

## EFFECTO DEL ÁCIDO SALICÍLICO EN LA BIOPRODUCTIVIDAD DE LA FRESA (*Fragaria ananassa*) cv Aromosa\*

### EFFECT OF SALICYLIC ACID IN BIOPRODUCTIVITY OF STRAWBERRY (*Fragaria ananassa*) cv Aromosa

Addy Anchondo-Aguilar<sup>1</sup>, Abelardo Núñez-Barrios<sup>1</sup>, Teresita Ruiz-Anchondo<sup>1</sup>, Jaime Martínez-Tellez<sup>1</sup>, Silvia Vergara-Yoisura<sup>2</sup> y Alfonso Larqué-Saavedra<sup>2§</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Chihuahua. Campus Uno s/n. Facultad de Ciencias Agrotecnológicas. Chihuahua, Chihuahua. Tel. 01 614 4391844. Fax. 01 614 4391845. (addy\_anchondo@hotmail.com), (anunez@uach.mx), (truiz@uach.mx). <sup>2</sup>Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. Calle 43. Núm. 130. Chuburná de Hidalgo, Mérida, Yucatán, México. C. P. 97200. Tel. 01 999 9428330. Ext. 260 y 259. (silvana@cicy.mx). <sup>§</sup>Autor para correspondencia: larque@cicy.mx.

#### RESUMEN

Se estableció un experimento para evaluar el efecto del ácido salicílico en la bioproduktividad de fresa (*Fragaria ananassa*) variedad Aromosa de día corto. Plántulas de 20 días de cultivadas en un invernadero fueron asperjadas una vez por semana en ocho ocasiones, con soluciones de ácido salicílico preparadas: 1, 0.01, 0.0001  $\mu\text{M}$  o agua como control. Los resultados registrados después de 40 días de iniciados los tratamientos demostraron que las plántulas asperjadas a las concentraciones probadas incrementaron la altura de la planta de fresa, así como el número de hojas, flores y frutos. El tratamiento de 0.0001  $\mu\text{M}$  de AS incrementó 23% el número de frutos en comparación con el control.

**Palabras claves:** ácido salicílico, crecimiento, fresa, floración, frutos.

Desde 1975 fue reportado que aplicaciones de aspirina en las plantas producían efectos fisiológicos que no habían sido descritos por la literatura, tales como el cierre estomático (Larqué-Saavedra, 1978 y 1979). Estudios posteriores con el principio activo de la aspirina que es el ácido salicílico, han demostrado que este compuesto es un regulador del crecimiento (Raskin, 1992). Dentro de las respuestas de las plantas a este compuesto se destacan la estimulación de la

#### ABSTRACT

An experiment was set to evaluate effect of salicylic acid (SA) in strawberry bioproduktividad (*Fragaria ananassa*) variety Aromosa of day short. Seedlings of 20 days of cultivation were aspersed in greenhouse once per week in eight occasions, with prepared solutions of salicylic acid: 1, 0.01, 0.0001  $\mu\text{M}$  or water as control. Recorded results after 40 days of treatment demonstrated that aspersed seedlings at tested concentrations increased height of strawberry plant, as well as number of leaves, flowers and fruits. The treatment of 0.0001  $\mu\text{M}$  of SA increased in 23% the number of fruits in comparison with control.

**Key words:** flowering, fruits, growth, salicylic acid, strawberry.

Since 1975 it was reported that aspirin applications in plants produced physiologic effects that had not been described by literature, such as stomatal closing (Larqué-Saavedra, 1978 and 1979). Later studies with aspirin's active compound salicylic acid, have demonstrated it is a growth regulator (Raskin, 1992). Within plants responses to this compound stand out stimulation of mitochondrial oxidation (Raskin, 1992), increase of somatic embryogenesis in tissues

oxidación mitocondrial (Raskin, 1992), el incremento de la embriogenesis somática en cultivo de tejidos (Luo *et al.*, 2001; Quiroz-Figueroa *et al.*, 2001), la protección a la luz ultravioleta (Mahdavian *et al.*, 2008) entre otros.

La participación en el proceso de floración fue señalada por Cleland and Ajami (1974), quien describió que aplicaciones de esta hormona sustituían el efecto del fotoperiodo en *Lemma gibba*. También se ha reportado que el AS favorece los procesos de floración de ornamentales en especies como gloxinia, violeta y petunia (Martín Mex *et al.*, 2005; Martín Mex *et al.*, 2010). De igual forma se ha demostrado que los niveles endógenos están involucrados en el proceso de termogénesis en plantas (Raskin *et al.*, 1990). De manera paralela en *Arabidopsis*, *Nicotiana tabacum*, *Cucurbita pepo*, entre otras especies, se demostró que los niveles endógenos de AS se elevan como respuesta a patógenos y a esto se le ha llamado resistencia sistémica adquirida (SAR) (Edwards, 1994; Vernooij *et al.*, 1994; Raskin, 1995).

La aspersión de bajas concentraciones de ácido salicílico (AS) a plantas de importancia hortícola como tomate, pepino, zanahorias y frutales como papaya ha demostrado que también incrementa su productividad (Aristeo-Cortes, 1998; Larqué-Saavedra y Martín-Mex, 2007). Hecho que se ha relacionado con el efecto de incrementar el sistema radical de las plantas (Gutiérrez-Coronado *et al.*, 1998; Echeverría-Machado *et al.*, 2007).

El presente estudio se realizó con el objeto de evaluar el efecto del AS en la productividad de la fresa (*Fragaria ananassa*) cv Aromosa. Las plantas fueron desarrolladas a partir de semillas cultivadas en charolas de unicel y transferidas a macetas de plástico (25\*30 cm) con un sustrato de tres partes de suelo franco por uno de arena, que fue fertilizado en dos ocasiones con una mezcla de nitrógeno, fósforo y potasio (257, 58 y 421 ppm). Las plántulas fueron cultivadas en invernadero en condiciones óptimas de humedad, fertilización y temperatura para favorecer su rápido desarrollo y floración.

A 20 días del trasplante fueron asperjadas una vez por semana por ocho ocasiones, por las mañanas entre 8:00 y 9:00 h, con una de las soluciones de ácido salicílico a probar: 1, 0.01, 0.0001  $\mu\text{M}$  o agua que fue utilizado como control. Las soluciones fueron preparadas siguiendo la metodología propuesta por Gutiérrez-Coronado *et al.* (1998) y asperjadas una vez por semana en ocho ocasiones. El

cultivo (Luo *et al.*, 2001; Quiroz-Figueroa *et al.*, 2001), protección to ultraviolet light (Mahdavian *et al.*, 2008), among others.

Participation in flowering process was pointed out by Cleland and Ajami (1974) who described that applications of this hormone substituted the effect of photoperiod in *Lemma gibba*. It has also been reported that SA favors the flowering processes of ornamental in species such as gloxinia, violet and petunia (Martín-Mex *et al.*, 2005; Martín-Mex *et al.*, 2010). Equally has been demonstrated that endogenous levels are involved in thermogenesis process in plants (Raskin *et al.*, 1990). In a parallel way in *Arabidopsis*, *Nicotiana tabacum*, *Cucurbita pepo*, among other species, it was demonstrated that endogenous levels of SA arise as response to pathogens and this has been called acquired systemic resistance (SAR) (Edwards, 1994; Vernooij *et al.*, 1994; Raskin, 1995).

Aspersión of low concentrations of salicylic acid (SA) to plants of horticultural importance as tomato, cucumber, carrots and fruit-bearing as papaya has demonstrated that it also increases their productivity (Aristeo-Cortes, 1998; Larqué-Saavedra and Martín-Mex, 2007). Fact that has been related with the effect of increasing radical system of plants (Gutiérrez-Coronado *et al.*, 1998; Echeverría-Machado *et al.*, 2007).

The present study was carried out in order to evaluate effect of SA in productivity of strawberry (*Fragaria ananassa*) cv Aromosa. Plants were developed from seeds cultivated in trays and transferred to plastic gavel (25\*30 cm) with a substrate of three parts loam soil per one of sand that was fertilized in two occasions with a nitrogen, phosphorus and potassium (257, 58 and 421 ppm) mixture. The seedlings were cultivated in greenhouse in optimum humidity, fertilization and temperature conditions to favor their fast development and flowering.

At 20 days of transplant they were aspersed once per week for eight occasions, in the morning between 8:00 and 9:00 h, with one of solutions of salicylic acid to prove: 1, 0.01, 0.0001  $\mu\text{M}$  or water as control. The solutions were prepared following the methodology proposed by Gutiérrez-Coronado *et al.* (1998) and asperged once per week in eight occasions. The experiment was carried out in greenhouse using a design completely at random with 10 repetitions per treatment. The data were compared using an analysis of variance (ANOVA) and Tukey test at 0.05.

experimento se llevó a cabo en el invernadero utilizando un diseño completamente al azar con 10 repeticiones por tratamiento. Los datos fueron comparados utilizando un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey al 0.05.

Las condiciones óptimas del cultivo de las plántulas de fresa, favoreció su crecimiento y desarrollo, así como la expresión floral. El haber utilizado plántulas a partir de semilla permitió despejar si la respuesta de los tratamientos con AS es independiente de la variabilidad genética potencial de la semilla botánica. Es ampliamente aceptado que clones obtenidas de los estolones reducen la variabilidad fenotípica y para validar el efecto de un compuesto como el AS, es importante tener un abanico de variabilidad para validar el uso potencial del regulador del crecimiento.

Estudios previos han demostrado que plantas clonadas de petunia, violeta, gloxinia y crisantemo, responden de manera uniforme al AS (Martín-Mex *et al.*, 2005, Villanueva-Couoh *et al.*, 2009; Martín-Mex *et al.*, 2010). Los resultados obtenidos de las diferentes variables estudiadas muestran el efecto positivo de los tratamientos del AS en la bioproduktividad de las fresas en comparación con el control.

El número de hojas formadas a los 40 días de iniciado el tratamiento fue estimulado por el AS como puede apreciarse en el Cuadro 1. En promedio se encontró que se forman hasta 4 hojas más por el efecto del AS, que indica que la mayor biomasa foliar se debe a un mayor número de hojas expuestas. Estos datos son similares a los reportados por Martín-Mex *et al.* (2005), en violeta africana con incrementos del número de hojas por el tratamiento de AS a concentraciones de 0.0001  $\mu\text{M}$ .

**Cuadro 1. Efecto de diferentes concentraciones de ácido salicílico en el número de hojas expuestas de *Fragaria ananassa* después de 40 días de iniciado el tratamiento.**

**Table 1. Effect of different concentrations of salicylic acid in number of exposed leaves of *Fragaria ananassa* after 40 days of treatment.**

| Tratamiento             | Núm. de hojas planta <sup>-1</sup> |
|-------------------------|------------------------------------|
| Control                 | 17.5 $\pm$ 0.51 a                  |
| 0.0001 $\mu\text{M}$ AS | 19.7 $\pm$ 1.04 a                  |
| 0.01 $\mu\text{M}$ AS   | 19.2 $\pm$ 0.87 a                  |
| 1 $\mu\text{M}$ AS      | 21.8 $\pm$ 0.85 a                  |

Valores con la misma letra son iguales (Tukey  $p \leq 0.05$ ). Cada valor es la media de 10 repeticiones  $\pm$  error estándar.

The optimum conditions of cultivation of strawberry seedlings, favored their growth and development, as well as floral expression. Having used seedlings from seed allowed to clarify if response of treatments with SA is independent of potential genetic variability of botanical seed. It is broadly accepted that clones obtained from stolons reduce phenotypical variability and to validate effect of a compound such as SA, it is important to have a fan of variability to validate potential use of growth regulator.

Previous studies have demonstrated that cloned plants of petunia, violet, gloxinia and chrysanthemum, respond in a uniform way to SA (Martín-Mex *et al.*, 2005, Villanueva-Couoh *et al.*, 2009; Martín-Mex *et al.*, 2010). The obtained results of different studied variables show the positive effect of treatments of SA in bioproduktividad of strawberries in comparison with control.

The number of leaves formed at 40 days treatment was stimulated by SA as it can be appreciated in Table 1. On average it was found that there are formed up to 4 more leaves due the effect of SA which indicates that greatest biomass to be foliated is due a greater number of exposed leaves. These data are similar to those reported by Martín-Mex *et al.* (2005), in African violet with increments of number of leaves for treatment of SA at concentrations of 0.0001  $\mu\text{M}$ .

The plant height was also positively affected by SA. As can be appreciated in Table 2, the treatment of 1  $\mu\text{M}$  increased significantly plant height in comparison with control.

For the results presented in previous tables can be postulated that effect can possibly be due to effect that causes the SA of stimulating root development and growth. Similar results were reported for soybean, where SA incremented canopy biomass in 20% in comparison with control (Gutiérrez-Coronado *et al.*, 1998).

The effect of SA in flowering process in strawberry was also estimated during present study. The pattern of exhibition of flowers can be appreciated in Figure 1, where can be observed that after eight weeks of treatments the number of flowers per plant exposed by anyone of proven treatments of SA, was increased in comparison with the control, outstanding treatment of 1  $\mu\text{M}$ .

La altura de la planta también se vio afectada positivamente por el AS. Como se puede apreciar en el Cuadro 2, el tratamiento de 1  $\mu\text{M}$  incremento significativamente la altura de la planta en comparación con el control.

**Cuadro 2. Efecto de diferentes concentraciones de ácido salicílico con la altura de planta de *Fragaria ananassa* en invernadero.**

**Table 2. Effect of different concentrations of salicylic acid with plant height of *Fragaria ananassa* in greenhouse.**

| Tratamiento             | Altura de planta (cm) |
|-------------------------|-----------------------|
| Control                 | 26.1 $\pm$ 1.51 b     |
| 0.0001 $\mu\text{M}$ AS | 30.8 $\pm$ 3.09 ab    |
| 0.01 $\mu\text{M}$ AS   | 29.9 $\pm$ 1.61 b     |
| 1 $\mu\text{M}$ AS      | 29.6 $\pm$ 2.18 a     |

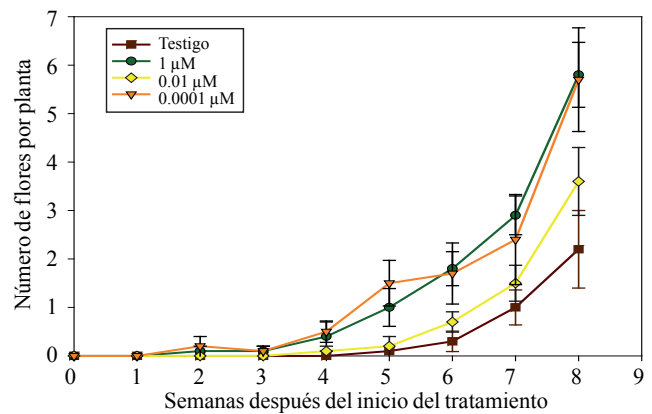
Valores con la misma letra son iguales (Tukey  $p \leq 0.05$ ). Cada valor es la media de 10 repeticiones  $\pm$  error estándar.

Por los resultados presentados en las tablas anteriores puede postularse que posiblemente el efecto pueda deberse al efecto que causa el AS de estimular el desarrollo y crecimiento de la raíz. Resultados similares fueron reportados para soya, donde el AS incremento la biomasa del dosel 20% en comparación con el testigo (Gutiérrez-Coronado *et al.*, 1998).

El efecto del AS en el proceso de floración en fresa también fue estimado durante el presente estudio. El patrón de exposición de flores se puede apreciar en la Figura 1, donde se puede observar que después de ocho semanas de iniciados los tratamientos el número de flores por planta expuestas por cualquiera de los tratamientos de AS probados, se incrementó en comparación con el control, destacando el tratamiento de 1  $\mu\text{M}$ .

Los datos del número de flores expuestas se presentan en el Cuadro 3, en la cual se puede apreciar que en todos los casos el AS afecto positivamente estas variables. A partir de la segunda semana de iniciado el tratamiento aparecieron los primeros brotes florales en los tratamientos de 1 y 0.0001  $\mu\text{M}$  de AS. El análisis estadístico de los datos registrados mostró diferencias significativas en comparación con el testigo.

Desde 1974 se reportó que con aplicaciones de AS es posible inducir la floración de *Lemna gibba*, substituyendo el fotoperiodo de días cortos (Cleland y Ajami, 1974). Investigaciones recientes han reportado que bajas concentraciones de AS afectan el proceso de floración en horticultura ornamental



**Figura 1. Dinámica de expresión floral de fresa, por el efecto del ácido salicílico a diferentes concentraciones en invernadero.**

**Figure 1. Dynamics of strawberry floral expression, due effect of salicylic acid at different concentrations in greenhouse.**

The data of number of exposed flowers are presented in the Table 3, in which can be appreciated that in all cases SA positively affects these variables. Starting from second week of treatment the first floral buds appeared in treatments of 1 and 0.0001  $\mu\text{M}$  of SA. The statistical analysis of recorded data showed significant differences in comparison with control.

**Cuadro 3. Efecto de diferentes concentraciones de ácido salicílico en el número de flores expuestas en *Fragaria ananassa* de invernadero.**

**Table 3. Effect of different concentrations of salicylic acid in number of flowers exposed in *Fragaria ananassa* greenhouse.**

| Tratamiento             | Núm. de flores planta <sup>-1</sup> |
|-------------------------|-------------------------------------|
| Testigo                 | 2.2 $\pm$ 0.8 b                     |
| 0.0001 $\mu\text{M}$ AS | 5.7 $\pm$ 1 a                       |
| 0.01 $\mu\text{M}$ AS   | 3.6 $\pm$ 0.7 ab                    |
| 1 $\mu\text{M}$ AS      | 5.8 $\pm$ 0.67 a                    |

Valores con la misma letra son iguales (Tukey  $p \leq 0.05$ ). Cada valor es la media de 10 repeticiones  $\pm$  error estándar.

Since 1974 it was reported that with SA applications is possible to induce flowering of *Lemna gibba*, substituting the photoperiod of short days (Cleland and Ajami, 1974). Recent investigations have reported that low concentrations of SA affect the flowering process in ornamental horticulture (Martín-Mex *et al.*, 2005) and they promote flowering in orange tree cv. Navelina, under greenhouse conditions (Almaguer *et al.*, 1996).

(Martín-Mex *et al.*, 2005) y promueven la floración en naranjo cv. Navelina, bajo condiciones de invernadero (Almaguer *et al.*, 1996).

Durante el experimento se pudo observar que en la octava semana hubo un incremento en el número de frutos por planta, por el efecto del AS en las diferentes concentraciones evaluadas. Cuando en las plantas control había en promedio 1.5 frutos planta<sup>-1</sup>, en las plantas tratadas con un 0.0001 µM incrementó en promedio a 5.1 frutos planta<sup>-1</sup>. Asimismo las plantas tratadas con 1 µM tenían 4.7 frutos por planta. (Cuadro 4).

**Cuadro 4. Efecto de diferentes concentraciones de ácido salicílico asperjado en plántulas de *Fragaria ananassa* con el número de frutos, ocho semanas después de iniciado los tratamientos.**

**Table 4. Effect of different concentrations of salicylic acid aspersed in seedlings of *Fragaria ananassa* with the number of fruits, eight weeks after treatments.**

| Tratamiento | Núm. de frutos planta <sup>-1</sup> |
|-------------|-------------------------------------|
| Testigo     | 1.5 ± 0.56 b                        |
| 0.0001 µMAS | 5.1 ± 1.77 a                        |
| 0.01 µMAS   | 2.9 ± 0.54 ab                       |
| 1 µMAS      | 4.7 ± 0.55 a                        |

Valores con la misma letra son iguales (Tukey  $p \leq 0.05$ ). Cada valor es la media de 10 repeticiones ± error estándar.

Los resultados del presente estudio señalan que el AS estimula el proceso de floración, incrementa la altura de la planta, el número de hojas y frutos en relación al testigo. Por los datos registrados se puede señalar que el ácido salicílico es un regulador de crecimiento que estimula la bioproduktividad de la fresa (*Fragaria ananassa*) bajo condiciones de invernadero.

## LITERATURA CITADA

Almaguer, V.; Rodríguez, A.; Becerril, R.; Larqué-Savedra, A. y Soto, M. 1996. Concentración de prolina, proteínas solubles, fructosa, poliaminas y clorofila en hojas de naranjo navelina, sometidos a prácticas de floración forzada. Revista Chapingo. Serie Horticultura. 2(2):235-243.

During experiment it could be observed that in eighth week there was an increment in number of fruits per plant, due to SA effect at different evaluated concentrations. When in control plants there were on average 1.5 fruits plant<sup>-1</sup>, in plants treated with a 0.0001 µM it increased on average to 5.1 fruits plant<sup>-1</sup>. Also plants treated with 1 µM had 4.7 fruits per plant. (Table 4).

Results of this study point out that SA stimulates flowering process, increases plant height, the number of leaves and fruits in relation to control. From recorded data can be pointed out that salicylic acid is a growth regulator that stimulates bioproduktividad of strawberry (*Fragaria ananassa*) under greenhouse conditions.

*End of the English version*



- Aristeo-Cortés, P. 1998. Reguladores de crecimiento XIV: efectos del ácido salicílico y dimetilsulfóxido en el crecimiento de zanahoria, betabel y rábano. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México. 123 p.
- Cleland, C. F. and Ajami, A. 1974. Identification of the flower-inducing factor isolated from aphid honeydew as being salicylic acid. *Plant Physiol.* 54:904-906.
- Edwards, R. 1994. Conjugation and metabolism of salicylic acid in tobacco. *J. Plant Physiol.* 143:609-614.
- Echevarria-Machado, I.; Escobedo-G.; M. R. M. and Larqué-Saavedra, A. 2007. Responses of transformed *Catharanthus roseus* roots to femtomolar concentrations of salicylic acid. *Plant Physiol. Biochem.* 45:501-507.
- Gutiérrez-Coronado, M.; Trejo, C. and Larqué-Saavedra, A. 1998. Effects of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. *Plant Physiol. Biochem.* 36(8):563-565.
- Larqué-Saavedra, A. 1978. The antitranspirant effects of acetylsalicylic acid on *Phaseolus vulgaris*. *Physiol. Plant.* 43:126-128.

- Larqué-Saavedra, A. 1979. Stomatal closure in response to acetylsalicylic acid treatment. *Z. Pflanzenphysiol.* Bd. 93:371-375.
- Larqué-Saavedra, A. and Martín-Mex, R. 2007. Effect of salicylic acid on the bioproductivity of plants. *In: Salicylic acid: A Plant Hormone.* Eds. S. Hayat and A. Ahmad. Springer. The Netherlands. 15-24. pp.
- Luo, J. P.; Juang, S. T. and Pan, L. J. 2001. Enhanced somatic embryogenesis by salicylic acid of *Astragalus adsurgens* Pall.: Relationships with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-metabolizing enzyme activities. *Plant. Sci.* 161:125-132.
- Mahdavian, K.; Kalantari, K. M.; Ghorbanli, M. and Torkzade, M. 2008. The effects of salicylic acid on pigment contents in ultraviolet radiation stressed pepper plants. *Biol. Plant.* 52(1):170-172.
- Martín-Mex, R.; Villanueva-Couoh, E.; Herrera-Campos, T. and Larqué-Saavedra, A. 2005. Positive effect of salicylates on the flowering of African violet. *Scientia Hortic.* 103:499-502.
- Martín-Mex, R.; Vergara-Yoisura, S.; Nexticapán-Garcés, A. y Larqué-Saavedra, A. 2010. Bajas concentraciones de ácido salicílico incrementa el número de flores en *Petunia hybrida*. *Agrociencia.* 44(7):773-778.
- Quiroz-Figueroa, F.; Méndez-Zeel, M.; Larqué Saavedra, A. and 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.; Skubatz, H.; Tang, W. and Meeusen, B. J. D. 1990. Salicylic acid levels in thermogenic and non-thermogenic plant. *Ann Bot.* 66:369-373.
- Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *Annu Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43:439-463.
- Raskin, I. 1995. Salicylic acid *In: Davies P. J. (ed.). Plant hormones,* Kluwer Academic Publisher. The Netherlands. 188-205 pp.
- Vernooij, B.; Friedrich, L.; Morse, A.; Reist, R.; Kolditz-Jawhar, R.; Ward, E.; Uknef, S.; Kessmann, H. and Ryalf, J. 1994. Salicylic acid is not the translocated signal responsible for inducing systemic acquired resistance but is required for signal transduction. *Plant Cell.* 6:959-965.
- Villanueva-Couoh, E.; Alcántar-González, G.; Sánchez-García, P.; Soria-Fregoso, M. y Larqué-Saavedra, A. 2009. Efecto del ácido salicílico y dimetilsulfóxido en la floración de (*Chrysanthemum morifolium* (ramat) kitamura) en Yucatán. *Revista Chapingo. Serie Horticultura.* 15(2):25-31.