

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



**APLICACIÓN FOLIAR DE SUSTANCIAS QUÍMICAS A PLANTAS DE
FRIJOL (*phaseolus vulgaris* L.) PARA MITIGAR EL ESTRÉS HÍDRICO.**

POR

JORGE LUIS GALLEGOS RODRÍGUEZ

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO
DE:**

INGENIERO AGRÓNOMO

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

MAYO DE 2017

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**

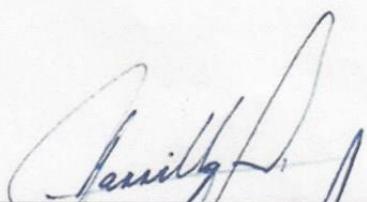
**APLICACIÓN FOLIAR DE SUSTANCIAS QUÍMICAS A PLANTAS DE FRIJOL
(*Phaseolus vulgaris* L.) PARA MITIGAR EL ESTRÉS HÍDRICO.**

**TESIS DEL C. JORGE LUIS GALLEGOS RODRIGUEZ, QUE SE SOMETE A
CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

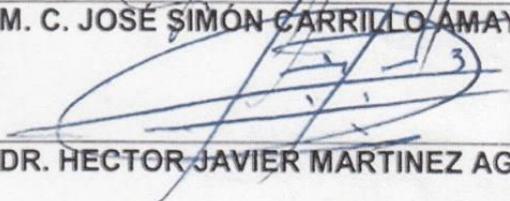
INGENIERO AGRÓNOMO

COMITÉ EXAMINADOR:

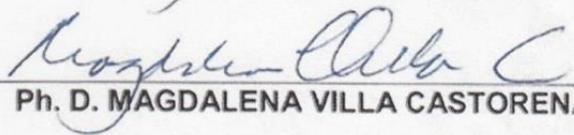
PRESIDENTE


M. C. JOSÉ SIMÓN CARRILLO AMAYA

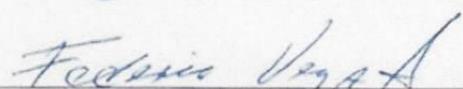
VOCAL


DR. HECTOR JAVIER MARTINEZ AGÜERO

VOCAL


Ph. D. MAGDALENA VILLA CASTORENA

VOCAL SUPLENTE


M.C. FEDERICO VEGA SOTELO


M.E. VÍCTOR MARTÍNEZ CUETO

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

MAYO DE 2017



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**

**APLICACIÓN FOLIAR DE SUSTANCIAS QUÍMICAS A PLANTAS DE FRIJOL
(*Phaseolus vulgaris* L.) PARA MITIGAR EL ESTRÉS HÍDRICO**

**TESIS DEL C. JORGUE LUIS GALLEGOS RODRIGUEZ, ELABORADA BAJO
SUPERVISIÓN DEL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORÍA Y APROBADA
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

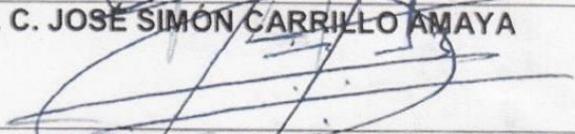
INGENIERO AGRÓNOMO

COMITÉ PARTICULAR:

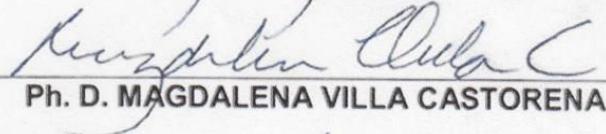
ASESOR PRINCIPAL


M. C. JOSÉ SIMÓN CARRILLO AMAYA

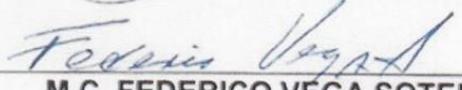
ASESOR


DR. HECTOR JAVIER MARTÍNEZ AGUERO

ASESOR


Ph. D. MAGDALENA VILLA CASTORENA

ASESOR


M.C. FEDERICO VEGA SOTELO


M.E. VÍCTOR MARTÍNEZ CUETO

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

MAYO DE 2017

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitirme llegar a este punto de mi vida y poder concluir mis estudios.

A mi familia, mis padres, abuelos, hermanos, sobrina e hijo. Por estar siempre, por el apoyo incondicional de cada uno de ellos, consejos, orientación y palabras de aliento para lograr mis objetivos en la vida.

A mis amigos, quienes formaron gran parte en el proceso de preparación en mi persona. Gracias amigo **Jesús Emanuel Morales** por la hospitalidad y ánimos al comienzo de mi carrera. **Beatriz Ayala Milán** por esas pláticas de aliento para siempre querer llegar a más, gracias.

A mis profesores, por haberme dado las bases, aportar en el crecimiento de mis valores y conocimiento para superarme como persona.

Ing. Heriberto Quirarte Ramírez

Dr. Armando Espinoza Banda

A mis asesores, **Dra. Magdalena Villa Castorena** por haberme dado la oportunidad de participar en su proyecto de investigación y por el gran apoyo brindado a terminar mi trabajo de tesis.

M.C. José Simón Carrillo Amaya

Ing. Federico Vega Sotelo

Dr. Héctor Javier Martínez Agüero

A mi alma mater, por haberme ofrecido las herramientas necesarias para concluir con éxito mi carrera profesional. Por ser la mejor casa de estudios.

¡GRACIAS!

A GRADECIMIENTO ESPECIAL

La presente tesis titulada **APLICACIÓN FOLIAR DE SUSTANCIAS QUÍMICAS A PLANTAS DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) PARA MITIGAR EL ESTRÉS HÍDRICO**.se llevó a cabo en las instalaciones del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Relación Agua-Suelo-Planta-Atmósfera (CENID-RASPA), del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), en Gómez Palacio, Durango. **Bajo la dirección y asesoría de la Ph.D. Ma. Magdalena Villa Castorena** y forma parte del proyecto "GENERACIÓN DE TECNOLOGÍAS PARA LA GESTIÓN DEL RIEGO PARCELARIO EN REGIONES ÁRIDAS DEL NORTE DE MÉXICO "Nº de proyecto SIGI:836433024 y fue financiado con fondos fiscales del INIFAP.

DEDICATORIAS

A mi familia, dedico este trabajo a mis padres el **Sr. Juan Gallegos Morales** y a la **Sra. Santa Rodríguez Salazar** que me han enseñado con el ejemplo que en la vida con dedicación y esfuerzo todo es posible, que a pesar de las dificultades que se presenten en ella, no debo doblegarme, siempre tener fe, ante todo ser positivo para seguir adelante y superar cualquier obstáculo. Dedicado a ti papa, por ser mi mejor ejemplo, por tu entrega en todo lo que realizas, por los sacrificios a tu persona para sacarnos adelante a mí y a mis hermanos. A ti mama por enseñarme la generosidad, la esperanza, la fe, la lucha, el cariño, el amor y sobre todo la unión con mis hermanos, porque a pesar de mis tropiezos en la vida, junto con mi padre, siempre estuviste ahí y creyeron en mí para superarme como persona y concluir mis estudios.

A mis abuelos, Enriqueta Salazar Ibarra, Jorge Rodríguez Martínez, Mariana Morales Betancourt y J. Refugio Gallegos Silva (Q.E.P.D), por esas palabras de aliento y sus tantas bendiciones cada vez que salía de casa.

A mi hermana, Ana Laura Gallegos por siempre estar ahí atenta a mis necesidades, por el apoyo, los consejos y esos te quiero de siempre que me ayudaban a nunca caer, por hacerme saber que siempre creíste en mí, por ser la mejor hermana.

A mi hermano, José Juan Gallegos por siempre servir de mucho apoyo a nuestra madre con tu compañía los tiempos en que fuiste el único hombre en casa, por el interés de escucharme cada vez que regresaba, por ser el mejor hermano.

A mi sobrina, Ariadna Madavy Gallegos por cada beso, cada abrazo, cada te quiero al salir y llegar a casa.

A mi hijo, Diego Usiel Gallegos Reyes por la aceptación y adaptación a pesar de tu corta edad a no tenernos cerca el tiempo que estoy fuera de casa. Por ser la persona que me inspira a seguir adelante, mi motivación más grande a ser alguien en la vida y poder brindarte un futuro mejor.

RESUMEN

El presente trabajo se estableció con el fin de evaluar el efecto de la de aplicación foliar de sustancias químicas involucradas en la tolerancia al estrés hídrico en plantas de frijol. Las sustancias incluyeron a la prolina, glicina betaína, ácido glutámico, nitrato de potasio y ácido ascórbico a dos concentraciones diferentes. Se incluyeron además dos testigos que consistieron uno sin tratamiento foliar y manejado bajo condiciones de estrés hídrico y el otro sin aplicación foliar y bajo condiciones de no estrés hídrico. El trabajo se condujo bajo condiciones de invernadero en el CENID RASPA; se utilizó la variedad Pinto Saltillo y las semillas se sembraron en macetas de plástico de 18 L llenas con una mezcla de turba, perlita y vermiculita (80:10:10, v:v:v). Las plantas se regaron cuando el sustrato tenía del 25 al 30% de la capacidad máxima de retención de humedad para promover una condición de estrés hídrico, el testigo sin estrés hídrico se regó cuando se tenía del 55 al 60% de la humedad máxima disponible en el sustrato. Se hizo un muestreo destructivo a los 60 días después de la siembra para cuantificar el área foliar, peso seco de raíz, tallo, hojas, transpiración y contenido relativo de agua. Los resultados indican que mediante la aplicación foliar de glicina betaína y ácido glutámico es posible disminuir los efectos adversos del estrés hídrico en plantas de frijol.

Palabras clave: prolina, glicina betaina, estrés hídrico, ácido ascorbico.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	I
AGRADECIMIENTO ESPECIAL.....	ii
DEDICATORIAS.....	iii
RESUMEN.....	IV
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	V
INDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivo	2
1.2. Hipótesis.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Importancia del cultivo del frijol	3
2.2. Clasificación taxonómica del frijol	4
2.3. Morfología y anatomía de la planta del frijol	4
2.3.1. La raíz.....	5
2.3.2. El tallo	6
2.3.3. Las hojas	6
2.3.4. Flores	7
2.3.5. Semillas	7
2.4. Importancia del agua en la planta	8
2.5. Déficit hídrico	8
2.6. Mecanismos de tolerancia de las plantas al déficit hídrico	9
2.6.1. Comportamiento estomático	10
2.6.2. Cambios morfológicos en la hoja.....	10
2.6.3. El ajuste osmótico	12
2.6.4. Crecimiento foliar	13
2.6.5. Fotosíntesis.....	14

2.6.6. Alta relación biomasa radical / biomasa aérea.....	14
2.7 Efectos del estrés hídrico en frijol	15
2.8. Estrategias para mitigar los efectos del estrés hídrico.....	15
2.8.1. El pre acondicionamiento de semillas	16
2.8.2. Aplicación foliar de solutos orgánicos.....	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1 Localización del sitio experimental.....	19
3.2 Factores en estudio	20
3.3 Diseño experimental.....	21
3.4 Siembra.....	22
3.5. Riegos y fertilización	24
3.6 Variables de respuesta.....	24
3.6.1 Medición del área foliar	25
3.6.2 Determinación del peso seco de raíz	25
3.6.3 Determinación del peso seco del tallo y hojas.....	26
3.6.4 Determinación de la transpiración	27
3.6.5 Determinación del contenido relativo de agua.....	27
3.7. Análisis de Resultados.....	28
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	29
4.1 Área foliar (AF).....	29
4.2 Peso seco del vástago (PSV).....	31
4.3 Peso seco de la raíz (PSR)	32
4.4 Transpiración (TRA)	33
4.5 Contenido relativo de agua (CRA).....	34
V. CONCLUSIONES.....	35
VI. BIBLIOGRAFIA.....	36

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Invernadero donde se llevó a cabo el experimento	20
Figura 2. Distribución de tratamientos en el invernadero	22
Figura 3. Vista del experimento en el invernadero	23
Figura 4. Medición del área foliar	25
Figura 5. Secado de raíz, tallo y hojas en estufa	26
Figura 6. Determinación de la transpiración en plantas.....	27
Figura 7. Determinación de contenido de agua en hojas en laboratorio	28
Figura 8. Transpiración de la planta de frijol.....	33

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos del estudio de aplicación foliar	21
Cuadro 2. Datos de área foliar en el estudio del frijol.....	30
Cuadro 3. Peso seco del vástago de plantas de frijol.....	31
Cuadro 4. Peso seco de la raíz de plantas de frijol.....	32
Cuadro 5. Contenido relativo de agua.....	34

I. INTRODUCCIÓN

Las leguminosas después de los cereales, constituyen la fuente más importante de alimentos de origen vegetal y es la principal fuente de proteínas en el sector de la población de bajos ingresos. Dentro de las principales leguminosas se encuentra el frijol cuyo género principal es el *Phaseolus*, el cual ocupa un lugar importante en la economía agrícola de México; tanto como la superficie que se le destina, como por la derrama económica que genera (Delgado, 1985.). En conjunto con el maíz constituyen la dieta básica del pueblo mexicano y en consecuencia son los productos de mayor importancia socioeconómica, tanto por la superficie de siembra, como por la cantidad consumida *per cápita*. (COVECA, 2011).

En México se siembra aproximadamente dos millones de hectáreas de frijol con un rendimiento promedio de 650 kg por ha. Se cultiva en todo el país, tanto en condiciones de riego como temporal donde la ocurrencia no definida de la precipitación impone estrés hídrico durante alguna etapa de su crecimiento. En la actualidad el frijol, continúa siendo la leguminosa de mayor importancia para la dieta de la población de bajos recursos así como por la cantidad de jornales que se ocupan en su producción (López, 2009).

El agua es el factor más importante entre los que restringen la productividad de los cultivos (Hsiao *et al.*, 2009). En México, la falta de precipitación ha ocasionado que el 50% de los municipios actualmente estén afectados por la sequía y se calcula que 1.4 millones de ha sufrieron por esta condición. En 2011, se perdieron 3.2 millones de toneladas de maíz, 600 mil de frijol y 60 mil cabezas de ganado (Romero, 2012). Ante esa situación, es necesario desarrollar e

implementar estrategias que ayuden a incrementar el aprovechamiento y eficiencia en el uso del agua, reducir los efectos de la sequía en las plantas y desarrollar técnicas para obtener la producción de alimentos que necesita el país. Una alternativa rápida y de bajo costo es la activación de los mecanismos de tolerancia al déficit hídrico en plantas mediante la aplicación exógena de sustancias químicas relacionadas con la respuesta de las plantas a los estreses abióticos como la sequía. Dentro de esas sustancias se encuentran los solutos orgánicos compatibles como la glicina betaina y prolina, los fertilizantes químicos y antioxidantes como el ácido ascórbico.

1.1. Objetivo

Evaluar la respuesta del crecimiento de plantas de frijol, manejadas bajo déficit hídrico, a la aplicación foliar de cinco sustancias químicas que comprenden fertilizantes inorgánicos, osmolitos orgánicos y antioxidantes.

1.2. Hipótesis

H0. Los tratamientos de aplicación foliar de sustancias químicas afectarán de igual manera al crecimiento de plantas de frijol manejadas bajo estrés hídrico. .

Ha. Los tratamientos de aplicación foliar de sustancias químicas afectarán de forma diferente al crecimiento de plantas de frijol manejadas bajo estrés hídrico.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Importancia del cultivo del frijol

El cultivo de frijol del género *Phaseolus* es el más importante desde el punto de vista alimenticio; éste se siembra en todas las regiones agrícolas del país. De esta manera tiene una enorme importancia para el país desde diversos enfoques: económico, alimentario, biológico y cultural. Es el segundo cultivo en importancia en cuanto a superficie sembrada y es también, sobre todo en poblaciones rurales y el sector urbano de escasos recursos, un alimento básico con un notable aporte proteico a la dieta (Basurto, 2000). A nivel internacional el frijol es un producto de menor trascendencia en cuanto a superficie cultivada. Su importancia radica como fuente de alimento y sustituto de otros nutrimentos en la sociedad: sobre todo en países donde el ingreso *per cápita* limita la adquisición de bienes de alto valor proteico pero de mayor valor económico. Según la FAO (2008), la producción de frijol en el mundo se concentra en 129 países de los cinco continentes, entre 1961-2007 se produjo en promedio poco menos de 15 millones de toneladas al año, lo que constituye una tasa media de crecimiento anual de 1.16% durante dicho lapso (Reyes *et al*, 2008).

La importancia del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en tiempos precortesianos era tal que, de acuerdo con el código mendocino, los aztecas lo incluían en los tributos exigidos a otros pueblos y nunca desapareció de la dieta nacional durante los 500 años que siguieron. De este modo, ha sido junto con el maíz, el alimento básico de México y, además de su importante contenido de carbohidratos y minerales, se considera la principal fuente de proteínas vegetales en la dieta. Su papel es aún más significativo para las clases de

menores recursos que, al no tener acceso a proteínas de origen animal, hallan en el frijol esos nutrimentos esenciales (Muñoz, 2010)

2.2. Clasificación taxonómica del frijol

La clasificación taxonómica del frijol común (*phaseolus vulgaris* L.) es la siguiente:

Reino: *Plantae*

División: *Spermatophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Subclase: *Magnoliidae*

Orden: *Fabales*

Familia: *Fabácea*

Subfamilia: *Faboideae*

Tribu: *Phaseoleae*

Subtribu: *Phaseolinae*

Género: *Phaseolus*

Especie: *vulgaris*

2.3. Morfología y anatomía de la planta del frijol

El estudio de la morfología se refiere a la estructura externa; es decir, los órganos que componen en cuerpo de la planta (CIAT, 1984). En tanto que la anatomía estudia la estructura interna de la planta, o sea los tejidos que componen cada uno de los órganos. El frijol se caracteriza por ser una planta elevadamente poliforme, ya que de acuerdo con el agro ecológico, donde se desarrolla, es posible observar variaciones fenológicas entre la misma especie de un lugar a

otro. El ciclo del cultivo del frijol puede variar entre 80 variedades precoces y 180 días variedades trepadoras. Dicho tiempo se encuentra determinado por el genotipo de la variedad, hábito de crecimiento, clima, suelo, radiación solar y fotoperiodo (Reyes *et al*, 2008). En seguida se describen los principales órganos de la planta de frijol.

2.3.1. Raíz

El sistema radicular tiende a ser fasciculado, fibroso en algunos casos, pero con una amplia variación, incluso dentro de una misma variedad. Este sistema en las primeras etapas de desarrollo está formado por la radícula del embrión, la cual se convierte después en la raíz principal o primaria. Al paso de pocos días se observan las raíces secundarias que se desarrollan en la parte superior o cuello de la raíz principal. Sobre las raíces secundarias, se desarrollan las raíces terciarias y otras subdivisiones como los pelos absorbentes, estos se encuentran en todos los puntos de crecimiento de la raíz. El frijol manifiesta nódulos distribuidos en las raíces laterales de la parte superior y media de la raíz. Estos nódulos tienen forma poliédrica, un diámetro estimado de 2 a 5 milímetros y son colonizados por la bacteria del género *Rhizobium*, las cuales fijan nitrógeno atmosférico, que ayuda a satisfacer las necesidades de este elemento en la planta (CENTA, 2008). La raíz pivotante se ramifica en distinto grado, desde unas pocas raíces hasta un sistema fibroso muy complejo. Su profundidad varía desde pocos centímetros hasta 1 m, la nodulación se concentra en las raíces superiores, también se desarrollan raíces adventicias que emergen 1-2 días después de la germinación y brotan de la parte inferior del hipocotilo (Puentes *et al.*, 2001).

2.3.2. Tallo

El tallo es herbáceo y con sección cilíndrica o levemente angular, debido a pequeñas corrugaciones de la epidermis, se origina del meristemo apical del embrión de la semilla. Desde la germinación y en las primeras etapas de desarrollo de la planta, este meristemo tiene fuerte dominancia apical y en su proceso de desarrollo, genera nudos. Un nudo es un punto de inserción de las hojas (o de los cotiledones) en el tallo (Arias, 2007) El tallo es el resultado de un proceso dinámico de construcción por parte de un grupo de células situadas en su parte final, llamada meristemo terminal, en proceso de división activa desde sus primeros estados de crecimiento. Este proceso de construcción incluye así mismo, la formación de otros órganos en los nudos, y la de los entrenudos. El entrenudo es la parte comprendida del tallo entre dos nudos (CIAT, 1984)

2.3.3. Hojas

Las hojas están insertadas en los nudos del tallo y las ramas. En dichos nudos siempre se encuentran estipulas que constituyen un carácter importante en la sistemática de las leguminosas. Las hojas de frijol, son de dos tipos: simples y compuestas. Las hojas primarias son simples; aparecen en el segundo nudo del tallo y se forman en la semilla durante la embriogénesis. Estas caen antes de que la planta esté completamente desarrollada. Las estipulas son bífidas al nivel de las hojas primarias. Las hojas compuestas, trifoliadas, (trifolioladas) son las hojas típicas del frijol. Tienen tres folíolos, un peciolo y un raquis. Tanto el peciolo como el raquis son acanalados. El folíolo central o terminal es simétrico y

acuminado; los dos laterales son asimétricos y también acuminados (CIAT, 1984).

2.3.4. Flores

El frijol común tiene inflorescencia en forma de racimo, que nace en la axila de las hojas. La flor se encuentra formada por cinco sépalos, cinco pétalos, diez estambres y un pistilo, los estambres son diadelfos y cada estambre consta de filamento y antera, nueve filamentos están soldados y el décimo está libre. En el centro de la flor se encuentran el pistilo que consta de ovario, estilo y estigma. El estandarte es el pétalo más grande y se encuentra situado en la parte superior de la corola. A los dos pétalos laterales se les da el nombre de alas, y laquilla son los dos pétalos inferiores unidos por los bordes laterales (Miranda, 1966 y SEP, 1983).

2.3.5. Semillas

La semilla se encuentra dentro de una vaina, que puede variar en colores al igual que la semilla que existen infinidad de variaciones en forma, color y tamaño, la semilla se propaga por dehiscencia, es decir que cuando la vaina se seca, se abre y cae la semilla al suelo (Miranda, 1966 y SEP, 1983)

Las partes externas más importantes de la semilla son:

- a) La testa o cubierta.
- b) El hilum, o cicatriz dejada por el funículo, el cual conecta la semilla con la placenta.

- c) El micrópilo que es una abertura en la cubierta o corteza de la semilla cerca del hilum. A través de esta abertura se realiza principalmente la absorción de agua
- d) La rafe, proveniente de la soldadura del funículo con los tegumentos externos del ovulo campilotropo (encurvado) (Arias *et al.*, 2007).

2.4. Importancia del agua en la planta

El agua es la molécula esencial para la vida; en las plantas constituye típicamente del 80 al 95% de la masa de los tejidos en crecimiento y desempeña varias funciones únicas. Es el solvente más abundante y mejor conocido y, como tal, permite el movimiento de moléculas dentro y entre las células. Debido a sus propiedades polares, tiene gran influencia en la estructura y la estabilidad de moléculas tales como proteínas, polisacáridos y otras (Kirkham, 2005).

2.5. Déficit hídrico

El déficit hídrico en la planta se debe a la disminución de su contenido de agua y ocurre cuando la tasa de transpiración excede a la de absorción por la raíz (Villalobos *et al.*, 2002). Se ha definido al estrés hídrico como cualquier limitación al funcionamiento óptimo de una planta, impuesta por una disponibilidad de agua insuficiente (Medrano y Flexas, 2003).

El estrés por déficit hídrico se produce en las plantas en respuesta a un ambiente limitado de agua, en donde la tasa de transpiración excede a la toma de agua.

El déficit hídrico no solo ocurre cuando hay poca agua en el ambiente, sino también por bajas temperaturas y por una elevada salinidad del suelo (Nilsen y Orcutt, 1996). Estas condiciones, capaces de inducir una disminución del agua

disponible del citoplasma de las células, también se conoce como estrés osmótico (Moreno, 2009).

2.6. Mecanismos de tolerancia de las plantas al déficit hídrico

En las plantas existe una multiplicidad de mecanismos de resistencia a la sequía. Los distintos tipos de plantas privilegian diversos mecanismos; y cada tipo de planta recurre a varios mecanismos al mismo tiempo (Levitt, 1980; Alpert y Oliver, 2002; Walters *et al.*, 2002). Los mecanismos de evasión actúan sobre distintos puntos del sistema de transporte del agua en la planta y su acción es física, facilitando la adquisición de agua o limitando su pérdida. El movimiento del agua en la planta es pasivo, no requiere gasto de energía metabólica, y es provocado por gradientes de potencial hídrico. La transpiración causa una caída del potencial hídrico en las hojas, por debajo del potencial del suelo y provoca que el agua ascienda desde las raíces. A su vez, el bajo potencial osmótico de las células hace que el agua ingrese a ellas desde el apoplasto. Para evitar el estrés hídrico, los mecanismos de evasión minimizan la resistencia al flujo de agua en la planta, limitan la transpiración, o provocan la disminución del potencial osmótico para favorecer el ingreso de agua al simplasto.

Entre los mecanismos de evasión del estrés hídrico, se cuentan los que limitan la transpiración mediante el cierre estomático. El recubrimiento de la epidermis con cutícula y pelos, el aumento de la conductancia hidráulica mediante mayor densidad y profundidad de raíces o por apertura de los canales de agua de la endodermis. El de la elasticidad del tejido, ya que una mayor rigidez implica una mayor hidratación ante incrementos leves del potencial agua, y la disminución

del potencial osmótico. También representan mecanismos de evasión los cambios morfológicos que limitan la radiación absorbida y el calentamiento de las hojas, fuente energética de la transpiración. Por ejemplo, el desarrollo de hojas angostas, el enrollamiento de las mismas o su recubrimiento con superficies reflejantes. Los mecanismos de evasión actúan en distintos niveles morfológicos. Los mecanismos de cierre estomático, de ajuste osmótico, de cambios en la elasticidad de los tejidos y de apertura de los canales de agua de la endodermis radical, son mecanismos que se desarrollan en un nivel celular. Los cambios en la conductancia hidráulica de los tallos se producen, en cambio, en el nivel de tejidos. Por ejemplo, en el xilema y del mesófilo foliar (Osmond *et al.*, 1987; Chaves *et al.*, 2002; Verslues *et al.*, 2006).

2.6.1. Comportamiento estomático

La apertura estomática se produce cuando ingresa agua y aumenta la turgencia de las células oclusivas, como consecuencia de la disminución de su potencial osmótico. La disminución del potencial osmótico se produce por el ingreso de iones como K^+ y Cl^- ; como producto de la síntesis de malato; y por el desdoblamiento de almidón en las células oclusivas (Assman y Shimazaki, 1999).

2.6.2. Cambios morfológicos en la hoja

Un mecanismo de las plantas que les permite crear un ambiente en el que sus células no estén bajo tensión, es la pérdida de hojas. Un ejemplo claro lo sería

el de la especie *Follquieria splendens*, la cual vive en el desierto de Sonora; esta planta produce hojas después de las lluvias, pero las pierde cuando el suministro de agua se ve limitado, quedando los nervios centrales y los peciolos como espinas. Durante este tiempo, que está desprovista de hojas, existen células verdes en el tallo que mantienen una tasa fotosintética baja. Otras modificaciones son las hojas pequeñas que disipan el calor más fácilmente que las grandes, mediante corrientes de convección. Las hojas dispuestas paralelas a los rayos solares, al igual que aquellas de color verde claro o brillante, absorben menos radiación (Azcón y Talón, 2008). Otro mecanismo interno es la prevención, que permite crear un ambiente para que sus células no estén en tensión, no obstante que el ambiente del exterior sea muy estresante. Por ejemplo, una hoja que, a través de la transpiración, mantiene una temperatura baja, cuando en el ambiente existe una temperatura elevada (López, 1995).

2.6.3. El ajuste osmótico

Consiste en una disminución del potencial hídrico en los tejidos vegetales, lo cual tiene como consecuencia la entrada de agua y, por tanto, no se presenta una disminución en la turgencia o en la productividad fotosintética. El ajuste osmótico se da en las plantas a través de la biosíntesis de osmolitos orgánicos de bajo peso molecular y por la acumulación de iones, fundamentalmente K⁺ (Cushman, 2001).

La acumulación de solutos compatibles como la prolina, glicina betaína (GB) y trehalosa también están involucradas en la tolerancia a estrés abiótico por protección de las proteínas y estructuras de la membrana de la deshidratación, regulando el estatus redox o actuando como desintoxicador de radicales libres (Hussain *et al.*, 2008, Tujeda, 2007, Türkan y Demiral, 2009, Zushi y Matsuzoe, 2009, Miller *et al.*, 2008). La prolina es uno de los osmolitos más estudiados en tomate y su concentración se incrementa significativamente después de la exposición al estrés, aunque no se había logrado un consenso entre la tolerancia al estrés y la acumulación de prolina (Ashraf y Foolad, 2007). Algunos autores plantean que la acumulación se considera como un síntoma de daño y no de tolerancia al estrés, mientras que otros autores informan que los incrementos observados en los niveles de prolina, estuvieron relacionados principalmente con mecanismos de tolerancia a corto plazo (Ashraf y Foolad, 2007; Bolari *et al.*, 1995, Amirjani, 2010). Diversos autores señalan que los cambios inducidos por estrés en los contenidos de osmolitos son muy dependiente de la duración, intensidad y progresión del estrés, señalando que variaciones en el contenido de prolina pueden mostrar repuestas adaptativas de las plantas en orden a

restablecer la homeostasis osmótica a mediano plazo, pero pueden también mostrar una estrategia de defensa de las planta para mitigar los efectos dañinos inducidos por estrés a largo plazo, después de una exposición prolongada a la sequía (Pineda *et al.*, 2012).

El ajuste osmótico puede considerarse, por un lado, un mecanismo de evasión pues promueve el ingreso de agua a la célula y así evita que éstas sufran estrés. Por otro lado, el ajuste osmótico es un mecanismo de tolerancia, ya que los solutos compatibles, responsables de bajar el potencial osmótico, se sintetizan al sufrir estrés y tienen una acción protectora sobre las proteínas de las membranas y del citoplasma (Bray, 1997, Mundree *et al.*, 2002). Por otro lado el ajuste osmótico no sólo lo producen los solutos compatibles, cuya acumulación en el citoplasma no compromete la vitalidad, sino también solutos potencialmente tóxicos, como Na^+ y Ca^{+2} que ante situaciones de estrés hídrico y salino, pueden acumularse en las vacuolas y contribuir al potencial osmótico de la célula (Bohnert y Gensen, 1996).

2.6.4. Crecimiento foliar

El resultado del déficit hídrico en las plantas es una disminución de la tasa de crecimiento, de elongación del tallo, y expansión de la hoja (Villalobos *et al.*, 2002). Cuando el déficit hídrico se desarrolla lentamente, las plantas pueden presentar respuestas de aclimatación que tienen efectos sobre el crecimiento, como la disminución de la expansión foliar y el aumento del crecimiento radicular (Potters *et al.*, 2007; Shao *et al.*, 2008).

El déficit hídrico en etapas tempranas generalmente afectan el alargamiento y el tamaño final de las hojas, en cambio en estadios más avanzados se incrementa

la senescencia foliar y la pérdida de follaje (Nuñez y Foster, 1996; Kramer, 1983). Cuando el déficit hídrico se desarrolla lentamente, las plantas pueden presentar respuestas de aclimatación que tienen efectos sobre el crecimiento, como la disminución de la expansión foliar y el aumento del crecimiento radicular (Potters *et al.*, 2007; Shao *et al.*, 2008). La disminución del área foliar, conjuntamente con una reducción en la conductancia estomática, pueden limitar tanto la intercepción de la energía solar como la tasa de fotosíntesis y finalmente la producción de materia seca en la planta (Dai *et al.*, 1992; Hall y Shultz, 1980).

2.6.5. Fotosíntesis

Ante la falta de agua en el suelo y de vapor de agua en el aire, la fotosíntesis disminuye. Esto se debe a la disminución del área foliar, conjuntamente con una reducción en la conductancia estomática, lo cual pueden limitar tanto la intercepción de la energía solar como la tasa de fotosíntesis y finalmente la producción de materia seca en la planta (Dai *et al.*, 1992; Hall y Shultz, 1980). La planta reacciona ante el déficit hídrico cerrando los estomas para evitar su desecación, dificultando de este modo la entrada de dióxido de carbono. Además, el incremento de la concentración de oxígeno interno desencadena la fotorrespiración. Este fenómeno explica por qué las plantas C₄ sean más eficientes que las plantas C₃ en condiciones de déficit hídrico. Las tasas de fotosíntesis sólo disminuyen radicalmente cuando por déficit hídrico se pierde más del 40% del contenido de clorofila en la hoja (Congreso Nacional de Biotecnología, 1996).

2.6.6. Alta relación biomasa radical / biomasa aérea

El que las plantas tengan una gran superficie foliar ocasiona una mayor pérdida de agua mediante la transpiración. Esto implica que el sistema radicular debe ser extenso para recuperar del suelo toda el agua que pierden las hojas (Pérez y Martínez, 1994). Las modificaciones anatómicas, morfológicas y fenológicas de las plantas sometidas a periodos prolongados de sequía se deben básicamente a las alteraciones en los patrones estacionales y ritmos de división y elongación celular. Los tejidos y órganos más afectados son aquellos relacionados con la absorción y uso del agua (Ortiz, 2006). En relación a los efectos en los procesos fisiológicos uno de ellos, incluso más importante es el aumento en la relación raíz/parte aérea (Sánchez y Aguirreola, 2000). Bajo condiciones de estrés hídrico, las raíces continúan creciendo en búsqueda de agua en estratos más inferiores del suelo.

2.7 Efectos del estrés hídrico en frijol

El factor más importante que limita el rendimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en áreas de temporal es la sequía, la cual se traduce en la planta como déficit y estrés hídrico, inhibición y subsecuente detención del crecimiento (Kramer y Boyer, 1995). Entre los cambios fisiológicos y metabólicos que ocurren se encuentran la disminución de la síntesis de proteínas y, por tanto, en la velocidad de crecimiento, el aumento de cera en la cubierta de las hojas, cambios en la transpiración, en la respiración, en la fotosíntesis, en la distribución de nutrientes, entre otros (Covarrubias, 2007).

2.8. Estrategias para mitigar los efectos del estrés hídrico en las plantas

En la región del altiplano semiárido de México, constituida por los estados de Zacatecas, Durango, Chihuahua y Aguascalientes, se han implementado dos estrategias para atenuar los efectos de sequía: una mediante la práctica del “pileteo” para incrementar la captación de lluvia y mejorar las condiciones de humedad del suelo y otra a través del mejoramiento genético, cuya finalidad es la obtención de variedades resistentes a sequía. Como resultado de la segunda estrategia, se han desarrollado variedades de frijol de diferente tipo de grano, con alta expresión de rendimiento en condiciones de sequía (Acosta *et al.*, 2007). Existen otras estrategias que se han venido desarrollando en varios cultivos y en países distintos con diferentes tipos de solutos orgánicos, reguladores de crecimiento y nutrimentos para mitigar los efectos del estrés hídrico. Esas sustancias se aplican en el pre acondicionamiento de semillas previo a la germinación o de manera exógena al follaje, en tratamientos y dosis diferentes.

2.8.1. El pre acondicionamiento de semillas

Los procedimientos pre germinativos consisten en la inmersión de las semillas en soluciones osmóticas o en agua durante cierto tiempo con o sin deshidratación previa a la siembra y permiten que una gran proporción de las mismas alcance rápidamente el nivel de humedad y estado metabólico deseado, como la activación de numerosos procesos bioquímicos-fisiológicos relacionados con la germinación, la tolerancia al estrés ambiental y a la auto reparación enzimática de las membranas celulares (Sánchez *et al.*, 2001). Un tratamiento centrado en el efecto que causa la exposición de las semillas a los procesos de hidratación-desección que ocurren en el suelo, durante su estancia en el banco de semillas, y consiste en enterrar los lotes de semillas durante un

tiempo delimitado por el momento de la dispersión y el establecimiento de las lluvias es el pre acondicionamiento natural. Dicho tratamiento se ha usado exitosamente en plantas silvestres y con fines de restauración ecológica. El pre acondicionamiento natural rompe la latencia, incrementa la velocidad de germinación y aumenta el porcentaje de sobrevivencia y de establecimiento de las plántulas, debido a que promueve los eventos metabólicos relacionados con la fase temprana de la germinación (Nicasio *et al.*, 2011). Los tratamientos de hidratación parcial de las semillas han demostrado ser eficientes y hoy en día se investigan para los siguientes fines agrícolas: a) revigorización de semillas para recuperar vigor e incrementar la longevidad durante el almacenamiento, b) acondicionamiento para incrementar, acelerar y uniformar la germinación y el establecimiento, c) acondicionamiento de semillas para eliminar dormancia orgánica o impuesta y d) robustecimiento de semillas para incrementar la germinación, el establecimiento y los rendimientos de las plantas resultantes de los tratamientos bajo condiciones ambientales adversas (Sánchez *et al.*, 2001).

2.8.2. Aplicación foliar de solutos orgánicos y otras sustancias químicas a plantas para reducir los efectos del estrés hídrico

Diversos estudios de campo e invernadero indican que la aplicación exógena de algunos solutos orgánicos como la glicina betaina y prolina incrementa la tolerancia al estrés hídrico. Por ejemplo, Ma y Wang (2006) investigaron los efectos de aplicación foliar de 100 mmol L⁻¹ de Glicina betaina (GB) sobre el fotosistema II (PSII) fotoquímico en la hoja bandera del trigo (*Triticum aestivum*) bajo estrés por sequía combinado con alta radiación. Los resultados mostraron que las plantas tratadas con GB mantuvieron una alta tasa fotosintética neta durante el estrés por sequía que las plantas sin GB. La Glicina betaina exógena puede preservar la actividad fotoquímica de PSII, en plantas tratadas con GB mantuvieron una mayor eficiencia fotoquímica máxima de PSII (Fv/Fm) y se recobraron más rápidamente de la fotoinhibición. Además, las plantas tratadas con GB pueden mantener actividades altas de enzimas antioxidantes y sufrir menor estrés oxidativo. Los datos sugieren que la GB puede proteger el complejo PSII de daños a través de la aceleración de la rotación de la proteína D1 y el mantenimiento de las actividades de las enzimas antioxidantes en niveles altos para aliviar el daño solar (Hussain *et al.*, 2008).

Otro experimento realizado por Argenteal *et al.* (2010) en 12 variedades cubanas de trigo, de las especies *T. aestivum* y *T. durum*, cultivadas bajo condiciones salinas, se determinaron los contenidos de prolina, glicinebetaina y proteínas solubles. Los resultados indicaron que se obtuvo un significativo incremento del contenido de prolina en la mayoría de las variedades, siendo mayor la acumulación en el follaje que en las raíces. El contenido de glicina betaina solo

fue altamente significativo en las variedades de trigo de la especie *T. durum*. El contenido de proteínas solubles totales presento un comportamiento muy variable, incluso entre variedades de la misma especie, por lo que no se consideró un indicador eficiente de tolerancia a la salinidad.

El ácido ascórbico es un antioxidante no enzimático que participa en la defensa contra el estrés oxidativo por su función en la degradación del radical H_2O (Smirnoff, 1996). También participa en otros procesos fisiológicos tales como: fotosíntesis, cofactor enzimático, homeostasis del sistema redox, precursor en las rutas de síntesis de moléculas del metabolismo primario y secundario (Smirnoff, 1996) y regulador de la actividad enzimática de las peroxidasas (Stasolla y Yeung, 2007). Además está involucrado en el crecimiento, desarrollo y modulación del ciclo celular así como de la división y elongación celular (De Pinto y De Gara, 2004). Diversos estudios señalan los beneficios de la aplicación exógena del ácido ascórbico en cultivos como trigo (Athar *et al.*, 2008) y canola (Dolatabadian *et al.*, 2008).

La aplicación foliar del ácido glutámico, pueden ser absorbido e incorporado por las plantas tanto por la vía radical como por la foliar e integrarse así al metabolismo vegetal. Así, la aplicación foliar del ácido glutámico puede ser positiva ya que es un precursor importante en la biosíntesis de otros aminoácidos como la prolina, estimula el crecimiento, participa en los sistemas de tolerancia de la planta a diferentes estreses ambientales (Arjona *et al.*, 2004).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del sitio experimental

El trabajo se desarrolló en un invernadero del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en la Relación Agua-Suelo-Planta-Atmósfera (CENID RASPA) del INIFAP, localizado en el margen derecho del canal principal Sacramento km 6.5 en Gómez Palacio Durango México. El CENID RASPA se localiza en la Región Lagunera, la cual se ubica entre los paralelos $24^{\circ} 25'$ y $26^{\circ} 55'$ de latitud norte y los meridianos $102^{\circ} 30'$ y $104^{\circ} 48'$ de longitud oeste, con una altura media de 1123 metros sobre el nivel del mar. El clima de la región es seco y caliente con temperatura máxima promedio normal es de 28.6°C , la mínima de 12.3°C , la evaporación y precipitación acumulada anual son de 2,488 mm y 215 mm, respectivamente. El invernadero está cubierto en sus lados de policarbonato de doble pared y el techo con plástico. El control de la temperatura se llevó a cabo mediante extractores, y pared húmeda (Figura 1).



Figura 1. Invernadero donde se llevó a cabo el experimento

3.2 Factores en estudio

Se evaluó la aplicación foliar de cinco sustancias químicas a dos concentraciones. Esas sustancias incluyeron a la prolina, glicina betaína, ácido glutámico, ácido ascórbico y nitrato de potasio. Cada una de ellas se probó a dos concentraciones; también se incluyeron dos testigos; uno de ellos consistió en no tratamiento foliar y manejado bajo condiciones de estrés hídrico y el otro sin aplicación foliar y bajo condiciones de no estrés hídrico (Cuadro 1). Se hicieron tres aplicaciones de las sustancias probadas durante el desarrollo del cultivo con intervalos de 20 días, iniciando la primera a los 20 días después de la emergencia.

Cuadro 1. Tratamientos del estudio de aplicación foliar de inductores de la tolerancia al estrés hídrico, en plantas de frijol, primavera del 2016.

Tratamiento	Sustancia	Concentración
T1	Prolina	20 mM
T2	Prolina	40 Mm
T3	Glicinabetaína	20 mM
T4	Glicinabetaína	40 mM
T5	Ácidoglutámico	3 mM
T6	Ácidoglutámico	5 mM
T7	Ácidoascórbico	3 mM
T8	Ácidoascórbico	5 mM
T9	Nitratodepotasio	6 mM
T10	Nitrato de potasio	10 Mm
T11	Sin aplicación con restricción de humedad	
T12	Sin aplicación y sin restricción de humedad	

3.3 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar con siete repeticiones, la parcela experimental consistió de tres macetas por tratamiento. En la Figura 2 se presenta la distribución de los tratamientos en el invernadero.

	Puerta																																			
REP I	T3	T9	T8	T5	T10	T6	T2	T7	T11	T4	T12	T1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
REP II	T2	T7	T1	T4	T11	T12	T3	T6	T8	T10	T9	T5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
REP III	T9	T10	T6	T3	T5	T8	T1	T4	T12	T7	T11	T2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
REP IV	T7	T12	T4	T1	T2	T11	T10	T3	T5	T9	T6	T8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
REP V	T8	T6	T10	T5	T3	T1	T4	T9	T11	T2	T7	T12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
REP VI	T12	T4	T9	T2	T7	T11	T5	T10	T6	T8	T1	T3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
REP VII	T6	T5	T3	T12	T8	T10	T7	T1	T2	T11	T9	T4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Figura 2. Distribución de tratamientos en el invernadero; cada tratamiento tuvo tres macetas.

3.4 Siembra

Las semillas se trataron antes de la siembra con glicina betaína a una concentración de 50mM y tiempo de inmersión de 12 h. Lo anterior se hizo acorde a resultados obtenidos de estudios previos de pre acondicionamiento de semillas, donde se evaluaron diferentes sustancias osmóticas. Después del tratamiento de las semillas, se secaron a temperatura ambiente y se sembraron en macetas de plástico de 20 L de volumen llenas con una mezcla de turba con perlita y vermiculita (80, 10 y 10%,v:v:v). Se colocaron dos semillas por macetas y después de la emergencia se dejó sólo una planta. En la Figura 3, se muestra una vista del experimento



Figura 3. Vista del experimento en el invernadero

3.5. Riegos y fertilización

Las plantas se regaron cuando el sustrato tenía del 25 al 30% de la capacidad máxima de retención de humedad con el fin de establecer una condición de estrés hídrico; para ello se pesaron las macetas cada tercer día. El testigo sin estrés hídrico se regó cuando se tenía del 55 al 60% de la capacidad máxima de retención de humedad del sustrato. Las plantas se empezaron a fertilizar cuando tuvieron cuatro hojas verdaderas con una solución nutrimental equilibrada de 15 meq L⁻¹ de aniones y cationes. La frecuencia de aplicación de la fertilización fue de cada diez días; se aplicó un 15% más del agua requerida para evitar la salinización del sustrato.

3.6 Variables de respuesta

A los 60 días después de la primera aplicación; se seleccionó una planta por tratamiento y repetición. Se midió las siguientes variables: área foliar por planta, peso seco de raíz, tallo, y hojas, la transpiración y el contenido relativo de agua. En seguida se menciona la manera de cómo fueron hechas.

3.6.1 Medición del área foliar

El área foliar se determinó midiendo cada hoja de la planta y se cuantificó en un integrador de área foliar LI-COR 3500 (Figura 4). Para la obtención del área foliar se retiraron con tijeras todas las hojas de una planta que se tomó para este fin (fueron tres plantas por cada tratamiento) se colocaron en una bolsa de papel de plástico y se llevaron al laboratorio donde se encontraba el integrador de área foliar.



Figura 4. Medición del área foliar

3.6.2 Determinación del peso seco de raíz

Las plantas que se seleccionaron, se cortaron en la base del tallo, se obtuvieron las raíces. Estas se retiraron del sustrato y se lavaron con agua corriente para quitar residuos del sustrato. Se secaron a temperatura ambiente y se metieron en bolsas de papel, previamente etiquetadas y se metieron en una estufa de aire forzado por un tiempo de 24 h. a una temperatura constante de 68° C. Posteriormente se pesaron en una balanza de precisión para registrar el peso de cada muestra. El mismo procedimiento de secado se hizo para las hojas y tallos que corresponden a la parte aérea de la planta (Figura 5).

3.6.3 Determinación del peso seco del tallo y hojas

Se obtuvieron los tallos de las plantas muestreadas, se colocaron en una bolsa de papel y se etiquetaron. Las hojas obtenidas para el registro del área foliar se colocaron en bolsas de papel y tanto los tallos como las hojas se metieron a una estufa de aire forzado por un tiempo de 24 h y a temperatura de 68° C. Después de ese tiempo se pesaron para obtener el peso seco de ambos órganos (Figura 5).



Figura 5. Secado de raíz, tallo y hojas en estufa

3.6.4 Determinación de la transpiración

Se seleccionó una planta por tratamiento en cada repetición, se cubrieron con una bolsa de plástico y se sellaron para evitar pérdidas de agua (Figura 6). Se registró el peso de la maceta y a las 24 horas después se volvió a registrar el peso, el agua transpirada por día y planta se determinó por diferencia de peso.



Figura 6. Determinación de la transpiración en plantas

3.6.5 Determinación del contenido relativo de agua

Para la obtención del contenido relativo del agua (CRA) se tomaron tres hojas de tres plantas por tratamiento en cada repetición. Las hojas seleccionadas estuvieron en el tercer o cuarto lugar de la última hoja de la guía, se colocaban en una bolsa de plástico y luego en una hielera para evitar su deshidratación. Se llevaron al laboratorio, donde se extrajeron diez discos foliares de 8 mm de diámetro con un sacabocados (Figura 7). Se registró el peso fresco (PF) de los discos foliares con balanza digital. Luego se colocaron en cajas Petri con agua destilada, donde se

dejaron por un tiempo de 4 h, con el fin de que se hidratarán. Después de ese tiempo se sacaron de las cajas y se colocaron sobre toallas de papel para quitar el exceso de agua. Más tarde se pasaron para registrar el peso túrgido (PT). Finalmente, los discos se pusieron en sobres de papel, previamente identificados por tratamiento y repetición, y se metieron a una estufa de aire forzado a una temperatura de 68°C por un tiempo de 48 h. después se pesaron para obtener el peso seco (PS) el CRA se obtuvo con la siguiente ecuación:

$$CRA = \frac{(PF-PS)}{(PT-PS)}$$



Figura 7. Determinación de contenido de agua en hojas en laboratorio

3.7. Análisis de Resultados

Los datos se analizaron mediante el análisis de varianza usando el programa SAS (SAS, Institute, 1999) según el modelo lineal general del diseño experimental. La separación de medias se hizo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) cuando hubo significancia estadística entre tratamientos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Área foliar (AF)

El análisis estadístico señaló que los tratamientos evaluados afectaron de manera significativa al AF ($P= 0.003$). Los tratamientos T3, T4, T5 y T6 produjeron mayor AF1 que el testigo sin aplicación foliar y sin estrés hídrico (T11, Cuadro 2), resultando los tratamientos T3, T5 y T6 con mayor AF; ellos en promedio produjeron 4374 cm² el cual representó el 91% del AF1 del T4 y no fueron estadísticamente diferentes entre ellos (Tukey = 0.05). El T-10 produjo la menor AF1 con una reducción del 37% del AF1 producida en los mejores tratamientos. El testigo T-11 produjo un 26% menos del AF1 de los mejores tratamientos indicando la acción benéfica de la aplicación foliar de la glicina betaína y el ácido glutámico. El testigo sin aplicación foliar y sin restricción de humedad (T12) mostró un 7% más de AF que la producida en los mejores tratamientos y no fue estadísticamente diferente de ellos (Tukey = 0.05). Este testigo superó en un 45% al AF1 del testigo T11 (Cuadro 2), indicando claramente el efecto del estrés hídrico en el área foliar. Resultado encontrado en otras especies como amaranto (De la Cruz Guzmán *et al.*, 2010),

Cuadro 2. Datos de área foliar en el estudio de frijol

Tratamientos	Nomenclatura (mM)	AF (cm ²) †
1	Pro, 20	3552 b
2	Pro, 40	3183 bc
3	GB, 20	4321 a
4	GB, 40	3973 ab
5	Ac.Glu 3	4566 a
6	Ac.Glu 5	4236 a
7	Ac.Asc 3	3238 bc
8	Ac.Asc 5	3149 bc
9	KNO ₃ , 6	3030 bc
10	KNO ₃ , 10	2761 c
11	Test1, sin aplicación, con estrés hídrico	3227 bc
12	Test2 sin aplicación y sin estrés hídrico	4684 a

† Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes

(Tukey $P = 0.05$)

4.2 Peso seco del vástago (PSV)

La suma del peso seco de las hojas y del tallo dio como resultado al peso seco del vástago. Los tratamientos evaluados afectaron significativamente a esta variable ($P = 0.0001$). La aplicación foliar con GB 20 mM (T3) y Ac.Glu con 3 mM (T5) promovieron la mayor producción de peso seco del vástago. Ellos en promedio tuvieron 30.11 g de PSV y fue estadísticamente similar al testigo sin restricción de humedad (Tukey = 0.05; Cuadro 3). Los tratamientos con ácido ascórbico, nitrato de potasio y el testigo con estrés hídrico produjeron el menor PSV, con un promedio entre ellos de 21.4 g. El testigo sin restricción de humedad (T12) solo superó en un 3% al PSV de los mejores tratamientos y en un 46% al del testigo sin restricción de humedad (T11).

Cuadro 3. Peso seco del vástago de plantas de frijol

tratamientos	Nomenclatura (Mm)	PSV (g) †
1	Pro, 20	27.13 b
2	Pro, 40	27.52 b
3	Gb, 20	30.07 a
4	Gb, 40	27.27 b
5	Ac.Glu 3	30.15 a
6	Ac.Glu 5	28.25 ab
7	Ac.Asc 3	21.70 c
8	Ac.Asc 5	20.63 c
9	KNO ₃ , 6	21.27 c
10	KNO ₃ , 10	21.85 c
11	Test1, sin aplicación con estrés hídrico	21.35 c
12	Test2 sin aplicación y sin estrés hídrico	31.10 a

† Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes

(Tukey $P = 0.05$)

4.3 Peso seco de la raíz (PSR)

La aplicación de sustancias químicas afectó de manera diferencial al crecimiento de la raíz. El efecto de los tratamientos en el PSR fue significativo a un $P= 0.005$; los tratamientos con prolina (T1, T2), glicina betaína (T3, T4) y ácido glutámico (T5 y T6) promovieron el mayor crecimiento de raíz, con un promedio entre ellos de 1.21 g (Cuadro 4). Ese valor fue superior en un 42% al PSR producido en el testigo con estrés hídrico (T11), y estadísticamente similar al del testigo sin restricción de humedad (T12). Los resultados anteriores muestran un beneficio de la aplicación foliar en el crecimiento de la raíz

Cuadro 4. Peso seco de la raíz de plantas de frijol

Tratamientos	Nomenclatura (mM)	PSR (g) †
1	Pro, 20	1.150 a
2	Pro, 40	1.100 a
3	Gb, 20	1.325 a
4	Gb, 40	1.225 a
5	Ac.Glu 3	1.275 a
6	Ac.Glu 5	1.200 a
7	Ac.Asc 3	0.875 b
8	Ac.Asc 5	0.950 b
9	KNO ₃ , 6	0.875 b
10	KNO ₃ , 10	0.950 b
11	Test1, sin aplicación con estrés hídrico	0.850 b
12	Test2 sin aplicación y sin estrés hídrico	1.325 a

† Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes

(Tukey $P= 0.05$)

4.4 Transpiración (TRA)

La transpiración de la planta se estandarizó en términos de mL de agua transpirada por día por cm² de área foliar. El efecto de los tratamientos en esta variable fue significativo ($P < 0.001$). Los tratamientos T3, T4, T5 y T6, correspondientes a la aplicación de glicina betaína y ácido glutámico, ambos a las dos concentraciones probadas promovieron menor TRA que el resto de los tratamientos y que ambos testigos (Figura 8)

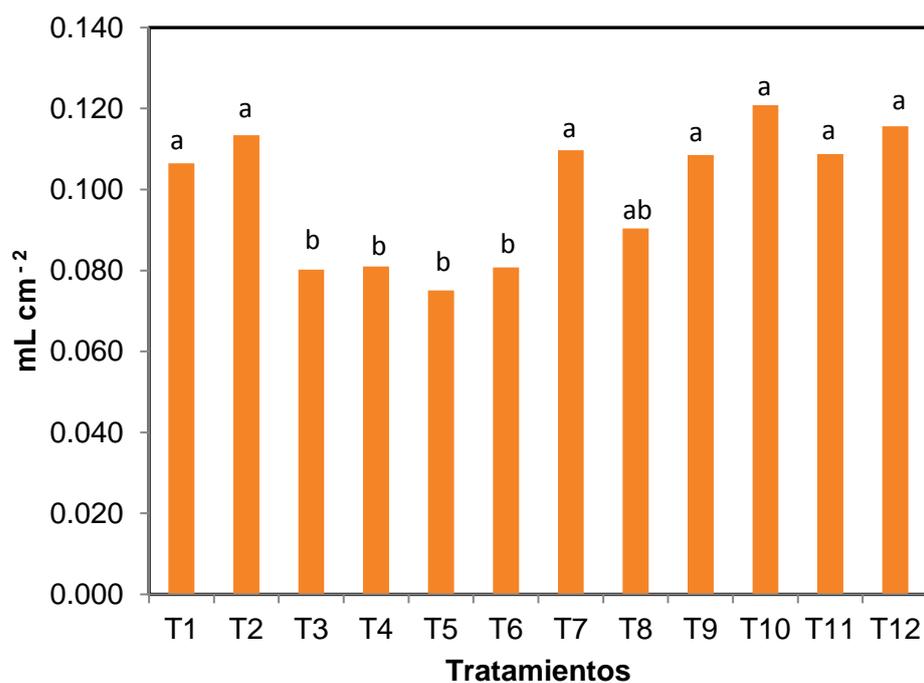


Figura 8. Transpiración de la planta de frijol en cada tratamiento a los 60 días después de la siembra. Barras con la misma letra indican no diferencia significativa entre tratamientos.

4.5 Contenido relativo de agua (CRA)

Los tratamientos evaluados no afectaron de manera significativa al CRA ($P = 0.05$). Lo cual indica que los tratamientos no alteraron el estado hídrico de las plantas al momento del muestreo. El CRA promedio fue de 83.74 %.

Cuadro 5. Contenido relativo de agua a los 60 días después de la siembra.

Tratamientos	Nomenclatura (mM)	CRA (%) †
1	Pro, 20	82.56
2	Pro, 40	82.86
3	Gb, 20	82.53
4	Gb, 40	84.40
5	Ac.Glu 3	84.96
6	Ac.Glu 5	83.96
7	Ac.Asc 3	81.88
8	Ac.Asc 5	84.95
9	KNO ₃ , 6	84.49
10	KNO ₃ , 10	82.91
11	Test1, sin aplicación con estrés hídrico	83.22
12	Test2 sin aplicación y sin estrés hídrico	86.17

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se elaboró el presente trabajo se concluye que la aplicación foliar a plantas de frijol con glicina betaína, a una concentración de 20 mM, y ácido glutámico, a una concentración de 3 y 5 mM reducen los efectos adversos del déficit hídrico en el área foliar y peso seco de la planta.

Esas mismas sustancias y además la glicina betaína a una concentración de 40 mM promovieron una menor transpiración.

Los resultados encontrados en este estudio merecen ser probados bajo condiciones de campo para verificar su veracidad ya que serían de gran impacto en las zonas con baja disponibilidad de agua para riego.

VI. BIBLIOGRAFIA

- Acosta Díaz, E., M. D. Amador Ramírez., J. S. Padilla Ramírez., J. P. Gómez Delgado y H. Valadez Montoya. 2007. "Biomasa y rendimiento de frijol tipo flor de Junio bajo riego y sequía." *Agricultura técnica en México*.33: 153-162.
- Amirjani, M. R. 2010. Effect of salinity stress on grown, mineral composition, proline content, antioxidant enzymes of soybean. *Am. J. Plant Physiol.* Vol. 5, (6): 201-350.
- Anónimo. 2000 *Manuales para la educación agropecuaria frijol y chícharo*, primera edición, editorial SEP/Trillas. Pp. 18-26.
- Argentel, L. 2010. "Contenidos de Prolina, Glicinabetaina y Proteínas solubles totales en 12 variedades cubanas de trigo en condiciones salinas." *Cultivos Tropicales*, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, La Habana, Cuba. Vol. 31(4):82-86.
- Arias, J.H.; Rengifo, T.; Jaramillo, M. 2007. *Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas en la Producción de Frijol Voluble*.CORPOICA-MANA-FAO. Gobernación de Antioquia, Colombia. Pp168.
- Ashraf, M, Foolad, M. R.2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.*, vol. 59, pp. 206-216.
- Assmann, S.M., y K. Shimazaki. 1999. The Multisensory Guard Cell. Stomatal Responses to Blue Light and Abscisic Acid. *Plant Physiology* 119 (3): 809-816.
- Athar, H.U.R., A. Khan, and M. Ashraf. 2008. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt- induced oxidative stress in wheat. *Environ. Exp. Bot.* 63: 224-231. Davey, M., M. Van Montagu, D. Inzé, M. Sanmartín.

- Azcón-Bieto, J. y Talón M. 2008. Fundamentos de fisiología vegetal. España. McGraw-Hill. ISBN: 978-84-481-5168-3. Pp. 651.
- Basurto F.A. 2000. "Aspectos etnobotánicos de *Phaseolus coccineus* L. y *Phaseolus polyanthus* Greenman en la Sierra Norte de Puebla, México", Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, UNAM, México, 104 p.
- Bohnert H.J., y R.G. Jensen. 1996. —Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. Trends in Biotechnology 14 (3): 89-97.
- Bolarin, M. C.; Santa-Cruz, A.; Cayuela, E. y Perez-Alfocea, F. 1995. Short-term solute changes in leaves and roots of cultivated and wild tomato seedling under salinity. J. Plant Physiol., vol. 147, no. 3-4, pp. 463-468.
- Bray, E.A. 1997. Plant responses to water deficit. Trends in Plant Science 2 (2): 48-54.
- Cabrera, H. M. 2002. "Respuestas eco fisiológicas de plantas en ecosistemas de zonas con clima mediterráneo y ambientes de alta montaña." Revista chilena de historia natural 75: 625-637.
- CENTA. 2008. Guía técnica para el manejo de variedades de frijol. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Programa de granos básicos. El salvador. P. 24.
- Chaves, M. M., J. S. Pereira, J.P. Maroco, M. L. Rodrigues, C. P. P. Ricardo, M. L. Osório, I. Carvalho, T. Faria, y C. Pinheiro. 2002. —How Plants Cope with Water Stress in the Field? Photosynthesis and Growth. Annals of Botany 89 (7): 907-916.
- CIAT. 1984. Morfología de la planta de frijol común (*phaseolus vulgaris* L.). Centro internacional de agricultura tropical (CIAT). Serie 04SB-09.01: pp.56.

- CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA. 1996. MEXICO. Degradación de clorofila y pérdida de almidón en frijol bajo sequía. Publicado por Núñez-Barrios, Ay Rumayor, A., Chihuahua, Mex., ANABAF. 1 v.
- Covarrubias Robles, A. 2007. Sobrevivir al estrés: cómo responden las plantas a la falta de agua. Revista Biotecnología. México. Vol.14: 252-262.
- COVECA. 2011. MONOGRAFIA DEL FRIJOL. Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria. Estado de Veracruz: pp. 1-25.
- Cushman, J.C. 2001. Osmoregulation in plants: implications for agriculture. Amer. Zool. 41, 758-769.
- DAI, Z.; EDWARDS, G.E.; KU, M.S. 1992. Control of photosynthesis and stomatal conductance in castor bean by leaf to air vapor pressure deficit. Plant Physiol. 99: 1426-1434.
- Delgado A. 1985. "Variation, taxonomy, domestication and germplasm potentialities in *Phaseolus coccineus*", in: P. Geps (ed.), Genetic resources of *Phaseolus* beans, Kluwer Academic Publ. Dordrecht. pp. 441-463.
- De la Cruz-Guzmán, G. H., Arriaga-Frías, A., Mandujano-Pina, M. y González-Moreno S. 2010. Efecto de la sequía sobre algunas variables hídricas y morfológicas en cinco genotipos de *Amaranthus*. Idesia (Online). Vol. 28(3):87-95.
- De Pinto, M.C. and L. De Gara. 2004. Changes in the ascorbate metabolism of apoplastic and symplastic spaces are associated with cell differentiation. J. Exp. Bot. 55: 2559-2569.
- Dolatabadian, A., S. A.M. Sanavy, and N. A. Chashmi. 2008. The effects of foliar application of ascorbic acid (vitamin C) on antioxidant enzymes activities, lipid peroxidation and proline accumulation of canola (*Brassica napus* L.) under conditions of salt stress. J. Agron. Crop Sci.194: 206-213.

- HALL, A.E.; SHULTZ, E.D. 1980. Stomatal response to environment and a possible interrelation between stomatal effect on transpiration and CO₂ assimilation. *Plant Cell Environ.* 3: 467-474
- Hsiao, T.C., L. Heng, P. Steduto, B. Rojas-Lara, D. Raes, y E. Fereres. 2009. —Aqua Crop-- The FAO Crop Model to Simulate Yield Response to Water: III. Parameterization and Testing for Maizell. *Agronomy Journal* 101 (3): 448-459.
- Hussain, M.; Malik, M. A.; Farooq, M.; Ashraf, M. Y. y Cheema, M. A. 2008. Improving Drought tolerance by exogenous application of glycine betaine and salicylic acid in sunflower, *J. Agron. Crop Sci.*, vol. 194, pp. 193-199.
- Kirkham, M.B. 2005. Principles of soil and plant water relations. Elsevier Academic Press, Amsterdam, the Netherlands.
- KRAMER, P.J. 1983. Water relations of plants. Academic Press Inc., N.Y. 389 p.
- Kramer, P.J. and J.S. Boyer. 1995. Water relations of plants and soils. Academic press. New York. USA. P. 344-376.
- Levitt, J. 1980. —Responses of Plants to Environmental Stresses. Water, Radiation, Salt and Other Stresses. Vol. III Academic Press, New York: 1-607.
- López Torres, M. 1995. Resistencia de las plantas. Mexico. Trillas. ISBN 968-24-4196-2. pp. 103.
- Medrano, H., J.M. Escalona, J. Cifre, J. Bota, y J. Flexas. 2003. —A ten-year study on the physiology of two Spanish grapevine cultivars under field conditions: effects of water availability from leaf photosynthesis to grape yield and quality. *Functional Plant Biol.* 30 (6): 607-619.

- Miller, G.; Shulaev, V. y Mittler, R. 2008. Reactive oxygen signaling and abiotic stress. *Physiologia Plantarum*, vol. 133, pp. 481-489.
- Miranda. C., S. 1966. Identificación de las especies Mexicanas y cultivos del genero *Phaseolus*. Infiltración Genética entre *Phaseolus coccinelus* L. y *Phaseolus vulgaris* L.) Serie de investigaciones no. 9 de Post graduados, F.N.A., Chapingo, México, D.F.
- Moreno Fonseca, L.P. 2009. "Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una Revisión". *Agronomía colombiana*. Vol. 27 (No. 2): 179-191.
- Mundree, S.G., B. Baker, S. Mowla, S. Peters, S. Marais, C. Vander Willigen, K. Govender, A. Maredza, S. Muyanga, J.M. Farrant, y J. Thomson. 2002. —Minireview - Physiological and molecular insights into drought tolerance. II *African Journal of Biotechnology* 1 (2): 28-38.
- Munns, R. and M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59: 651-681.
- Muñoz Saldaña, R. 2010. Frijol, rica fuente de proteínas. *CONABIO. Biodiversitas*, Vol. 89: 7-11.
- Nicasio-Arzeta, S., M. E. Sánchez-Coronado., A. Orozco Segovia y A. Gamboa de Buen. 2011. "Efecto del pre acondicionamiento y el sustrato salino en la germinación y crecimiento de plántulas de maíz (*Zea mays*) raza chalqueño." *Agrociencia* 45: 195-205.
- Nilsen, E.T y D.M. Orcutt. 1996. *Physiology of plants under stress*. Jhon wiley and sons, Inc., New York.
- NUÑEZ-BARRIOS, A.; FOSTER, E. 1996. Efecto del déficit hídrico sobre el crecimiento de hojas, tallos y vainas de frijol. *Agricultura Tec. En México* 22:99-10.

- Ortiz, O. M. 2006. Respuestas fisiológicas y bioquímicas de dos especies de pinos en condiciones limitantes de humedad. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México. P. 58.
- Osmond, C.B., M.P. Austin, J.A. Berry, W.D. Billings, J.S. Boyer, J.W.H. Dacey, P.S. Nobel, S.D. Smith, y W.E. Winner. 1987. —Stress physiology and the distribution of plants. *BioScience* 37 (1): 38-48.
- Pérez, G. F. y L.B. Martínez. 1994. Introducción a Fisiología Vegetal. 1ª. Edición; Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. Pp. 32, 45 y 54.
- Pineda, B.; García-Abellán, J. O y Antón, T. 2012. Tomato: Genomic Approaches for Salt and Drought Stress Tolerance. *Improving Crop Resistance to Abiotic Stress*, vol. 1 & 2. pp. 1085-1120.
- Potters, G., T.P. Pasternak, Y. Guisez, K.J. Palme y M.A.K. Jansen. 2007. Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? *Trends Plant Sci.* 12(3), 99-105.
- Puentes, R., G. Narváez, M. Eilitta, A. Vargas y F. Guevara. 2002. [en línea]. *Phaseolus vulgaris* L. Red de grupos de Agricultura de cobertura (RED GAC). México. <http://www.rockfound.org.mx/vulgarisbiesp.html>. [Consulta: 2 dic. 2016].
- Reyes Rivas., L.E. Padilla Bernal., O. Perez Veyna y P. López Jaquez. 2008. Historia, naturaleza y cualidades alimentarias del frijol. *Revista Investigación científica. Zacatecas, Mex.* Vol. 4: p.p.21.
- Romero Polanco. 2012. Sequia afecta a más de dos millones de mexicanos. *Teorema Ambiental. Revista Técnico Ambiental. Boletín electrónico del 30 de enero del 2012.* [En línea]. <http://www.teorema.com.mx/cambioclimatico/sequia-afecta-a-mas-de-dos-millones-de-mexicanos/> [Web consultada el 25 de mayo 2016].

- Sanchez-Diaz, M. y J. Aguirreola. 2000. Relaciones hídricas. En: fundamentos de fisiología vegetal. Azcon-Bieto, J. y Talón, M. (Eds.). McGraw-Hill / interamericana. Madrid, España. Pp. 17-64.
- Sánchez, J. A.; R. Orta, 2001. "Tratamientos pre germinativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en las plantas de interés agrícola." *Agronomía costarricense* 25(1): 67-92.
- Shao, H.B., L.Y. Chu, C.A. Jaleel y C.X. Zhao. 2008. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *C.R. Biol.* 331, 215-225.
- Smirnoff, N. 1996. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Ann. Bot.* 78: 661-669.
- Stasolla, C. and E.C. Yeung. 2007. Cellular ascorbic acid regulates the activity of major peroxidases in the apical poles of germinating white spruce (*Picea glauca*) somatic embryos. *Plant Physiol. Biochem.* 45: 188-198.
- Torres Netto, A.; E. Campostrini; J. Goncalves de Oliveira, R. E. Bressam-Smith. 2005. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. *Scientia Horticulture* 104: 199-209.
- Tujeda, N. 2007. Mechanism of high salinity tolerance in plants. *Met. Enzymol.* vol. 426, pp. 419-438.
- Türkan, I. y Demiral, T. 2009. Recent development in understanding salinity tolerance. *Environ. Exp. Bot.*, vol. 67, pp. 2-9.
- Verslues, P.E., M. Agarwal, S. Katiyar-Agarwal, J. Zhu, y J.-K. Zhu. 2006. —Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal* 45 (4): 523-539.

Villalobos, F.J.: L. Mateos: F. Orgaz: E. Feveres. 2002. Fitotecnia: Bases y tecnologías de la producción agrícola. México. Mundi-prensa.Pp.496.

Zeiger, E., L.D. Talbott, S. Frechilla, A. Srivastava, y J. Zhu. 2002. —The guard cell chloroplast: a perspective for the twenty-first century. *New Phytologist* 153 (3): 415- 424

Zushi, K. y Matsuzoe, N. 2009. Seasonal and cultivar differences in salt-induced changes in antioxidant system in tomato. *Sci. Hort.*, vol. 120, pp. 181-187.