








Inducción de un bioestimulante y su respuesta en la actividad bioquímica de *Ocimum basilicum* L. sometida a salinidad

Induction of a biostimulant and response in the biochemical activity of *Ocimum basilicum* L. under salinity

Daulemys Batista-Sánchez¹ ,
Bernardo Murillo-Amador^{1*} ,
Carlos Michel Ojeda-Silvera^{1,2} ,
José Manuel Mazón-Suástegui¹ ,
Pablo Preciado-Rangel³ ,
Francisco Higinio Ruiz-
Espinoza² ,
Yuneisy Milagro Agüero-
Fernández¹ 

¹Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C., Instituto Politécnico Nacional No. 195, Colonia Playa Palo de Santa Rita Sur, CP. 23096. La Paz, Baja California Sur, México.

²Universidad Autónoma de Baja California Sur. Carretera al Sur km. 5.5. CP. 23080. La Paz, Baja California Sur, México.

³Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico de Torreón. Carretera Torreón-San Pedro km 7.5, Ejido Ana. CP. 27170. Torreón, Coahuila, México.

*Autor de correspondencia:
bmurillo04@cibnor.mx

Artículo científico

Recibido: 03 de noviembre 2021

Aceptado: 30 de marzo 2022

Como citar: Batista-Sánchez D, Murillo-Amador B, Ojeda-Silvera CM, Mazón-Suástegui JM, Preciado-Rangel P, Ruiz-Espinoza FH, Agüero-Fernández YM (2022) Inducción de un bioestimulante y su respuesta en la actividad bioquímica de *Ocimum basilicum* L. sometida a salinidad. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 9(2): e3185. DOI: 10.19136/era.a9n2.3185

RESUMEN. Los bioestimulantes contienen sustancias que regulan el metabolismo secundario de las plantas. Además de estimular el crecimiento y el desarrollo vegetal, activan funciones fisiológicas y bioquímicas que ayudan a mitigar el estrés salino en las plantas. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto mitigador de un bioestimulante comercial en el contenido de prolina, proteínas totales y actividad enzimática antioxidante de tres variedades de albahaca sometidas a estrés por salinidad con cloruro de sodio (NaCl). El diseño utilizado fue completamente al azar con arreglo factorial. El factor A fueron las variedades (Napoletano, Nufar y Emily), el factor B las concentraciones de NaCl (0, 50, 100 y 150 mM) y el factor C, las dosis del bioestimulante (0 y 0.5 mL L⁻¹) con cuatro repeticiones. El contenido de prolina, proteínas totales y la actividad de superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPX) se determinaron en hojas y raíces. Los resultados mostraron que las variedades de albahaca aumentaron las concentraciones de prolina, CAT, SOD y GPX conforme las concentraciones de NaCl fueron de moderadas a severas (100 y 150 mM). Las plantas tratadas con 0.5 mL L⁻¹ del bioestimulante, incrementaron significativamente las variables estudiadas, aún en presencia del estrés por NaCl, determinándose la acción mitigadora del bioestimulante al promover una mayor actividad enzimática antioxidante y un aumento de sustancias osmorreguladoras.

Palabras clave: Catalasa, glutatión peroxidasa, prolina, proteínas totales, superóxido dismutasa.

ABSTRACT. Biostimulants contain substances that regulate the secondary metabolism of plants. In addition to stimulating plant growth and development, they activate physiological and biochemical functions that help mitigate salt stress in plants. The objective of this study was to evaluate the mitigating effect of a commercial biostimulant on proline content, total protein and antioxidant enzymatic activity of three varieties of basil subjected to salinity stress with sodium chloride (NaCl). The design used was completely randomized with a factorial arrangement. Factor A were the varieties (Napoletano, Nufar and Emily), factor B the NaCl concentrations (0, 50, 100 and 150 mM) and factor C, the doses of the biostimulant (0 and 0.5 mL L⁻¹) with four repetitions. Proline content, total protein, and superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPX) activity were determined in leaves and roots. The results showed that basil varieties increased proline, CAT, SOD and GPX concentrations as NaCl concentrations were moderate to severe (100 and 150 mM). The plants treated with 0.5 mL L⁻¹ of the biostimulant significantly increased the variables studied, even in the presence of NaCl stress, determining the mitigating action of the biostimulant by promoting greater antioxidant enzymatic activity and an increase in osmoregulatory substances.

Key words: Catalase, glutathione peroxidase, proline, superoxide dismutase, total proteins.

INTRODUCCIÓN

Los factores antrópicos han desencadenado procesos de salinización de forma dinámica y extrema en aquellas áreas cuyas condiciones climáticas propician la aparición de estos fenómenos (Batista *et al.* 2017). La acción del hombre tiene una incidencia alta en factores degradativos como la deforestación, la sobreexplotación, el cambio en el uso de las tierras y el uso de agua de mala calidad para el riego agrícola, entre otras (Khaledian *et al.* 2017). En la actualidad, más del 20% de los suelos cultivados y aproximadamente el 50% de las tierras irrigadas, están catalogados como potencialmente salinos o con tendencia a la salinidad, y los modelos matemáticos evidencian que la velocidad de salinización de los suelos aumenta cada año y en menos tiempo (Ahammed *et al.* 2018). La salinidad en el suelo inhibe el crecimiento vegetal, mediante perturbaciones en el balance de agua, reducción de la turgencia, así como el agotamiento de la energía requerida para el metabolismo. Estas afectaciones se generan por dificultad en la captación o transporte de agua dentro de la planta, como por efectos tóxicos ocasionados por un exceso de iones minerales en los tejidos, con daños de tipo osmótico, tóxico o nutricional (Batista-Sánchez *et al.* 2019).

La albahaca es una especie que se cultiva en el estado de Baja California Sur, México, con mercado de exportación, debido a las características de sus aceites esenciales que se utilizan en la industria de cosméticos para la elaboración de perfumes; en la industria farmacéutica por sus propiedades diuréticas y estimulantes y en la alimenticia para aromatizar vinagres, por su agradable olor y sabor, además de su empleo como condimento (Tarchoune *et al.* 2013, Gavia *et al.* 2016). Es una fuente de ingresos para los productores orgánicos del Estado de Baja California Sur; sin embargo, el incremento de las áreas para su producción se limita por el incremento de la salinidad en el agua de riego y en el suelo en las zonas de cultivo (Cruz-Falcón *et al.* 2018). Para enfrentar esta problemática, se trabaja en la búsqueda de soluciones que incrementen la productividad de los cultivos en estas condiciones, para lo cual no sólo

se utilizan cultivares tolerantes, sino también, introducir tecnologías que permitan minimizar los daños que el estrés abiótico por salinidad provoca en las plantas (Reyes-Guerrero *et al.* 2021).

En los últimos años se ha incrementado el uso de sustancias inocuas en la agricultura, como los bioestimulantes de origen natural, que ejercen gran influencia en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Entre este grupo de bioestimulante se encuentran los que son obtenidos de los residuos de la industria azucarera cubana, que son una mezcla de sustancias orgánicas intermediarias complejas de alta energía, como los aminoácidos, péptidos de peso molecular bajo, bases nitrogenadas e hidratos de carbono bioactivos (Batista-Sánchez *et al.* 2019, Calero-Hurtado *et al.* 2019). Estas sustancias sirven de soporte al metabolismo secundario de las plantas cuando se colocan oportunamente a disposición de estas. Debido a que estos compuestos son activadores de los mecanismos fisiológicos de las plantas, por lo que su aplicación permite un mejor aprovechamiento de los nutrientes y por ende mayor crecimiento y desarrollo, lo que incrementa la biomasa, rendimiento y activación de los mecanismos de tolerancia de las plantas a condiciones de estrés (Batista-Sánchez *et al.* 2017, Silva-Nóbrega *et al.* 2021). En las plantas, las vías más utilizadas para promover la defensa y la adaptación al entorno involucran la síntesis bioquímica de sustancias osmorreguladoras, que protegen a las plantas de la deshidratación, como la prolina y enzimas que proporcionan un equilibrio en el metabolismo, aun cuando las condiciones del medio son desfavorables. Las enzimas juegan un papel importante en la desintoxicación de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO), las plantas poseen un complejo sistema enzimático antioxidante en diferentes compartimentos celulares. Este sistema de defensa incluye componentes antioxidantes enzimáticos como catalasa (CAT), peroxidasa, superóxido dismutasa (SOD) y las enzimas del ciclo ascorbato-glutatiión como la ascorbato peróxidasa (APX) y glutatiión reductasa (GR). La superóxido dismutasa (SOD) es la enzima en las plantas que dismuta el O_2^{2-} en H_2O_2 y O_2 . El H_2O_2 puede ser directamente catabolizado

por catalasas (CAT) o, en presencia de sustratos reductores, por varios tipos de peroxidasas, en el ciclo ascorbato-glutación (Machín-Suárez *et al.* 2017). Por que el uso de los bioestimulantes se sugiere por su potencial acción antiestrés (Reyes *et al.* 2017, Batista-Sánchez *et al.* 2019). Por lo anterior, el objetivo del estudio fue evaluar el efecto mitigador de un bioestimulante en el contenido de prolina, proteínas totales y actividad enzimática antioxidante en hojas y raíces de tres variedades de albahaca sometidas a estrés por salinidad (NaCl).

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio

El experimento se realizó en una estructura tipo casa de malla, construida con tubos de acero galvanizado con dimensiones de 32 × 30 m de largo y ancho, respectivamente, y altura de 4.20 m, cubierta con malla de 1610 PME CR, con hilos de 16 × 0 cm⁻², orificios de 0.4 × 0.8 mm, color cristalino con 40% de sombra, ubicada en el campo agrícola del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), localizado en La Paz, Baja California Sur, a los 24° 08' 10.03" LN y 110° 25' 35.31" LO, con altura sobre el nivel del mar de 7 m (Ojeda-Silvera *et al.* 2015). Las temperaturas (promedio, máxima y mínima) registradas dentro de la malla sombra en el periodo de experimentación fueron, 26.84 ± 5.21, 44.17 ± 4.92, 13.40 ± 5.83 °C, con una humedad relativa de 52.8 ± 14.95%. Los datos climatológicos se registraron con una estación climatológica portátil (Vantage Pro2 Davis Instruments, Hayward, Cal. USA) que se colocó dentro de la estructura casa de malla.

Material genético

Las plántulas se obtuvieron a partir de semillas certificadas de las variedades de albahaca, Napoletano, Nufar y Emily, provenientes de la Empresa Seed Vis Company, con respuesta diferencial al estrés por salinidad (NaCl) (Batista-Sánchez *et al.* 2017).

Bioestimulante

Se utilizó el bioestimulante FitoMas-E, derivado de la industria azucarera obtenido y desarrollado en el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar. El bioestimulante es una mezcla de sales minerales y sustancias bioquímicas, con contenido de 6.94% de aminoácidos totales (16 aminoácidos) de los cuales, 50% son alifáticos y 30% aromáticos y heterocíclicos, 2.5% de sacáridos, 20% de materia orgánica, 3% de polisacáridos biológicamente activos, 1.5% de lípidos y bases nitrogenadas, 6.5% de nitrógeno total, 5.24% de potasio y 2.7% de fósforo (Montano *et al.* 2007).

Diseño experimental y tratamientos

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial (3A × 4B × 2C), considerando tres variedades de albahaca (Napoletano, Nufar y Emily) como factor A, las concentraciones de NaCl (0, 50, 100 y 150 mM) como factor B y las dosis del bioestimulante (0 y 0.5 mL L⁻¹) como factor C, para un total de 24 tratamientos con cuatro repeticiones (seis plantas por cada repetición). Las semillas se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades con Sogemix VT-M (Premier Horticulture Ltd. Dorval, Quebec, Canadá) como sustrato comercial inerte el cual contiene turba de *Sphagnum canadiense* de fibra corta (65-75% vol), vermiculita, caliza y agentes humectantes. Para mantener la humedad y lograr una emergencia homogénea, se aplicaron riegos diarios hasta la saturación del sustrato (1 500 mL). Cuando las plántulas alcanzaron una altura promedio de 10 cm se trasladaron en canastillas para hidroponía de 150 mL utilizando como soporte vermiculita y una fracción de fibra absorbente de algodón para garantizar el contacto de las raíces con el agua, durante los primeros días posteriores al trasplante, en un sistema de hidroponía de raíz flotante. Los contenedores para hidroponía consistieron en cajas de poliuretano expandido de 69 × 38.5 × 25 cm y 38 L de capacidad, aforadas con agua proveniente de la planta potabilizadora del CIBNOR, a la cual se le midió la conductividad eléctrica (CE = 0.22 dS m⁻¹). Las canastillas de hidroponía se colocaron en los

contenedores hidropónicos en orificios de una pulgada (seis canastillas por contenedor). La nutrición de las plantas se efectuó con la solución nutritiva de Samperio (1997) adaptada para albahaca, ajustada a razón de 1 L por cada 100 L de agua a la que se le midió el pH para garantizar un rango de 6.5 ± 0.4 . La aplicación de los tratamientos con el bioestimulante FitoMas-E inició después de un periodo de aclimatación de siete días después del trasplante (DDT), asperjando la parte aérea de las plantas con una dosis de 0.5 mL L^{-1} y agua destilada (control) en días alternos mientras se desarrolló el experimento (duración total de 65 días). Cuando se encontraban plenamente establecidas (15 días posteriores al trasplante), se inició de manera gradual la aplicación de los tratamientos de NaCl, para evitar un choque osmótico (Murillo-Amador *et al.* 2007), iniciando con una concentración de 25 mM de NaCl en todos los tratamientos salinos, hasta alcanzar la concentración máxima de cada tratamiento (50, 100 y 150 mM).

Determinación de variables bioquímicas

Los indicadores bioquímicos se determinaron en hoja y raíz, utilizando tres repeticiones de cada muestra. La prolina se determinó con el método descrito por Bates *et al.* (1973). Se tomaron muestras de 100 mg de tejido vegetal liofilizado, se depositaron en tubos de 2 mL y se homogenizaron con 2 mL de ácido sulfosalicílico al 3%. Posteriormente, se centrifugó a 3 500 rpm durante 10 min. Una muestra de 0.5 mL se tomó del sobrenadante y se le agregaron 0.5 mL de ninhidrina (1.25 g ninhidrina + 30 mL ácido acético + 20 mL ácido fosfórico 6M) en tubos de borosilicato de 5 mL. Para luego calentar los tubos en baño María a ebullición durante 1 h. Enseguida se enfriaron en baño de agua, y se agregó 1 mL de tolueno a cada tubo y se mezcló con vórtex. Se separó la fase de tolueno midiéndose la absorbancia a 520 nm utilizando un espectrofotómetro (Termo Helios Omega, Vantaa-Finlandia) con celda de cuarzo de 1 cm de paso de luz, utilizando tolueno como blanco. Para la curva de calibración se utilizó una solución de prolina a partir de 0.5 mg mL^{-1} , que se diluyó en proporción 1:2 en agua destilada hasta tener concentraciones de 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125 y $0.015625 \text{ mg mL}^{-1}$

mL^{-1} de prolina y solución de ácido sulfosalicílico al 3% como blanco.

El contenido de proteínas totales se determinó mediante la técnica del ácido bicinconínico o BCA (Smith *et al.* 1985) que se basa en el principio que las proteínas reducen los iones cúpricos a iones cuprosos en condiciones alcalinas. Se utilizó una solución reactiva comercial de Sigma (solución de ácido bicinconínico B9643 y solución de sulfato de cobre II C2284). Una alícuota de $25 \mu\text{L}$ del homogeneizado se procedió a digerir en $500 \mu\text{L}$ de NaOH 0.1N durante 120 min; posteriormente se tomaron $25 \mu\text{L}$ del digerido o muestra diluida, se colocó en el fondo de una microplaca y se le agregó el reactivo preparado de BCA. Luego se incubó a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 15 min y se leyó la absorbancia a 562 nm en un espectrofotómetro de placas (Termo, Multiskan Spectrum, Vantaa-Finlandia). Se utilizó una solución estándar con una concentración de 1 mg mL^{-1} de albúmina bovina, la cual se diluyó en proporción 1:2 en solución salina hasta tener concentraciones de 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 y $0.03125 \text{ mg mL}^{-1}$ de proteína y solución salina como blanco. La actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) se determinó con el método descrito por Suzuki (2000). Se utilizó el sistema xantina/xantina oxidasa como generador constante del radical superóxido (O_2^-), el cual al entrar en contacto con el nitroazul de tetrazolio (NBT) lo reduce y forma un producto llamado formazán, cuyo cambio es detectado por espectrofotometría cuando la SOD inhibe la reducción del NBT. Se registró el cambio en la absorbancia a 560 nm cada 30 segundos durante 5 minutos (A560) en un lector de placas (Termo, Multiskan Spectrum, Vantaa-Finlandia). Una unidad de SOD se definió como la cantidad de enzima que causa el 50% de la inhibición del radical superóxido con NBT.

La actividad de la catalasa (CAT) se determinó con el método descrito por Johansson y Borg (1988). Se agregaron $100 \mu\text{L}$ de buffer de fosfatos (100 mM pH 7.0), $30 \mu\text{L}$ de metanol y $20 \mu\text{L}$ de muestra, se incubaron 6 min en una microplaca. Posteriormente, se añadieron $20 \mu\text{L}$ de H_2O_2 ($35.2 \mu\text{M}$) y se cubrió la placa. Se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. Para luego agregar $30 \mu\text{L}$ de KOH (10 M) y

30 μL de Purlpad (23.5mM sol 5% de HCl) y se incubó por 10 min. Se añadieron 10 μL de peryodato de potasio 0.5 M (en KOH 0.5 M); la placa se incubó por 5 min y se leyó la absorbancia a 540 nm en un lector de placas (Termo, Multiskan Spectrum, Vantaa-Finlandia). Cada muestra se analizó por triplicado, los resultados se expresaron como mM H_2O_2 mim^{-1} por proteína total (mg g^{-1}).

La actividad de la glutatión peroxidasa (GPX) se determinó con el método descrito por Folh  y G nzle (1984). Esta enzima cataliza la reacción del peróxido de hidrógeno con glutatión reducido. El principio consiste en monitorear la disminución continua de NADPH al mantener niveles constantes de glutatión reducido. La mezcla de ensayo se compuso por 100 μL de solución amortiguadora de fosfatos 500 mM, 10 μL de EDTA 60 mM, 100 μL de azida de sodio 20 mM, 100 μL de glutatión reductasa 15 U mL^{-1} , 100 μL de NADPH 1.5 mM, 500 μL de agua desionizada, 20 μL de glutatión reducido 250 mM, 50 μL de muestra y 20 μL de H_2O_2 . Se midió el cambio de absorbancia a 340 nm (Beckman Coulter DU 800, Fullerton, CA, USA) cada 3 s durante 40 s. Una unidad de GPS se define como la cantidad de enzima que oxida 1 μmol de NADPH por minuto por proteínas totales.

Análisis estadísticos

Se realizaron análisis de varianza y comparaciones de medias (Tukey HSD, $p = 0.05$). En todas las variables, las medias se consideraron significativamente diferentes cuando $p \leq 0.05$. Los análisis estadísticos se realizaron con Statistica v. 10.0 para Windows (StatSoft 2011).

RESULTADOS

Para el contenido de prolina en hojas y raíz se encontraron diferencias significativas entre las variedades estudiadas, las concentraciones salinas, las dosis de bioestimulante, la interacción variedades \times NaCl. El contenido mayor de prolina se observó en la variedad Napoletano con 150 mM de NaCl tanto para hojas como para raíz, con un incremento superior al 100% con respecto al control (Tabla 1).

Para la interacción variedades \times bioestimulante, la prolina se incrementó en Napoletano, tanto en hoja como en raíz cuando se aplicó el bioestimulante, en 65.5 y 42.6%, respectivamente con respecto al control (Tabla 2). En la interacción variedades \times NaCl \times bioestimulante, los resultados mostraron que conforme aumentaron las concentraciones de NaCl, el contenido de prolina también aumentó para las tres variedades, tanto en hojas como en raíz, siendo superior en los tratamientos que se le aplicó 0.5 mL L^{-1} del bioestimulante, destacándose el mayor contenido de prolina en hojas de 70.1% con respecto al control, en la variedad Napoletano con el tratamiento de 100 mM de NaCl y 0.5 mL L^{-1} del bioestimulante. Para raíces se observó un contenido mayor de prolina en la variedad Napoletano con un incremento de 53.6% respecto al control, en el tratamiento de 50 mM de NaCl y 0.5 mL L^{-1} del bioestimulante. El análisis de los resultados reveló que la variedad Emily en 150 mM de NaCl con 0 mL L^{-1} del bioestimulante no logró sobrevivir. De manera general cuando se aplicó 0.5 mL L^{-1} del bioestimulante, el contenido de prolina fue superior aun y cuando las plantas se encontraban en estrés por salinidad (NaCl) (Tablas 3 y 4).

El contenido de proteínas totales (PT) en hojas y raíz mostró diferencias significativas entre variedades, salinidad y bioestimulante. En la interacción variedades \times NaCl se observó un contenido menor de PT en hojas y raíz cuando las plantas se sometieron al estrés por NaCl de moderado a severo, siendo más sensible la variedad Emily con un menor contenido de PT de 73.41% en hojas y 76.29% en raíz con respecto al control en 150 mM de NaCl (Tabla 1). Para la interacción variedades \times bioestimulante, las PT se incrementaron en hojas y raíz cuando las plantas se trataron con el bioestimulante, la variedad Napoletano alcanzó un incremento de un 17.26% en hojas, en raíz el mayor contenido de PT fue en la variedad Nufar con un 10% respecto al control (Tabla 2). En la interacción variedades \times NaCl \times bioestimulante, las tres variedades disminuyeron las PT en hojas y raíz conforme las concentraciones de NaCl aumentaron y se observó que las plantas tratadas con el bioestimulante mantuvieron valores más elevados respecto a las que no lo recibieron

Tabla 1. Valores promedio de variables bioquímicas en hojas y raíces de tres variedades de albahaca sometidas a estrés por salinidad (NaCl) considerando la interacción variedades × NaCl.

Variedades	NaCl (mM)	Hojas				
		Prolina (mg g ⁻¹)	PT (mg g ⁻¹)	SOD (U mg de Prot)	CAT (U mg de Prot)	GPX (U mg de Prot)
Napoletano	0	0.329 ^j	10.419 ^a	91.52 ^f	7.76 ^e	0.292 ^g
	50	0.639 ^c	8.880 ^b	115.31 ^c	12.55 ^c	0.385 ^f
	100	0.703 ^b	8.447 ^b	140.64 ^b	14.45 ^b	0.991 ^c
	150	0.720 ^a	8.170 ^{bc}	163.23 ^a	17.34 ^a	1.727 ^a
Nufar	0	0.325 ^k	7.972 ^{bc}	67.97 ^j	6.17 ^f	0.105 ^{hi}
	50	0.570 ^f	6.856 ^d	78.53 ^h	8.42 ^e	0.127 ^h
	100	0.588 ^e	5.814 ^e	99.37 ^d	10.70 ^d	0.463 ^e
	150	0.599 ^d	4.932 ^{ef}	139.32 ^b	16.66 ^a	1.541 ^b
Emily	0	0.349 ⁱ	7.456 ^{cd}	69.60 ⁱ	3.32 ^g	0.067 ⁱ
	50	0.408 ^h	4.999 ^{ef}	89.99 ^g	5.03 ^f	0.104 ^{hi}
	100	0.509 ^g	4.612 ^f	94.33 ^e	7.72 ^e	60.726 ^d
	150	0.322 ^l	1.982 ^g	66.17 ^k	12.26 ^c	0.751 ^d
		Raíces				
Napoletano	0	0.171 ^k	27.529 ^a	44.81 ^f	4.51 ^{de}	0.24 ^c
	50	0.279 ^d	22.485 ^b	65.07 ^c	7.44 ^c	0.78 ^{abc}
	100	0.289 ^c	22.814 ^b	67.69 ^b	8.78 ^{ab}	0.80 ^{abc}
	150	0.344 ^a	21.285 ^c	73.38 ^a	9.80 ^a	1.39 ^a
Nufar	0	0.185 ^j	23.014 ^b	40.01 ^g	5.70 ^d	0.61 ^{cb}
	50	0.259 ^f	19.968 ^d	48.23 ^e	7.62 ^{bc}	0.74 ^{abc}
	100	0.273 ^e	16.378 ^e	58.49 ^d	7.95 ^{bc}	0.79 ^{abc}
	150	0.294 ^b	14.452 ^{fg}	64.85 ^c	8.33 ^{bc}	1.24 ^{ab}
Emily	0	0.174 ^j	21.222 ^c	33.77 ^h	2.72 ^f	0.42 ^c
	50	0.242 ^h	14.782 ^f	40.66 ^g	5.02 ^{de}	0.73 ^{abc}
	100	0.250 ^g	13.497 ^g	40.44 ^g	5.27 ^{de}	0.74 ^{abc}
	150	0.120 ^l	5.031 ^h	22.21 ⁱ	3.95 ^{ef}	0.43 ^c

PT: proteína total, SOD: superóxido dismutasa, CAT: catalasa, GPX: glutatión peroxidasa. Valores promedio con letras distintas en una misma columna difieren estadísticamente (Tukey HSD, p ≤ 0.05).

Tabla 2. Valores promedio de variables bioquímicas en hojas y raíces de tres variedades de albahaca sometidas a estrés por salinidad (NaCl) considerando la interacción variedades × bioestimulante.

Variedades	Bioestimulante (mL L ⁻¹)	Hoja				
		Prolina (mg g ⁻¹)	PT (mg g ⁻¹)	SOD (U mg de Prot)	CAT (U mg de Prot)	GPX (U mg de Prot)
Napoletano	0	0.450 ^d	8.266 ^b	120.84 ^b	12.34 ^b	0.750 ^b
	0.5	0.745 ^a	9.693 ^a	134.52 ^a	13.71 ^a	0.948 ^a
Nufar	0	0.428 ^e	6.176 ^c	91.57 ^e	9.73 ^d	0.483 ^e
	0.5	0.613 ^b	6.611 ^c	101.02 ^d	11.24 ^c	0.635 ^d
Emily	0	0.270 ^f	4.056 ^e	57.48 ^f	3.83 ^e	0.124 ^f
	0.5	0.524 ^c	5.468 ^d	102.56 ^c	10.33 ^d	0.700 ^c
		Raíces				
Napoletano	0	0.223 ^d	17.781 ^d	54.62 ^c	6.538 ^b	0.67 ^a
	0.5	0.318 ^a	19.126 ^c	70.86 ^a	8.727 ^a	0.94 ^a
Nufar	0	0.221 ^e	22.327 ^b	50.47 ^d	6.847 ^b	0.77 ^a
	0.5	0.284 ^b	24.729 ^a	55.32 ^b	7.956 ^a	0.91 ^a
Emily	0	0.153 ^f	11.676 ^f	27.64 ^f	3.069 ^d	0.43 ^a
	0.5	0.240 ^c	15.590 ^c	40.90 ^e	5.408 ^c	0.74 ^a

PT: proteína total, SOD: superóxido dismutasa, CAT: catalasa, GPX: glutatión peroxidasa. Valores promedio con letras distintas en una misma columna difieren estadísticamente (Tukey HSD, p ≤ 0.05).

aún y cuando se sometieron al estrés por NaCl, la variedad Napoletano obtuvo un incremento de 12.66% en hojas y 4.57% en raíz con 0 mM de NaCl y 0.5 mL L⁻¹ del bioestimulante (Tablas 3 y 4).

La actividad de superóxido dismutasa (SOD) presentó diferencias significativas para hojas y raíz, entre variedades, salinidad y bioestimulante. En la interacción variedades × NaCl la SOD se incrementó

Tabla 3. Valores promedio de variables bioquímicas en hojas de tres variedades de albahaca sometidas a estrés por salinidad (NaCl) considerando la interacción variedades × NaCl × bioestimulante.

Variedades	NaCl (mM)	Bioestimulante (mL L ⁻¹)	Prolina (mg g ⁻¹)	PT (mg g ⁻¹)	SOD (U mg de Prot)	CAT (U mg de Prot)	GPX (U mg de Prot)	
Napoletano	0	0	0.261 ⁱ	9.779 ^{ab}	82.24 ^m	6.08 ⁱ	0.204 ^{ij}	
		0.5	0.397 ^o	11.059 ^a	100.81 ^j	2.85 ^k	0.380 ^h	
	50	0	0.475 ^k	8.192 ^{def}	107.88 ⁱ	2.98 ^k	0.235 ⁱ	
		0.5	0.803 ^c	9.568 ^{abc}	122.74 ^h	3.79 ^{jk}	0.536 ^g	
	100	0	0.520 ^j	7.664 ^{efg}	135.63 ^e	5.59 ^{ij}	0.912 ^e	
		0.5	0.885 ^b	9.231 ^{bcd}	145.65 ^d	6.08 ⁱ	1.071 ^d	
	150	0	0.546 ⁱ	7.428 ^{efgh}	157.60 ^b	6.75 ⁱ	1.648 ^b	
		0.5	0.895 ^a	8.913 ^{bcd}	168.87 ^a	7.08 ⁱ	1.806 ^a	
	Nufar	0	0	0.295 ^r	7.920 ^{defg}	64.03 ^p	7.39 ⁱ	0.094 ^{klm}
			0.5	0.355 ^q	8.025 ^{def}	71.92 ^o	9.44 ^h	0.115 ^{kl}
50		0	0.469 ^m	6.457 ^{ghij}	76.22 ⁿ	9.45 ^h	0.109 ^{kl}	
		0.5	0.670 ^f	7.254 ^{fgh}	80.84 ^{mn}	9.51 ^h	0.144 ^{jk}	
100		0	0.472 ^l	5.602 ^{ijkl}	97.19 ^k	9.90 ^{gh}	0.242 ⁱ	
		0.5	0.704 ^e	6.025 ^{hijk}	101.55 ^j	11.50 ^{fg}	0.684 ^f	
150		0	0.475 ^{kl}	4.723 ^{klm}	128.84 ^g	11.96 ^f	1.486 ^c	
		0.5	0.723 ^d	5.140 ^{ijklm}	149.79 ^c	13.14 ^{ef}	1.597 ^b	
Emily		0	0	0.289 ^s	7.033 ^{fghi}	64.26 ^p	2.85 ^k	0.040 ^{mn}
			0.5	0.409 ⁿ	7.878 ^{defg}	74.94 ⁿ	3.79 ^{jk}	0.094 ^{klm}
	50	0	0.381 ^p	4.850 ^{klm}	78.95 ⁿ	2.98 ^k	0.081 ^{lm}	
		0.5	0.435 ⁿ	5.149 ^{ijklm}	101.02 ^j	7.08 ⁱ	0.127 ^{kl}	
	100	0	0.409 ⁿ	4.342 ^{lm}	86.72 ^l	9.51 ^h	0.374 ^h	
		0.5	0.610 ^h	4.882 ^{klm}	101.93 ^j	15.00 ^{cd}	1.128 ^d	
	150	0	0 ^r	0.000 ⁿ	0 ^q	0 ^l	0 ⁿ	
		0.5	0.644 ^g	3.964 ^m	132.34 ^f	15.44 ^{bcd}	1.452 ^c	

PT: proteína total, SOD: superóxido dismutasa, CAT: catalasa, GPX: glutatión peroxidasa. Valores promedio con letras distintas en una misma columna difieren estadísticamente (Tukey HSD, $p \leq 0.05$).

en hojas y raíz conforme la concentración del NaCl se incrementó, con excepción en los tejidos de Emily en 150 mM de NaCl, la cual disminuyó tanto en hojas como en raíz. Para la interacción variedades × bioestimulante, esta variable incrementó 11.32% en hojas y 29.73% en raíz con respecto al control en la variedad Napoletano y la Emily alcanzó 78.42% en hojas y 47.97% en raíz, las plantas tratadas con el bioestimulante con dosis de 0.5 mL L⁻¹ mostraron la mayor actividad de SOD (Tabla 2). En la interacción variedades × NaCl × bioestimulante, los resultados revelaron un incremento de SOD en hojas y raíz cuando las plantas se trataron con 0.5 mL L⁻¹ que fue mayor cuando se encontraban en estrés por NaCl de moderado a severo. Las variedades Napoletano y Nufar incrementaron la actividad SOD en hojas (7.15 y 26.04%) y raíz (91.53 y 8.53%) al aplicar bioestimulante y 150mM de NaCl.

La actividad de la catalasa (CAT) mostró diferencias significativas entre variedades, NaCl y bioestimulante. Los resultados de la interacción

variedades × NaCl mostró un incremento de CAT en hojas y raíz para las tres variedades conforme las concentraciones de NaCl se incrementaron, Napoletano llegó a 123% en hojas y 117% en raíz, mientras que la variedad Nufar incrementó a 170% en hojas y 46.14% en raíz con respecto al control en 150 mM. En la interacción variedades × bioestimulante se observó un aumento de la actividad de la CAT para hoja y raíz cuando se aplicó el bioestimulante la variedad Napoletano incrementó un 11% en hojas y 33.48% en raíz con respecto al control donde no se aplicó el bioestimulante, mientras que en la interacción variedades × NaCl × bioestimulante, se presentó un incremento de la actividad de CAT en hojas y raíz cuando las plantas se trataron con el bioestimulante en las concentraciones mayores de NaCl, Emily incrementó en un 57.7% la actividad CAT en hojas al aplicar el bioestimulante y 100 mM de NaCl (Tabla 3). La variedad Napoletano incrementó en 24.9% la actividad CAT en raíz al aplicar 0.5 mL L⁻¹ del bioestimulante y 150mM de NaCl. Las plan-

Tabla 4. Valores promedio de variables bioquímicas en raíces de tres variedades de albahaca sometidas a estrés por salinidad (NaCl) considerando la interacción variedades × NaCl × bioestimulante.

Variedades	NaCl (mM)	Bioestimulante (mL L ⁻¹)	Prolina (mg g ⁻¹)	PT (mg g ⁻¹)	SOD (U mg de Prot)	CAT (U mg de Prot)	GPX (U mg de Prot)	
Napoletano	0	0	0.151 ^l	26.913 ^a	41.32 ^l	4.37 ^{ijk}	0.41 ^{ab}	
		0.5	0.190 ^g	28.144 ^a	48.29 ⁱ	4.64 ^{hij}	0.32 ^{ab}	
	50	0	0.220 ^h	20.465 ^{ef}	60.13 ^f	5.55 ^{fghi}	0.91 ^{ab}	
		0.5	0.338 ^c	24.506 ^b	70.01 ^b	9.33 ^{abc}	0.78 ^{ab}	
	100	0	0.236 ^l	22.241 ^{cde}	66.69 ^d	7.51 ^{cdef}	0.94 ^{ab}	
		0.5	0.341 ^b	23.387 ^{bc}	68.68 ^c	10.05 ^{ab}	0.67 ^{ab}	
	150	0	0.287 ^g	19.689 ^{fg}	50.33 ^h	8.72 ^{bcd}	1.46 ^a	
		0.5	0.402 ^a	22.880 ^{bcd}	96.44 ^a	10.89 ^a	1.31 ^a	
	Nufar	0	0	0.181 ^s	22.594 ^{cd}	38.35 ^{mn}	5.58 ^{fghi}	0.58 ^{ab}
			0.5	0.189 ^r	23.435 ^{bc}	41.68 ^l	5.82 ^{efghi}	0.62 ^{ab}
50		0	0.215 ^o	18.483 ^{gh}	45.46 ^j	6.68 ^{defgh}	0.79 ^{ab}	
		0.5	0.303 ^f	21.453 ^{def}	51.01 ^h	8.57 ^{bcd}	0.68 ^{ab}	
100		0	0.231 ⁿ	15.885 ^{ij}	55.90 ^g	7.23 ^{cdefg}	0.80 ^{ab}	
		0.5	0.315 ^e	16.871 ^{hi}	61.07 ^{ef}	8.67 ^{bcd}	0.69 ^{ab}	
150		0	0.258 ⁱ	14.160 ^{jk}	62.19 ^e	7.90 ^{cde}	1.41 ^a	
		0.5	0.329 ^d	14.743 ^j	67.50 ^{cd}	8.76 ^{abcd}	0.64 ^{ab}	
Emily		0	0	0.148 ^u	20.169 ^{fg}	33.40 ⁿ	2.46 ^k	0.51 ^{ab}
			0.5	0.201 ^p	22.275 ^{cde}	34.14 ⁿ	2.98 ^{jk}	0.06 ^b
	50	0	0.232 ^{mm}	14.100 ^{jk}	37.17 ⁿ	4.79 ^{hij}	0.76 ^{ab}	
		0.5	0.251 ^j	15.464 ^{ij}	44.15 ^k	5.26 ^{ghi}	0.64 ^{ab}	
	100	0	0.233 ^m	12.434 ^k	39.25 ^m	5.03 ^{hij}	0.80 ^{ab}	
		0.5	0.266 ^h	14.559 ^j	41.63 ^l	5.50 ^{fghi}	0.85 ^{ab}	
	150	0	0.0 ^v	0.0 ^m	0.0 ^o	0.0 ^l	0.0 ^b	
		0.5	0.241 ^k	10.062 ^l	44.43 ^{jk}	7.89 ^{cde}	1.05 ^{ab}	

PT: proteína total, SOD: superóxido dismutasa, CAT: catalasa, GPX: glutatión peroxidasa. Valores promedio con letras distintas en una misma columna difieren estadísticamente (Tukey HSD, $p \leq 0.05$).

tas de Emily cultivadas en 150 mM de NaCl y sin la aplicación del bioestimulante no lograron sobrevivir (Tabla 4).

La actividad de glutatión peroxidasa (GPX) mostró diferencias significativas entre variedades, salinidad y bioestimulante. En la interacción variedades × NaCl, se presentó un incremento de GPX en hoja y raíz en las tres variedades cuando la concentración de NaCl fue de moderada a severa, excepto para Emily pues GPX disminuyó en 150 mM de NaCl. En la interacción variedades × bioestimulante en hoja, se observó una respuesta positiva al incrementar GPX con el bioestimulante, la variedad Napoletano incrementó 26.4% con respecto al control, aunque no se encontró diferencia significativa en raíz, se observó un incremento al aplicar el bioestimulante en las tres variedades estudiadas. La interacción variedades × NaCl × bioestimulante para hoja, mostró un incremento de GPX cuando se aplicó el bioestimulante Napoletano incrementó 9.6% y Nufar 7% en hojas con respecto al control, aún en

concentraciones altas de NaCl, Emily en 150 mM de NaCl y sin la aplicación del bioestimulante no logró sobrevivir. La interacción, variedades × NaCl × bioestimulante en raíz presentó diferencia significativa, observándose un incremento de GPX en 150 mM con o sin bioestimulante en Napoletano y Nufar, la variedad Emily incrementó 6.5% en raíz con el uso del bioestimulante y 100mM de NaCl.

DISCUSIÓN

Las tres variedades de albahaca incrementaron la concentración de prolina, a medida que aumentaron las concentraciones de NaCl y fueron más altos los valores cuando se aplicó el bioestimulante, corroborándose la acción mitigadora del bioestimulante al promover una actividad osmoprotectora. Al respecto, Barbieri *et al.* (2012) reportó que la salinidad provocó una acumulación de prolina en las hojas de albahaca de Napoletano y Genovese, observando incrementos mayores de prolina en Napo-

letano en comparación con Genovese cuando se sometieron a 100 y 200 mM de NaCl. Esta respuesta se justifica dado que la prolina es uno de los osmolitos que más se acumulan en las plantas sometidas a estrés por salinidad, como respuesta para lograr un ajuste osmótico (Ozden *et al.* 2009, Alhasnawi *et al.* 2016). La prolina es un aminoácido antioxidante que responde al estrés; funciona como un osmolito en la permeabilidad de la membrana de la raíz (González-Jiménez *et al.* 2020), estabiliza las proteínas e inhibe la peroxidación lipídica. La prolina se considera un indicador importante del estrés abiótico (Alhasnawi 2019), pues su acumulación en los tejidos se correlaciona con una tolerancia mayor al estrés y la aplicación exógena de compuestos de aminoácidos mejora la tolerancia al estrés biótico y abiótico en plantas como maíz, cebada, soya y arroz (Dos-Reis *et al.* 2012, Teh *et al.* 2016). La prolina también estabiliza proteínas y membranas, elimina especies reactivas de oxígeno e inducen la expresión de genes sensibles al estrés salino y genes implicados en factores de transcripción, tráfico de membrana y especies reactivas de oxígeno (Mansour y Ali 2017). Sobre lo mismo Tabssum *et al.* (2019) observaron un efecto positivo en las relaciones hídricas de las plantas tratadas con sal y prolina cultivadas en condiciones de invernadero, así como aumento en las actividades de SOD y CAT, lo que indica mayor efecto de la prolina en la eliminación de ROS en condiciones de estrés salino. Mientras que Anjum *et al.* (2014) reportan que la albahaca posee la capacidad enzimática para dismutar el radical superóxido (O_2^-) a 100 mM de NaCl. Por lo anterior, el incremento de prolina en las plantas de albahaca tratadas con el bioestimulante y en condiciones de estrés por NaCl, evidencia que el bioestimulante actúa como agente mitigador de los efectos de este estrés. La respuesta de albahaca a la aplicación del bioestimulante fue positiva, ya que la disminución de las PT fue menor en las plantas sometidas a estrés por NaCl. Lo anterior, se relaciona con el efecto que ejerce el bioestimulante en el metabolismo de los carbohidratos y en la síntesis de proteínas (Hurtado *et al.* 2019). Asimismo, se atribuye a la síntesis de moléculas precursoras de agentes antioxidantes, capaces de

contrarrestar algunos de los efectos negativos del estrés abiótico (Ojeda-Silvera *et al.* 2015, Rehman *et al.* 2021). Por otro lado, la presencia del NaCl en el medio de cultivo induce la expresión de genes que participan en la síntesis de proteínas protectoras como respuesta adaptativa al estrés salino, incrementando el contenido de proteínas totales (Riaz *et al.* 2018).

Las plantas en condiciones de estrés se protegen mediante mecanismos antioxidantes para eliminar los radicales libres por medio de componentes enzimáticos y no enzimáticos (Reyes *et al.* 2017). Los mecanismos enzimáticos incluyen a las enzimas superóxido dismutasa (SOD), ascorbato peroxidasa (APX), glutatión peroxidasa (GPX) y catalasa (CAT). La SOD actúa como la primera línea de defensa en contra de las especies reactivas de oxígeno (ERO) transformando el O_2^- en H_2O_2 . Las enzimas APX, GPX y CAT subsecuentemente lo detoxifican reduciéndolo a H_2O . A diferencia de la mayoría de los organismos, las plantas tienen múltiples genes que codifican para SOD y APX, que se localizan en los cloroplastos, las mitocondrias, peroxisomas, citosol y apoplasto (Soundararajan *et al.* 2017). Estas vías pueden ser estimuladas por la presencia de las moléculas del bioestimulante aplicado. La extensión del estrés oxidativo en una célula está determinada por la cantidad de superóxido, H_2O_2 y radicales hidroxilos. Por lo que el balance de las actividades de SOD, APX y CAT es trascendental para suprimir los niveles tóxicos de ERO en la célula (Manivannan *et al.* 2016, Nadarajah 2020). El incremento de la actividad enzimática en plantas de albahaca tratadas con el bioestimulante revela su acción eficiente para activar los mecanismos bioquímicos que garantizan una reducción de ERO y de esta forma mitigar los efectos negativos del estrés por NaCl (Godoy *et al.* 2021). Al respecto, Apone *et al.* (2010) señalan que una mezcla de aminoácido, péptido, azúcar derivada de las paredes celulares de las plantas indujo la expresión de tres genes marcadores de estrés y dos genes implicados en la respuesta al estrés oxidativo en plantas de *Arabidopsis* y mejoró la tolerancia de las plantas de pepino a estrés oxidativo. Asimismo, Tabssum *et al.* (2019) mostraron que la aplicación foliar de aminoácido mejoró el crecimiento

de las plántulas de arroz cultivadas bajo estrés salino al reducir la fuga de electrolitos y mejorar el contenido relativo de agua, potencial hídrico, SOD, CAT, MDA. En un estudio sobre arroz cultivado en estrés, Falcón-Rodríguez *et al.* (2021) reportaron que la actividad de los ácidos húmicos inducida por la peroxidasa en hojas y raíces redujo el contenido de peróxido de hidrógeno, manteniendo la permeabilidad de la membrana y aumentando el contenido de prolina. En frijol común la aplicación de ácidos húmicos bajo condiciones de elevada salinidad (120 mM NaCl) incrementó los niveles de prolina endógenos y redujo la ruptura de la membrana, los cuales constituyen indicadores de adaptación a un ambiente salino (Hurtado *et al.* 2019).

CONCLUSIONES

El contenido de prolina, proteínas totales y

actividad enzimática antioxidante aumentó con la aplicación del bioestimulante. Esta respuesta indujo una tolerancia mayor al estrés por salinidad (NaCl) en las tres variedades de albahaca, confirmando la hipótesis del efecto mitigador de este bioestimulante, al incrementar las sustancias osmorreguladoras induciendo un ajuste osmótico.

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, SC (subvenciones para proyectos fiscales), CONACYT-PN-4631 (2017-I) proyecto apoyado por el FOINS y por el proyecto SATREPS-JICA-CIBNOR-CONACYT-Tottori-University (Japón). A los técnicos Pedro Luna-García, Carmen Mercado-Guido, Lidia Hiraes-Lucero, Roberto Hernández Herrera y Manuel Salvador Trasviña-Castro.

LITERATURA CITADA

- Ahammed GJ, Li Y, Li X, Wen-Yan Han, Shuangchen Chen (2018) Epigallocatechin-3-Gallate alleviates salinity-retarded seed germination and oxidative stress in tomato. *Journal of Plant Growth Regulation* 37: 1349-1356.
- Alhasnawi AN (2019) Role of proline in plant stress tolerance: A mini review. *Research on Crops* 20: 223-229.
- Alhasnawi AN, Che Radziah, CMZ, Kadhimi AA, Isahak A, Mohamad A, Yusoff WMW (2016) Enhancement of antioxidant enzyme activities in rice callus by ascorbic acid under salinity stress. *Biologia Plantarum* 60: 783-787.
- Anjum NA, Aref IM, Duarte CA, Pereira E, Ahmad I, Iqbal M (2014) Glutathione and proline can coordinately make plants withstand the joint attack of metal (loid) and salinity stresses. *Frontiers in Plant Science* 5: 662. DOI: 10.3389/fpls.2014.00662.
- Apone F, Tito A, Carola A, Arciello S, Tortora A, Filippini L, Monoli I, Cucchiara M, Gibertoni S, Chrispeels MJ, Colucci G (2010) A mixture of peptides and sugars derived from plant cell walls increases plant defense responses to stress and attenuates ageing-associated molecular changes in cultured skin cells. *Journal of Biotechnology* 145: 367-376.
- Barbieri G, Vallone S, Orsini F, Paradiso R, De Pascale S, Negre-Zakharov F, 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: 1737-1746.
- Bates LS, Waldren RP, Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Batista C, Galbán L, Olaya N (2017) Amenazas, riesgos y desastres: Visión teórico-metodológica y experiencias reales. Primera Edición. Editorial Corporación Universidad de la Costa. EDUCOSTA. Departamento de Gestión Editorial y Publicaciones. Barranquilla, Colombia. 306p.

- Batista-Sánchez D, Murillo-Amador B, Nieto-Garibay A, Alcaráz-Meléndez L, Troyo-Dieguéz E, Hernández-Montiel LG, Ojeda-Silvera CM (2017) Mitigación de NaCl por efecto de un bioestimulante en la germinación de *Ocimum basilicum* L. *Terra Latinoamericana* 35: 309-320.
- Batista-Sánchez D, Murillo-Amador B, Nieto-Garibay A, Alcaráz-Meléndez L, Troyo-Dieguéz E, Hernández-Montiel L, Ojeda-Silvera CM, Mazón-Suástegui JM, Agüero-Fernández YM (2019) Bioestimulante derivado de caña de azúcar mitiga los efectos del estrés por NaCl en *Ocimum basilicum* L. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 6: 297-306.
- Cruz-Falcón A, Troyo-Dieguéz E, Murillo-Jiménez JM, García-Hernández JL, Murillo-Amador B (2018) Familias de agua subterránea y distribución de sólidos totales disueltos en el acuífero de La Paz Baja California Sur, México. *Terra Latinoamericana* 36: 39-48.
- Dos-Reis SP, Lima AM, De-Souza CRB (2012) Recent molecular advances on downstream plant responses to abiotic stress. *International Journal of Molecular Science* 13: 8628-8647.
- Folh  L, G nzle WA (1984) Assays of glutathione peroxidase. In: Parker L (ed). *Methods in enzymology*, Vol. 105: Oxygen radical in biological systems. Academic Press Inc. San Diego, Cal., USA. pp: 114-120.
- Gaviria LAD, Vargas DFC, Orozco MSS, Correa, CRB (2016) Calidad fisiológica de semillas de cinco variedades de albahaca *Ocimum* spp. en condiciones del Valle del Cauca. *Acta Agronómica* 65: 38-43.
- Godoy F, Olivos-Hernández K, Stange C, Handford M (2021) Abiotic stress in crop species: improving tolerance by applying plant metabolites. *Plants* 10: 186. DOI: 10.3390/plants10020186.
- González-Jiménez SL, Castillo-González AM, García-Mateos M, Valdez-Aguilar LA, Ybarra-Moncada C, Avitia-García E (2020) Respuesta de fresa cv. Festival a la salinidad. *Revista Fitotecnia Mexicana* 43: 53-60.
- Falcón-Rodríguez AB, González-Peña D, Nápoles-García MC, Morales-Guevara DM, N n ez-Vázquez MC, Cartaya-Rubio OE, Martínez-González L, Terry-Alfonso E, Costales-Menéndez D, Dell'Amico JM, Jerez-Mompie E, González-Gómez G, Jiménez-Arteaga MC (2021) Oligosacarinas como bioestimulantes para la agricultura cubana. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba* 11: 1-11.
- Calero-Hurtado A, Quintero-Rodríguez E, Pérez-Díaz A, Olivera-Viciedo D, Peña-Calzada K, Jiménez-Hernández J (2019) Efecto entre microorganismos eficientes y fitomas-e en el incremento agroproductivo del frijol. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 17: 25-33.
- Khaledian Y, Kiani F, Ebrahimi S, Brevik EC, Aitkenhead-Peterson J (2017) Assessment and monitoring of soil degradation during land use change using multivariate analysis. *Land Degradation and Development* 28: 128-141.
- Mach n-Suárez A, Sánchez-Chávez E, Héctor-Ardisana EF, Santos-Cervantes ME, Pérez  lvarez S (2017) Actividad de enzimas del estrés oxidativo en plantas de tomate cv. Amalia en respuesta al plomo. *Horticultura Brasileira* 35: 216-223.
- Manivannan A, Soundararajan P, Muneer S, Ko CH, Jeong BR (2016) Silicon mitigates salinity stress by regulating the physiology, antioxidant enzyme activities, and protein expression in *Capsicum annuum* 'Bugwang'. *BioMed Research International* 2016.
- Mansour MMF, Ali EF (2017) Evaluation of proline functions in saline conditions. *Phytochemistry* 140: 52-68.
- Montano R, Zuaznabar R, García A, Vi nals M, Villar J (2007) FitoMas-E: Bionutriente derivado de la industria azucarera. Composición, mecanismo de acción y evidencia experimental. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Ca a de Az car XLI: 14-21.

- Murillo-Amador B, Yamada S, Yamaguchi T, Rueda-Puente E, Ávila-Serrano N, García-Hernández JL, López-Aguilar R, Troyo-Diéguez E, Nieto-Garibay A (2007) Influence of calcium silicate on growth, physiological parameters and mineral nutrition in two legume species under salt stress. *Journal of Agronomy and Crop Science* 193: 413-421.
- Nadarajah KK (2020) ROS homeostasis in abiotic stress tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences* 21: 5208. DOI: 10.3390/ijms21155208.
- Silva-Nóbrega J, Teodoro-de-Fátima R, Andrade-Ferreira J, Andrade-Figueiredo FR, Ferreira-Melo M, Freitas-Celedônio W, da-Silva-Paiva FJ, Jardelino-Dias T (2021) Photochemical efficiency, biomass and chlorophyll of phyális under salinity and biostimulant. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 16(2): e9047. DOI: 0.5039/agraria.v16i2a9047.
- Ojeda-Silvera CM, Murillo-Amador B, Nieto-Garibay A, Troyo-Diéguez E, Reynaldo-Escobar MI, Ruíz-Espinoza FH, García-Hernández JL (2015) Emergencia y crecimiento de plántulas de variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) sometidas a estrés hídrico. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 2: 151-161.
- Ozden M, Demirel U, Kahraman A (2009) Effects of proline on antioxidant system in leaves of grapevine (*Vitis vinífera* L.) exposed to oxidative stress by H₂O₂. *Scientia Horticulturae* 119: 163-168.
- Rehman HU, Alharby HF, Bamagoos AA, Abdelhamid MT, Rady MM (2021) Sequenced application of glutathione as an antioxidant with an organic biostimulant improves physiological and metabolic adaptation to salinity in wheat. *Plant Physiology and Biochemistry* 158: 43-52.
- Reyes Y, Martínez L, Dell'Amico J, González MC, Deyholos M, Núñez M (2017) Efecto de la 24-epibrasinólida en el crecimiento y la fotosíntesis de plantas jóvenes de arroz tratadas con NaCl. *Cultivos Tropicales* 38: 44-54.
- Reyes-Guerrero Y, Núñez-Vázquez M, Mazorra-Morales LM, Martínez-González L, Ravelo-Agüero E, Dell'Amico-Rodríguez J, Menéndez-Rodríguez JL, Pérez-Domínguez G (2021) Mecanismos de acción de los brasi-noesteroides y sus análogos en las respuestas de plantas sometidas a estrés abióticos. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba* 11: 1-10.
- Riaz U, Abbas Z, Zaman QU, Mubashir M, Jabeen M, Zulqadar SA, Javeed Z, -Rehman SU, Ashraf M, Qamar MJ (2018) Evaluation of ground water quality for irrigation purposes and effect on crop yields: A GIS based study of Bahawalpur. *Pakistan Journal of Agricultural Research* 31: 29-36.
- Samperio RG (1997) Hidroponía básica. Editorial Diana. México. 176p.
- Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, Fujimoto EK, Goeke NM, Olson BJ, Klenk DC (1985) Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry* 150: 76-85.
- Soundararajan P, Manivannan A, Ko CH, Muneer S, Jeong BR (2017) Leaf physiological and proteomic analysis to elucidate silicon induced adaptive response under salt stress in *Rosa hybrida* 'Rock Fire'. *International Journal of Molecular Sciences* 18(8): 1768. DOI: 10.3390/ijms18081768.
- StatSoft Inc (2011) Statistica. System reference. StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma, USA. 1098p.
- Suzuki K (2000) Measurement of Mn-SOD and Cu, Zn-SOD. In: Taniguchi N, Gutteridge JMC (eds). *Experimental protocols for reactive oxygen and nitrogen species*. Oxford University Press. UK. pp: 91-95.
- Tabssum F, Zaman Q, Chen Y, Riaz U, Ashraf W, Aslam A, Ehsan N, Nawaz R, Aziz H, Shah S (2019) Exogenous application of proline improved salt tolerance in rice through modulation of antioxidant activities. *Pakistan Journal of Agricultural Research* 32: 140-151.

- Tarchoune I, Sgherri C, Baâtour R, Izzo R, Lachaâl M, Navari-Izzo F, Ouerghi Z (2013) Effects of oxidative stress caused by NaCl or Na₂SO₄ excess on lipoic acid and tocopherols in Genovese and Fine basil (*Ocimum basilicum* L.). *Annals of Applied Biology* 163: 23-32.
- Teh CY, Shaharuddin NA, Ho CL, Mahmood M (2016) Exogenous proline significantly affects the plant growth and nitrogen assimilation enzymes activities in rice (*Oryza sativa*) under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 38: 151. DOI: 10.1007/s11738-016-2163-1.