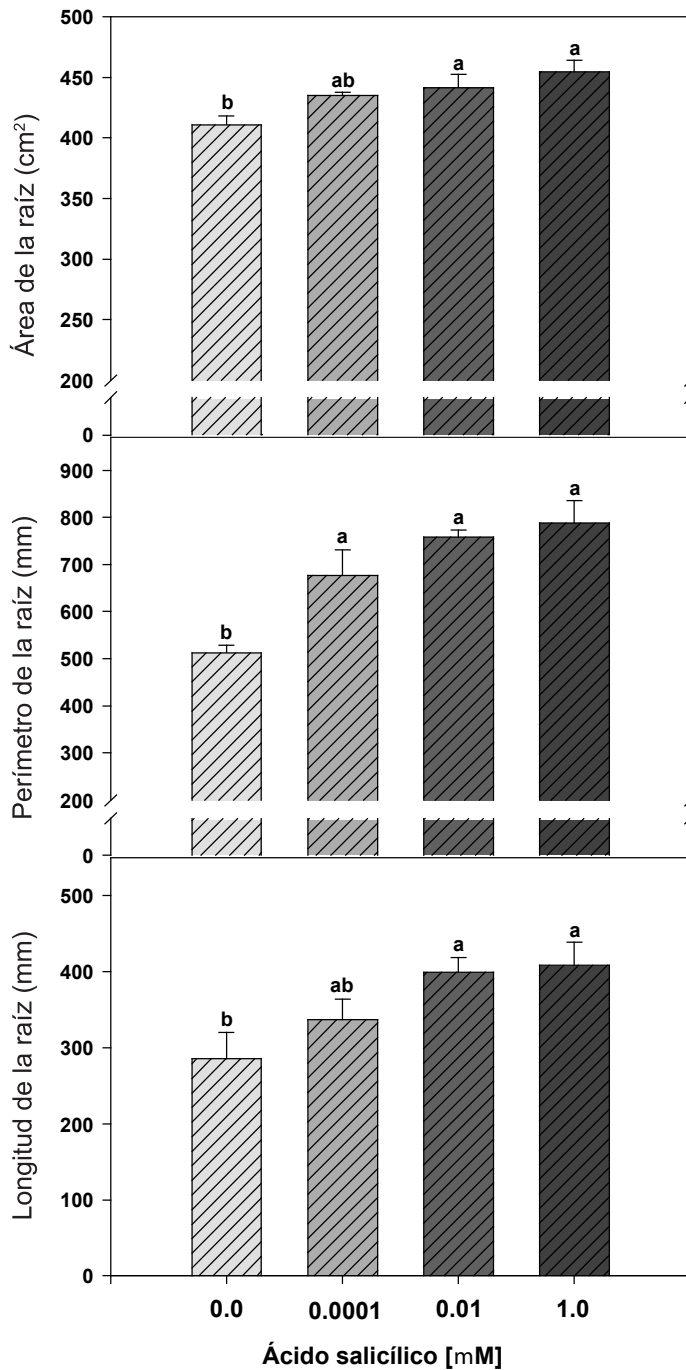
Los resultados fueron analizados mediante el análisis de varianza y cuando se detectaron diferencias estadísticas se realizó la comparación de medias por el método Tukey ( $P \leq 0.05$ ) con el paquete estadístico SAS (2004).

## RESULTADOS

Las determinaciones registradas, permiten señalar que las plántulas de tomate responden de manera significativa a los tratamientos de AS. Los efectos del regulador de crecimiento fueron detectados siete días después de la última aspersión.

**Raíz:** En la Figura 1 se presentan los resultados obtenidos del efecto del AS en la longitud, perímetro y área de la raíz en comparación con el tratamiento control. El patrón de respuesta de la raíz al tratamiento fue suficientemente claro; las bajas concentraciones de AS, afectaron significativamente su desarrollo, estimado por los parámetros considerados. La longitud se incrementó significativamente por el efecto del AS. Con las concentraciones de 1.0 µM el incremento fue de 43 % en comparación con el control, en tanto que la concentración de 0.01 µM el incremento fue equivalente a 18 %.

El perímetro de la raíz también fue incrementado por el efecto del AS. El patrón de respuesta señala que las aspersiones de AS a una concentración de 0.0001 µM afectan significativamente el perímetro en una proporción de más del 30 % en comparación con el control. Aspersiones



**FIGURA 1.** Patrones de respuesta de la raíz al efecto del Ácido Salicílico asperjado en el dosel de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum*), cada punto es la media de 24 repeticiones  $\pm$  error estándar. Valores con la misma letra dentro de columnas son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ .

de 1  $\mu$ M logran incrementar dicho parámetro en más del 50 %.

El área de la raíz fue significativamente incrementada por los tratamientos de AS de 0.01 y 1.0  $\mu$ M con valores alrededor de 10 % con respecto al control. Es importante anotar que el patrón de respuesta tanto del área de la raíz, como del perímetro y de la longitud es similar.

**Vástago:** Tanto la altura como los pesos frescos y secos del vástago se incrementaron por el efecto del AS (Cuadro 1). El tratamiento en el que se aplicó 1  $\mu$ M de AS incrementó la altura en 14.8 % en comparación con el control, esto es, de 153 mm del control a 176 mm del tratado. El incremento del peso fresco y seco del vástago debido al AS (1.0  $\mu$ M) fue de hasta del 33.8% en comparación con el control.

El área foliar, se incrementó por los tratamientos con AS, llegando hasta en un 38.6 % respecto al control a la concentración de 1  $\mu$ M. La concentración más baja de 0.0001  $\mu$ M incrementó en un 14 % el área foliar en comparación con el control (Cuadro 1).

**CUADRO 1.** Efecto de diferentes concentraciones de Acido Salicílico en plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* cv. Maya) 20 días después de la emergencia.

Tratamiento AS ( $\mu$ M)	Altura (mm)	Área foliar (cm²)	PF vástago (g)	PS vástago (g)
0.0	153.75 $\pm$ 2.17b *	31.64 $\pm$ 2.46c	1.81 $\pm$ 0.15b	0.1038 $\pm$ 0.007b
0.0001	162.25 $\pm$ 4.61b	36.20 $\pm$ 1.76bc	2.01 $\pm$ 0.09b	0.1151 $\pm$ 0.004b
0.01	176.75 $\pm$ 2.32a	40.21 $\pm$ 1.20ab	2.45 $\pm$ 0.07a	0.1376 $\pm$ 0.006a
1.0	176.50 $\pm$ 3.22a	43.85 $\pm$ 2.43a	2.54 $\pm$ 0.07a	0.1389 $\pm$ 0.003a

\*Valores con la misma letra dentro de columnas son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ . Cada valor es la media de 24 réplicas  $\pm$  error estándar.

## DISCUSIÓN

Los resultados que se presentan del efecto del AS en esta solanácea de importancia económica, permite confirmar que este regulador del crecimiento tiene impacto al incrementar el tamaño del sistema radical de las plantas tal y como lo señalaron Gutiérrez-Coronado *et al.* (1998). Se encontró además que el AS tiene un efecto positivo en el desarrollo del dosel de estas mismas plantas, datos que coinciden con lo recientemente publicado por Yildirim y Dursun (2009) con plantas adultas de tomate. Estos autores utilizaron concentraciones de 0.50mM de AS y reportaron también que se favorece el incremento del área foliar y también el diámetro del tallo. Estos efectos positivos del AS, no se manifestaron con tomate en condiciones de estrés por sales (Shahba *et al.*, 2010).

Se puede considerar que en el presente estudio la respuesta morfológica que se aprecia por el efecto del AS es el resultado de muchos procesos fisiológicos que favorecen tal expresión a nivel de organismo. Es importante conducir experimentos para despejar algunas interrogantes metodológicas como saber el número de aplicaciones que son necesarias para producir los efectos ya que en el presente estudio, el AS se aplicó en dos ocasiones en tanto que en el estudio comparativo de Yildirim y Dursun (2009) se aplicaron en cuatro ocasiones. De igual forma falta definir la cantidad de AS que penetra al tejido y produce los efectos en cascada que desembocan en los cambios

morfológicos que se pueden cuantificar y también falta definir si existe uno o más receptores para el AS, ya que no existen estudios reportados en la literatura.

Los datos reportados en el presente estudio demuestran la sensibilidad de los tejidos en el estado vegetativo a concentraciones bajas de AS asperjado. Es de mucho interés el considerar que los niveles endógenos básicos de AS en los tejidos de tomate son del orden de 0.02  $\mu\text{M/g}$  de peso fresco (Peng *et al.*, 2004) en tanto que las concentraciones asperjadas que han sido reportadas son del orden de nanomoles o menores (Quiroz-Figueroa *et al.*, 2001; Echeverría-Machado *et al.*, 2007), lo que indica que posiblemente existe un receptor que magnifica su efecto o que un pequeño umbral dispara la cascada de efectos que se han venido reportando.

No se tenía información de patrones de respuesta al AS para *Lycopersicon esculentum* y la presente información resalta que es una especie sensible a este regulador del crecimiento; sin embargo menos sensible que las raíces transformadas de *Catharanthus roseus* (Echeverría-Machado *et al.*, 2007), quienes señalan que pueden estimarse efectos en el crecimiento de la raíz en el orden de femtomolas de AS.

Los resultados positivos del presente estudio fortalecen la hipótesis básica de que una planta con una raíz más desarrollada pueda ser más eficiente en la toma de nutrientes y agua y desarrollar un mayor dosel. Se debe esperar que en plantaciones comerciales el AS tenga impacto en la productividad de estas plantas de gran importancia económica, experimento obligado a realizar para validar la aplicación de los datos obtenidos en el presente estudio

## CONCLUSIONES

Las plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) asperjadas con AS a concentraciones de 1  $\mu\text{M}$  o menores aumentan significativamente el crecimiento y desarrollo de su raíz y vástago. La respuesta positiva al tratamiento por AS se detectó siete días después de la última aspersión.

## LITERATURA CITADA

- BASU, R. N.; BOSE, T. K.; ROY, B. N.; MUKHOPADHYAY, A. 1969. Auxin Synergist in rooting of cuttings. *Physiol. Plant* 22: 649–652.
- CHATURVEDI, R.; SHAH, J. 2007. Salicylic acid in plant disease resistance, pp. 335–370. *In: Salicylic Acid – A plant hormone*. S. HAYAT AND DR. A. AHMAD (Eds.). Springer, Dordrecht. The Netherlands.
- ECHEVERRÍA-MACHADO, I.; ESCOBEDO GRACÍA-MEDRANO, R. M.; LARQUÉ-SAAVEDRA, A. 2007. Responses of transformed *Catharanthus roseus* roots to femtomolar concentrations of salicylic acid. *Plant Physiol. and Biochem.* 45: 501–507.
- FAROOQ, M.; AZIZ, T.; BASRA, S. M. A.; CHEEMA M. A.; REHMAN, H. 2008. Chilling tolerance in hybrid maize induced by seed priming with salicylic acid. *J. Agron. Crop. Sci.* 194: 161–168.
- GUNES, A.; INAL, A.; ALPASLAN, M.; ERASLAN, F.; GUNERI BAGSI, E.; CICEK, N. 2007. Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.), grown under salinity. *J. Plant Physiol.* 164: 728–736.
- GUTIÉRREZ-CORONADO, M.; TREJO L., C.; LARQUÉ-SAAVEDRA, A. 1998. Effect of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. *Plant Physiol. and Biochem.* 36: (8) 563–565.
- HORVATH, E.; PÁL, M.; SALÍA, G.; PÁLDI, W.; JANDA T. 2007. Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. *Biol. Plant.* 51: 480–487.
- JANDA, T.; SZALAI, G.; TARI, I.; PÁLDI, E. 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plant. *Planta* 208: 175–180.
- KASPAR, T. C.; EWING, R. P. 1997. ROOTEDGE: Software for measuring root length from desktop scanner images. *Agron. J.* 89: 932–940.
- KOVACIK, J.; GRUZ, J.; BACKOR, M.; STRNAD, M.; REPEAK, M. 2008. Salicylic acid induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Cell Reports*. Volume 28, number 1, 135–143, DOI: 10.1007/s00299-008-0627-5.
- LARQUÉ-SAAVEDRA, A. 1978. The antitranspirant effect of acetylsalicylic acid on *Phaseolus vulgaris*. *Physiol. Plant* 43: 126–128.
- LARQUÉ-SAAVEDRA, A. 1979. Stomata closure in response to acetylsalicylic acid treatment. *Z. Pflanzenphysiol.* 93(4): 371–375.
- LUO, J. P.; JUANG, S. T.; PAN, L. J. 2001. Enhanced somatic embryogenesis by salicylic acid of *Astragalus adsurgens* Pall.: relationships with  $\text{H}_2\text{O}_2$  production and  $\text{H}_2\text{O}_2$ -metabolizing enzyme activities. *Plant. Sci.* 161: 125–132.
- MAKSIMOV, I. V.; YARULLINA, L. G. 2007. Salicylic acid and local resistance to pathogens. p. 323–334. *In: Salicylic Acid – A plant hormone*. S. HAYAT AND A. AHMAD (Eds.). Springer, Dordrecht. The Netherlands.
- METWALLY, A.; FINKMEMEIER, I.; GEORGI, M.; DIETZ, K. J. 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiol.* 132, 272–281.
- PENG, J.; DENG, X.; HUANG, J.; JIA, S.; MIAO, X.; HUANG, Y. 2004. Role of Salicylic Acid in Tomato Defense against Cotton Bollworm, *Helicoverpa armigera* Hubner. *Z. Naturforsch.* 59 (11–12): 856–62.

- QUIROZ-FIGUEROA, F.; MÉNDEL-ZEEL, M.; LARQUÉ-SAAVEDRA, A.; LOYOLA VARGAS, V. M. 2001. Picomolar concentrations of salicylates induce cellular growth and enhance somatic embryogenesis in *Coffea arabica* tissue culture. *Plant Cell Rep* 20: 679-684.
- RASKIN, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43: 439-463.
- SAN MIGUEL, R.; GUTIÉRREZ, M.; LARQUÉ-SAAVEDRA, A. 2003. Salicylic acid increases the biomass accumulation of *Pinus patula*. *Southern Journal of Applied Forestry* 27: 52-54.
- SAS, 2004. Statistical Analysis System Institute. SAS Proceeding Guide, Version 8.1. SAS Institute. Cary, NC. USA
- SHAHBA Z.; BAGHIZADEH, A.; YOSEFI M. 2010. The salicylic acid effect on the tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) germination, growth and photosynthetic pigment under salinity stress (NaCl). *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*. Vol. 6 Núm. 3, 4-16.
- SHAKIROVA, F. E.; SAKHABUTDINOVA, A. R.; BEZZRUKOVA, M. V.; FATKHUTDINOVA, R. A.; FATKHUTDINOVA, D. R. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induce by salicylic acid and salinity. *Plant Sci.* 164: 317-322.
- SINGH, B.; USHA, K. 2003. Salicylic acid-induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regul.* 39: 137-141.
- TASGN, E.; ATÍCÍ, Ö. NALBANTOGLU, B. 2003. Effect of Salicylic acid on freezing tolerance in winter wheat leaves. *Plant Growth Regul.* 41: 231-236.
- YALPANI, N.; BALKE N. O.; SCHULZ, M. 1992. Induction of UDP-glucose-salicylic-acid glucosyltransferase in oat roots. *Plant Physiol.* 100:1114-1119.
- YILDIRIM, E.; DURSUN, A. 2009. Effect of foliar salicylic acid applications on plant growth and yield of tomato under greenhouse conditions. pp. 395-400. TÜZEL, Y. *et al.* Proc. IS on Prot. Cult. Mild Winter Climate. (eds.) *Acta Horticulturae* 807 p.