

Respuesta germinativa del cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) var. Delicias 364 en condiciones de estrés hídrico



Tesis en opción al título de Ingeniero Agrónomo

Autora: Elianys María Román Frutos

Tutores: MSc. Lildrey Torres Hernández

MSc. Maryla Sosa del Castillo

Julio, 2018

Nota de aceptación

Presidente del Tribunal

Firma

Miembro del Tribunal

Firma

Miembro del Tribunal

Firma

Dado en Matanzas, a los ____ días del mes de _____ de 2018.

“Año 60 de la Revolución”

DECLARACION DE AUTORIDAD

Yo Elianys María Román Frutos declaro que, soy la única autora de este Trabajo de Diploma, en calidad de lo cual autorizo a la Universidad de Matanzas a hacer uso del mismo con la finalidad que estime pertinente.

Firma

Pensamiento



Sin una agricultura fuerte y eficiente que podemos desarrollar con los recursos de que disponemos, sin soñar con las grandes asignaciones de otros tiempos, no podemos aspirar a sostener y elevar la alimentación de la población, que tanto depende todavía de importar productos que pueden cultivarse en Cuba.

Raúl Castro Ruz.

Dedicatoria

- ♥ A mi madre, que con toda su alma y corazón siempre ha estado a mi lado, ofreciéndome su amor incondicional, ejemplo de lucha, superación, perseverancia, por ser mi motivo para terminar esta carrera.
- ♥ A mi abuela que me ha apoyado en todos los momentos.
- ♥ A mi padre que me ha ayudado en mi camino a este nuevo triunfo.

Agradecimientos

Muchas gracias:

- ♥ A mi mamá, sin la cual muchas de las cosas que he hecho hasta ahora no hubieran sido posibles, porque en este recorrido no solo se ha desempeñado como madre, sino también como amiga, consejera, guía y hermana. Gracias por siempre darme ese apoyo incondicional, el consejo en el momento más oportuno y estar siempre a mi lado en los instantes felices y en los que no lo son también. Gracias por enseñarme que la base de las buenas relaciones está en la confianza y el respeto mutuo. Para ti muchas gracias por ser mi madre.
- ♥ A mi papá gracias por apoyarme sobre todo en esta última etapa tan fuerte.
- ♥ A mi abuela Marina, por también siempre dar su apoyo sobre todo cuando mi mamá no podía estar junto a mí.
- ♥ A mis tutores gracias por tener tanta paciencia y dedicación, por rectificarme siempre los errores de una manera constructiva, por enseñarme detalles que no solo me sirvieron para la tesis sino para toda la vida. Al profesor Yunel Pérez Hernández y Yusleidy Cortés muchas gracias también por el apoyo incondicional durante la etapa experimental y por dedicarme tiempo incluso cuando no lo tenían.
- ♥ A todas las personas del laboratorio de Biotecnología y el CEBIO
- ♥ A todos mis profesores tanto de esta universidad en los últimos dos cursos como los que tuve en los primeros años en la universidad de Holguín, gracias por no rendirse y darlo todo para que siempre saliéramos bien, por estar disponibles para aclarar una duda y brindar incluso su apoyo y comprensión con algún problema personal que tuviera cualquiera de nosotros.

- ♥ Gracias por darnos ese voto de confianza de que podíamos ser buenos alumnos y mejores profesionales algún día.
- ♥ En fin, gracias a todas aquellas personas que, de una forma u otra, me ayudaron cuando me hacía falta y a las que me pusieron trabas en el camino también pues gracias a ellos aprendí a ser más fuerte y a valorar más a las personas que nos rodean.
- ♥ Gracias a todos por demostrarme cada día que uno puede hacer lo que se proponga en la vida, solo necesita un poco de esfuerzo, dedicación y perseverancia.

Opinión del tutor

El trabajo presentado por la estudiante Elianys María Román Frutos titulado: Respuesta germinativa del frijol (*Phaseolus vulgaris* L) en condiciones de estrés hídrico, reviste gran importancia para la Agricultura actual, debido a que todo estudio que se realice en la etapa germinativa contribuye en gran medida a evaluar el comportamiento del cultivo en las diferentes etapas fisiológicas. Debido al cambio climático y los procesos de desertización que ocurren en todo el mundo, en un futuro, probablemente la única manera de cultivar plantas sea en condiciones de déficit hídrico permanente. Desde esta perspectiva es necesario tener cultivares con mayor resistencia o tolerancia al déficit hídrico. Es posible obtener plantas cultivables tolerantes por transferencia genética, para ello se hace necesario el estudio de los mecanismos involucrados en la respuesta fisiológica y bioquímica de los cultivos, como base indispensable del mejoramiento genético ya que muchos de los genes inducidos por estrés son candidatos potenciales para la producción de plantas cultivables tolerantes o resistentes al déficit hídrico.

Durante el montaje y ejecución del experimento la estudiante desarrolló un grupo de habilidades en el laboratorio que le permitirá desempeñarse como futura Ingeniera Agrónoma. Es de destacar el esfuerzo, la perseverancia y dedicación de la aspirante en la realización de las diferentes etapas de la investigación, la ecuanimidad que demostró cuando se presentaron obstáculos en la fase de experimentación y tuvo que en más de una ocasión montar el experimento para alcanzar los resultados expuestos en este documento que acredita todo un esfuerzo por realizar un aporte al desarrollo científico de la facultad.

Por todo lo antes mencionado, le solicitamos al tribunal que, una vez escuchadas las preguntas y respuestas al tribunal se le otorgue el título de Ingeniera Agrónoma.

MSc. Lilddrey Torres Hernández

MSc. Maryla Sosa Del Castillo

Resumen

El estrés hídrico afecta morfológica, bioquímica y fisiológicamente numerosos procesos biológicos en las plantas, por lo cual se considera uno de los estreses ambientales más importantes que afectan las producciones agrícolas. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la respuesta de *Phaseolus vulgaris* var Delicias 364 durante el proceso germinativo en condiciones de estrés hídrico. Para ello las semillas de frijol fueron sembradas en placas Petri con diferentes soluciones de polietilenglicol 1500 (0-18%) y se colocaron en un cuarto de crecimiento durante 8 días. Se evaluaron los indicadores: porcentaje de germinación, vigor, longitud de raíz y parte aérea, contenidos de proteínas, carbohidratos solubles, azúcares reductores y fenoles solubles. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con cuatro réplicas por tratamiento. Los resultados se interpretaron a través de un ANOVA de clasificación simple, utilizando la Prueba de Duncan para los datos que cumplieron los supuestos. En los casos que no se cumplía se analizaron mediante la Prueba de Kruskal-Wallis y se empleó el paquete SPSS versión 15.0. El polietilenglicol (9-15%) redujo el porcentaje de germinación, la longitud de la raíz, hipocótilo, epicótilo y el vigor de las plántulas, afectándose el crecimiento de las estructuras vegetativas de la parte aérea. El contenido de carbohidratos y proteínas solubles totales, azúcares reductores y los polifenoles se afectaron con el incremento de las concentraciones de PEG-1500. El agente osmótico influyó negativamente en la respuesta germinativa de *P.vulgaris* var. Delicias 364, lo que evidencia una susceptibilidad de la variedad en condiciones de estrés hídrico severo.

Palabras claves: *Phaseolus vulgaris*, germinación, estrés hídrico.

Índice

Introducción.....	1
Hipótesis científica	3
Objetivo general	3
Capítulo 1: Revisión Bibliográfica.....	4
1.1. Origen e importancia del frijol común (Phaseolus vulgaris L.)	4
1.2. Clasificación taxonómica.....	5
1.3. Producción mundial y en Cuba.	5
1.4. Descripción morfológica del cultivo.	6
1.5. Factores que afectan el cultivo del frijol.	7
1.6. Generalidades del estrés hídrico.....	10
1.7. Efectos del estrés hídrico en el crecimiento y desarrollo de las plantas	11
1.8. Mecanismos de respuestas de las plantas ante el estrés hídrico.	13
1.8.1. Ajuste osmótico.....	13
1.8.2. Cierre estomático.....	15
1.8.3. Sistemas antioxidantes en defensa contra las EROS.....	15
1.9. La germinación de las plantas.....	16
1.9.1. Efecto del estrés hídrico en la germinación.	17
2. MATERIALES Y MÉTODOS	19
2.1. Material vegetal.....	19
2.2. Prueba de germinación	19
2.3. Evaluación del vigor	20
2.3.1. Valor de germinación	20
2.3.2. Emergencia pico	21
2.4. Indicadores morfológicos	21
2.5. Indicadores bioquímicos	21
2.5.1. Contenido de proteínas solubles totales	22

2.5.2. Contenido de carbohidratos solubles totales.....	22
2.5.3. Contenido de azúcares reductores	22
2.5.4. Contenido de fenoles solubles	22
2.6. Diseño experimental y análisis estadístico.....	23
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
3.1. Efecto del polietilenglicol-1500 sobre el porcentaje de germinación de Phaseolus vulgaris L. var. Delicias 364.....	24
3.2. Efecto del PEG sobre la longitud de la raíz, hipocótilo e epicótilo.....	26
3.3. Efecto del polietilenglicol sobre el vigor de Phaseolus vulgaris L. var. Delicias 364.....	31
3.4. Efecto del PEG-1500 sobre indicadores bioquímicos	33
Conclusiones.....	40
Recomendaciones.....	41
Bibliografía	42

Introducción

En nuestro país y en el mundo entero, el cambio climático está provocando una significativa disminución de la calidad y cantidad de alimentos; así como la calidad del medio ambiente el cual exacerba los estreses abióticos a escala global al aumentar la irregularidad de los eventos meteorológicos (Jain y Saxena, 2016).

Se conoce que el sector agrícola es uno de los que más consumen agua y que la mayoría de las plantaciones son regadas de forma artesanal e incluso las que cuentan con sistemas de riego tecnificado no hacen uso eficiente del agua, llegando en muchas regiones a sobrepasar el límite de aprovechamiento del agua. Esto ha provocado también la sobreexplotación de los recursos hídricos superficiales y subterráneos, lo cual afecta grandemente el ambiente (Pérez, 2012).

La sequía, conjuntamente con la salinidad de los suelos constituye un grave problema que afecta el rendimiento de los cultivos y la sostenibilidad de la agricultura. Cerca del 10% de la superficie del planeta está afectada por estos tipos de estreses causando la pérdida de alrededor de 12 millones de hectáreas de tierras por año (CNULD, 2013).

Entre todas las limitaciones ambientales, el estrés por sequía es el factor más limitante para la productividad de la planta, al igual que en los sistemas agrícolas (Ashraf *et al.*, 2011; Srivastava y Kumar, 2014; Shafiq *et al.*, 2015), ya que el agua en cantidad óptima es esencial para el crecimiento vegetal, el desarrollo, así como para las actividades metabólicas esenciales (Abdulla *et al.*, 2011).

Las respuestas adaptativas al déficit hídrico incluyen cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos, así como cambios en el crecimiento, conductancia estomática, potencial osmótico de los tejidos y defensa antioxidante (Zhang *et al.*, 2008; Duan *et al.*, 2017).

Se ha estimado que la sequía reduce en un 60% la producción mundial de granos de frijol común (Porch *et al.*, 2009), lo que ha llevado a considerar a la sequía como

el segundo factor limitante para su rendimiento, después de las enfermedades (Dávila, 2010). El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L) es una de las principales fuentes de proteína en Latinoamérica y África (Omae *et al.*, 2012), con altos contenidos de vitaminas, minerales y fibra dietética, muy utilizada por los habitantes de países en desarrollo (Muhamba y Nchimbi, 2010).

El estrés hídrico, provocado por exceso o déficit de agua, constituye la segunda causa que limita la producción de frijol en Cuba (Polón *et al.*, 2013) y en América Latina (Suárez *et al.*, 2016) aunque no todos los cultivares de frijol responden de la misma forma a condiciones estresantes; pues el nivel de susceptibilidad o tolerancia varía de una a otra. El grado de tolerancia depende además de la intensidad y la etapa de desarrollo del cultivo sobre la que el factor actúe (Domínguez *et al.*, 2014).

Varios investigadores han realizado estudios sobre las posibles respuestas de los cultivos durante los procesos de atenuación de los efectos del déficit hídrico (Rai *et al.*, 2013; Ojeda *et al.*, 2013; García *et al.*, 2015).

La germinación y las primeras etapas de crecimiento temprano, constituyen los momentos más vulnerables dentro del ciclo de vida de las plantas ante estreses ambientales. Recientemente se han realizado diversas investigaciones sobre los mecanismos de tolerancia al estrés hídrico en diferentes cultivos de interés agrícola durante el proceso germinativo (Kadkhodaie y Bagheri, 2011), pero aún se requieren de estudios específicos para determinar la capacidad de tolerancia de los cultivos, lo cual constituye la base indispensable en los programas de mejora vegetal (Almodares *et al.*, 2014; Muscolo *et al.*, 2014), especialmente en la etapa de germinación la cual contribuye notablemente con el tránsito de la planta por las diferentes etapas fenológicas.

Por estas razones se propuso como **problema científico** de la presente investigación el siguiente:

Se desconoce la capacidad germinativa del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad *Delicias 364* en condiciones de estrés hídrico.

Hipótesis científica

El empleo de diferentes concentraciones de polietilenglicol-6000 durante la germinación de las semillas de frijol, permitirá la caracterización de indicadores asociados a la morfología y fisiología de este proceso ya la determinación de los niveles de tolerancia al estrés hídrico de la variedad en estudio.

Objetivo general

Evaluar la respuesta germinativa del cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en condiciones de estrés hídrico.

Como **objetivos específicos** se plantearon los siguientes:

1. Caracterizar el proceso de germinación de (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad *Delicias 364* en presencia de polietilenglicol-1500, mediante el comportamiento germinativo e indicadores asociados al vigor.
2. Determinar la respuesta bioquímica de semillas de (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad *Delicias 364* durante el proceso germinativo en condiciones de estrés hídrico.

Capítulo 1: Revisión Bibliográfica

1.1. Origen e importancia del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)

El cultivo del frijol se considera uno de los más antiguos. Estas plantas leguminosas aparecieron en tierras americanas hace miles de años. Los restos más antiguos (9 000 años) se encontraron en un lugar llamado Huachichocana en el norte de Argentina; asimismo, en Perú hay rastros arqueológicos de los frijoles, de hace 8 000 años (Solorzano, 1994).

Los primeros colonizadores europeos en el Caribe observaron que el frijol era ampliamente cultivado por los nativos americanos (Gepts y Debouck, 1991). México se ha reconocido como el más probable centro de origen, o al menos, como el centro primario de diversificación. Algunos de los hallazgos arqueológicos en México y Sudamérica indican que se conocía hace algunos 5 000 años antes de Cristo (Ramírez y Rangel, 2011).

El frijol tiene un papel muy diverso e importante en los sistemas de producción agrícola y en la dieta de una gran parte de la población en muchas regiones del mundo. Esta leguminosa es considerada una de las fuentes principales de proteína vegetal (24%), aunque su contenido puede variar de acuerdo a la variedad (Porrata *et al.*, 2008; Omae *et al.*, 2012). Es una fuente considerable de calcio, hierro, fósforo, magnesio y zinc y de las vitaminas tiamina, niacina y ácido fólico (Ramírez y Rangel, 2011). Es deficiente en aminoácidos azufrados y triptófano, pero contiene cantidades suficientes de lisina (1,2 a 1,5 g por 100 g de grano) (Peña *et al.*, 2013).

Estudios clínicos realizados en los Estados Unidos indican que el frijol es muy efectivo en la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus, obesidad, hipertensión, cáncer y enfermedades del tracto digestivo (Singh, 1996).

1.2. Clasificación taxonómica

Según la clasificación asignada en el sistema de nomenclatura binomial, el nombre completo del frijol común es *Phaseolus vulgaris* L. Taxonómicamente su clasificación es la siguiente (Valladares, 2010):

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Género: *Phaseolus*

Especie: *Phaseolus vulgaris*

1.3. Producción mundial y en Cuba.

La producción mundial de frijol registra tendencia al alza durante la década reciente, impulsada por aumentos en la superficie cultivada y en los rendimientos promedio por unidad de superficie. En seis países se concentra el 63 % de la cosecha mundial de la leguminosa: India y Brasil (15,9% y 16 % respectivamente), Myanmar (10,5 %), China (8,9%) México (5,8%) y Estados Unidos (5,6%) según datos de la Federación Alimentaria (FAO, 2016).

En Cuba el frijol se encuentra distribuido en todo el territorio nacional. Las provincias de Matanzas, Pinar del Río, Holguín, Camagüey y Sancti Spíritus ocupan los primeros lugares en el país en cuanto a áreas cultivadas. La zona de Velazco, en Holguín, que por tradición y las condiciones naturales es donde se desarrolla en mayor extensión el cultivo (Expósito y García, 2011).

La obtención de este grano está a cargo fundamentalmente del sector agrícola no estatal (94% de la producción total), con rendimientos anuales de 1,4 t.ha⁻¹. Este sector está constituido en su mayoría por fincas y pequeñas parcelas, con

condiciones muy diversas y baja disponibilidad de insumos agroquímicos y energéticos (ONEI, 2016).

En general el rendimiento del frijol en Cuba y el resto del mundo, es limitado debido a la susceptibilidad de esta leguminosa ante parásitos y enfermedades. Se estima que aproximadamente 20 patógenos pueden afectar este cultivo (Placencio y Núñez, 2002). En estas condiciones, el cultivo de frijol presenta problemas de bajos rendimientos relacionados fundamentalmente con la baja fertilidad de los suelos, la sequía y las incidencias de plagas y enfermedades (Lorigados *et al.*, 2006).

1.4. Descripción morfológica del cultivo.

Es una planta anual, herbácea y termófila, es decir no soporta heladas; se cultiva esencialmente para obtener la semilla, las cuales tienen un alto grado de proteínas con más del 22% (Beaver *et al.*, 2002).

Raíz: En las primeras etapas de desarrollo el sistema radicular está formado por la radícula del embrión, después se forman las raíces secundarias y terciarias con pelos absorbentes. Esta especie presenta nódulos distribuidos en las raíces laterales de la parte superior y media del sistema radicular, con un diámetro aproximado de 2 a 5 mm y son colonizados por las bacterias del género *Rhizobium*, las cuales fijan nitrógeno atmosférico, que contribuye a satisfacer los requerimientos de este elemento en la planta (Faure *et al.*, 2013).

Tallo: El tallo joven es herbáceo y semi-leñoso al final del ciclo; es una sucesión de nudos y entrenudos donde se insertan las hojas y los diversos complejos axilares, el tallo o eje principales de mayor diámetro que las ramas laterales y se inicia en la inserción de las raíces. El primer nudo corresponde al de los cotiledones, esta primera parte del tallo se denomina hipocótilo y el segundo nudo epicótilo, en el tercer nudo emerge la primera hoja compuesta (Vivanco *et al.*, 2011).

Hojas: Son de dos tipos: simples y compuestas. Los cotiledones constituyen el primer par de hojas, son de poca duración, proveen sustancias de reserva a la planta durante la germinación y emergencia y elaboran los primeros carbohidratos

a través de la fotosíntesis en sus cloroplastos. Las primeras hojas verdaderas se desarrollan en el segundo nudo, son simples, opuestas y cortadas. A partir del tercer nudo se desarrollan las hojas compuestas, las cuales son alternas, de tres folíolos, un peciolo y un raquis. Presentan variación en cuanto a tamaño, color y vello, en dependencia de la variedad y las condiciones de luz y humedad (Beaver *et al.*, 2002). Las semillas pueden consumirse inmaduras, maduras, frescas o secas (McDonald, 2013; OECD, 2016).



Figura 1. Vainas, hojas y flores de *Phaseolus vulgaris* L. Izquierda: vainas (frutos) Derecha: hojas y flores.

Fuente: <https://www.google.com/cu/imgres?imgurl=http://phaseolussp>.

1.5. Factores que afectan el cultivo del frijol.

En general el cultivo de frijol como cualquier otra planta puede ser afectada tanto por factores bióticos como abióticos. El primer caso resulta de la interacción con otros organismos, por ejemplo, daños mecánicos por herbívoros, competencia por el hábitat o infección por parásitos.

La producción del frijol independientemente de la variedad, se ve comprometida por una serie de factores abióticos, tales como: la sequía, salinidad, temperatura, humedad y acidez de los suelos e intensidad luminosa (Treviño y Rosa, 2013).

Temperatura.

Este factor influye sobre el cultivo del frijol durante todo su ciclo. La planta de frijol crece bien en temperaturas promedio de 15 a 26 °C, pero hay un gran rango de tolerancia entre las diferentes variedades. Una planta es capaz de soportar temperaturas extremas (5 a 40 °C) por cortos períodos, pero mantenida a tales extremos por un tiempo prolongado, ocurren daños irreversibles (Padilla *et al.*, 2011).

Las temperaturas bajas retardan el desarrollo de la planta, pudiendo acentuarse en las siembras tardías de diciembre y enero. Las temperaturas altas inducen el aborto de las flores, aumentan la tasa de evapotranspiración y ocasionan el marchitamiento de la planta si hay un suministro insuficiente de humedad en el suelo. Las temperaturas altas reducen la viabilidad del polen, el crecimiento del tubo polínico y la fertilización del ovario (Hall, 2004); aceleran la tasa de desarrollo de la planta y acortan el período de crecimiento de los órganos reproductores (Gan *et al.*, 2004), causan excesivo aborto de flores y vainas jóvenes (Leport *et al.*, 2006), aceleran el llenado del grano (Boote *et al.*, 2005), reducen el número de semillas por vaina, el tamaño de semilla y el rendimiento (Barrios *et al.*, 2011). En Cuba se considera esta causa como una limitante de la producción en verano (Cabrera, 2011).

Humedad

Se considera que una humedad del aire del 70% es adecuada para el buen desarrollo de la planta de frijol. Por lo que la acumulación de un exceso de humedad en el suelo, como resultado de intensas precipitaciones mal distribuidas o por el riego desmedido sobre todo en suelos con dificultades de drenaje, ocasionan serios trastornos al desarrollo del sistema radical (Conveca, 2011) y por ende al resto de la planta.

Luz

El frijol es un cultivo de día corto; por tanto, la floración se ve favorecida por fotoperiodos inferiores a doce horas con largos períodos de oscuridad, lo cual se manifiesta en Cuba a partir del mes de octubre.

La sequía

Las condiciones de limitación de agua inducen en las plantas respuestas que afectan su morfología, fisiología y metabolismo. Una vez percibido este tipo de estrés se inician vías de transducción de señales y la expresión de genes asociados, que influyen en cambios celulares, de tejido y de órgano (Bray, 2000).

Se han realizado investigaciones en el tema utilizándose diferentes tipos de ensayos. Estos estudios han sido enfocados a cultivos específicos, tratando de dilucidar las afectaciones que sufren las plantas debido a la falta de agua. De manera general, entre los cambios fisiológicos y metabólicos que ocurren se encuentran la disminución en la síntesis de proteínas y, por tanto, en la velocidad de crecimiento, el aumento de cera en la cubierta de las hojas (Robles, 2011), cambios en la transpiración, en la respiración (Carmo *et al.*, 2008), en la fotosíntesis, en la distribución de nutrientes (Rodríguez *et al.*, 2006) entre otros.

En sus informes Domínguez *et al.* (2014) plantean que este cultivo no requiere grandes volúmenes de agua durante su ciclo vegetativo, la demanda de agua dependerá de su fase de desarrollo, siendo el cultivo exigente en la fase de germinación y muy exigente en la fase de diferenciación floral (R6), fructificación (R7) y llenado del grano (R8).

En la mayoría de las zonas productoras de frijol, los rendimientos potenciales nunca son alcanzados, esto se debe a que esta leguminosa se cultiva principalmente en condiciones ambientales desfavorables, siendo la escasa y errática precipitación pluvial durante la fase de crecimiento del cultivo una de las que más afecta su respuesta productiva, según lo reportado por García (2011).

1.6. Generalidades del estrés hídrico

El estrés abiótico surge como resultado de un exceso o un déficit en el ambiente químico-físico que interactúa con una planta, reduciendo en ella su productividad entre un 60-80% en dependencia del tipo de estrés y del cultivo (Mahajan y Tuteja, 2005).

Las alteraciones del clima en los últimos años, afectan considerablemente el régimen pluviométrico en muchos países, teniendo como consecuencia una mayor frecuencia de eventos de sequía severas y prolongadas, lo que ha provocado cuantiosos daños en la agricultura actual, debido a que el estrés hídrico en conjunto con las temperaturas y la radiación, es el proceso ambiental más importante que puede detener la supervivencia de los cultivos y su productividad (Rahaie *et al.*, 2013; Hinojosa *et al.*, 2013).

Según Passioura (2002) con el incremento de la aridez y el crecimiento de la población mundial, el agua se convertirá en un recurso escaso. Se han realizado diversas investigaciones para desarrollar estrategias en el control del agua durante la sequía en diversos cultivos (Bray, 2000; Marcaida *et al.*, 2014).

Igualmente se estudia la interpretación de las relaciones hídricas entre las diferentes estructuras de las plantas y sus funciones (Erice *et al.*, 2014), tal como la morfología del sistema radical y la tolerancia al estrés (Maggio *et al.*, 2001) lo cual es esencial para el entendimiento de la habilidad competitiva de las plantas para sobrevivir en diferentes ambientes.

El estrés hídrico puede originarse como resultado de dos condiciones, o bien por exceso de agua como por déficit de la misma. Sin embargo el que comúnmente se encuentra en las plantas surge por la escasez de agua, denominado estrés por sequía (Mahajan y Tuteja, 2005).

El estrés causado por los factores hídrico y salino afecta en gran medida el rendimiento del cultivo, Incluso se ha demostrado que en momentos tempranos de estrés salino, en la planta se obtiene una respuesta de déficit hídrico (Munns, 2002; Rosabal *et al.*, 2014).

1.7. Efectos del estrés hídrico en el crecimiento y desarrollo de las plantas

Ante condiciones de estrés hídrico, es limitado el movimiento normal del agua tanto hacia dentro como hacia fuera de la célula, lo cual compromete varios procesos fisiológicos, morfológicos y bioquímicos (Rosabal *et al.*, 2014) que determinan la productividad de los cultivos.

Cuando el déficit hídrico se desarrolla lentamente, se dan cambios en los procesos de desarrollo que tienen varios efectos sobre el crecimiento celular (Florido, 2014), los procesos fisiológicos son muy sensibles al déficit de agua debido a la reducción de la presión de turgencia (Taiz y Zeiger, 2006).

Según Mahajan y Tuteja (2005), pueden producirse daños estructurales en la membrana lipídica como resultado de la destrucción de algunas proteínas de membrana, perdiéndose de esta forma la integridad de la misma, la selectividad y la actividad enzimática, así como la compartimentación celular. En adición a los daños en la membrana hay un aumento en la pérdida de electrólitos y un desequilibrio osmótico. En general se afectan la mayoría de los procesos metabólicos de la célula.

En condiciones de estrés hídrico las hojas cambian su ángulo de inclinación, se enrollan o se recambian, y se incrementa la relación del peso entre la raíz y la parte aérea (la raíz mantiene su velocidad de crecimiento, en tanto que la parte aérea la disminuye) (Robles, 2011).

En tal sentido Khaton *et al.*(2016) en sus informes reportan una reducción de la expansión y el área de foliar del cultivo del frijol en estas condiciones estresantes, afectándose la conductancia estomática al disminuir la difusión de CO₂ desde los estomas hacia los espacios intercelulares, y luego, hacia los sitios de carboxilación a través del mesófilo, además de una restricción de la fotofosforilación, deficiente regeneración de ribulosa 1,5-bifosfato (RuBp) y decrecimiento en la actividad de la Rubisco (Singh y Reddy, 2011) enzima importante en el ciclo de Calvin.

Existen además cambios metabólicos, no menos importantes, que afectan la maquinaria fotosintética, entre estos hay que señalar el daño en los pigmentos fotosintéticos y en los componentes celulares (Muller *et al.*, 2011). Estos efectos pueden provocar la disminución de la expansión foliar y la senescencia prematura de la hoja.

Las plantas manifiestan un rasgo común debido a la influencia de diferentes factores estresantes, es su potencial para incrementar la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS, por su sigla en inglés) en células y tejidos (cloroplastos), tales como el oxígeno singlete, ($^1\text{O}_2$), el radical superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($\text{OH}\cdot$), que en condiciones normales son generadas como consecuencia de los procesos metabólicos (Arora *et al.*, 2002). Estas especies causan posibles daños oxidativos de macromoléculas biológicas como el DNA, lípidos, carbohidratos y proteínas, aumenta el contenido de malon-dialdehído (MDA) (Smirnoff, 1993; Tripathy y Oelmüller, 2012) estimándose disminuciones de la turgencia, del contenido relativo de agua (CRA) y de la conductancia estomática.

Las EROS y sus productos pueden causar la reducción de la fotosíntesis y la transpiración, acelerar la senescencia, aumentar la respiración y provocar el eflujo de los electrolitos y las mutaciones genéticas en las plantas (Rosabal *et al.*, 2014).

Se ha descrito que las EROS tienen una función importante en la regulación de numerosos procesos biológicos tales como el alargamiento celular, la señalización mediante hormonas, la respuesta a estreses bióticos y abióticos, así como en la apoptosis o muerte celular programada (Del Rio, 2015).

En condiciones de estrés severo las concentraciones de estos radicales aumentan considerablemente y superan las defensas antioxidantes lo que genera el estado conocido como estrés oxidativo (Caverzan *et al.*, 2016).

Rai *et al.* (2013) realizaron un estudio del déficit y frecuencia de riego en frijol, donde encontraron que hubo un efecto significativo sobre el rendimiento en la disminución del grano y el número de vainas por planta debido al déficit de humedad del suelo durante los estadios de crecimiento, floración y formación del grano.

García *et al.* (2015) al evaluar el impacto del estrés hídrico en el crecimiento del frijol encontraron una disminución rápida en el índice del área foliar, la conductancia estomática y la fotosíntesis.

Reyes *et al.* (2014) en trabajos realizados en la variedad de frijol *Phaseolus coccineus* L. sometido a déficit hídrico, observaron que se afectó el número de hojas y las estructuras reproductivas y en informes realizados por Meriño *et al.* (2015) se vio afectada la masa seca y el rendimiento en granos.

Es preciso señalar que no todos los cultivares de frijol responden de la misma forma a condiciones estresantes pues el nivel de susceptibilidad o tolerancia varía de un cultivar a otro (Polón *et al.*, 2013), el grado de tolerancia depende además de la intensidad y la etapa de desarrollo del cultivo sobre la que el factor actúe (Boicet, 2010).

1.8. Mecanismos de respuestas de las plantas ante el estrés hídrico

Las respuestas de la planta dependen del genotipo y el estadio de desarrollo de la misma en el momento del estrés, de la duración y la severidad del estrés y de los factores ambientales que lo provoquen. Un mecanismo importante en el mantenimiento del consumo de agua y turgencia celular en condiciones de estrés hídrico es el ajuste osmótico.

1.8.1. Ajuste osmótico

El ajuste osmótico se produce en las plantas a través de la biosíntesis de osmolitos y por la acumulación de iones, fundamentalmente K^+ y NO_3^- . La acumulación de iones durante el ajuste osmótico ocurre principalmente en la vacuola, mientras que en el citoplasma se acumulan solutos que no afectan la funcionalidad de macromoléculas celulares (Taiz y Zeiger, 2006). La planta sintetiza y acumula solutos osmóticamente activos como cationes inorgánicos (principalmente K^+ y Cl^-), ácidos orgánicos, aminas cuaternarias (glicina betaína, β -alanina betaína y dimetilsulfonio propionato), aminoácidos (prolina) y azúcares (sacarosa y manitol); lo que le permite mantener un potencial de turgencia alto (Kumari *et al.*, 2014; Deepika *et al.*, 2015).

De manera que si el potencial del agua de la célula es menor que el potencial de agua externo, hay una reducción del potencial osmótico y de esta forma el agua se mueve hacia el interior de la misma (Taiz y Zeiger, 2006). Esta respuesta se conoce como osmoregulación que está dada por la capacidad estabilizadora de algunos de estos solutos sobre macromoléculas como las proteínas y los sistemas de membrana celulares y que son importantes en el mantenimiento del potencial de turgencia y el funcionamiento de la maquinaria celular, cuando el potencial osmótico de las células disminuye (Lakshmi *et al.*, 2008). Este ajuste osmótico, influye en el crecimiento de la raíz para incrementar la extracción de agua, mientras existe la escasez de este recurso (Turner *et al.*, 2010). Diferentes tipos de organismos como plantas, bacterias, hongos y animales presentan osmolitos compatibles que se caracterizan por no alterar la estructura y función de las macromoléculas, cuando se acumulan en concentraciones altas. La sobreproducción de este tipo de compuestos protege a las plantas de frijol de los efectos causados por el estrés osmótico (Lakshmi *et al.*, 2008).

La acumulación de solutos compatibles como la prolina, glicina betaína (GB) y trehalosa también están involucradas en la tolerancia al estrés abiótico por protección de las proteínas y estructuras de la membrana a la deshidratación, regulando el estatus redox o actuando como desintoxicador de radicales libres (Tujeda, 2007; Hussain *et al.*, 2008; Miller *et al.*, 2008; Zushi, 2009;).

Uno de los metabolitos más estudiados que se acumulan en plantas crecidas en diferentes condiciones estresantes es la prolina. Este aminoácido es fundamental para el mantenimiento de la homeostasis celular, incluyendo el balance redox y el estado energético. Además, puede actuar como molécula señalizadora para la modulación de las funciones mitocondriales, influir en la proliferación o muerte celular y en lo que podría ser esencial para la fase de recuperación del estrés, la expresión de genes específicos (Szabados y Savoure, 2010). En este último aspecto se ha evidenciado que los cambios en la expresión de genes son

fundamentales para la respuesta que se obtiene durante el déficit de agua, y es el origen del control de muchas respuestas a corto y largo plazo (Rosabal *et al.*, 2014).

1.8.2. Cierre estomático

A nivel fisiológico uno de los mecanismos fundamentales de tolerancia al estrés por déficit hídrico es el cierre de los estomas, ya que estos son los responsables de la mayor proporción de pérdida de agua en las plantas (Taiz y Zeiger, 2006).

El proceso de cierre de los estomas, cuando el mesófilo comienza a sufrir deshidratación, está regulado por el ácido abscísico (ABA) y posiblemente por otras señales generadas en respuesta al estrés abiótico (Saibo *et al.*, 2012). El contenido de ABA en la hoja se incrementa debido a la descompartimentación y redistribución desde los cloroplastos de las células del mesófilo y a la síntesis y transporte desde las raíces, siendo liberado al apoplasto para llegar a las células guarda a través de la corriente de transpiración (Zhang y Outlaw, 2008). El ABA produce una pérdida de iones K^+ y de aniones Cl^- o malato en las células guarda, que provoca una salida del agua del citoplasma, dando lugar al cierre estomático (Moreno *et al.*, 2016).

Diversos autores han indicado la relación del ABA con incrementos en la tolerancia a estrés por déficit hídrico (Miller *et al.*, 2008; Wilkinson y Davies, 2010; Hirayama y Shinozaki, 2010). La acción del ABA puede estar involucrada en la supresión de la producción de etileno (Thompson *et al.*, 2007). Además, se ha señalado que la acumulación de ABA inducido de solutos compatibles como prolina, puede ser fundamental para evitar la deshidratación (Kavi *et al.*, 2003). Por tanto a nivel de organismo parece que la función principal del ABA es coordinar varios aspectos de la respuesta al estrés abiótico (Wilkinson *et al.*, 2012).

1.8.3. Sistemas antioxidantes en defensa contra las EROS.

Para minimizar los efectos tóxicos de las especies reactivas del oxígeno, las plantas han desarrollado mecanismos altamente regulados de protección enzimáticos y no enzimáticos que las atrapan e inactivan eficientemente para lograr el balance entre la producción y la destrucción de las mismas (Racchi, 2013).

La capacidad que presentan las plantas para eliminar las EROS constituye un elemento importante para tolerar los estreses ambientales (Hu *et al.*, 2012). El sistema antioxidante de los vegetales incluye, entre otros compuestos, enzimas antioxidantes tales como la superóxido dismutasa, la catalasa y las peroxidasas, así como también otras enzimas que mantienen los niveles de antioxidantes en sus estados reducidos como son la deshidroascorbato reductasa, la monodeshidroascorbato reductasa, y la glutatona reductasa (Mishra *et al.*, 2013; Rao *et al.*, 2013).Por otra parte se encuentran las sustancias de naturaleza no proteica como carotenoides, flavonoides y fenoles. La expresión de tales compuestos aumenta, de manera general, en diferentes condiciones de estrés abiótico (Haghighi *et al.*, 2014; Santhanakrishnan *et al.*, 2014; Kumar y Chand, 2015).

La habilidad de las plantas para sobreponerse al estrés oxidativo dependerá de sus capacidades para desencadenar tales mecanismos de respuesta de manera eficaz, en los diferentes orgánulos celulares.

Actualmente son poco comprendidos los mecanismos específicos que modulan la expresión de los genes antioxidantes en el estrés de oxidación, especialmente de los genes que codifican para varias isoenzimas de una misma proteína (Rosabal *et al.*, 2014).

Los antioxidantes no enzimáticos pueden ser metabolitos lipofílicos entre los que se destacan los tocoferoles, los carotenoides, los polifenoles y los alcaloides. También pueden ser hidrofílicos como la glutatona, el ascorbato, la prolina, las poliaminas y la cisteína, que pueden secuestrar directamente las EAO o servir como sustratos para los sistemas de protección enzimáticos (Foyer,1993).

1.9. La germinación de las plantas.

Otro de los efectos más notables que tiene el estrés hídrico sobre las plantas es la inhibición de los procesos germinativos (Basha *et al.*, 2015).

La capacidad de germinación y el vigor son los atributos principales involucrados en la calidad fisiológica de la semilla. La germinación es el proceso fisiológico mediante

el cual emergen y desarrollan, a partir del embrión, las estructuras esenciales para la formación de una planta normal (Delouche, 2002).

Este proceso se inicia con la ocurrencia de una variedad de actividades anabólicas y catabólicas, como la respiración, la síntesis de proteínas y la movilización de las reservas después de la absorción de agua (Desai, 2004). El vigor de las semillas es su potencial biológico para el establecimiento rápido y uniforme en condiciones, incluso desfavorables, de las plantas en el campo (González *et al.*, 2008). Los factores externos, como la temperatura, agua, oxígeno y luz, influyen directamente en la germinación de las semillas. La emergencia de una plántula depende entonces de las características fisiológicas y bioquímicas de la semilla, de su reacción a las condiciones externas a ella, y de la eficiencia al usar sus reservas durante la germinación (Peña *et al.*, 2013; Morales *et al.*, 2016).

1.9.1. Efecto del estrés hídrico en la germinación.

Entre las variables morfofisiológicas que permiten observar en qué medida se producen los daños en una especie y cómo se afecta la germinación y el crecimiento ante condiciones edafoclimáticas adversas se encuentran las relacionadas con el crecimiento y el sistema radical. Dentro de ellas, la longitud de la raíz principal, longitud del tallo, número total de raíces, número de hojas, área foliar, materia seca, contenido hídrico relativo, discriminación de isótopos de carbono, porcentaje de pérdida de electrolitos, liberación de fosfato inorgánico, formación de áreas necróticas en el tejido foliar, entre otros (Schulze *et al.*, 2005).

Numerosos autores han referido el efecto negativo que tiene el déficit hídrico sobre la germinación y los primeros estadios vegetativos de diferentes especies vegetales como *Sorghum bicolor* (L.) Moench (Tsago *et al.*, 2013; Behzad y Tohidi, 2016; Rojas, 2017), *Carthamus tinctorius* L. (Soheilikhah *et al.*, 2013), *Triticum aestivum* L. (Azadi *et al.*, 2013), *Zea mays* L. (Batool *et al.*, 2014), *Phaseolus vulgaris* L. (Silva *et al.*, 2014) y *Vigna radiata* L. Wilczek (Kumar *et al.*, 2016).

En investigaciones realizadas sobre la tolerancia al estrés hídrico en diferentes cultivos se ha hecho referencia a la inhibición en diferentes parámetros germinativos como el porcentaje de germinación, la longitud de las raíces y la parte aérea, el vigor, el peso fresco y el peso seco (Gharoobi *et al.*, 2012; Almas *et al.*, 2013; Ojeda *et al.*, 2013, 2015).

A nivel de laboratorio es posible, con el empleo de agentes estresantes, simular condiciones de estrés hídrico y salino para determinar el grado de tolerancia o afectación de tejidos y plantas a estos ambientes adversos. En relación con esto, se han utilizado diferentes compuestos entre los que se recomiendan: manitol, sorbitol, cloruro de sodio (NaCl) (Zeng y Shannon, 2000; Zeid, 2004; Shereen *et al.*, 2005) y el polietilenglicol (PEG) (Basra *et al.*, 2005). De ellos, los más utilizados son PEG y el NaCl (Rai *et al.*, 2013; Thiam *et al.*, 2013). Este último es el más utilizado porque permite mantener el medio experimental a valores predeterminados de potencial hídrico y es capaz de competir con las células por el agua debido a su alto peso molecular.

Esto facilita la retención de líquido y provoca descensos en el potencial osmótico de manera similar a lo que ocurre cuando se seca el sustrato en el que se cultivan las plantas (Guía, 1998, Rai *et al.*, 2013).

El PEG es un poliéter ampliamente empleado en la industria (Chen *et al.*, 2005). Su nombre generalmente aparece asociado a un número que hace referencia a la masa molecular del polímero u oligómero; por ejemplo, PEG-6 000 tiene una masa molecular media de 6 000 Da. Su estructura química puede representarse como: HO-(CH₂-CH₂-O-)_n-H (Kumar *et al.*, 2006).

En comparación con otros disolventes alternativos, el PEG es biodegradable, biocompatible y no tóxico además puede ser recuperado y reciclado de la disolución por extracción o destilación directa (Kerton y Marriott, 2013).

Capítulo 2. Materiales y métodos

La investigación se realizó en el Centro de Estudios Biotecnológicos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Matanzas.

2.1. Material vegetal

Se utilizaron semillas certificadas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L. var. *Delicias 364* 364, las cuales fueron suministradas por la Empresa Provincial de Semillas del municipio Jovellanos, provincia de Matanzas (Figura 2).



Figura 2. Semillas de *Phaseolus vulgaris* L. var. *Delicias 364* empleadas en el experimento.

2.2. Prueba de germinación

La prueba de germinación se realizó en placas Petri de 5 cm de diámetro. Se emplearon cuatro réplicas (placas Petri) por tratamiento con 10 semillas de frijol cada una. Las semillas fueron colocadas sobre papel de filtro humedecido con diferentes concentraciones (0, 3, 6, 9, 12 y 15%) de polietilenglicol-1500 (PEG-1500), en una proporción de tres veces el peso del sustrato seco (ISTA, 2010). El proceso de germinación se evaluó diariamente durante siete días y los resultados fueron expresados en porcentaje de plántulas normales.

Los ensayos de germinación se desarrollaron en un cuarto de crecimiento a una temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, con un fotoperíodo de 16 h ($35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Figura 3).



Figura 3. Experimento de germinación de *Phaseolus vulgaris* var. Delicias 364 con diferentes concentraciones de polietilenglicol-1500.

2.3. Evaluación del vigor

2.3.1. Valor de germinación

Se determinó diariamente la cantidad de semillas germinadas, no germinadas y en mal estado durante los siete días. Con los datos obtenidos se calculó el valor de la germinación (VG) según la fórmula de Djavanshir y Pourbeik (1976).

$$VG = \left(\sum_{i=1}^n Ved_i \right) \left(\frac{Ef}{10N} \right)$$

Donde,

Ved = velocidad de emergencia diaria, calculada como el porcentaje de la emergencia acumulada entre el número de días desde el inicio de la prueba.

N = frecuencia o número de Ved que se calcularon durante la prueba.

Ef = porcentaje de la emergencia de plántulas al final de los 7 días de la prueba.

2.3.2. Emergencia pico

Se determinó la emergencia pico mediante porcentaje máximo de emergencia en un mismo día (EP) (Murillo, 1998).

Índice de vigor I (Vashisth y Nagarajan, 2010). El cálculo se determinó con el uso de la fórmula siguiente:

$$\text{Índice de vigor I (IV-I)} = (\text{PG} \times \text{LP}) * (\text{LR} + \text{LT})$$

PG: porcentaje de germinación

LP: longitud de la plántula (dm)

LR: longitud de la raíz (dm)

LT: longitud del tallo (dm)

2.4. Indicadores morfológicos

Se midieron los indicadores siguientes: longitud de raíz, hipocótilo y epicótilo con el uso de un papel milimetrado así como también la presencia de hojas verdaderas a los siete días de germinadas las semillas. Los datos de longitud fueron expresados en centímetros.

Se determinó el efecto del polietilenglicol-1500 en el desarrollo de hojas verdaderas en término de porcentaje de plántulas con hojas a los siete días de germinación. Para la comparación del porcentaje de plántulas con hojas verdaderas entre tratamientos se empleó un análisis de proporciones, con el uso del programa Compró versión 3.01 sobre Windows, para un 95% de confianza.

2.5. Indicadores bioquímicos

La extracción y cuantificación de proteínas, carbohidratos solubles totales y azúcares reductores, se realizó en las raíces y en la parte aérea de las plántulas de la variedad en estudio a los siete días de iniciado el experimento de germinación. El material vegetal fue macerado en frío con solución tampón de fosfato de sodio 50 mmol.L⁻¹, pH 7,0 y en una proporción 1:3 (p/v).

El homogenizado fue centrifugado a 10 000 rpm y se colectó el sobrenadante el cual fue conservado a -20°C hasta el momento de las determinaciones.

2.5.1. Contenido de proteínas solubles totales

El contenido proteico se determinó colorimétricamente mediante el método descrito por Lowry *et al.* (1951) con el uso de albúmina de suero bovino (BSA) como patrón. Los valores de absorbancia se obtuvieron a 750 nm y las concentraciones ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) se determinaron mediante la curva patrón.

2.5.2. Contenido de carbohidratos solubles totales

El contenido de carbohidratos en las muestras se determinó colorimétricamente mediante el método del fenol-sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956), con el uso de la D-glucosa como azúcar patrón. Las muestras fueron leídas a una absorbancia de 490 nm y las concentraciones expresadas en $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ a partir de la curva patrón.

2.5.3. Contenido de azúcares reductores

El contenido de azúcares reductores fue determinado por el método del ácido dinitrosalisílico y se empleó la D-glucosa (Sigma) como azúcar patrón (Miller, 1959). Los valores de absorbancia fueron leídos a una longitud de onda de 456 nm y la concentración se expresó en $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ a partir de la curva patrón.

2.5.4. Contenido de fenoles solubles

La extracción de los fenoles solubles se realizó en 10 volúmenes de metanol. Las muestras fueron homogenizadas y centrifugadas a 27 200 g. El sobrenadante se colectó para la determinación colorimétrica de los compuestos fenólicos (Gurr *et al.*, 1992). Para determinar la concentración de fenoles se utilizó el ácido clorogénico ($0,05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) como patrón y los valores de absorbancia fueron determinados a 725 nm.

Todas las mediciones espectrofotométricas descritas fueron realizadas en un espectrofotómetro UV/VIS Ultrospec 2000 (Pharmacia Biotech, Suecia).

2.6. Diseño experimental y análisis estadístico

Los ensayos se desarrollaron según un diseño completamente aleatorizado. Para los ensayos de germinación se incluyeron 4 réplicas (placa Petri) por tratamiento. Para los análisis bioquímicos se tomaron cinco muestras por tratamientos, mientras que para la evaluación de parámetros morfológicos y fisiológicos se analizaron 10 plántulas.

Los datos fueron procesados con el paquete SPSS versión 15.0 para Windows. Se determinó el ajuste de los datos a una Distribución Normal mediante la prueba de Bondad de Ajuste Kolmogorov-Smirnov y la Homogeneidad de Varianza mediante las Pruebas de Bartlett (Sigarroa, 1985). En los casos en que los datos cumplieron los requisitos exigidos fueron procesados mediante ANOVA de clasificación simple y se realizó la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan para la comparación entre medias. Los datos que no cumplieron con estas premisas fueron analizados mediante la Prueba de Kruskal-Wallis.

Capítulo 3. Resultados y discusión

3.1. Efecto del polietilenglicol-1500 sobre el porcentaje de germinación de *Phaseolus vulgaris* L. var. *Delicias 364*.

La figura 4 muestra el efecto del polietilenglicol (PEG-1500) sobre el porcentaje de germinación de *Phaseolus vulgaris* L. var. *Delicias 364*. El polietilenglicol influyó negativamente en el porcentaje de germinación. Se obtuvieron valores superiores al 90% en presencia del agente osmótico al 3 y 6%. Las concentraciones de 9, 12 y 15% de PEG redujeron el porcentaje de germinación a 76,7, 73,3 y 20,0%, respectivamente con relación al control; mientras que contenidos superiores de PEG en el medio provocaron la inhibición total de la germinación.

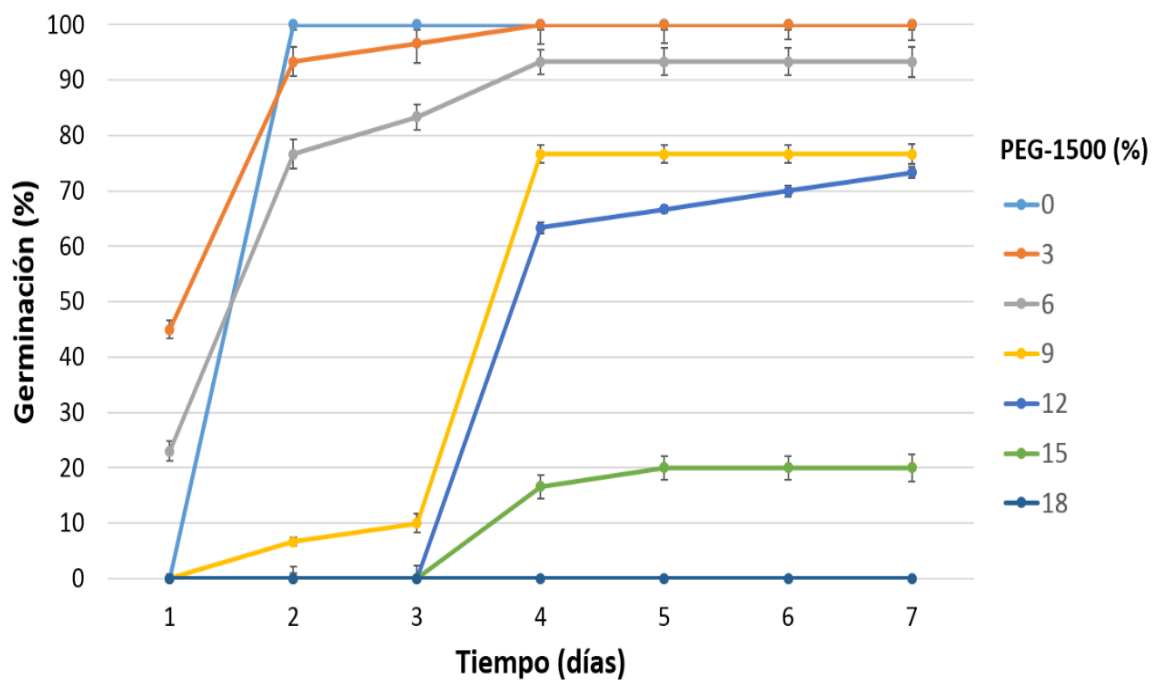


Figura 4. Efecto del polietilenglicol-1500 sobre el porcentaje de germinación de semillas de *Phaseolus vulgaris* L. var. *Delicias 364* germinadas en placas Petri durante siete días.

El efecto negativo del polietilenglicol sobre el porcentaje de germinación puede estar relacionado a una disminución del potencial hídrico del medio lo cual afecta el proceso de imbibición ya que disminuye la disponibilidad de agua para las semillas

(Rojas, 2017). Este proceso es fundamental para que se inicie la germinación, ya que la entrada de agua permite la activación de procesos metabólicos, principalmente la hidratación de enzimas y de sustratos que participan en dichas reacciones bioquímicas (Swapna y Rajendrudu, 2015).

Al respecto, Aparecida y Zambillo (2009) indican que uno de los métodos más difundidos para determinar la tolerancia de las plantas al estrés hídrico, es la observación de la capacidad de germinar y emerger de las semillas en condiciones de sequía simulada, ya que esto limita la absorción de agua y puede retardar y/o afectar los diferentes procesos fisiológicos.

Estos resultados son similares a los obtenidos por Hamidi y Safarnejad (2010) quienes detectaron con la aplicación de este agente estresante una disminución del porcentaje de germinación en semillas de alfalfa (*Medicago sativa* L.). De igual forma en investigaciones realizadas por Suárez *et al.* (2016) evaluaron el efecto del PEG- 8000 sobre la germinación de las semillas de *P. vulgaris* L. y obtuvieron como resultado una disminución marcada del porcentaje de germinación en los diferentes cultivares al 10 y 15% de PEG- 8000 al compararlos con el control no estresado.

Numerosos autores han referido el efecto negativo que tiene el déficit hídrico sobre la germinación y los primeros estadios vegetativos de diferentes especies vegetales como *Zea mays* (Mohammadkhani y Heidari, 2008) *Triticum sp* (González *et al.*, 2008) *Morus alba* (morera) (Mendoza, 2013) *Solanum lycopersicum* L. (Florido, 2014) *Phaseolus vulgaris* L (Polanía *et al.*, 2009; Polón *et al.*, 2014; Reyes *et al.*, 2015).

La presencia del polietilenglicol en el medio provocó un aumento del día de emergencia pico (Tabla 1). En concentraciones de 0, 3 y 6% de PEG no hubo diferencias con relación al día en que se observó la máxima germinación. Sin embargo, en concentraciones superiores del agente osmótico (9, 12 y 15%) se observó un retardo en el proceso de germinación.

Tabla 1. Emergencia pico en semillas de *Phaseolus vulgaris* L. var. *Delicias 364* germinadas en diferentes concentraciones de polietilenglicol.

	PEG-1500 (%)					
	0	3	6	9	12	15
Día pico	2	2	2	4	4	4
(%) emergencia día pico	100	53	53	66,6	63,3	16,6

Resulta evidente que la disponibilidad de agua es una condición esencial para la germinación y emergencia de las semillas (Dubrencq *et al.*, 2000), debido a que determina la imbibición y la posterior activación de los procesos metabólicos, rehidratación, mecanismos de reparación, elongación celular y aparición de la radícula.

En estos tratamientos el día de mayor porcentaje de germinación fue el cuarto lo cual difiere de los informes de Rojas (2017) quien logró una emergencia pico de dos días en *Sorghum bicolor* (L.) Moench. cv. UDG-110. Este mismo autor evaluó la germinación y el vigor de las plántulas y se pudo apreciar que aumentó significativamente estos indicadores con la solución de PEG al 3% con relación al control; sin embargo, se afectaron negativamente en los tratamientos con concentraciones elevadas de PEG (9 -21%).

3.2. Efecto del PEG sobre la longitud de la raíz, hipocótilo e epicótilo

El PEG-1500 disminuyó significativamente el crecimiento de las raíces incluso la menor concentración empleada (3%) (Figura 5). Los porcentajes de PEG en el medio de 6, 9 y 12 % provocaron una reducción de la longitud de las raíces del 69, 77,33 y 91,5% en comparación con el tratamiento sin polietilenglicol. La concentración de 15% de PEG inhibió completamente el desarrollo radical.

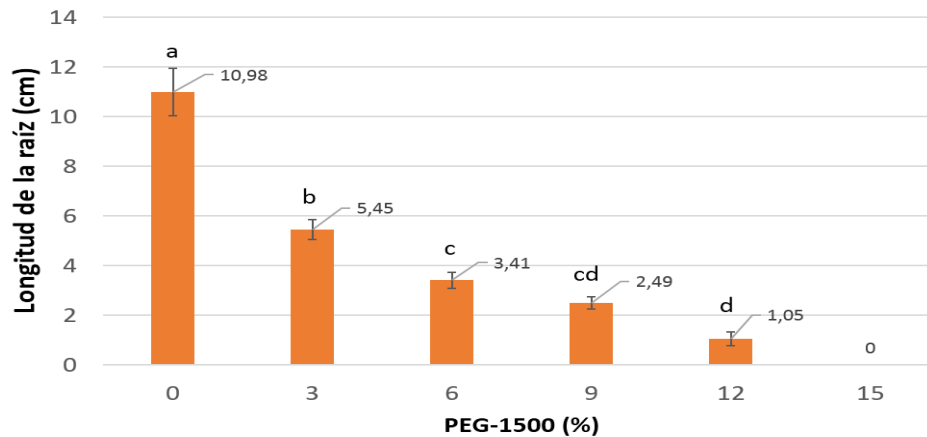


Figura 5. Efecto de diferentes concentraciones de PEG-1500 sobre el crecimiento de la raíz plántulas de *Phaseolus vulgaris* L. var. Delicias 364, después de siete días de germinación. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo órgano, según Test de Student Newman-Keuls ($P \leq 0,05$).

Una respuesta común de las plantas a la sequía es la disminución del crecimiento de las semillas y favorecer el crecimiento de la raíz para aumentar la absorción de agua (Wu *et al.*, 2008). Sobre lo anterior, Rashidi (2011) observó una reducción del crecimiento de las semillas de diferentes genotipos de *P. vulgaris* sometidos a los efectos de la sequía en condiciones de campo. De igual forma, Suárez *et al.* (2014) al analizar la longitud del tallo y la raíz comprobaron que estos parámetros de crecimiento se afectaron en los genotipos estudiados de *P. vulgaris*, en las condiciones de sequía experimental, siendo la afectación más severa en las semillas germinadas en la concentración de 20% de PEG.

El polietilenglicol también tuvo un efecto negativo sobre el crecimiento del hipocótilo y el epicótilo (Figuras 6 y 7). Las concentraciones superiores a 3% de PEG inhibieron el desarrollo del hipocótilo y el epicótilo, respectivamente. En el caso del hipocótilo, la presencia de PEG al 3% en el medio afectó el crecimiento de esta estructura en un 50% aproximadamente.

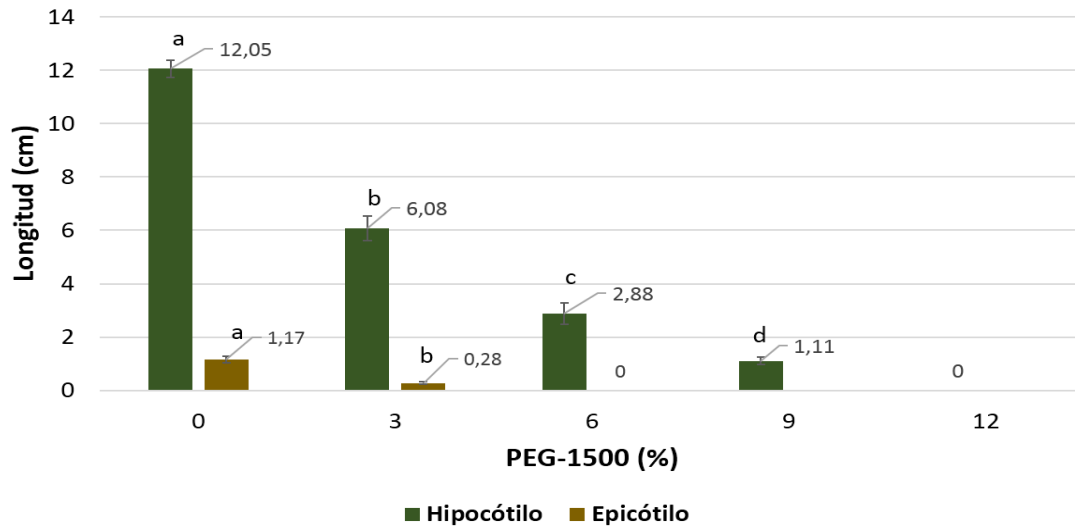


Figura 6. Efecto de diferentes concentraciones de PEG-1500 sobre el crecimiento del hipocótilo y el epicótilo de plántulas de *Phaseolus vulgaris* L. var. Delicias 364, después de siete días de germinación. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo órgano, según Test de Student Newman-Keuls ($P \leq 0,05$).

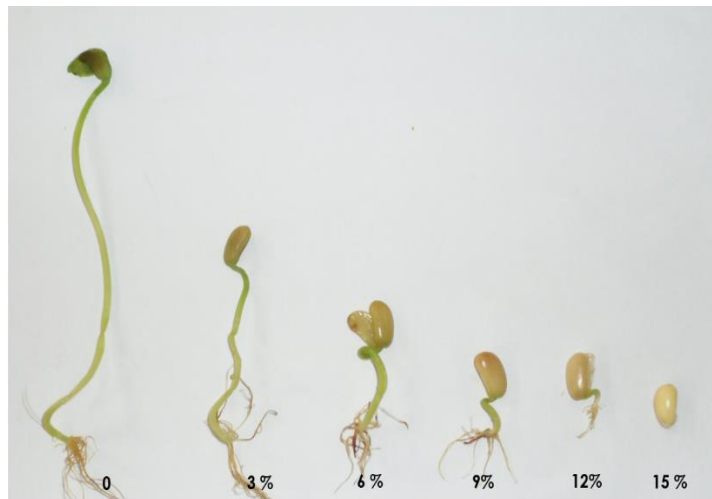


Figura 7. Efecto del PEG-1500 sobre la longitud de la raíz, hipocótilo y epicótilo de plántulas de *Phaseolus vulgaris* L. var. Delicias 364, después de siete días de germinación.

El crecimiento de la raíz, hipocótilo y epicótilo de plántulas fue inversamente proporcional al aumento de las concentraciones de PEG-1500. Las mayores afectaciones se obtuvieron con las concentraciones (9, 12 y 15 %) a los siete días después de la germinación, lo que difirió significativamente con los demás tratamientos (Figura 6 y 7). Estos resultados evidencian que en el cultivar *Delicias 364* las concentraciones de PEG 1500 a utilizar en bioensayos para evaluar la respuesta de la planta deben ser menores de 9 %.

En sus informes Carabeo (2015) determinó la respuesta de genotipos de *P. vulgaris*, en condiciones inducidas de estrés térmico, hídrico y salino, los resultados mostraron que el incremento de las concentraciones de PEG-6000, redujo el porcentaje de la germinación y los parámetros fisiológicos como longitud de la raíz, hipocótilo y epicótilo de las plántulas lo cual confirmó que el agente estresante puede ser utilizado para determinar la respuesta fisiológica en genotipos de esta especie.

En tal sentido, las investigaciones realizadas por Ojeda *et al.* (2015) mostraron una respuesta diferencial significativa ante el estrés osmótico, longitud de la raíz, biomasa fresca de la parte aérea y biomasa fresca de raíz de 20 variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.), destacándose el genotipo Dolly.

Bogado y Nakayama (2016) demostraron que el estrés hídrico simulado con PEG-6000 en plantas *in vitro* de *Stevia. Rebaudiana* cultivar 'KH-IAN/VC-142' afectó negativamente la altura de la planta, la longitud de raíces, masa fresca y seca conforme al incremento de la concentración del agente estresante.

El desarrollo de hojas verdaderas durante la germinación se afectó con la presencia de PEG-1500 en el medio (Tabla 2). El tratamiento 3% de PEG disminuyó drásticamente el porcentaje de plántulas con hojas verdaderas con relación al control, mientras que en concentraciones superiores a 6% del regulador osmótico detuvieron completamente el desarrollo de las hojas verdaderas.

Tabla 2. Presencia de hojas verdaderas en plántulas de *Phaseolus vulgaris* L. var. *Delicias 364*, germinadas en diferentes concentraciones de polietilenglicol 1500. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($P \leq 0,05$).

Desarrollo de hojas verdaderas			
PEG-1500 (%)	Proporción	%	EE
0	1,00 (a)	100	0,08
3	0,45 (b)	45	0,08
6	0,18 (c)	18	0,08
9	0,00 (c)	0	0,08

En ensayos de estrés hídrico durante la fase vegetativa del frijol, Gunton y Evenson (1980) y Barrios *et al.* (1998), mostraron una disminución del número de hojas y de la arquitectura de la planta. Estos resultados concuerdan con lo planteado por Passioura (2002) quien refiere que la variación del área foliar es una de las respuestas macroscópicas más tempranas en plantas que sufren déficit hídrico.

Otros autores plantean que el desarrollo óptimo del área foliar es determinante para la fotosíntesis y la productividad de materia orgánica. El déficit hídrico principalmente reduce el crecimiento de la hoja y como consecuencia el área foliar en muchas especies de leguminosas como el frijol (Zhang *et al.*, 2008), lo que trae como consecuencia una disminución de los procesos fotosintéticos. Igualmente Sánchez *et al.* (2010) indujeron la disminución del área foliar en plantas expuestas a diferentes regímenes de agua. Del mismo modo Emam *et al.* (2013) observaron reducción del número de hojas en dos cultivares de frijol común con diferentes hábitats de crecimiento bajo los efectos de la sequía.

El déficit hídrico en la fase reproductiva en frijol y otras leguminosas como el garbanzo (*Cicer arietinum* L.), haba (*Vicia faba* L.) y soya (*Glycine max* L.), disminuye el rendimiento en mayor proporción cuando se afectan los procesos metabólicos desde la germinación (Padilla *et al.*, 2011; Polón *et al.*, 2014).

3.3. Efecto del polietilenglicol sobre el vigor de *Phaseolus vulgaris* L. var. *Delicias 364*

El polietilenglicol también disminuyó el vigor de las plántulas de *Phaseolus vulgaris* L. var. *Delicias 364* durante el proceso de germinación. Los valores de índice de vigor I, que relaciona los indicadores de porcentaje de germinación y las longitudes de la raíz, el tallo y la plántula, muestran una reducción notable del vigor en 3% de PEG-1500, lo que evidencia una susceptibilidad de esta variedad al estrés hídrico (Figura 8).

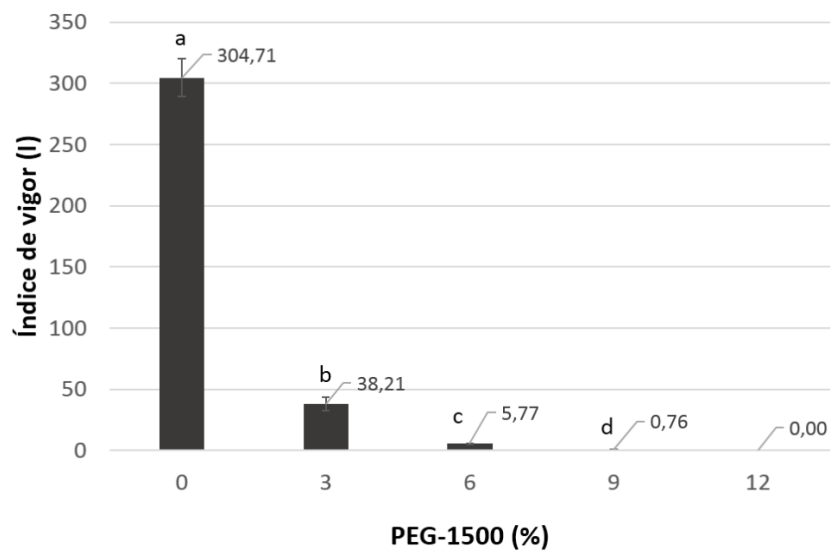


Figura 8. Efecto de diferentes concentraciones de PEG-1500 sobre el índice de vigor I de plántulas de *Phaseolus vulgaris* L. var. *Delicias 364* a los siete días de germinadas en diferentes concentraciones de PEG-1500. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo órgano, según Prueba de Student Newman-Keuls ($P \leq 0,05$).

García *et al.* (2015) observaron una significativa reducción de la germinación y el vigor de las plántulas de *P. vulgaris* cv. “ICA Pijao” cuando las concentraciones de PEG 6000 estaban por encima del 14%, resultados similares a los mostrados en la investigación.

En cuanto al valor de germinación de las plántulas germinadas en presencia de polietilenglicol disminuyó de manera notable en concentraciones del agente osmótico superiores a 6%. En los tratamientos 9, 12 y 15% la reducción fue del 66, 73,5 y 96,8% respectivamente. Entre el control y los tratamientos 3 y 6% no se observaron diferencias significativas, lo cual puede justificarse por el hecho de que el valor de la germinación está relacionado con la velocidad de germinación diaria y en los tratamientos 3 y 6% de PEG se observaron semillas germinadas el primer día de observación, mientras que en el control no hubo germinación en el día 1. Por el contrario, en el segundo día de experimento todas las semillas en las distintas réplicas del control germinaron lo que compensó el valor de germinación.

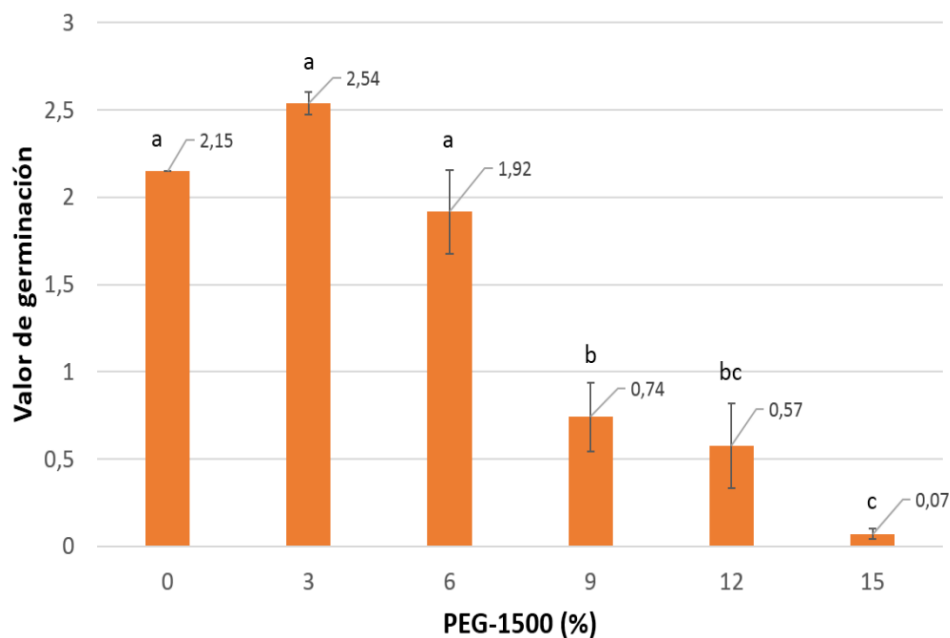


Figura 9. Efecto del PEG-1500 sobre el valor de germinación de *Phaseolus vulgaris* L. var. Delicias 364, después de siete días de germinación. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según Prueba de Test de Student Newman-Keuls ($P \leq 0,05$).

Según reportes de Kulkarni (2014) en condiciones de estrés hídrico con PEG-6 000 el índice de vigor de plántulas de *Coriandrum sativum* L disminuyó progresivamente con el aumento de la concentración de polietilenglicol: control

(883,04), 5% (396,67), 10% (92,13) y 15% (0,00), comportamiento similar mostró la variedad en estudio.

El estrés osmótico provocado por el polietilenglicol 4 000 (-0,2 MPa) durante el proceso de germinación de *Vigna unguiculata* (L.) Wap, también disminuyó varios parámetros de germinación como la energía de germinación, la germinación media diaria y el índice de vigor (Jain y Saxena, 2016).

En este sentido, Zhu *et al.* (2011) plantean que la inducción *in vitro* del estrés hídrico, utilizando PEG en semillas de *P. vulgaris*, facilita la evaluación de parámetros fisiológicos asociados con la germinación que podrían ser usados como fuente para discriminar líneas de esta especie tolerantes a la sequía.

3.4. Efecto del PEG-1500 sobre indicadores bioquímicos

En la Figura 10 se muestra el contenido de carbohidratos solubles totales en raíces y partes aéreas de plántulas germinadas en diferentes concentraciones de polietilenglicol. En la raíz se observó una mayor concentración de carbohidratos en los tratamientos 6 y 9% de PEG, en comparación con el control y el resto de los tratamientos. En la parte aérea no hubo diferencias significativas entre el control y 3% de PEG, sin embargo, se observó una disminución en los tratamientos 6, 9 y 12% con relación al control. Esta disminución pudo estar relacionada con la degradación de estos compuestos en monosacáridos y la oxidación de los mismos para la obtención de energía (ATP) para el mantenimiento de las funciones metabólicas en condiciones de estrés hídrico impuesto por el PEG (energía de mantenimiento).

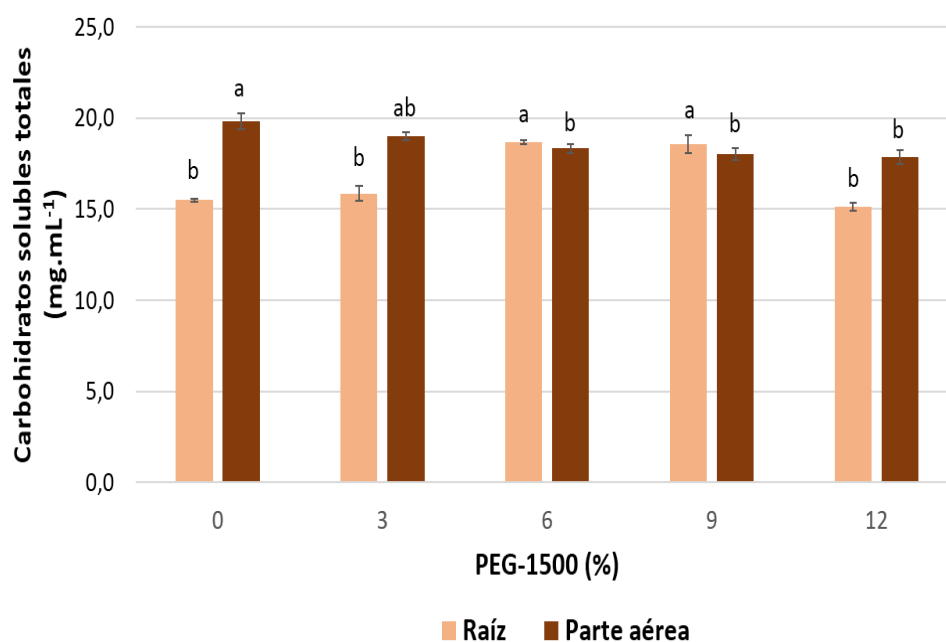


Figura 10. Contenido de carbohidratos solubles totales en raíz y parte aérea de plántulas de *Phaseolus vulgaris* L. var. *Delicias 364* a los siete días de germinadas en condiciones de estrés hídrico. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo órgano, según Prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

Los resultados obtenidos en la presente investigación están en correspondencia con lo planteado por Oliveira *et al.* (2009) quienes refirieron una acumulación de carbohidratos solubles, sacarosa, glucosa y fructosa en los tejidos de las hojas de *Sorghum* sp. durante el desarrollo vegetativo y en la etapa de germinación (Rojas, 2017). Esto sugiere que las plantas son capaces de adaptarse a los cambios osmóticos debido a una degradación rápida del almidón y la formación de azúcares solubles durante el estadio vegetativo y las primeras etapas reproductivas.

La concentración de azúcares reductores en las plántulas de frijol germinadas en presencia de PEG-1500 se muestra en la Figura 11. En las raíces de las plántulas germinadas en concentraciones de 3, 6 y 9% de polietilenglicol se observó un aumento en el contenido de estos azúcares con relación al control. En 12% del agente osmótico hubo una disminución significativa en comparación con el resto de los tratamientos. Con relación a la parte aérea, también se observó un aumento de

este indicador en los tratamientos 3 y 6% de PEG, mientras que los tratamientos con concentraciones superiores de polietilenglicol disminuyeron los valores de azúcares reductores con relación al resto de los tratamientos evaluados.

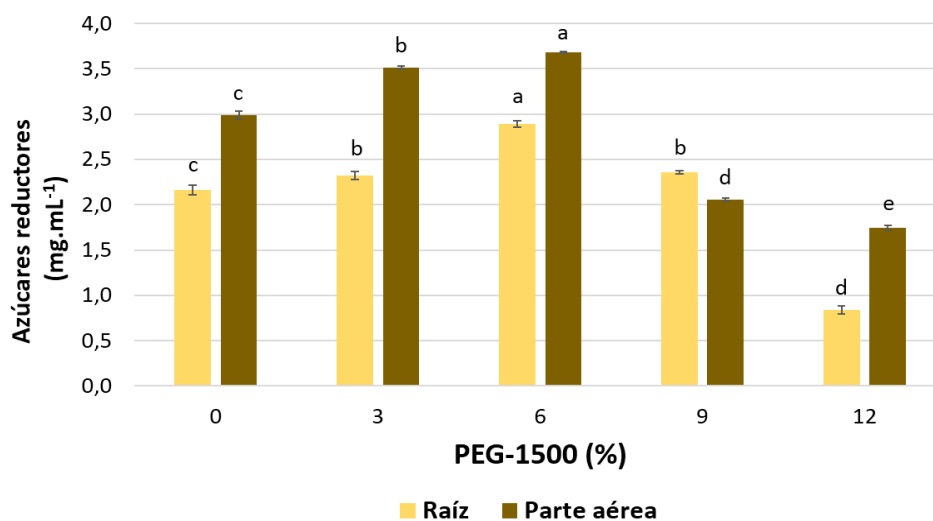


Figura 11. Contenido de azúcares reductores en raíz y parte aérea de plántulas de *Phaseolus vulgaris* L. var. Delicias 364 a los siete días de germinadas en condiciones de estrés hídrico. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo órgano, según Prueba de Student Newman-Keuls ($P \leq 0,05$).

El aumento en el contenidos de azúcares reductores en concentraciones medias de PEG-1500 en raíz y parte aérea, puede estar relacionado con un mecanismo fisiológico para compensar la diferencia de potencial hídrico entre los tejidos de las plántulas y el medio externo. Este puede a su vez estar asociado con un aumento en la actividad amilolítica de las células que permite la hidrólisis de las reservas de almidón en azúcares más pequeños para ejercer un control osmótico intracelular que según Rosabal *et al.* (2014) se conoce como el efecto del osmoacondicionamiento de las semillas para la tolerancia a estreses ambientales.

Por otra parte, la disminución observada en el contenido de azúcares reductores en las concentraciones elevadas de PEG, pudiera asociarse con un aumento de la respiración de mantenimiento en estas plántulas, es decir, con el objetivo de

mantener un nivel de actividad metabólica aumenta el consumo de azúcares para la obtención de energía para el recambio celular y la síntesis de proteínas, enzimas y otros compuestos que participan en la respuesta antiestrés. Reportes de Rojas (2017) indican que puede estar relacionado con la inactivación de la enzima α -amilasa la cual hidroliza el almidón. En correspondencia a lo planteado anteriormente, Li *et al.* (2017) obtuvieron una correlación positiva entre la actividad de la α -amilasa y las concentraciones de azúcares reductores en semillas de *Zea mays* L. tratadas con PEG-6000.

La Figura 12 muestra los contenidos de proteínas solubles totales en raíz y parte aérea, de plántulas de *P. vulgaris* var. *Delicias 364* germinadas en condiciones de estrés hídrico. De manera general el polietilenglicol afectó el metabolismo de las proteínas en los tejidos del vegetal. En las raíces no hubo diferencias entre el control y los tratamientos 3 y 6% de polietilenglicol, mientras que en 9 y 12% del agente osmótico se obtuvieron valores inferiores. Entre estos últimos tratamientos no hubo diferencias significativas.

En el caso de la parte aérea se evidenció una reducción en los niveles de proteínas en 3% de PEG con relación al control. En concentraciones superiores de polietilenglicol se observó una reducción superior en este indicador. Los valores más bajos se obtuvieron con 12% de PEG.

La disminución en la concentración de proteínas en los tejidos de las plántulas sometidas a estrés hídrico, puede estar relacionada con afectaciones en la maquinaria de biosíntesis de proteínas, así como en los procesos vitales como la respiración celular ya que una disminución en la tasa respiratoria implica una menor disponibilidad de energía metabólica para los procesos de síntesis. Esto está en concordancia con la reducción observada en azúcares reductores en los tratamientos de mayores niveles de polietilenglicol, los cuales pueden servir de sustratos respiratorios durante el proceso de respiración.

Por otra parte, una disminución en el proceso de respiración celular implica una menor concentración de ácidos orgánicos derivados del ciclo de Krebs que pueden

servir de materia prima para la síntesis de aminoácidos requeridos para la síntesis de novo de proteínas.

Otro factor que pudo influir en la disminución del contenido de proteínas, es un aumento de la actividad proteolítica que puede ocurrir en condiciones de estrés osmótico. La inactivación y modificación de proteínas y enzimas acción de las especies reactivas del oxígeno que atacan estas biomoléculas, puede activar los mecanismos de proteólisis que tienen una función importante en el recambio celular.

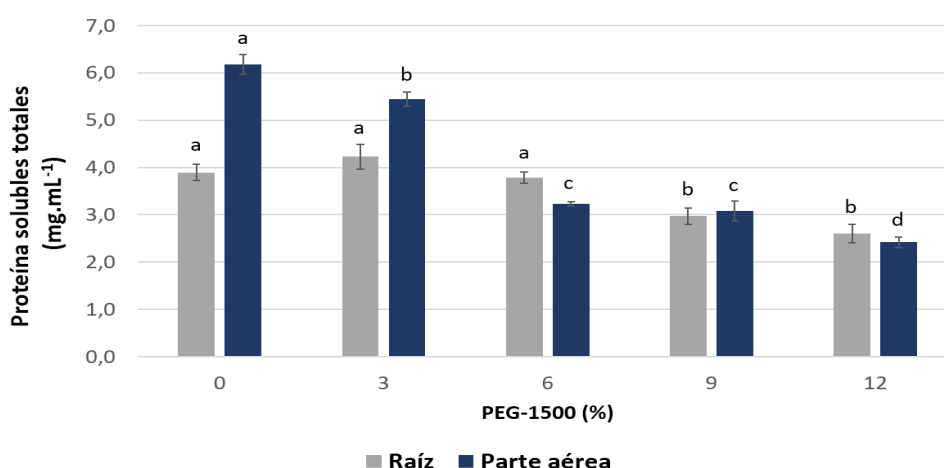


Figura 12. Contenido de proteínas solubles totales en raíz y parte aérea de plántulas de *Phaseolus vulgaris* L. var. *Delicias 364* a los siete días de germinadas en condiciones de estrés hídrico. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo órgano, según Prueba de Student Newman-Keuls ($P \leq 0,05$).

En un experimento similar realizado por Rojas (2017) con semillas de *Sorghum bicolor* (L.) Moench cv. UDG-110 en condiciones de estrés hídrico *in vitro* se observó una disminución del contenido de proteínas solubles totales con relación al control.

Swapna y Rajendrudu (2015) al evaluar las respuestas bioquímicas en la especie *Pongamia pinnata* (L.) sometidas a estrés hídrico con PEG-6000 a diferentes potenciales hídricos (0; -0,2; -0,5; -0,8 MPa), reportó una disminución del contenido de proteínas solubles totales con relación al control, sin embargo, la concentración

de azúcares y prolina libre aumentó significativamente. Este último resultado se asoció a mecanismos de defensa de las plántulas para contrarrestar el choque osmótico del medio.

El contenido de fenoles solubles en raíces y partes aéreas de plántulas de frijol germinadas en presencia de PEG se muestra en la Figura 13. Al analizar el comportamiento de las raíces se observaron disminuciones significativas en las diferentes concentraciones de polietilenglicol evaluadas. Los menores valores de fenoles solubles se obtuvieron en las mayores concentraciones de PEG en el medio. En el caso de la parte aérea no hubo diferencias entre el control y los tratamientos 3, 6 y 9% de PEG. En la mayor concentración del agente osmótico se evidenció una disminución de este valor con relación al resto de los tratamientos. Estos resultados indican un efecto negativo mayor en la raíces que en la parte aérea, lo cual puede estar asociado con el hecho de que las raíces son los órganos que están en contacto directo con la solución estresante.

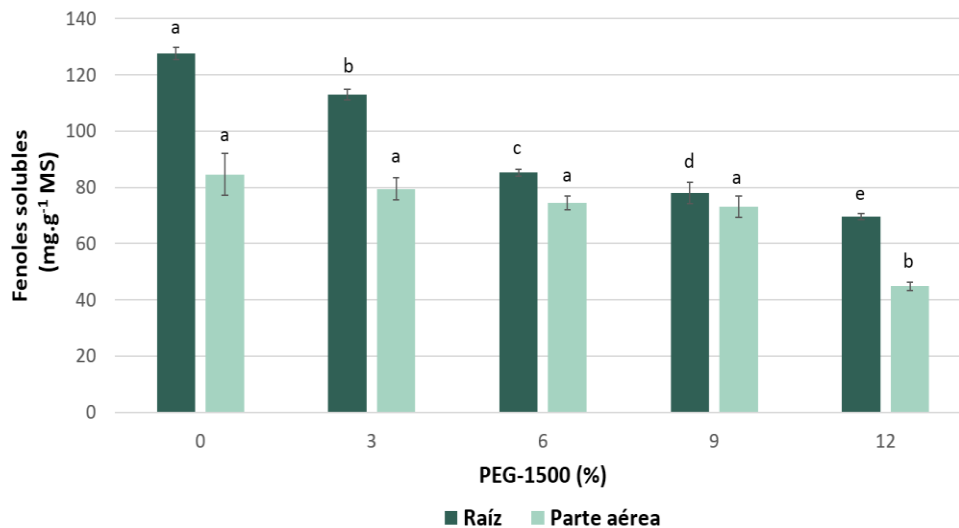


Figura 13. Contenido de polifenoles solubles en raíz y parte aérea de plántulas de *Phaseolus vulgaris* L. var. *Delicias 364* a los siete días de germinadas en condiciones de estrés hídrico. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo órgano, según Prueba de Student Newman-Keuls ($P \leq 0,05$).

El estrés hídrico provoca en las plantas una reducción del potencial hídrico de sus tejidos, al cual responden sintetizando una gran cantidad de compuestos denominados osmoprotectores que actúan bien como osmolitos, facilitando la retención de agua por el citoplasma o como verdaderos compuestos protectores que estabilizan la estructura de las membranas y de las macromoléculas. Los osmoprotectores son solutos compatibles con el funcionamiento celular, entre ellos se encuentran compuestos con átomos de nitrógeno en su molécula como la prolina y los compuestos con grupos hidroxilo como los azúcares y los polifenoles (Tadeo, 2000).

La disminución en el contenido de polifenoles solubles en las raíces que se presenta en la investigación puede estar relacionado con una disminución en la actividad de las enzimas que participan en la ruta biosintética de los fenoles, en especial de fenilalanina amonioliasa que tiene un papel central. Por otra parte, el hecho de que no se observaran cambios en la concentración de estos compuestos en la parte aérea, puede estar relacionado con el movimiento de los polifenoles hacia los tejidos superiores de la planta que son las estructuras que mostraron una mayor susceptibilidad al estrés hídrico. Este comportamiento fue similar a los reportes informados por Florido (2014) *Lycopersicon esculentum* sp ; Rojas (2017) *Sorghum bicolor* (L.) y Ojeda (2015) *Ocimum basilicum* L.

Numerosos son los autores que avalan que una adaptación adecuada durante la etapa de germinación al estrés hídrico, tienen un mejor crecimiento en la etapa de plántulas y posteriormente tendrán un sistema radical más resistente (Polón *et al.*, 2013; Ojeda *et al.*, 2013,2015; García *et al.*, 2015).

Como resultado de los cambios fisiológicos y bioquímicos que se producen ante condiciones de estrés hídrico, se afectan un gran número de procesos biológicos como la germinación, el crecimiento vegetativo, el vigor, la floración y la fructificación (Hassen *et al.*, 2014; El Goumi *et al.*, 2014; Kandil *et al.*, 2016; Moreno *et al.*, 2016).

Conclusiones

- El polietilenglicol (9-15%) redujo el porcentaje de germinación, la longitud de la raíz, hipocótilo, epicótilo y el vigor de las plántulas, afectándose el crecimiento de las estructuras vegetativas de la parte aérea.
- El contenido de carbohidratos y proteínas solubles totales, azúcares reductores y los polifenoles se afectaron con el incremento de las concentraciones de PEG-1500, lo cual sugiere un mecanismo bioquímico de respuesta antiestrés para atenuar los daños por estrés osmótico y oxidativo.
- El PEG-1500 influyó negativamente en la respuesta germinativa de *P.vulgaris* var. Delicias 364, lo que evidencia una susceptibilidad de la variedad en condiciones de estrés hídrico severo.

Recomendaciones

- Evaluar el comportamiento de otros genotipos de *Phaseolus* sp en la etapa germinativa y reproductiva, con el fin de discernir cuáles son tolerantes y susceptibles al estrés por sequía.
- Profundizar en el estudio de los mecanismos involucrados en la respuesta fisiológica y bioquímica de los cultivos como base indispensable del mejoramiento genético para la producción de plantas cultivables tolerantes o resistentes al déficit hídrico.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdellatif, K. and Zakaria A. 2012. Drought stress tolerance of faba bean as studied by morphological traits and seed storage protein pattern. *Journal of Plant Studies* 1 (2):47-54.
- Abdulla, R., Chan, E. and Ravindra,P. 2011. Biodiesel production from *Jatropha curcas*: a critical review. *Crit. Rev. Biotechnol.* 31: 53-64.
- Almas, E., Bagherikia, S. and Mashaki, K. 2013. Effects of Salt and Water Stresses on Germination and Seedling Growth of *Artemisia vulgaris* L. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences.* 6 (11): 762-765.
- Almodares, A., Hadi, M.R., Kholdebarin, B., Samedani, B. and Kharazian, Z.A. 2014. The response of sweet sorghum cultivars to salt stress and accumulation of Na⁺, Cl⁻ and K⁺ ions in relation to salinity. *J Environ Biol.*, 35 (4): 733-739.
- Álvarez, C. 2014. Comportamiento agroproductivo del cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) con diferentes frecuencia de aplicación del VIUSID agro. Tesis en opción al título de Ingeniera Agrónoma. Facultad Agropecuaria. Universidad de Sancti Spíritus "José Martí Pérez" Cuba.
- Aparecida, M. E. and Zambillo, P. S. 2009. Germination of Senra occidentales link: seed at different osmotic potential levels. *Brazilian Archiv. Biol. Technol.* 2:38-43.
- Arora, A., Sariram, R. y Srivastava, G. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science:* 82(10):1227-1238.
- Ashraf, M., Akram, F., Qurainy, M. and Flood, N. 2011. Drought tolerance: Roles of organic osmolytes, growth regulators and mineral nutrients. *Adv. Agron.* 111: 249-296.

- Azadi, M., Younesi, E. and Tabatabaei, S. 2013. Seed Germination, Seedling Growth and Enzyme Activity of Wheat Seed Primed under Drought and Different Temperature Conditions. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. 9(4): 310-318.
- Barrios, E., López, C., Kohashi, J. 2011. Relaciones hídricas y temperaturas altas en frijol del tipo “flor de Mayo”. *Agronomía Costarricense* 35(1): 131-145. ISSN 0377-9424 / disponible en: www.mag.go.cr/revagr/index.html . Consultado 21 de marzo 2018.
- Barrios, J., López, C., Kohashi, J., Acosta, J. A., Miranda, S. y Mayek, N. 1998. “Avances en el mejoramiento genético del frijol en México por tolerancia a temperatura alta y a sequía”. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 34 (4) :247-255.
- Basha, P., Sudarsanam, G., Reddy, M. and Sankar, N. 2015. Effect of PEG induced water stress on germination and seedling development of tomato germplasm. *International Journal of Recent Scientific Research*. 6 (5): 4044-4049.
- Basra, S., Farooq, M., Tabassam, R. and Ahmad, N. 2005. Physiological and biochemical aspects of pre-sowing seed treatments in fine rice (*Oryza sativa* L.). *Seed Science and Technology* 33 (3): 623-628.
- Batool, N., Ilyas, N., Noor, T., Saeed, M., Mazhar, R., Bibi, F. and Shahzad, A. 2014. Evaluation of drought stress effects on germination and seedling growth of *Zea mays* L. *International Journal of Biosciences* 5 (4): 203-209. ISSN: 2220-6655.
- Beaver, J. S., Godoy, G., Rosas, J. C. y Steadman, J. 2002 Estrategias para seleccionar frijol común con mayor resistencia a mustia hilachosa. *Agronomía Mesoamericana*. 13: 67-72.
- Behzad, J. and Tohidi, E. 2016. The Effects of Salicylic Acid (SA) on Germination and Seedling Growth of Sorghum (*Sorghum bicolor* L.) under

Drought Stress. *Biological, Environmental and Agricultural Sciences*. 01(01): 1-9.

- Benítez, R.2011. “Nuevas variedades de frijol común para la producción comercial en Cuba”, [en línea], En: *V Encuentro Internacional de Arroz, I Simposio de Granos*, La Habana, Cuba, pp. 109–110, Disponible en: https://scholar.google.com/scholar?q=Nuevas+variedades+de+frijol+com%C3%BAAn+para+la+producci%C3%B3n+comercial+en+Cuba&btnG=&hl=es&as_sdt=0%2C5, [Consulta: 26 de noviembre de 2017].
- Bogado, L. y Nakayama, H. Efecto del estrés hídrico inducido con PEG 6000 sobre el crecimiento in vitro de plantas de *Stevia rebaudiana* cv. ‘KH-IAN/VC-142’. *Biotecnología Vegetal* 16(3): 189 – 192.
- Boicet, T.2010. “Estrés hídrico y la distribución de características vegetativas y reproductivas en el genotipos de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L)”, En: *II Simposio de Ecofisiología Vegetal, XVII Congreso Científico Internacional del INCA*, La Habana, Cuba, p. 145.
- Boote, K., Allen, L., Prasad, P., Baker, J., Gesch, R., Snyder, A. 2005. Elevated temperature and CO₂ impacts on pollination, reproductive growth, and yield of several globally important crops. *Journal of Agricultural meteorology Japan* 60:469 474
- Bray, E. 2000. Abscisic acid regulation of gene expression during water deficit stress in the era of Arabidopsis genome. *Plant, Cell and Environment*. 25:153-161.
- Cabrera, M. 2011. Comportamiento de algunas variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L) bajo condiciones edafoclimáticas adversas. *V Encuentro Internacional de Arroz*. Palacio de las Convenciones, La Habana.
- Carabeo, A. 2015. Respuesta de genotipos de *Phaseolus vulgaris* L. en condiciones inducidas de estrés térmico, hídrico y salino. Tesis en opción al

título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Facultad de Ciencias agropecuarias.

- Carmo, A.; Bernardes, A.; Keys, J.; Parry, A. J. y Arrabaca, Maria C. 2008. The activities of PEP carboxylase and the C₄ acid decarboxylases are little changed by drought stress in three C₄ grasses of different subtypes. *Photosynth. Res.*, 2008 7,:223-233.
- Caverzan, A., Casassola, A. and Brammer, S. 2016. Antioxidant responses of wheat plants under stress. *Genetics and Molecular Biology*. 39 (1): 1-6.
- Chen, J., Spear, S. K., Huddleston, J. G. y Rogers, R. D. 2005. Polyethylene glycol and solutions of polyethylene glycol as green reaction media. *Green Chemistry*. 7: 64-82.
- CNULD. 2013. Desertificación, degradación de tierras y sequía (DDTSl) Datos y cifras mundiales.
- Conveca, L. 2011. Monografía del Fríjol. Comisión Veracruzana de Comercialización Agropecuaria [en línea]. Disponible en <http://ww.oeidrus-veracruz.gobmx>. [Consulta: diciembre, 2017].
- Dávila, R. 2010. Folleto: *Frijol más resistente a la sequía*. Chalatenago, Nicaragua, 58 pág.
- Deepika, U., Manogya, P. and Preeti, S. 2015. Influence of salinity on morpho-physiological characters of german chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(10): 762-775.
- Del Rio, L. 2015. "ROS and RNS in plant physiology: an overview." *J Exp Bot*. 66(10): 2827-2837.
- Delouche, J. 2002. Germinación, deterioro y vigor de semillas. *Seed News* Disponible en

http://www.seednews.inf.br/espanhol/seed66/artigocapa66_esp.shtml

(Consulta: enero, 2018).

- Desai, B. 2004. Seed Handbook, Biology, Production, Processing, and Storage. Second edition. Marcel Dekker, INC. USA. pp. 787.
- Djavanshir, K. and Pourbeik, H. 1976. Germination value-a new formula. *Silvae Genetica*. 25:79-83.
- Domínguez, A., Pérez, Y., Alemán, S., Sosa, M., Fuente, L., Darías, R., Demey, J., Rea, R., Sosa, D. 2014. Respuesta de cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. al estrés por sequía. *Biotecnología Vegetal*. 14 (1): 29-36
- Duan, J. and Cai, W. 2017. OsLEA3-2, an abiotic stress induced gene of rice plays a key role in salt and drought tolerance. *PLoS One*. 79: 110-117.
- Dubois, M., Gilles, A., Hamilton, J., Rebers, P. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substance. *Anal. Chem*. 28:350-356.
- Dubrencq, B.; Bergen, N.; Vincent, E.; Borsson, M.; Caboche. M. and Lepiniec, L. 2000. The Arabidopsis AT EDRI entensin-like gene is specifically expressed in endosperm during seed germination. *Plant J*. 23:643-652.
- El Goumi, Y., Fakiri, M., Lamsaouri, O. and Benchekroun, M. 2014. Salt stress effect on seed germination and some physiological traits in three Moroccan barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *J. Mater. Environ. Sci*. 5 (2): 625-632.
- Emam, Y.; Shekoofa, A.; Salehi, F. y Jalali, A. 2013. Water stress effects on two common bean cultivars with contrasting growth habits. *Am Eur J Agric Environ Sci*. 9: 495- 499.
- Erice, G., Louahlia, S., Irigoyen, J. J., Sánchez, M. y Avice, C. 2014. Biomass partitioning, morphology and water status of four alfalfa genotypes submitted to progressive drought and subsequent recovery. *Journal of plant physiology*. 167: 114-120.

- Expósito, R. y García; N. 2011. Comportamiento productivo de cultivares de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L) en la Cooperativa de Créditos y Servicios "José Manuel Rodríguez" del Municipio Jesús Menéndez. Revista académica de economía. ISSN 1696-8352.
- FAO. 2016. Producción Mundial de Frijol. [En línea] Disponible desde. [Consultado: enero, 2018]
- Faure, B., Benítez, R., León, N., Chaveco, O. y Rodríguez, O. 2013. Guía técnica para el cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) Editora Agroecológica, Artemisa, Cuba. 35 p. ISBN 978-959-7210-67-2.
- Florido, M. 2014. Tolerancia a estrés por déficit hídrico en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) Cultivos tropicales. 35 (3). La Habana.
- Flowers, T.J. and Muscolo, A. 2015. "Introduction to the Special Issue: Halophytes in a changing world." AoB Plants. 7: 1-12.
- Foyer, Ch. 1993. Feedback inhibition of photosynthesis through source-sink regulation in leaves. Plant Physiol Biochem. 26:483-492.
- Gan, Y., Angadi S., Cutforth H., Potts, D., Andagl V. y McDonald C. 2004. Canola and mustard response to short periods of high temperature and water stress at different developmental stages. Canadian Journal of Plant Science 84:697-704
- García, L., Leiva, M., Carabeo, A., Collado, R., Poveda, I., Martínez, N., Martirena, A. 2015. Efecto del estrés hídrico inducido con PEG 6000 sobre la germinación *in vitro* de semillas de *Phaseolus vulgaris* L. cv. 'ICA Pijao' Artículo original Biotecnología Vegetal. 15(4): 243 – 249.
- García, M. 2011. Efecto de la sequía en el rendimiento del cultivo del frijol [en línea]. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos94/efecto-sequia-rendimiento-del-cultivo-del-frijol/efecto-sequia-rendimiento-del-cultivo-frijol.shtml>. [Consulta: febrero, 2018].

- Gepts, P. y Debouck, D. 1991. Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Common beans: research for crop improvement. 7-53.
- Gharoobi, B., Ghorbani, M. and Nezhad, M. 2012. Effects of different levels of osmotic potential on germination percentage and germination rate of barley, corn and canola' Iranian Journal of Plant Physiology. 2 (2): 413-417.
- González, T., Mendoza, H., Covarrubias, P., Morán, V. y Acosta, G. 2008. Rendimiento y calidad de semilla de frijol en dos épocas de siembra en la región del Bajío. Agric. Téc. Méx. 34: 421-430.
- Guía, Y. 1998. Evaluación y selección in vitro para la tolerancia a la sequía de la caña de azúcar. Tesis. CNIC. 45p
- Gunton, J. y Evenson, J. 1980. Moisture stress in navy beans. I. Effect of withholding irrigation at different phenological stages on growth and yield. Irrigation Science 2: 49-58
- Gurr, S.I., Mc Pherson, M.I. and Bowles, D.J. 1992. Lignin and associated phenolic acids in cell walls. Molecular Plant Pathology and Practical Approach. 3: 62-69.
- Haghghi, L., Majd, A., Nematzadeh, G., Shokri, M., Kelij, S., Irian, S. 2014. Salt-induced changes in cell wall peroxidase (CWPRX) and phenolic content of *Aeluropus littoralis* (Willd) Parl. AJCS. 8 (2): 296-300.
- Hall, A. 2004. "Breeding for adaptation to drought and heat in cowpea", European Journal of Agronomy, 21: 447-454.
- Hamidi, H. y Safarnejad, A. 2010. Effect of drought stress on alfalfa cultivars (*Medicago sativa* L.) in germination stage. Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci. 8: 705-709.
- Hassen, A., Maher, S. and Cherif, H. 2014. Effect of Salt Stress (NaCl) on Germination and Early Seedling Parameters of Three Pepper Cultivars

(*Capsicum annuum* L.). *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 10 (1): 14-25.

- Hinojosa, O., Pamela, L., Carrillo, Y., Glen, E. 2013. Reprint of: Effects of drought on birds and riparian vegetation in the Colorado River Delta, Mexico. *Ecological Engineering* 59: 104–110.
- Hirayama, T. y Shinozaki, K. 2010. Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. *The Plant Journal*. 61:1041-1052.
- Hu, L., Li, H., Pang, H. and Fu, J. 2012. Responses of antioxidant gene, protein and enzymes to salinity stress in two genotypes of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) differing in salt tolerance. *J Plant Physiol.*, 169 (2): 146-156.
- Hussain, K., Farrukh, M., Majeed, A., Nawaz, K., Hayat, K., Afghan, S. y Shahzad, Z. 2008. What molecular mechanisms adapted by plants during salt stress tolerance? *Afric. J. Biotech.* 9(4): 416-422.
- International Seed Testing Association (ISTA). 2010. International rules for seed testing, Seed vigor testing. Chapter 15: 1–57.
- Jager, C.; Symons, M.; Ross, J. y Reid, B. 2008. Do brassinosteroids mediate the water stress response? *Physiol. Plant.* 133: 417-425.
- Jain, Ch. and Saxena, R. 2016. Varietal differences against PEG induced drought stress in cowpea. *Octa Journal of Environmental Research*. 4(1): 058-062. ISSN 2321 3655.
- Kadkhodaie, A. y Bagheri, M. 2011. Seed Treatment during Germination in Linseed to Overcome Salt and Drought Stresses (*Linum usitatissimum* L.). *World Academy of Science, Engineering and Technology* 73: 373-377.
- Kandil, A.A., Sharief, A.E. and Sharief, S.A. 2016. Effect of salinity stress on seedlings parameters of some canola. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*. 8 (2): 10-18.

- Kavi, P. B. K.; Sangam, S.; Amrutha, R. N.; Laxmi, P. S.; Naidu, K. R.; Rao, K.; Rao, S.; Reddy, K. J. y Sreenivasulu, N. 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Curr. Sci.* 88:424-438.
- Kerton, F. M. y Marriott, R. 2013. *Alternative solvents for green chemistry*: Royal Society of chemistry.
- Khaton, M.A., Sagar, A., Tajkia, J.E., Islam, M.S., Mahmud, M.S. and Hossain, Z. 2016. Effect of moisture stress on morphological and yield attributes of four sorghum varieties. *Progressive Agriculture*. 27 (3): 265-271.
- Kulkarni, M. 2014. In vitro screening of tomato genotypes for drought resistance using poliethylen-glicol. *African J. Biotech.* 9(6):691-696.
- Kumar, P.M. and Chand, U.B. 2015. Influence of salt stress on enzymatic and non-enzymatic antioxidant activity during hardening of a vegetatively propagated mangrove species *Excoecaria agallocha* L. *Asian Journal of Plant Science and Research*. 5 (8): 4-10.
- Kumar, R., Chaudhary, P., Nimesh, S. y Chandra, R. 2006. Polyethylene glycol as a non-ionic liquid solvent for Michael addition reaction of amines to conjugated alkenes. *Green Chem.* 8: 356 - 358.
- Kumar, S., Gokulakrishnan, J., Sathiyarayanan, G. and Prakash, M. 2016. Impact of Osmotic Stress on Seed Germination and Seedling Growth in Mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *International Journal of Tropical Agriculture*. 34 (3): 645-652. ISSN: 0254-8755.
- Kumari, S., Malvika, S. and Parveen, A. 2014. Response of *Tephrosia purpurea* L. to salinity stress in relation to germination, carotenoid and proline content. *An International Quaterly Journal of Biology and Life Sciences*, 2 (1): 276-281.

- Lakshmi, P.; Satish, K.; Tran, L. y Nguyen, H. Physiological and molecular approaches to improve drought resistance in soybean. *Plant & Cell. Physiol*, 2009, vol. 50, no. 7, pp. 1260-1276.
- Leport L., Turner N., Davies S., Siddique, K. 2006. Variation in pod production and abortion among chickpea cultivars under terminal drought. *European Journal of Agronomy* 24:236-246.
- Li, W., Zhang, X., Ashraf, U., Mo, Z., Suo, H. and Li, G. 2017. Dynamics of seed germination, seedling growth and physiological responses of sweet corn under PEG-induced water stress. *Pak. J. Bot.* 49 (2): 639-646. *Avanzada Científica.* 17: 53-67.
- Lorigados, S. M., Rosas-Sotomayor, J. C., Rocha, L. L. A., Pérez, R. O., Brito, M. P. y Labrada, R. 2006. Análisis molecular de la diversidad genética de frijol común manejada por campesinos en Cuba. *Agronomía Mesoamericana.* 17: 369-382
- Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A. and Randall, R. 1951. Protein measurement the Folinphenol reagent. *J Biol Chem.* 93: 265-275.
- Maggio, A., Hasegawa, Pressan, R., Consiglio, M. Joly, R.J. 2001. Unraveling the functional relationship between root anatomy and stress tolerance. *Functional Plant Biology.* 28:999-1004.
- Mahajan, S and Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Arch Biochem, Biophys.* 444:139-158.
- Marcaida, M., Tao Li, A., Gio, K., Marfel, A., Jianlong, X., Yongming, G., Zhikang, L., Jauhar, A. 2014. Biomass accumulation and partitioning of newly developed Green Super Rice (GSR) cultivars under drought stress during their productive stage. *Field Crops Research* 164: 30–38.

- Martínez, J. 2015. Consideraciones sobre la importancia del muestreo en los estudios de la domesticación de plantas: el caso del frijol lima (*Phaseolus lunatus*) en México. Herbario CICY7:17-22.
- Masaya, P. y White, J. 1991, "Adaptation to photoperiod and temperature", in; A. Van Shoonhonen and O. Voysest (eds.), Common beans: Research for crop improvement, CIAT, Cali, Colombia. pp. 445-500.
- McDonald, M. 2013. Seed Biology Program, in Physiology of Seed Germination. Consortium for International Seed Technology Training (CISTT).
- Mendoza, A. 2013. Estrategias para el uso de los mecanismos naturales de tolerancia al estrés en plantas. Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coah. 25315 México. pp. 1-9.
- Meriño, Y., Boudet, A., Boicet, T., Amado, E., Guevar, L., Jorge, A., Oduardo, R. 2015. Rendimiento y tolerancia a la sequía de seis variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en condiciones de campo. Centro Agrícola, 42(1):69-74.
- Miller, G. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31: 426-428.
- Miller, G.; Suzuki, N.; Ciftci-Yilmaz, S. y Mittler, R. 2008. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. Plant Cell Environ. 33 (4):453-67.
- Mishra, A., Rai, R. and Agrawal, S. 2013. Individual and interactive effects of elevated carbon dioxide and ozone on tropical wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars with special emphasis on ROS generation and activation of antioxidant defense system. Indian J Biochem Biophys 50:139-149.

- Mohammadkhani, N. and Heidari, R. 2008. Water stress induced by polyethylene glycol 6000 and sodium chloride in two maize cultivars. *Pakistan J. Biol. Sci.* 11:92-97.
- Morales, M., Peña, C., García, A., Aguilar, G., Kohashi, J. 2016. Cecilia b. Características físicas y de germinación en semillas y plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Silvestre, domesticado y su progenie. *Revista Agrociencia* 51: 43-62.
- Moreno, L.; Reyes, M., Gómez, R.; Rodríguez, M. y Chong, B. 2016. Effect of hydric stress induced by PEG 6000 on water content of *Musa* spp. 'Grande naine' (AAA) and 'Pelipita' (ABB) *in vitro* plants *Biotechnología Vegetal* 15(4): 251 - 254,
- Muhamba, G. and Nchimbi, S. 2010. Diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes in iron and zinc contents under greenhouse conditions. *African Journal of Agricultural Research*, 5(8):738-747.
- Muller, B., Pantin, F., Génard, M., Turc, O., Freixes, S., Piques, M., Gibon, Y. 2011. Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. *J. Exp. Bot.* 62:1715-1729.
- Munns, R y M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev. Plant Biol.*, 59:651-81
- Murillo, O. 1998. Variación en parámetros de germinación de una población natural de *Alnus acuminata* de Guatemala. *Boletín Mejoramiento Genético y Semillas Forestales*. 19:4-8.
- Muscolo, A., Sidari, M., Anastasi, U., Santonoceto, C. and Maggio, A. 2014. Effect of PEG-induced drought stress on seed germination of four lentil genotypes, *Journal of Plant Interactions*, 9 (1): 354-363. DOI: 10.1080/17429145.2013.835880.

- OECD. 2016. Common bean (*Phaseolus vulgaris*), in Safety Assessment of Transgenic Organisms in the Environment. Volume 6: OECD Consensus Documents, OECD Publishing. Paris. <http://dx.doi.org/10.1787/9789264253421-7-en> (Consulta: Mayo 2018)
- Oficinal Nacional de Estadística e Información (ONEI). 2016. Anuario estadístico de Cuba. Disponible en: <http://www.one.cu/aec2016.htm> Consultado 12/02/2018.
- Ojeda, C., Murillo, B., Nieto, A., Troya, E., Reynaldo, I., Ruiz, F. 2015. Emergencia y crecimiento de plántulas de variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) sometidas a estrés hídrico.
- Ojeda, C.; Murillo, B.; Reynaldo, I., Troyo, E., Ruiz, H y Nieto, A. 2013. Water stress on germination and seedling growth of genotypes of sweet basil *Ocimum basilicum* L. Rev. Mex. Cienc. Agríc (4): 2.
- Ojeda, C. 2015. efecto de un producto bioactivo compuesto por oligogalacturónidos como mitigador del estrés hídrico en variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L) Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo.
- Omae, H., Kumar, A. y Shono, M. 2012. Adaptation to High Temperature and Water Deficit in the Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during the Reproductive Period [en línea]. Disponible en: <http://www.hindawi.com/journal>. [Consulta: marzo, 15, 2018].
- Padilla, S., Osuma, S., Martínez, M.A. y Acosta, A. 2011. Rendimiento de grano frijol bajo temporal y riego en dos fechas de siembra. XI simposio Internacional y VI Congreso Nacional Agricultura Sostenible. San Luis Potosí.
- Passioura, J. 2002. Environmental plant biology and crop improvement. *Funct. Plant Biol.* 29:537-546

- Peña, C., C. Trejo, R. Celis, A. López, O. 2013. Reacción del frijol silvestre (*Phaseolus vulgaris* L.) a la profundidad de siembra. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 4: 89-102.
- Pérez, E. 2012. Respuesta de nueve cultivares de musáceas en la etapa vegetativa a cuatro niveles de sombra agroforestal. Tesis Magister Scientiae, Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza (CATIE), Costa Rica. 83 p
- Placencio, D. M. y Núñez, O. M. 2002. Búsqueda de genotipos de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) con resistencia al Quail pea mosaic virus. Revista de la Facultad de Agronomía. Plant Ecology:7-19.
- Polanía, J., Rao, I., Beebe, S., García, R. 2009. Desarrollo y distribución de raíces bajo estrés por sequía en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en un sistema de tubos con suelo. Root development and distribution under drought stress in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in a soil tube system. Agronomía Colombiana 27(1): 25-32.
- Polón, P., Miranda, C., Ramírez, A., Maqueira, L. 2014 "Efectos del estrés de agua sobre el rendimiento de granos en la fase vegetativa en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)", *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 23(4): 33-36, 2014, ISSN: 2071-0054.
- Polón, R., Miranda, A., Maqueria, L., Ramírez, M. 2013. Efecto de diferentes intensidades de estrés hídrico en la fase vegetativa en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) *Revista Cie TécAgr* 22(4).
- Porch, T., Ramírez, V., Santana, D., Harmsen, E. 2009. Evaluation of common bean for drought tolerance in Juana Diaz, Puerto Rico. *Journal of Agronomy & Crop Science* 195:328-334.
- Porrata, C., Hernández, T., Abuín, L., Campa, C., Pianesi, M. 2008. Caracterización y evaluación nutricional de las dietas macrobióticas Ma-Pi. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* 27: 34.

- Racchi, M. 2013. Antioxidant defenses in plants with attention to *Prunus* and *Citrus* spp. *Antioxidants*. 2: 340-369.
- Rahaie, M., Xue, G. and Schenk, P. 2013. The role of transcription factors in wheat under different abiotic stresses. In: Vahdati K and Leslie C (eds) *Abiotic Stress - Plant Responses and Applications in Agriculture*. InTech, Rijeka, Croatia, pp 367-385.
- Rai, M., Kalia, K., Singh, R., Gangola, M. and Dhawan, A. 2013. Developing stress tolerant plants through in vitro selection—an overview of the recent progress. *Environmental and Experimental Botany* 71: 89-98
- Ramírez, J. y Rangel, I. 2011. El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. *Revista Fuente Año*.
- Rao, A., Ahmad, S.D., Sabir, S.M., Awan, S.I., Shah, A.H., Abbas, S.R., Shafique, S., Khan, F. and Chaudhary, A. 2013. Potential antioxidant activities improve salt tolerance in ten varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Am J Plant Sci*. 4:69-76.
- Rashidi, V. 2011. Drought effects on morphological traits of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. *Annals of Biological Research*. 2
- Reyes, J., Martínez, D., Rueda, R. y Rodríguez, T. 2014. Efecto del estrés hídrico en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en condiciones de invernadero. *Revista Iberoamericana de Ciencias* 1(2):45-52.
- Robles, A. 2011. Sobrevivir al estrés: cómo responden las plantas a la falta de agua. *Biotecnología*. 14: 253-262.
- Robles, A. 2007. Sobrevivir al estrés: cómo responden las plantas a la falta de agua. *Biotecnología*. 14:253-262.
- Rodríguez, O., Chaveco, O., Ortiz, R., Ponce, M., Ríos, H., Miranda, S., Días, O., Portelles, Y., Torres, R. y Cedeño, L. 2006. Evaluación del comportamiento de líneas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) resistentes

- a la sequía; en condiciones de riego y sin riego e incidencia de enfermedades. *Temas de Ciencia y Tecnología*. 13: 19-30.
- Rojas, L. 2017. Respuesta germinativa de *Sorghum bicolor* (L.) Moench cv. UDG-110 en condiciones de estrés hídrico Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo.
 - Rosabal, I., Martínez, I., González, Y., Reyes, C., Dell'Amico., Núñez, M. 2014. Aspectos fisiológicos, bioquímicos y expresión de genes en condiciones de déficit hídrico. Influencia en el proceso de germinación. *Cultivos tropicales*.35 (3):74-80.
 - Saibo, N. J. M.; Lourenço, T. y Oliveira, M. M.2012. Transcription factors and regulation of photosynthetic and related metabolism under environmental stresses. *Annals of Botany*, 103,:609-623.
 - Sánchez, M. J., Álvarez, S., Navarro, A. y Bañón, S. 2010. Changes in leaf water relations, gas exchange, growth and flowering quality in potted geranium plants irrigated with different water regimes.
 - Santhanakrishnan, D., Kannan, R.P. and Chandrasekaran, B. 2014. Effect of tannery soaking water on antioxidant enzymes of *Salicornia brachiata*. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 3 (2): 359-367.
 - Schulze, E., Beck, E. y Muller-Hohenstein, K. 2005. *Stress Physiology*.
 - Shafiq, S.,Akram,N. and Ashraf, M. 2015. Does exogenously applied trehalose alter oxidative defense system in the edible part of radish (*Raphanussativus*L.) under water-deficit conditions? *Sci.Hortic.*, 185: 68-75.
 - Shereen, A., Mumtaz, S., Raza, S.,Khan, M., Solangi, S. 2005.Salinity effects on seedling growth and yield components of different inbred rice lines. *Pak J Bot* 37 (1): 131-139
 - Sigarroa, A. 1985. *Biometría y diseño experimental*. Editorial Pueblo y Educación, 733 p.

- Silva, P., Santos, L., Duarte, H., Bastos, T., Aparecida, C. and Pereira, W. 2014. Effect of Osmotic Stress on the Initial Development of Bean Seedlings. *American Journal of Plant Sciences*. 5: 1973-1982.
- Singh, S. and Reddy, K. 2011. Regulation of photosynthesis, fluorescence, stomatal conductance and water-use efficiency of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) under drought. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 105: 40-50.
- Singh, S. P. 1996 Progreso, problemas y el futuro del mejoramiento de frijoles mesoamericanos y la mejora genética integrada. Singh, Shree P; Voyses V., Oswaldo (eds.). Taller de Mejoramiento de Frijol para el Siglo XXI: Bases para una Estrategia para América Latina (Cali, Colombia). [Trabajos presentados].
- Smirnoff, N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation (Tansley Review No. 52). *New Phytol.* 125, 27-58. Doi: 10.1111/j.1469-8137.1993.tb03863.
- Soheilikhah, Z., Karimi, N., Ghasmpour, H. and Zebarjadi, A. 2013. Effects of saline and mannitol induced stress on some biochemical and physiological parameters of *Carthamus tinctorius* L. varieties callus cultures. *AJCS*. 7(12): 1866-1874. ISSN:1835-2707.
- Solorzano, E. 1994. El cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Univ. De Chapingo (Ed.) México. 498
- Srivastava, N. and Kumar, G. 2014. Influence of water deficit on morphological characteristics of green manure crop (Dhaincha) *Sesbeniasbanpoir*. *Unique J. Pharm. Biol. Sci.*, 2(3): 15-18.
- Suárez, A. D., Hernández, Y. P., del Castillo, M. S., del Castillo, D. S. y Suárez, R. R. 2014. Efecto del estrés hídrico sobre la germinación de genotipos de frijol común en condiciones experimentales de sequía.

- Suárez, A., Hernández, Y., Castillo, M. y Suárez, R. 2016. Efecto del estrés hídrico sobre la germinación de genotipos de frijol común en condiciones experimentales de sequía. *Avanzada Científica* 17: 53-67
- Swapna, B. and Rajendrudu, G. 2015. Seed Germination of *Pongamia pinnata* (L.) Pierre under Water Stress *Research Journal of Recent Sciences*. 4(6): 62-66.
- Szabados, L. y Savoure, A. 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*. 15(2) pp. 89-97.
- Tadeo, F. 2000. Fisiología de las plantas y el estrés. En: *Fundamentos Fisiología Vegetal* (J. Azcón-Bieto, M. Talón), Ed. McGraw-Hill Interamericana-Ediciones de la Universidad de Barcelona, Madrid-Barcelona, pp. 481-490.
- Taiz, L. and Zeiger, E. 2006. *Plant Physiology*, 4th Ed. Sinauer, Sunderland, M. A. 660 p.
- Thiam, M., Champion, A., Diouf, D., Oureye, M. 2013. NaCl effects on *in vitro* germination and growth of some senegalese cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) cultivars. *ISRN Biotechnology*: 1-11.
- Thompson, A. J.; Andrews, J.; Mulholland, B. J.; McKee, J. M. T.; Hilton, H. W.; Horridge, J. S.; Farquhar, G. D.; Smeeton, R. C.; Smillie, I. R. A.; Black, C. R. y Taylor, I. B. 2007. Overproduction of abscisic acid in tomato increases transpiration efficiency and root hydraulic conductivity and influences leaf expansion. *Plant Physiol*. 143: 1905-1917.
- Treviño, C. y Rosas, R. 2013. El frijol común: factores que merman su producción. *Revista de divulgación científica y tecnología de La Universidad Veracruzana*. 26 (1): 65-71.
- Tripathy, B.C. y R. Oelmüller. 2012. Reactive oxygen species generation and signaling in plants. *Plant Signal. Behavior* 7(12), 1621-1633. Doi: 10.4161/psb.22455

- Tsago, Y., Andargie, M. and Takele, A. 2013. *In Vitro* Screening for Drought Tolerance in Different Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench Varieties. Journal of Stress Physiology & Biochemistry. 9 (3): 72-83.
- Tujeda, N. 2007. Mechanism of high salinity tolerance in plants. Met. Enzymol. 426: 419-438.
- Turner, N.; Wright, G. y Siddique, K. 2010. Adaptation of grain legumes (pulses) to water limited environments. Adv. Agron. 71:193-23.
- Valdés, L. 2017. Efecto del Quitomax en el crecimiento del cultivo del frijol en las primeras etapas de crecimiento. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo.
- Valladares, C. 2010. Taxonomía y Botánica de los Cultivos de Grano. In: Serie Lecturas Obligatorias: Taxonomía, Botánica y Fisiología de los cultivos de grano. Universidad Nacional Autónoma de Honduras. Centro Universitario Regional del Litoral Atlántico. Departamento de producción vegetal
- Vashisth, A. and Nagarajan, S. 2010. Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (*Helianthus annuus*) seeds exposed to static magnetic field. Journal Plant Physiology. 67: 149-156.
- Vivanco, M., Zamar, M. y Sosa, M. 2011. Clave ilustrada para la identificación de larvas y adultos de trips (Insecta: Thysanoptera) presentes en el cultivo de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.) en Jujuy y Salta Argentina.
- Wilkinson, S. y Davies, W. J. 2010. Drought, ozone, ABA and ethylene: New insights from cell to plant to community. Plant Cell Envir. 33 : 510-525.
- Wilkinson, S.; Kudoyarova, G. R.; Veselov, D. S.; Arkhipova, T. N. y Davies, W. J. Plant hormone interactions: innovative targets for crop breeding and management J. Exp. Bot., 2012, vol. 63, pp. 3499-3509.
- Wu, F., Bao, W., Li, F. y Wu, N. 2008. Effects of drought stress and N supply on the growth, biomass partitioning and water-use efficiency of *Sophora davidii* seedlings. Environmental and Experimental Botany. 63: 248-255

- Zeid, I. 2004. Response of bean (*Phaseolus vulgaris*) to exogenous putrescine treatment under salinity stress. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 7 (2):219-225.
- Zeng, L. and Shannon, M. 2000. Salinity effects on seedling growth and yield components of rice. *Crop Sci* 40 (4): 996–1003.
- Zhang, M. and Outlaw. 2008. Effects of plant growth regulators on water deficit-induced yield loss in soybean. In: *Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, Brisbane, Australia* : 252- 256.
- Zhang, M., Duan, L., Zhai, Z., Li, J., Tian, X., Li, Z. 2008. Effects of plant growth regulators on water deficit-induced yield loss in soybean. *Proceedings of the 4th International Crop Science Congress*, pp. 252-256. Bris.
- Zhu, J. 2003. Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current Opinion in Plant Biology*. 6: 441–445.
- Zhu, J.; Ingram, P. A.; Benfey, P. N. y Elich, T. 2011. From lab to field, new approaches to phenotyping root system architecture. *Current opinion in plant biology*. 14: 310-317.
- Zushi, K. 2009. Seasonal and cultivar differences in salt-induced changes in antioxidant system in tomato. *Sci. Hort* 120 :181-187.
- .
-