



MINISTERIO DE EDUCACIÓN SUPERIOR
Universidad Agraria de la Habana
“Fructuoso Rodríguez Pérez”



INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS

“JORGE DIMITROV”

**EFFECTO DE LA INOCULACIÓN CON AZOFERT®-F EN LA
TOLERANCIA DE PLANTAS DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris*
L.) AL DÉFICIT HÍDRICO**

*Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en
Ciencias Agrícolas*

Autor: Ing. Wilfredo Estrada Prado, MSc.



Mayabeque, Cuba

-2020-



MINISTERIO DE EDUCACIÓN SUPERIOR
Universidad Agraria de la Habana
“Fructuoso Rodríguez Pérez”



INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS

“JORGE DIMITROV”

**EFFECTO DE LA INOCULACIÓN CON AZOFERT®-F EN LA
TOLERANCIA DE PLANTAS DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris*
L.) AL DÉFICIT HÍDRICO**

*Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en
Ciencias Agrícolas*

Autor: Ing. Wilfredo Estrada Prado, MSc.

Tutores: Ing. Eduardo Iván Jerez Mompiés, Dr. C.
Lic. María Caridad Nápoles García, Dr. C.



Mayabeque, Cuba

-2020-



“El futuro de nuestra patria tiene que ser necesariamente un futuro de hombres de ciencia, tiene que ser un futuro de hombres de pensamiento, porque precisamente es lo que más estamos sembrando; lo que más estamos sembrando son oportunidades a la inteligencia (...).”

Fidel Castro



Abreviaturas utilizadas

Abreviatura	Significado
ABA	Ácido abscísico.
ACC	1-aminociclopropano-1-carboxilato.
Az	Inoculación con Azofert®-F.
-Az	no Inoculación con Azofert®-F.
DE	Densidad Estomática.
IE	Índice Estomático.
CE	Conductancia estomática.
H1	Plantas sin estrés hídrico.
H2	Plantas que se expusieron a reducción del suministro hídrico.
CRA	Contenido Relativo de Agua.
PH	Potencial Hídrico.
PO	Potencial Osmótico.
POS	Potencial Osmótico Saturado.
P	Presión.
MSR	Masa seca de la raíz.
MSPA	Masa seca parte aérea.
MSTotal	Masa seca total.
DDS	Días después de la siembra.
Cla	Clorofila a.
Clb	Clorofila b.
Carot	Carotenoides.
PRO	Prolina.
Pst	Proteínas solubles totales.
Cst	Carbohidratos solubles totales.
ESx	Error estándar.
ROS	Especies reactivas de oxígeno.
PGPR	Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal.
TRC	Tasa Relativa de crecimiento.
TAN	Tasa de Asimilación Neta.
NNP	Número de nódulos por planta.
NNE	Número de nódulos efectivos.
UFC	Unidades formadoras de colonias.
Sf	Superficie foliar.
LR	Longitud de la raíz.
NVP	Número de vainas por planta.
MFVP	Masa fresca de vainas por planta.
NGV	Número de granos por vaina.
MGP	Masa de los granos por planta.
MF100G	Masa fresca de 100 granos.
Rend	Rendimiento estimado.
Phs.....	Porcentajes de humedad del suelo.



Síntesis



SÍNTESIS

El déficit hídrico es el estrés abiótico de mayor incidencia en el crecimiento y rendimiento de las plantas de frijol. En Cuba, donde este cultivo constituye un alimento básico para la población, este estrés provoca pérdidas del rendimiento entre un 20 y un 80 %. Por tal motivo se buscan alternativas que permitan mitigar sus efectos adversos, como el uso de biofertilizantes a partir de la biodiversidad microbiana existente en nuestros suelos. En la presente investigación se evaluó el efecto de la inoculación a las semillas con el biofertilizante Azofert®-F, en la respuesta de dos cultivares de frijol al déficit hídrico. Se realizaron tres experimentos: en condiciones controladas, semicontroladas y de campo, donde se evaluaron variables morfológicas, fisiológicas, bioquímicas, de nodulación, así como del rendimiento y sus componentes. Los resultados mostraron que la inoculación con la cepa *Rhizobium radiobacter*, principio activo del biofertilizante Azofert®-F, estimuló variables del crecimiento del cultivo, incrementó el contenido relativo de agua, los componentes del potencial hídrico foliar y la conductancia estomática. La aplicación de este producto disminuyó el contenido de prolina en condiciones de déficit hídrico y permitió reducir la dosis de fertilización nitrogenada recomendada en el cultivo, e incrementar los rendimientos en condiciones de déficit hídrico.



ÍNDICE DE CONTENIDO

I	INTRODUCCIÓN.	1
II	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1	El cultivo del frijol. Su importancia.	5
2.2	Requerimientos edafoclimáticos del cultivo	7
2.2.1	Requerimientos nutricionales del frijol	8
2.3	El estrés hídrico	10
2.3.1	Efecto del déficit hídrico en las plantas	12
2.3.1.1	Respuestas de las plantas al estrés hídrico	14
2.3.2	Efecto del déficit hídrico en el frijol	16
2.3.3	La sequía en Cuba. Estrategias de mitigación	17
2.4	Los biofertilizantes y su uso en la agricultura. Azofert®	18
2.4.1	Fijación biológica del nitrógeno	21
2.4.1.1	Interacción rizobios-leguminosa. Simbiosis <i>Rhizobium</i> -frijol	22
2.5	Efecto de algunos microorganismos ante el déficit hídrico	27
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.	30
3.1	Efecto de la inoculación con Azofert®-F en indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos de plantas de frijol en condiciones de déficit hídrico.	32
3.2	Efecto de la inoculación con Azofert®-F en la nodulación de plantas de frijol en condiciones de déficit hídrico.	37
3.3	Efecto de la inoculación con Azofert®-F en el crecimiento y rendimiento de plantas de frijol en condiciones de déficit hídrico.	38
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
4.1	Efecto de la inoculación con Azofert®-F en indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos de plantas de frijol en condiciones de déficit hídrico.	43
4.2	Efecto de la inoculación con Azofert®-F en la nodulación de plantas de frijol en condiciones de déficit hídrico.	71
4.3	Efecto de la inoculación con Azofert®-F en el crecimiento y rendimiento de plantas de frijol en condiciones de déficit hídrico.	80
V.	CONCLUSIONES	99
VI.	RECOMENDACIONES	100
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	-
	ANEXOS	-



Introducción



I-INTRODUCCIÓN

El cambio climático provoca eventos meteorológicos extremos, modifica los patrones globales de precipitación y la intensidad y frecuencia de las sequías (Urbina *et al.*, 2015), este último constituye una de las principales amenazas para la productividad de los cultivos, y afecta la seguridad alimentaria mundial (Jaemsaeng *et al.*, 2018; Saikia *et al.*, 2018).

Según la FAO (2018), la sequía y la salinidad afectan a 60 y 10,5 millones de km² en el mundo, respectivamente, y son responsables colectivamente de aproximadamente el 70 % de las pérdidas en el rendimiento de las cosechas anuales (Dutta *et al.*, 2018).

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa más consumida en el mundo. En la actualidad se producen cerca de 18 millones de toneladas anuales, en ambientes tan diversos como regiones de América Latina, el norte de África, China, Estados Unidos, Europa y Canadá. América Latina se posiciona como el mayor productor y consumidor del grano, liderado por Brasil, México, Centroamérica y el Caribe (González *et al.*, 2017). Este cultivo constituye una fuente significativa de proteínas, vitaminas y minerales para la dieta humana (Dell' Amico *et al.*, 2017; Calero *et al.*, 2018). Se plantea que, para más de 300 millones de personas en el mundo, el frijol es componente esencial de su dieta diaria (Rodríguez, 2017).

En Cuba, la superficie cosechada de este cultivo superó las 118 mil hectáreas durante el año 2017, con un rendimiento promedio de 1,2 t ha⁻¹ y una producción total de 132 mil toneladas (ONEI, 2018). No obstante, la producción nacional no satisface la demanda de consumo, por lo que es necesario importar alrededor de 14 400 toneladas cada año, con un costo de 20,3 millones de dólares (Rodríguez, 2017).



Se plantea que el 60 % de la producción mundial de frijol se obtiene en condiciones de déficit hídrico, lo que ha llevado a considerar a la sequía como el segundo factor limitante para su rendimiento, después de las enfermedades (Polón *et al.*, 2017).

En Cuba, las precipitaciones durante el período seco del año no son suficientes para obtener un desarrollo adecuado de la mayor parte de los cultivos, por lo que el riego es necesario (González *et al.*, 2017). El promedio de las precipitaciones en el país para el año 2018 fue de 1471,3 mm; y particularmente en la provincia Granma fue de 1123,5 mm (ONEI, 2018); no obstante, la distribución no es uniforme, por lo que se presentan áreas con sequía meteorológica catalogadas de severas a extremas, principalmente en los municipios montañosos (Fonseca *et al.*, 2018).

En la búsqueda de alternativas para aumentar la producción de alimentos, con una menor agresión al medio ambiente, surgen diversos productos naturales entre los que se encuentran los biofertilizantes. Estos bioproductos han mostrado la capacidad de estimular el crecimiento, el desarrollo y el rendimiento vegetal y de permitir a las plantas tolerar situaciones de estrés (Nápoles, *et al.*, 2009; Álvarez, 2014; Glick, 2016; Khan *et al.*, 2019).

Azofert[®] es un inoculante comercial a base de rizobios, bacterias que se asocian a las plantas de leguminosas y forman nódulos en sus raíces, dentro de los cuales se fija el nitrógeno del aire y lo brindan directamente a la planta (Nápoles, *et al.*, 2002). Se ha demostrado, además, que señales producidas por estas bacterias y contenidas en este bioproducto, inducen tolerancia al estrés en condiciones de déficit hídrico para el cultivo de la soya (Nápoles, *et al.*, 2009), pero no se ha estudiado su efecto en el cultivo de frijol bajo esas condiciones.

Problema científico:

La escasa pluviometría y disponibilidad de agua en las zonas productoras de frijol provocan afectaciones en el crecimiento y rendimiento de las plantas.

**Hipótesis:**

La aplicación del biofertilizante Azofert[®]-F a las semillas de frijol, en el momento de la siembra, disminuye las afectaciones provocadas por el déficit hídrico en el crecimiento y rendimiento del cultivo.

Objetivo General:

Evaluar la influencia del inoculante Azofert[®]-F en la tolerancia de plantas de frijol sometidas a déficit hídrico.

Objetivos específicos:

1. Evaluar la influencia de Azofert[®]-F en indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos de plantas jóvenes de frijol, en condiciones de déficit hídrico.
2. Determinar el efecto de Azofert[®]-F en variables de la nodulación de plantas de frijol, en condiciones de déficit hídrico.
3. Definir el efecto de Azofert[®]-F en el crecimiento y rendimiento del cultivo del frijol, en condiciones de déficit hídrico.

Novedad Científica:

Se evalúa por primera vez el efecto de la inoculación con Azofert[®]-F en el crecimiento, nodulación y rendimiento de plantas de frijol en condiciones de déficit hídrico, en un suelo Pardo sin carbonato. Se demuestra que la inoculación de las semillas con Azofert[®]-F incrementa el rendimiento del frijol en condiciones de déficit hídrico.

Aporte teórico:

Se aportan conocimientos relacionados con la respuesta de indicadores morfológicos, fisiológicos, bioquímicos, de la nodulación y el rendimiento del cultivo del frijol inoculado con rizobios, en condiciones de déficit hídrico, en diferentes momentos de su ciclo vegetativo.

**Aporte práctico:**

Se presenta una tecnología que permite incrementar los rendimientos del frijol ante déficit hídrico, así como disminuir la dosis de fertilizante nitrogenado a utilizar, lo que trae consigo beneficios económicos y ambientales.



Revisión Bibliográfica



II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 El cultivo del frijol. Su importancia

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una planta anual, con ciclos vegetativos cortos, de 80-100 días y ciclos largos, de 100-120 días; según la variedad y la fecha de siembra (García, 2006). De todos los frijoles es el más cultivado en las regiones tropicales y subtropicales. Se cree que son nativos del Nuevo Mundo, probablemente del centro de México y Guatemala; fueron transportados a Europa por los españoles y portugueses, quienes posteriormente lo llevaron a África y otras partes del Viejo Mundo (Mejías, 2018). Actualmente su cultivo se encuentra distribuido en los cinco continentes y representa la legumbre más importante en la dieta humana, al proporcionar proteínas y carbohidratos a más de 300 millones de personas, especialmente en América Latina, el Caribe y África (CGIAR, 2012).

Ubicación Taxonómica (Linneo, 1973)

División: Spermatophyta

Subdivisión: Magnoliophyta

Clase: Dicotyledoneas

Orden: Rosales

Familia: Fabaceae

Subfamilia: Papilionoidea

Género: *Phaseolus*

Especie: *Phaseolus vulgaris*

Del género *Phaseolus* se conocen 55 especies, cinco de las cuales han sido domesticadas. Existen dos grandes grupos de germoplasmas, derivados de los acervos genéticos mesoamericano y andino. Cada uno de estos acervos ha sido clasificado en tres razas. El acervo “Andino” se constituyó por las razas Nueva Granada, Chile y Perú, mientras que “Mesoamérica” quedó integrado por las razas Jalisco, Durango y Mesoamérica (Martínez, 2016).

Dentro del grupo de las fabáceas, el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las especies cultivadas más importantes. La principal importancia de esta leguminosa está dada por su valor



alimenticio, tanto para el hombre como para los animales (Martínez, 2016).

Por su alto contenido proteico constituye, entre las leguminosas, el tercer cultivo más importante en el mundo, después de la soya (*Glycine max* L.) y el cacahuate (*Arachis hypogaea*) (Laraflares, 2015). La semilla contiene entre 20-25 % de proteínas, entre las que sobresale por su abundancia la faseolina, que posee un alto contenido de aminoácidos esenciales, tales como la lisina y el triptófano, presentes en este grano en mayor cantidad que en los cereales (Treviño y Rosas, 2013).

El frijol común destaca, además, por su importancia socioeconómica y por la superficie destinada para la siembra y la producción en grano (Treviño y Rosas, 2013). Se considera como la fuente más barata de proteínas y calorías, además de los ingresos económicos que genera para sus productores (Martínez, 2016).

La producción mundial de frijol en el periodo 2010-2016, registró una tasa media anual de crecimiento (TMAC) de 1,42 %, lo que significó un aumento de 2 170 millones de toneladas (Mt) en dicho periodo. Históricamente, la India ha sido el principal productor de frijol en el mundo, aunque en los últimos cinco años del periodo citado, fue superado por Myanmar. En el año 2016, la producción de frijol superó las 26,8 (Mt); Myanmar y la India fueron los principales productores con un 19,34 % y 14,53 % de participación respectivamente, seguidos por Brasil, Estados Unidos, Tanzania, China, México, Uganda y Kenya. De estos países, Kenya registró la TMAC 2010-2016 más alta, con 10,94%, mientras que, la más baja fue de la India con 3,71 % (FAO, 2018; Guzmán *et al.*, 2019).

En Cuba el frijol constituye un alimento de preferencia en la dieta diaria, llegándose a consumir hasta 23 kg anuales como promedio por habitante (Martínez, 2016); representa uno de los granos fundamentales en la alimentación de la población, junto al arroz y a las viandas. Su



producción ha ido en ascenso, con rendimientos que alcanzan 1 t ha^{-1} , y la participación de 15 773 productores. De ellos, el 50 % alcanzan rendimientos de $0,5\text{-}1,0 \text{ t ha}^{-1}$; el 40 % de $1,0\text{-}1,5 \text{ t ha}^{-1}$ y solo el 3 % de $2,0\text{-}2,5 \text{ t ha}^{-1}$ (MINAG, 2016; Hernández y Salido, 2019). Por esta razón, la producción actual no garantiza el consumo normado de la población, por lo que el estado tiene que recurrir a la importación del grano (Rodríguez, 2017).

2.2. Requerimientos edafoclimáticos del cultivo

El frijol se adapta a una gran diversidad de suelos y climas, aunque prefiere suelos sueltos y climas moderadamente fríos, con temperaturas entre 16 y 25 °C. Su periodo vegetativo varía entre los 90 y 120 días (Faure *et al.*, 2014).

Este cultivo requiere de suelos profundos y fértiles, con buenas propiedades físicas, de textura franco limosa, aunque también tolera texturas franco arcillosas. Crece bien en suelos con pH entre 5,5 y 6,5; de topografía plana y ondulada, con buen drenaje (Escoto, 2013). La preparación del suelo debe hacerse a una profundidad mínima de 30 cm y preferiblemente de 40 cm. Primero se debe arar y luego rastrear hasta dejar el suelo al mullido necesario (Lardizabal *et al.*, 2013).

En cuanto al riego, el frijol necesita alrededor de diez riegos, con una norma neta total promedio de $3\,500 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ durante todo el ciclo del cultivo, lo que depende del cultivar y el tipo de suelo. Requiere de una humedad de 80 % de la capacidad de campo durante las cuatro etapas críticas, en las que no puede faltar el agua para que el rendimiento no se afecte: la germinación, la floración, la formación de vainas y el llenado de las vainas (Faure *et al.*, 2014).

La fertilización es una práctica de gran importancia en la producción del frijol en suelos pobres y erosionados. Una adecuada fertilización proporciona los nutrientes necesarios para obtener un buen crecimiento, desarrollo y producción del cultivo. En los últimos años y por tradición se



ha fertilizado para cubrir los requerimientos de nitrógeno, fósforo y potasio. No obstante, antes de utilizar cualquier fertilizante en el cultivo se recomienda hacer un análisis de suelo para determinar el tipo de fertilizante y la cantidad que se necesita (Escoto, 2013).

2.2.1. Requerimientos nutricionales del frijol

Para satisfacer los requerimientos nutricionales del frijol, el Ministerio de la Agricultura recomienda y asigna a los productores una Fórmula Completa de 800 kg ha⁻¹ de NPK e inocular las semillas con *Rhizobium*, además de una segunda aplicación, correspondiente a 140 kg ha⁻¹ de Urea, aplicado en el fondo de los surcos 10 días antes de la floración, cuando se cuente con el riego (MINAGRI, 2010). Ello responde a que el frijol necesita altas cantidades de nitrógeno, componente básico de proteínas, enzimas, ácidos nucleídos y vitaminas.

El nitrógeno se absorbe como elemento inorgánico por la raíz en forma de NH₄⁺ y NO₃⁻. En este órgano los iones se transforman en N orgánico (amidas, ureidos, etc), compuestos básicos para producir los aminoácidos y las proteínas en las hojas (Alemán, 2006). De los elementos nutritivos necesarios para el frijol, el nitrógeno es el que más rápido provoca efectos en la planta, por lo que la cantidad de este elemento en el suelo generalmente es considerado insuficiente para satisfacer las necesidades del cultivo.

El nitrógeno es un elemento indispensable para la multiplicación celular; el desarrollo de los órganos, el incremento del área foliar y las masas protoplasmáticas activas (Pérez, 2016). Este mismo autor señala que el nitrógeno es necesario desde el comienzo del desarrollo de la planta; su absorción aumenta rápidamente desde el inicio de la fase de crecimiento y se extiende hasta la floración. En estudios realizados sobre la absorción del nitrógeno se han diferenciado cuatro etapas fundamentales: desde la germinación hasta el inicio de la floración, durante la floración, desde el final de la floración hasta el llenado de los granos y en la madurez (Pérez, 2016).



Un abastecimiento adecuado de nitrógeno favorece un desarrollo vigoroso y la producción de proteínas. Sin embargo, un aporte excesivo de este elemento puede provocar un desarrollo vegetativo anormal, retraso y reducción de la floración y un retraso en la maduración; lo que trae como consecuencia un alargamiento del ciclo vegetativo del cultivo (Martínez, 2016).

El fósforo constituye otro elemento esencial que participa directamente en el metabolismo vegetal, la planta no puede culminar su ciclo biológico en su ausencia y no puede ser sustituido por otro elemento (Quintana *et al.*, 2017). Se encuentra disponible como ion fosfato y se absorbe preferentemente como H_2PO_4^- en suelos con un pH inferior a 7 y como anión divalente HPO_4^{2-} , en suelos con un pH por encima de 7 (Azcón y Talón, 2013).

Este elemento desempeña funciones estructurales en las macromoléculas como los ácidos nucleicos, además en los procesos metabólicos de biosíntesis y degradación. Permanece en su forma más altamente oxidada, ya que no son reducidos en la planta, lo que sí ocurre con los nitratos y los sulfatos (Quintana *et al.*, 2017).

El fósforo es un componente de las nucleoproteínas, ácidos nucleicos (ARN y ADN) y los fosfolípidos, los cuales tienen múltiples funciones en el metabolismo de la planta. Participa en la transportación de carbohidratos de la parte aérea de la planta a las vainas. Esto quiere decir, que el fósforo se necesita hasta en la época de maduración fisiológica (Alemán, 2006).

Las plantas bien abastecidas de fósforo maduran con mayor rapidez. La máxima absorción de este elemento por la planta se produce a los 41 días de sembrado, cuando el riego es deficiente disminuye el aprovechamiento del fósforo por la planta, lo que motiva un aumento de la fijación del elemento en el suelo (Pérez, 2016).

El potasio es otro macronutriente de gran importancia para el cultivo, ya que es demandado en mayor cuantía que el Fósforo, aunque menos que el Nitrógeno. Este elemento tiene gran movilidad



dentro de la planta, a pesar de no encontrarse en ningún compuesto de constitución; interviene en la presión osmótica de las células, disminuye la transpiración y contribuye a mantener la turgencia celular. También desempeña un papel importante en las reacciones que intervienen en la síntesis de clorofilas, en la formación de los glúcidos y en la síntesis de las proteínas (Pérez, 2016). Este mismo autor señala que la absorción de potasio por la planta durante su ciclo de vida es máxima entre los 44 y 53 días (antes de la floración plena) y que el 73,5 % del potasio es extraído por la planta desde la germinación hasta el final de la floración.

2.3 El estrés hídrico

El término '*estrés*' aunque ampliamente utilizado en Fisiología Vegetal, resulta de difícil definición, por lo que muchas de las aproximaciones que se han formulado en relación con este concepto, son a veces imprecisas, con fuertes dosis de subjetividad (Tambussi, 2004). El término estrés fue definido por Levitt (1980) como: "cualquier factor ambiental potencialmente desfavorable para los organismos vivos", y este autor también lo define como "la expresión extrema de un factor del ambiente que inhibe el crecimiento y desarrollo en las plantas y, en consecuencia, su productividad". Taiz y Zeiger (2002), lo definen como "cualquier cambio anormal en los procesos fisiológicos, dada una combinación de factores medio ambientales y biológicos o factor externo que ejerza una influencia desventajosa".

Desde el punto de vista ecofisiológico, el estrés hídrico por defecto es cualquier limitación al funcionamiento óptimo de las plantas, impuesta por una insuficiente disponibilidad de agua. Existen términos específicos relacionados, tales como "déficit hídrico" y "sequía", que se utilizan frecuentemente como sinónimos, aunque presenten matices diferentes (Medrano y Flexas, 2002). La sequía denota, en muchos casos, una interacción entre baja disponibilidad hídrica, alta temperatura y alta irradiación, y es la falta o insuficiencia de precipitaciones durante un período



largo, la que produce una reducción del agua disponible en el suelo y por tanto, restricciones en el suministro hídrico a la planta; es decir, se trata de un déficit hídrico prolongado (Sánchez y Aguirreola, 2008).

Está claro que el déficit hídrico es el principal factor abiótico que limita la distribución geográfica y el rendimiento de la mayoría de los cultivos (Araus *et al.*, 2002; Tuberosa y Salvi, 2006), de ahí que sean numerosas las motivaciones para estudiar la fisiología de las plantas bajo este tipo de estrés (Tambussi, 2004). Según Flexas y Medrano (2002), el conocimiento de los mecanismos de respuestas de los cultivos a la sequía resulta necesario debido a que este es el principal factor limitante de la producción de los cultivos y esta limitación continúa en incremento.

La escasez de agua afecta al 52 % de la población mundial que vive en regiones áridas y semiáridas (Gheysari *et al.*, 2017). Esto implicará que la agricultura de riego en el futuro se desarrolle en un ambiente restringido del recurso agua, debido a que una parte es de prioridad para el sector urbano y el mayor porcentaje (76 %) de agua disponible se usa para la agricultura.

La sequía agrícola se considera un fenómeno que se produce naturalmente cuando las lluvias han sido inferiores a los niveles normales registrados, lo que causa un amplio desequilibrio hídrico que perjudica los sistemas de producción agrícola y la biodiversidad (Gómez y Cadena, 2017).

A pesar de que el 70 % de la superficie terrestre está cubierta de agua, sólo el 2,5 % es dulce, es decir el 97,5 % restante posee altos contenidos de sales. Alrededor del 10 % del agua dulce está congelada en los casquetes polares, acumulada en el suelo y en acuíferos profundos inaccesibles. En resumen, menos del 1 % del agua dulce es accesible para el uso humano, las áreas con grandes déficits de agua aumentan, ya no sólo en el Norte de África y en el este de Asia, sino que se han extendido al Continente Americano y a Europa. Baste señalar que en la zona de América se sufre la sequía más severa de los últimos 100 años. Todo ello pudiera estar asociado a una mayor



frecuencia, persistencia e intensidad de los fenómenos asociados al “Niño” (Núñez, 2018; FAO, 2019).

Sin embargo, entre las causas que de manera individual o combinada han hecho prevalecer las condiciones de sequía en la región geográfica de Cuba, se encuentra en primer lugar la persistente influencia de marcadas condiciones anticiclónicas en toda el área del Caribe y Centroamérica. Dicha condición provoca un acentuado descenso de aire desde los niveles superiores de la atmósfera, lo cual crea condiciones desfavorables para los procesos de lluvia en los meses de mayo, junio y octubre, al inhibir el desarrollo de grandes nubes (Cueva *et. al.*, 2006).

De acuerdo con los especialistas, si se analizan los principales rasgos de este prolongado fenómeno, se puede afirmar que además de ser el más severo registrado en las últimas cuatro décadas desde Camagüey hasta Guantánamo, la reducción de los acumulados de lluvia se ha producido como resultado de la notable disminución observada en el período más lluvioso del año (mayo-octubre) y un retraso en el inicio del período lluvioso se traduce en la prolongación de bajas condiciones de humedad en el suelo, todo lo cual resulta desfavorable para la agricultura (Peláez, 2007).

La disponibilidad de agua es el factor simple más importante que limita la producción de los cultivos en el mundo. Se ha estimado que aproximadamente se pierden anualmente 10 billones de dólares en la producción de alimentos primarios, debido a la insuficiencia de precipitaciones o la carencia total de lluvia (Tuberosa, 2006).

2.3.1 Efecto del déficit hídrico en las plantas

El déficit hídrico es capaz de afectar negativamente al conjunto de las funciones fisiológicas de la planta, tales como la fotosíntesis, respiración, el metabolismo de los carbohidratos, la nutrición mineral y la síntesis de promotores del crecimiento (Abdellatif *et al.*, 2012), pero también puede



repercutir en la apertura y cierre estomático, lo cual limita la absorción de CO₂ y por ende, reduce la actividad fotosintética (Osakabe *et al.*, 2014).

El déficit hídrico en la planta implica que las células y los tejidos no estén plenamente turgentes. Puede variar desde un pequeño descenso del potencial de agua, que solo es detectable con instrumentos, hasta el marchitamiento permanente y la muerte por desecación, lo que pasa por el marchitamiento transitorio del mediodía. Es decir, el déficit hídrico se produce siempre que la pérdida de agua por transpiración sea mayor que la absorción y está caracterizado por una reducción del contenido hídrico, del potencial osmótico y del potencial de agua, acompañados por la pérdida de turgencia, el cierre de los estomas y la reducción del crecimiento (Tamayo y Boicet, 2012).

Según Luna *et al.* (2015), el déficit hídrico afecta muchos procesos anatómicos, morfológicos, fisiológicos y bioquímicos, en algunas etapas de crecimiento y desarrollo de las plantas. Una pérdida de la turgencia en los tejidos de un 10-15 %, debido a una reducción del potencial de agua, puede provocar los siguientes efectos: concentración de macromoléculas y solutos de baja masa molar, reducción de la presión de turgencia de las células y cambios en las relaciones espaciales de las membranas y organelos, debido a la reducción del volumen celular (Monteoliva *et al.*, 2019), todo lo cual, desde el punto de vista agronómico, tiene su principal efecto en la reducción del rendimiento.

Este tipo de estrés abiótico disminuye el rendimiento y calidad de la producción; dado porque disminuye la cantidad de granos y el número de vainas, cuando el estrés se presenta en los estadios de crecimiento, floración y formación de grano (Morales *et al.*, 2017).

A pesar de que la carencia de agua constituye una de las principales fuentes de estrés, muchas plantas han desarrollado respuestas que les permiten tolerar diferentes niveles de déficit hídrico,



que van desde un estrés hídrico leve, causado por la disminución del potencial hídrico al mediodía, hasta aquellas que les permiten sobrevivir en hábitat desérticos (Moreno, 2009).

2.3.1.1 Respuestas de las plantas al estrés hídrico

Las respuestas de las plantas al estrés hídrico presentan mecanismos complejos que incluyen cambios moleculares y se extienden a todo el metabolismo, lo que influye además en la morfología y fenología de éstas, al acortar el ciclo del cultivo (Ruíz, 2015). Este mismo autor plantea que estos mecanismos en algunos casos permiten la adaptación y supervivencia a periodos más prolongados de déficit hídrico, y se dan a nivel de toda la planta o en tejidos específicos, con la finalidad de reducir la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). Entre estos mecanismos se encuentran: la defensa frente al daño oxidativo, mediante el sistema antioxidante enzimático y no enzimático, el cierre estomático (con repercusión en el intercambio gaseoso y el estado hídrico de la planta) y el ajuste osmótico, entre otros.

Las plantas pueden modificar su fisiología para adaptarse a diferentes condiciones a través de cambios metabólicos. La modificación en el metabolismo primario se considera la más aparente en todas las respuestas metabólicas e incluye alteraciones en los niveles de azúcares, alcoholes, aminoácidos, productos intermedios del ciclo del ácido tricarboxílico, que muestra tendencias comunes en las respuestas al estrés. Sin embargo, las variaciones en el metabolismo secundario son muy específicas para un estrés particular y también para las especies (Khan y Kharabian, 2017).

Los efectos de la sequía en la fotosíntesis son directos (como la limitación en la difusión a través de los estomas y el mesófilo y las alteraciones en el metabolismo fotosintético), ó secundarios (como el estrés oxidativo proveniente de la super imposición de múltiples estreses) (Chaves *et al.*, 2009).



Frecuentemente la tolerancia a la deficiencia hídrica está asociada a la supervivencia de las plantas, y los esfuerzos para mejorarla se han visto limitados por el pobre entendimiento de las bases fisiológicas del rendimiento, en condiciones de recursos hídricos limitados (Passioura, 2002), por lo que desde una óptica agronómica, según Tuberosa y Salvi (2006), la tolerancia se refiere al rendimiento final de un cultivo, mucho más que a la capacidad de este a sobrevivir en condiciones con limitaciones en la disponibilidad hídrica. En tal sentido los conceptos existentes de '*tolerancia fisiológica*' y '*tolerancia agronómica*' pueden ser incluso, contrarios.

Para Tambussi (2004), los intentos de conferir tolerancia a los cultivos frente a factores de estrés, están fuertemente influenciados por esta confusión conceptual, debido a que un determinado carácter puede ser importante en términos de tolerancia fisiológica, pero negativo en términos agronómicos. Es decir, desde una perspectiva ecofisiológica, las respuestas adaptativas que confieren a las plantas capacidad para tolerar la sequía (sobrevivir en condiciones de estrés severo), tendrán posiblemente un efecto negativo en términos de rendimiento.

En el análisis de un contexto agronómico, otros autores se refieren a resistencia a la sequía. Fischer *et al.* (1994) la definen como la capacidad de la planta cultivada para rendir su producto económico con agua disponible limitada; así mismo, Sánchez y Aguirreola (2008) plantean que un cultivo más resistente a la sequía es aquel que obtiene una mayor producción bajo estas condiciones y además, que tenga cierto grado de estabilidad en la producción durante varios años.

Para Iglesias (1995), citado por Reyes *et al.* (2008), la tolerancia a los diferentes agentes estresantes se encuentra conferida por caracteres expresados en los cuatro niveles de organización: desarrollo, estructural, fisiológico y metabólico, de ahí que mientras algunas plantas presentan gran plasticidad fenotípica, en otras la tolerancia muestra una base genética, que parece depender de varios genes con caracteres aditivo y dominante.



2.3.2 Efecto del déficit hídrico en el frijol

Diversos trabajos demuestran el efecto negativo de la sequía en el cultivo del frijol, según Sánchez (2016), un periodo de déficit hídrico de 15 días en la etapa vegetativa y reproductiva, provoca afectaciones negativas en las plantas de cinco cultivares de frijol, con un aumento en el contenido de carotenoides, en la eficiencia del uso del agua intrínseca y de los niveles de prolina, lo que indica su alto potencial de respuesta al estrés. Este mismo autor encontró que el rendimiento potencial de los cultivares fue modificado por el déficit hídrico, posiblemente porque hubo daños al aparato fotosintético; lo cual podría ser un indicador de la baja capacidad de las plantas de frijol para mantener el fotosistema II funcional bajo el estrés, lo que se considera un importante rasgo fisiológico en la tolerancia a la sequía.

Por su parte, Kusvuran y Dasgan (2017), informaron que la sequía moderada y severa aumenta el total de polifenoles y flavonoides en las semillas de frijol común y según resultados de Reyes *et al.* (2014), el estrés hídrico al 50 % de la capacidad de campo afecta el número de hojas, ramas y estructuras reproductivas.

Por otro lado, el estrés por déficit hídrico afecta drásticamente el rendimiento del cultivo de frijol (Beebe *et al.*, 2013). La sequía durante la floración y el periodo de formación de semillas redujo el rendimiento y sus componentes. Este mismo efecto se observó en la biomasa aérea, el número de vainas y de semillas por planta (Lanna *et al.*, 2016). De manera similar, Acosta *et al.* (2009) indican un efecto negativo en el índice de cosecha, y en el periodo de formación de la semilla, en ocho cultivares de frijol de diferentes hábitos de crecimiento sometidos a sequía en la etapa reproductiva (Romero *et al.*, 2019).



2.3.3. La sequía en Cuba. Estrategias de mitigación

En Cuba, durante el período 2015-2017 las consecuencias de la intensa sequía que se venía generando desde el 2014, la más grave durante los últimos 115 años, dejó innumerables daños socio-económicos y medioambientales (Figueredo y Fuentes, 2017).

Los acumulados anuales medios de las lluvias en el país para el año 2016, de acuerdo con ONEI, (2017), alcanza valores de 1 251,8 mm, y sus magnitudes reflejan una acentuada estacionalidad, con un período estacional lluvioso, que acumula el 76 % del total anual y un período poco lluvioso de noviembre a abril, el cual recibe el 24 % restante.

En la provincia Granma para ese mismo año, los acumulados anuales medios de las lluvias alcanzan los 1 187,2 mm y las magnitudes de sus acumulados mensuales reflejan igualmente una acentuada estacionalidad, con un período estacional lluvioso que acumula el 77 % del total anual y un período poco lluvioso, el cual recibe el 23 % restante (ONEI, 2017).

Para estos autores, Granma se encuentra en la región del país más afectada por la sequía agrícola en 40 años de estudio, con una afectación normal de 66 % de su territorio, al que le corresponde de ese valor un 43 % del área con intensidad muy severa, un 32 % con intensidad severa, 17 % con intensidad moderada, 5 % con intensidad ligera y 3 % muy ligera, y el valor más alto de la extensión superficial o media anual de la región, ha llegado hasta un máximo de 78 % de la superficie. De los 54 municipios de la región oriental, 14 clasifican como de muy alto riesgo de sequía, 15 de alto riesgo, 13 de riesgo medio y 12 de bajo riesgo (INSMET, 2017).

El conocimiento adquirido acerca de la sequía en Cuba, permite expresar que la extensión superficial ha incrementado, con un avance medio anual en áreas anteriormente no afectadas de aproximadamente 8 000 ha, con la característica de un mayor incremento en extensión superficial



en el período lluvioso y la disminución de estos índices en el período poco lluvioso (Solano *et al.* 2006).

Dentro de las estrategias de mitigación de la sequía en nuestro país se destaca, el implemento, desarrollo y perfeccionamiento del sistema de alerta temprana de predicción del clima, en particular de la sequía meteorológica y agrícola, el establecimiento de un sistema de vigilancia constante que comprende un monitoreo sistemático de los niveles de manantiales, diques y tablas de agua, así como los planes de contingencia, según se requiera, la construcción de presas y embalse para la acumulación de agua, y el perfeccionamiento del sistema hidro-energético para complementar el programa de drenaje y suministro de agua en áreas muy secas y afectadas grandemente por los procesos de desertificación con un valor de más de 160 millones de dólares para el Oriente Cubano (EMNDC, 2017).

No obstante, se necesita disponer de medidas preventivas y soluciones ante avisos tempranos de sequía, donde la biotecnología y la genética darán su aporte en la obtención de cultivares tolerantes al estrés, capaces de producir con eficiencia bajo tales condiciones (Domínguez, 2014).

2.4. Los biofertilizantes y su uso en la agricultura. Azofert®

Son diversas las definiciones y bondades adjudicadas al término Biofertilizante. Según Sánchez (2018) son preparados líquidos que contienen nutrientes beneficiosos para los cultivos, compuestos orgánicos y microorganismos (cepas microbianas), consideradas como eficientes fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fósforo, potencializadoras de diversos nutrientes o productoras de sustancias activas para el crecimiento vegetal.

Los biofertilizantes son fuentes renovables de nutrientes para las plantas, que complementan ó permiten reducir el uso de fertilizantes químicos (Singh *et al.*, 2016). Están compuestos por cepas seleccionadas de microorganismos benéficos del suelo, que son usados, ya sea para tratamientos



de semillas o para aplicación en el suelo (Agriculturers, 2019). Su empleo permite suplir o complementar el aporte de los fertilizantes minerales, cuyo uso en exceso causa daños al ambiente como la acidificación de los suelos y la contaminación de las aguas (Silva, 2014). De tal manera que se acrecientan las cantidades de nutrientes que pueden ser asimilados por las plantas y se hacen más eficientes los procesos fisiológicos que influyen sobre el desarrollo y el rendimiento de los cultivos (Sánchez, 2013).

El uso de biofertilizantes posibilita el ahorro parcial o total de fertilizantes minerales y permite una sustentabilidad ecológica a largo plazo (Fuentes y Martínez, 2015). En este sentido, el empleo de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés) para la biofertilización de diversos cultivos, se ha incrementado aceleradamente y constituye una estrategia en la agricultura sostenible a nivel mundial. Su uso está enfocado hacia el incremento de la nutrición de las plantas, con la correspondiente sustitución de fertilizantes químicos y a la búsqueda de protección a enfermedades y plagas (Pedro, 2019).

Entre los biofertilizantes que mayor uso han tenido en Cuba, se destacan: Dimargon®, a base de *Azotobacter chroococcum*; Azofert® y Biofer®, compuestos por rizobios como principio activo; Fosforina® y Nitrofix®, a base de *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum sp.*, respectivamente y EcoMic®, compuesto por hongos micorrízicos arbusculares (MINAG, 2020). Azofert®, es un biofertilizante comercializado por el INCA, que contiene especies nativas de rizobios, con alto grado de pureza, eficiencia y estabilidad biológica y que ha sido evaluado agronómicamente con éxito en diferentes condiciones edafoclimáticas. Este inoculante tiene la particularidad, respecto a otros presentes en el mercado, porque contienen altas concentraciones (10^{-4} - 10^{-5} M) de factores de nodulación y otras señales determinantes de la simbiosis, lo que incrementa su efectividad y calidad (Nápoles *et al.*, 2011). Los efectos beneficiosos que produce



este bioproducto se deben, principalmente, a la función de los rizobios como fijadores del nitrógeno, pero también a la amplia gama de mecanismos de acción de estas rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (Nápoles *et al.*, 2016).

Azofert® se encuentra registrado para los cultivos de frijol (Azofert-F®), soya (Azofert-S®) y canavalia (*Canavalia ensiforme*) (Azofert-Can®), donde sustituye entre 60 - 100 % del fertilizante nitrogenado que demandan estas plantas, sin afectar el rendimiento agrícola, dada su actividad como fijador del nitrógeno atmosférico. Se aplica directamente sobre las semillas, en dosis de 200 mL por cada 50 kg de semilla, previo a la siembra (Hernández *et al.*, 2016). Entre sus efectos biológicos en plantas leguminosas se encuentran, una mayor nodulación y aporte de nitrógeno a la planta, promueve el crecimiento y los rendimientos agrícolas (20 - 60 %) y disminuye los efectos adversos del estrés.

Varias investigaciones se han enfocado al beneficio que aporta la aplicación de Azofert® en leguminosas, contando con gran número de trabajos que corroboran su influencia positiva a través de diferentes mecanismos como la fijación biológica del nitrógeno, la síntesis de fitohormonas como el ácido indolacético, la promoción del crecimiento de la raíz y la proliferación de pelos radicales, así como la mejora de la absorción de agua y nutrientes y la solubilización de fosfatos (Martínez, 2016; Nápoles *et al.*, 2016; Romero *et al.*, 2017).

Martínez (2016), encontró que la inoculación con Azofert®-F y el 30 % de la fertilización nitrogenada en el cultivo del frijol variedades CC-25-9N y CUL-156, incrementaron el rendimiento en un 30 % en comparación con el tratamiento control con el 100 % de la fertilización nitrogenada. Esta misma autora encontró que al inocular las plantas con Azofert®-F, se estimuló la masa seca de los tallos y el área foliar de las plantas.

Por otra parte, Rivera *et al.* (2015) informaron que la coinoculación de semillas de frijol con



Azofert®-F, Ecomic® y la aspersión foliar de las plantas con bioestimulantes tales como Fitomas®, Biobras-16® y Quitomax®, estimularon significativamente el rendimiento del cultivo. El uso de los biofertilizantes en leguminosas constituye una alternativa promisorio frente a los fertilizantes minerales. De esta forma, se ha trabajado no sólo en la inoculación de rizobios, sino, en inoculaciones conjuntas de rizobios con otros microorganismos, lográndose estimuciones del crecimiento e incrementos en el rendimiento de los cultivos (Sánchez *et al.*, 2014; Martín *et al.*, 2015).

2.4.1. Fijación biológica del nitrógeno

El nitrógeno (constituyente de las proteínas, las enzimas, las clorofilas y los reguladores del crecimiento), es el elemento limitante para el crecimiento de la mayoría de las plantas, debido a su falta de disponibilidad. Las plantas pueden adquirirlo a partir de dos fuentes principales: el suelo, a través del abono y/o la mineralización de la materia orgánica; y la atmósfera, a través de la fijación biológica (Mayz, 2004).

La fijación biológica de nitrógeno resulta un proceso clave en la biosfera, por el cual microorganismos portadores de la enzima nitrogenasa convierten el nitrógeno gaseoso en nitrógeno combinado. Las bacterias que fijan N pueden encontrarse en formas de vida libre, en diferentes grados de asociación y las que establecen simbiosis con determinadas especies de plantas (Ramos *et al.*, 2018), de esta manera el nivel del elemento aportado a la planta varía según el grado de asociación: bacterias en vida libre aportan entre 3-5 kg N ha⁻¹año⁻¹, la FBN en rizosfera: 15-25 kg N ha⁻¹año⁻¹ y la fijación en Simbiosis hasta 600 kg N ha⁻¹año⁻¹ (Chanway *et al.*, 2014).

Se han realizado esfuerzos por producir inoculantes con bacterias probadas por su gran capacidad de fijar N, en especial con las plantas de valor comercial como soya, frijol y leguminosas forrajeras. Estas bacterias son portadoras de la enzima nitrogenasa, responsable de realizar la



conversión del nitrógeno gaseoso, pues cataliza la reducción de N_2 atmosférico a dos moléculas de amonio asimilable por las plantas (Lyra *et al.*, 2015). Se estima que este proceso contribuye entre el 60-80 % de la fijación biológica de nitrógeno.

En esta simbiosis, la planta huésped obtiene nutrientes nitrogenados de la bacteria y ofrece a éstas fuente de carbono para su metabolismo y un ambiente favorable para su establecimiento. Esta simbiosis contribuye con una parte considerable del nitrógeno combinado en la tierra y permite a las plantas leguminosas crecer en suelos con bajo contenido de nitrógeno, sin empobrecerlos (Wang *et al.*, 2014).

El nitrógeno fijado biológicamente por algunos microorganismos en simbiosis garantiza una fuente directa de este elemento a ser utilizada por la planta, y de esta manera, menos susceptible a los procesos naturales como la volatilización, desnitrificación y la lixiviación. Este proceso contribuye a la nutrición y desarrollo de las plantas, principalmente en suelos deficientes de nitrógeno (Long, 2001).

La capacidad de los microorganismos para usar el nitrógeno gaseoso como única fuente de nitrógeno y participar en simbiosis con plantas huésped confiere muchas ventajas ecológicas (Dixon y Kahn, 2004) y económicas, al disminuir el empleo de fertilizantes que resultan costosos y en muchas ocasiones nocivos al ambiente. Es importante contar con cepas de estos microorganismos compatibles con estos cultivos y eficientes en la simbiosis para garantizar un aprovechamiento adecuado de este elemento (Peticari, 2005).

2.4.1.1. Interacción rizobios-leguminosas. Simbiosis *Rhizobium*-frijol

La relación entre los rizobios y las leguminosas es el mecanismo biológico más importante para proporcionar nitrógeno a las plantas como una alternativa ante el alto costo de fertilizantes amoniacales (Rai *et al.*, 2012).



Las bacterias del grupo de los rizobios se encuentran dentro del grupo de microorganismos que establecen simbiosis con plantas de la familia Fabaceae. Hoy la taxonomía polifásica ha permitido identificar 120 especies de rizobios (Sahgal y Jaggi, 2018). Estos microorganismos invaden las raíces de estas plantas y provocan la formación de nódulos, en los cuales se establece la simbiosis en la que se fija el N atmosférico (Nápoles *et al.*, 2008).

Esta interacción simbiótica es altamente específica y estrictamente controlada principalmente por la planta huésped, de tal manera que una leguminosa en particular interactúa con sólo un conjunto limitado de especies de rizobios y cada especie de rizobio establece simbiosis con un rango limitado de especies de leguminosas, a veces con una en exclusiva (Olivares, 2017).

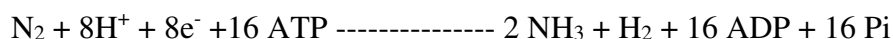
El establecimiento de la simbiosis es un proceso complejo, que implica un intercambio coordinado de múltiples señales entre la planta huésped y su microsimbionte; entre ellos los flavonoides secretados por las raíces de leguminosas y los lipoquitinolígosacáridos presentes en los rizobios (factores Nod) juegan un papel crucial (Janczarek *et al.*, 2015).

En este reconocimiento entre la planta y la bacteria una de las primeras señales es la liberación de metabolitos secundarios, fundamentalmente compuestos flavonoides como naringenina, genisteína y daidzeína y no flavonoides como ácidos aldónicos y betaínas, que atraen químicamente a los rizobios hacia la región apical de los pelos radicales (Rodríguez y Sicardi, 2010). Los rizobios, al reconocer los compuestos flavonoides, inician la transcripción de los genes denominados de nodulación (genes *nod*), los cuales a su vez inducen la síntesis de los lipoquitinolígosacáridos (factores Nod), responsables de una serie de cambios morfológicos y fisiológicos en los pelos radicales de la planta, que condicionan la entrada de la bacteria (Oliva, 2008).



Una vez que las bacterias son retenidas por las células vegetales que forman el primordio nodular, son rodeadas por la membrana peribacteroidal (MPB), la cual mantiene físicamente fuera del citoplasma a los bacteroides y de esta forma, se evita la posible respuesta de defensa de la planta. Esta membrana, además juega un papel relevante en el intercambio metabólico entre el citoplasma celular y los bacteroides en la simbiosis (Masson *et al.*, 2009). De esta forma, queda constituido el simbiosoma, unidad básica de fijación de nitrógeno, capaz de regular el transporte de metabolitos entre los simbiosomas. La relación simbiótica se manifiesta en el hecho de que la planta proporciona energía y esqueletos carbonados a los bacteroides, para que puedan realizar la fijación de nitrógeno y éstos a cambio, suministran a la planta nitrógeno asimilable en forma de amidas o de ureidos (Han *et al.*, 2009).

Una vez que la bacteria se convierte en bacteroide en el interior de la célula, adquiere la capacidad de reducir el nitrógeno atmosférico a través del complejo enzimático nitrogenasa. La enzima consta de dos proteínas: los componentes I y II. El componente I: molibdoferredoxina (MoFe), es responsable de la reducción del N₂ molecular a amoníaco. El componente II: azoferredoxina, cuya función es la transferencia de electrones al componente I y por último al nitrógeno (Rajasekaran *et al.*, 2012). Estos componentes conllevan a la reacción de reducción:



Esta fijación enzimática de N₂, es un proceso con un elevado costo energético que requiere el acoplamiento de un sistema eficiente de generación de ATP, como la fosforilación oxidativa (Zhao *et al.*, 2006). Del 30 al 60 % de la energía suministrada para la nitrogenasa se pierde como H₂, lo cual disminuye la eficiencia de la fijación (Cheng, 2008).

La mayor parte del amonio resultante de la fijación biológica del nitrógeno se incorpora al citosol de las células vegetales infectadas con el simbionte, mediante un transportador específico.



Inmediatamente, la isoforma citosólica de la enzima glutamina sintetasa (GS1) cataliza la incorporación del amonio al glutamato, originándose la glutamina (Pageau *et al.*, 2006).

De la glutamina resultante, una pequeña porción puede incorporarse al interior de los plastidios y por acción de la enzima GOGAT se transforma en glutamato (Morgan *et al.*, 2005). El glutamato puede ser reutilizado por una isoforma de la glutamina sintetasa identificada en plastidios (GS2) o metabolizarse en varios aminoácidos por acción de las transaminasas (Prell y Poole, 2006).

Una pequeña porción del amonio resultante de la fijación biológica, se inserta a la ruta GDH o puede utilizarse por la alanina deshidrogenasa (ADH) (Pageau *et al.*, 2006). Waters y Emerich (2000) muestran evidencias donde la alanina constituye la forma de transporte del amonio desde el bacteroide hacia el citosol. Sin embargo, Zozaya-Hinchliffe *et al.*, (2005) señalan que, aunque el bacteroide puede sintetizar alanina mediante la enzima ADH, el amonio constituye el mayor compuesto de exportación hacia el citosol de las células vegetales infectadas por el rizobio.

Los ureidos, fundamentalmente la alantoína, constituyen la principal forma de transporte del amonio resultante de la simbiosis hacia las hojas de las plantas de frijol (White *et al.*, 2007). La ruta metabólica que da origen a los ureidos transcurre a partir de la degradación de las bases purínicas en las células vegetales adyacentes al simbiosoma (Morgan *et al.*, 2005). Como resultado de esta vía catabólica se obtiene el ácido úrico, el cual se transforma en alantoína por la enzima urato oxidasa (Morgan *et al.*, 2005).

La alantoína se transporta a través del xilema hacia las hojas del frijol, dónde se almacena en los peroxisomas y se traslada hacia el retículo endoplasmático para su degradación (Werner *et al.*, 2008). El primer paso del catabolismo de los ureidos comienza mediante la degradación de la alantoína en alantoato, por la enzima alantoinasa (Charlson *et al.*, 2009). A continuación, el alantoato se degrada por dos vías principales cuyos productos son utilizados en la síntesis de



proteínas (Ladrera *et al.*, 2007). En una de ellas actúa la enzima alantoato amidinohidrolasa, produciéndose urea, dióxido de carbono y amonio. La otra vía transcurre mediante la catálisis de la alantoato amidohidrolasa, que utiliza manganeso como cofactor y se obtiene ureidoglicolato (Charlson *et al.*, 2009).

El éxito de la inoculación de rizobios depende de la interacción óptima del cultivar de la leguminosa, la cepa de rizobio, el medio ambiente y el manejo del cultivo (Mutuma *et al.*, 2014). Uno de los objetivos principales del análisis de poblaciones de rizobios que nodulan diferentes leguminosas en distintos suelos y localizaciones geográficas, es la selección de cepas autóctonas para el diseño de biofertilizantes que permitan la reducción en la utilización de fertilizantes nitrogenados químicos y, por lo tanto, el desarrollo de una agricultura productiva más respetuosa con el medio ambiente y con la salud humana y animal (Díaz, 2010).

La deficiencia de N mineral limita el crecimiento de la planta y el N₂ fijado simbióticamente por la asociación entre las especies de *rizobios* y las leguminosas representa una fuente renovable de N para la agricultura (Mohammadi *et al.*, 2012). La inoculación de la semilla en la pre-siembra, con cepas infectivas y efectivas de *Rhizobium*, dota a la planta de frijol para fijar de la atmósfera entre el 50 y el 80 % de las necesidades de nitrógeno que demanda para expresar su potencial agronómico (Hernández *et al.*, 2000).

A pesar de la importancia agronómica de este proceso, la cantidad de nitrógeno fijado por el frijol común en condiciones de campo, es a menudo baja, en comparación con la fijada por otras leguminosas (Remans *et al.*, 2008). Es por ello que las investigaciones profundizan en la búsqueda de cepas y genotipos compatibles, de bacterias eficientes y productos que tengan en cuenta no sólo su multiplicación, sino también la activación de sus potencialidades fisiológicas para garantizar una simbiosis eficiente (Nápoles *et al.*, 2011).



2.5. Efecto de algunos microorganismos ante el déficit hídrico

Además de los efectos beneficiosos encontrados para diferentes microorganismos, relacionados con la promoción del crecimiento ó la actividad biocontroladora, algunos de ellos han sido relacionados también con un papel en la tolerancia a condiciones de estrés.

Estudios realizados por Luo *et al.* (2019), encontraron que la inoculación con *Shingomonas spp.* en *Arabidopsis thaliana* promueve el crecimiento de la raíz principal y raíces adventicias, y le brinda a la planta mayor captación de nutrientes, lo que favorece su desarrollo en respuesta al estrés por sequía. Hussain *et al.* (2014), informaron que la inoculación con cepas de *Mesorhizobium ciceri* y *Rhizobium phaseoli* en plantas de maíz (*Zea mays*), incrementaron el peso húmedo de la mazorca, así como en la parte aérea y radical de las plantas en condiciones de estrés por sequía. En tal sentido Bécquer *et al.* (2017), encontraron que la inoculación con *Bradyrhizobium sp.* incrementó la masa seca aérea, la longitud de la mazorca, así como el rendimiento de granos en plantas de maíz en condiciones de estrés hídrico.

Dentro del género *Bacillus*, las especies *Bacillus subtilis* y *Bacillus mojavensis* se han estudiado como microorganismos que incrementan la tolerancia al estrés, debido a que resisten potenciales osmóticos bajos, promueven el crecimiento vegetal y la concentración de osmolitos (Vurukonda *et al.*, 2016). Especies como *Pseudomonas putida* aumentan la biomasa vegetal, el contenido relativo de agua y el potencial hídrico en cereales, en condiciones de estrés hídrico (Vurukonda *et al.*, 2016).

Asimismo, *Corynebacterium sp.* contribuye en la tolerancia al estrés hídrico, ya que es capaz de promover el crecimiento vegetal mediante la producción de fitohormonas como IAA y ABA (Prasad, 2016).

Según Galindo (2019), existen nuevas especies bacterianas como *Brachybacterium rhamnosum*, *Streptomyces aureus* y *Spreptomyces albogriseolus* que pueden contribuir a la tolerancia de estrés



abiótico en plantas, e informan a *Streptomyces paucisporeus* como una nueva especie PGPR que puede jugar un papel importante en la promoción de crecimiento vegetal, en cultivos desarrollados en regiones áridas y semiáridas.

Cepas de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas*, con actividad ACC desaminasa, han sido informadas por promover el crecimiento vegetal (Kisiel y Kepczynska, 2016) y mejorar la tolerancia a estrés por sequía (Sarma y Saikia, 2014).

Sarma y Saikia (2014), encontraron la presencia de un ajuste osmótico a través de la concentración de solutos celulares como respuesta positiva y una mayor tolerancia al déficit hídrico, en cultivares de *Vigna radiata* inoculados con *Pseudomonas aeruginosa*. De la misma forma Cedeño (2018), encontró que la coinoculación con *Bacillus* sp y *Pseudomonas* sp., que presentaron actividad con la enzima ACC desaminasa lograron incrementar el área específica de las hojas en las plantas que se sometieron a déficit hídrico.

Por otra parte, en estudios realizados con *Rhizobium*, Hasanah (2012) informó que la inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* redujo los efectos del estrés por sequía en la formación de nódulos de soya, además mejoró la tasa de crecimiento relativa, la tasa de asimilación neta y la masa de 100 granos.

Freixas (2011), informó que la inoculación con *Bradyrhizobium elkanii* incrementó el contenido relativo de agua en cultivares de soya sometidas a estrés hídrico. De la misma forma, Ampofo *et al.* (2016) encontraron que la inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* incrementó la formación de nódulos, el crecimiento y el rendimiento de plantas de soya en condiciones de estrés hídrico. En tal sentido Amsalu *et al.*, (2019), demostraron que la inoculación de rizobios mejoró la tolerancia a la sequía en plantas de frijol y soya, así como el crecimiento, la biomasa y el rendimiento.



Otros autores encontraron que la inoculación con *Bradyrhizobium sp* y *Tricoderma harzianum* incrementó la biomasa aérea de la leguminosa forrajera *Cynodon dactylon* en condiciones de sequía agrícola (Bécquer *et al.* 2018).

Por otra parte, se conoce que cepas de *Rhizobium sullae*, aisladas en la región semiárida de Túnez y moderadamente tolerantes a la sequía, incrementaron de forma significativa la biomasa aérea seca de plantas inoculadas en este tipo de estrés ambiental (Fitouri *et al.*, 2012).



Materialles y Métodos



III. MATERIALES Y MÉTODOS

Aspectos generales

La investigación se desarrolló en el Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), perteneciente al Ministerio de Educación Superior (MES) y en el Huerto Intensivo "Las Celias", situado en el municipio Guisa, provincia Granma, perteneciente al Ministerio de la Agricultura.

Suelo utilizado en la investigación.

Se utilizó para el desarrollo de los experimentos un suelo Pardo mullido sin carbonatos, según la Nueva Versión de Clasificación Genética de los Suelos de Cuba (Hernández *et al.*, 2015). Sus características químicas y físicas se presentan en las Tablas I y II, respectivamente.

Tabla I. Características químicas del suelo Pardo mullido sin Carbonatos utilizado en la investigación.

Prof. (cm)	Características químicas								
	M.O (%)	P	pH		CE (dSm ⁻¹)	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺
		mg kg ⁻¹	H ₂ O	KCl					
0-10	2,06	128	6,5	6,1	0,78	35,5	10,0	0,16	0,40
11-20	1,85	337	6,6	6,2	0,76	35,0	10,5	0,20	0,33
21-30	1,54	267	6,8	6,4	0,76	29,0	10,5	0,19	0,25

Prof: Profundidad; M.O: Materia Orgánica (Walkley Black colorimétrico); P: fósforo (extracción H₂SO₄ 0,1N, método de Oniani), pH: H₂O y KCl (Potenciometría); CE: Conductividad eléctrica (método conductímetro), cationes intercambiables por extracción con NH₄Ac 1mol L⁻¹ a pH 7; Ca²⁺: Calcio; Mg²⁺: Magnesio (determinación por complejometría); K⁺: Potasio (por fotometría de llama) y Na⁺: Sodio (por fotometría de llama).

El suelo empleado se caracterizó por presentar un contenido bajo de materia orgánica y contenido de fósforo alto, con un pH ligeramente ácido, sin embargo, los contenidos de calcio fueron altos y los de magnesio fueron bajos. Además, presentó un contenido bajo de potasio y alto contenido de sodio.

Este suelo se forma a través del proceso de sialitización, por rocas calizas con arcilla de 2:1 motmorillonita, posee una capacidad de campo de 50 %, una capacidad de intercambio de bases



de 46,2 $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$, capacidad de intercambio catiónico (CIC) de 55,0 $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ y perfil A (B) C o ABC. Se caracteriza, además, por ser franco arcillo arenoso (Villazón *et al.*, 2017).

Tabla II. Características físicas del suelo Pardo mullido sin Carbonatos utilizado en la investigación.

Características									
Prof. (cm)	Arena gruesa	Limo grueso	Limo fino	Arcilla	Cc (%)	Da	Dr	CIB	CIC
0-10	44,53	6,00	8,00	35,47	48	1,0	2,59	46,2	55,0
11-20	38,53	8,00	10,0	35,47	50	1,0	2,24	44,3	53,8
21-30	40,53	10,00	7,28	32,19	46	1,0	2,17	45,4	1,0

Prof: Profundidad, **CC:** Capacidad de campo, **Da:** Densidad aparente, **Dr:** Densidad real, **CIB:** Capacidad de Intercambio de Base, **CIC:** Capacidad de Intercambio Catiónico.

Cultivares de frijol evaluados

Se emplearon semillas comerciales de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) de dos cultivares, con diferentes grados de tolerancia a la sequía: CC-25-9R (Tolerante) y Tomeguín-93N (Susceptible), de acuerdo con Baldoquín (2015) y Estrada (2016), respectivamente.

Las principales características de los cultivares se presentan en la Tabla III.

Tabla III. Algunas características de las variedades utilizadas en la experimentación (Faure *et al.*, 2014).

Variedad	Días después de la siembra			Hábito Cto.	Long. Tallo principal (cm)	Masa de 100 semillas (gr)	Rend. potencial kg ha^{-1}
	Flor	Madurez Fisiológica	Madurez Cosecha				
CC-25-9 (R)	35	72	86	III	40,0	17	3 300
Tomeguín-93(N)	38	69	80	II	70,0	17	2 987

Crecimiento (Cto): II- Indeterminado arbustivo; III- Indeterminado postrado

Biofertilizante utilizado

Se empleó el biofertilizante Azofert[®]-F (Az): producido y comercializado por el INCA y compuesto por la cepa *Rhizobium radiobacter* Hg, procedente del cepario del Instituto de Suelos, Ministerio de la Agricultura, Cuba y por lipoquitinolígosacaridos o factores de nodulación. Al momento de su empleo el producto contenía una concentración bacteriana de $6 \times 10^8 \text{ UFC mL}^{-1}$.



Experimentos.

3.1. Experimento 1. Efecto de la inoculación con Azofert®-F en indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos, de plantas jóvenes de frijol, en condiciones de déficit hídrico.

El experimento se realizó en un cuarto de luces, bajo condiciones controladas, para evitar el efecto de las precipitaciones y el rocío, con un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas de oscuridad, a 24 ± 2 °C de temperatura y 67 % de humedad relativa. Se utilizaron recipientes plásticos de 7,5 cm de diámetro y 9,5 cm de altura, con un volumen de 357 cm³ y con perforaciones en el fondo para posibilitar el drenaje. En cada recipiente se depositaron 400 g del suelo descrito.

Semillas de ambos cultivares se separaron en dos grupos para la siembra, uno que no fue inoculado y otro se inoculó con Azofert®-F, a razón de 200 mL del biofertilizante por cada 50 kg de semilla en el momento de la siembra (Nápoles, 2003).

Desde la siembra se mantuvieron los recipientes a capacidad máxima de retención de humedad, la cual se evaluó por el método gravimétrico con pesajes cada 24 horas, añadiéndose el agua perdida por evapotranspiración. A partir de los 15 días después de la siembra (DDS), fase en que apareció la primera hoja trifoliada, las plantas se sometieron a dos condiciones de humedad, consistentes en: H₁: Humedad al 100 % y H₂: Humedad al 50 % de la capacidad máxima de retención (déficit hídrico).

Los tratamientos quedaron conformados de la siguiente forma:

T1: CC-25-9R + Humedad al 100% + Azofert®-F

T2: CC-25-9R + Humedad al 100% - Azofert®-F

T3: CC-25-9R + Humedad al 50% + Azofert®-F

T4: CC-25-9R + Humedad al 50% - Azofert®-F

T5: Tomeguín-93+ Humedad al 100% + Azofert®-F

T6: Tomeguín-93 + Humedad al 100% - Azofert®-F

T7: Tomeguín-93 + Humedad al 50% + Azofert®-F

T8: Tomeguín-93 + Humedad al 50% - Azofert®-F



Por cada tratamiento se utilizaron 20 recipientes, con una planta en cada uno, para un total de 160 plantas en el experimento. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado para la distribución de los tratamientos.

A los 24 y 31 DDS se tomaron diez plantas por tratamiento y se les realizaron las evaluaciones siguientes:

Densidad estomática ($\mu(\text{mm}^2)^{-1}$) e índice estomático (%): Para la determinación de la densidad estomática (DE) e índice estomático (IE) se tomaron muestras de diez hojas por cada tratamiento, se escogió la tercera hoja trifoliada en cada planta. Para realizar las impresiones epidérmicas abaxiales se utilizó una mezcla de poliestireno-xilol, el cual se aplicó sobre la superficie foliar, después de secada la capa se removió con cinta adhesiva transparente y se colocó en un portaobjetos para su observación en un microscopio Carl Zeiss, a 400x. En cada impresión se contó el número de estomas y de células epidérmicas típicas, en un área de $0,63 \text{ mm}^2$, mediante la metodología descrita por Rodés y Collazo (2006) y las fórmulas:

$$DE = Ne / Ac$$

donde: *DE*: Densidad estomática, *Ne*: Número de estomas por campo, *Ac*: Área del campo (μm^2)

$$Ac = (Ndd \times 10^2)(\pi)$$

donde: *Ndd*: Número de divisiones del diámetro, $\pi = 3,14$

$$IE = (NEc / NCe) \times 100$$

donde: *IE* = Índice estomático (%), *NEc* = Número de estomas por campo, *NCe* = Número de células epidérmicas típicas por campo.

Longitud de la raíz principal (cm): La longitud de la raíz por planta se midió con una regla graduada en mm (Error ± 1), desde el cuello hasta el ápice de la raíz.



Superficie foliar total (cm²): Se calculó a partir de la sumatoria del valor de superficie foliar correspondiente a todas las hojas de cada planta, mediante el medidor portátil de área foliar AM-300.

Masa seca de raíz, tallo, hojas y total (g): Las plantas se separaron por los diferentes órganos, las muestras se colocaron en estufa (BINDER) de circulación forzada de aire durante 72 horas, a una temperatura de 70 °C hasta masa constante, la cual se determinó en una balanza *Sartorius* CPA324S con un margen de error de 0,1 mg.

Variables de Relaciones hídricas: A las 11:00 am, se tomaron hojas bien desarrolladas del tercio superior de las plantas y se determinó:

Contenido Relativo de Agua en las hojas (CRA): El Contenido Relativo de Agua se determinó mediante la metodología propuesta por Turner (1981).

$$\text{CRA} = [(M_f - M_s) / (M_t - M_s)] \times 100$$

donde: CRA: Contenido Relativo de Agua, M_f: Masa fresca de la hoja en el momento del muestreo, M_s: Masa seca de la hoja después de secada en la estufa a 70 ± 5 °C, hasta masa constante; M_t: Masa turgente de las hojas tras su saturación en agua destilada, durante 24 horas a 8 °C, en condiciones de oscuridad.

Potencial hídrico foliar (MPa): Las evaluaciones de esta variable se efectuaron con una cámara de presión tipo Scholander, según la técnica descrita por Turner (1981) y se utilizó para ello N gaseoso.

Potencial Osmótico foliar actual (MPa): Se evaluó con la ayuda de un Osmómetro de Presión de Vapor (Wescor 5520), calibrado con soluciones de osmolaridad conocida. Para la evaluación de esta variable se tomaron las mismas muestras utilizadas para medir el potencial hídrico foliar. Las hojas después de las evaluaciones del potencial hídrico, fueron envueltas en papel de



aluminio y congeladas en nitrógeno líquido, posteriormente se conservaron en frío a -20 °C hasta su análisis. Previo a la realización de los análisis las muestras se llevaron a temperatura ambiente, se les extrajo el jugo celular con una jeringuilla hipodérmica y se midió el potencial osmótico.

Potencial osmótico foliar saturado (MPa): Se determinó de la misma manera que el potencial osmótico actual, sólo que previo a la realización de los análisis las muestras se saturaron durante 24 horas a 8 °C, en condiciones de oscuridad.

Potencial de presión (MPa): Se calculó por diferencia entre el potencial hídrico y el potencial osmótico actual, mediante el empleo de la siguiente ecuación:

$$\Psi_p = \Psi_h - \Psi_s$$

donde: Ψ_p , es el potencial de presión; Ψ_h , potencial hídrico foliar y Ψ_s , potencial de soluto foliar actual.

Conductancia estomática ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$): Se determinó a las 11:00 am, con la ayuda de un porómetro de difusión (Delta-T Devices, modelo AP3) y las mediciones se realizaron en la zona abaxial de la tercera hoja trifoliada de cada planta.

Contenido de clorofilas y carotenoides ($\mu\text{g g}^{-1}$ de masa fresca). Para determinar la concentración de pigmentos (clorofila a, b y carotenoides) se siguió la metodología de Lichtenthaler y Wellburn (1984). Se tomó un gramo de tejido foliar de la tercera hoja trifoliada de diez plantas por cada tratamiento, se cortó en pequeños fragmentos, se maceró con 25 mL de alcohol etílico (96 % v/v), se filtró a través de un papel de filtro, y se completó hasta un volumen de 50 mL con alcohol etílico. Posteriormente se determinó la absorbancia a 665, 649 y 470 nm para la clorofila a (Cla), b (Clb) y los carotenoides, respectivamente; e inmediatamente se calculó



la concentración de pigmentos (en μg) por cada mL de extracto⁻¹, según las ecuaciones siguientes:

$$\text{Cla} = 13.95 A_{665} - 6.68 A_{649}$$

$$\text{Clb} = 24.96 A_{649} - 7.32 A_{665}$$

$$C_{x+c} = (1000 A_{470} - 2.05 \text{Cla} - 114.8 \text{Clb}) / 245$$

donde: A_{470} , A_{649} y A_{665} ; corresponden a los valores de absorbancia a 470, 649 y 665 nm; respectivamente.

Adicionalmente se determinó la relación Cla/Clb.

Contenido de prolina ($\mu\text{g g}^{-1}$ de masa fresca). Se homogenizaron en un mortero 0,25 g de tejido foliar procedente de las diez plantas por cada uno de los tratamientos, con seis mL de ácido sulfosalicílico (30 % m/v). El homogenato se centrifugó a 10 000 g durante 20 min. Del sobrenadante se tomaron 2 mL, se les añadió 2 mL de ácido acético glacial y 2 mL de una solución de ninhidrina ácida. Para preparar la solución de ninhidrina se pesaron 1,25 g de esta sustancia y se le añadió 30 mL de ácido acético glacial y 20 mL de ácido ortofosfórico 6 M. Se incubó la mezcla por una hora a 100 °C. Se realizó la extracción con 4 mL de tolueno (Echevarría *et al.*, 1996). La determinación de la concentración del aminoácido se realizó según Bates *et al.* (1973) y se midió la absorbancia a 520 nm. Se utilizó una curva patrón de D-L Prolina.

Contenido de proteínas solubles totales ($\mu\text{g g}^{-1}$ de masa fresca): Se tomaron muestras de 0,25 g de hojas a partir de las diez plantas en cada uno de los tratamientos y se les realizó la extracción en tampón Tris-HCl 0,1 mol L⁻¹, pH 8,2 a 0 °C. La determinación se realizó por el método de Lowry (1951), se utilizó albúmina sérica bovina como patrón. Las medidas de absorbancia se realizaron a 650 nm, en un espectrofotómetro modelo GÉNESIS 10 UV.

Contenido de carbohidratos solubles totales (mg g⁻¹ de masa fresca): La extracción de los carbohidratos se realizó según Yoshida, *et al.* (1976). Se realizaron tres extracciones con 5 mL



de etanol (80 %) a 0,05 g de masa fresca de hojas de las diez plantas por tratamiento. Después de la tercera extracción, se unieron los tres sobrenadantes y se secaron en baño de agua a 100 °C. El residuo se disolvió en agua destilada. El contenido de carbohidratos solubles totales (mg) se determinó por el método de la antrona (Mc Cready, *et al.*, 1950). La absorbancia se midió a una longitud de onda de 625 nm, en un espectrofotómetro (JENWAY 6405 UV/Vis).

Tasa fotosintética ($\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Las determinaciones se realizaron con el empleo del medidor portátil de fotosíntesis CIRAS-2, a la tercera hoja trifoliada de cada planta.

3.2. Experimento 2: Efecto de la inoculación con Azofert®-F en la nodulación de plantas de frijol sometidas a condiciones de déficit hídrico.

El experimento se realizó en condiciones semicontroladas, en una casa de cultivo con techo de polietileno transparente, para evitar el efecto de las precipitaciones y el rocío. Se utilizaron macetas con diámetro superior de 27 cm, diámetro inferior de 21 cm y una profundidad de 28 cm, a las que se le realizaron perforaciones de 2 mm de diámetro en el fondo para posibilitar el drenaje. En cada maceta se depositaron 5 kg del suelo descrito y se sembraron tres semillas por maceta.

Los tratamientos impuestos fueron los mismos que en el experimento 1. En cada tratamiento se utilizaron 20 macetas, para un total de 60 plantas por cada tratamiento, 480 plantas en todo el experimento. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado.

A inicios de la floración de cada cultivar, correspondiente a los 35 DDS, se tomaron diez plantas por tratamiento con el objetivo de realizar las siguientes determinaciones:

Número de nódulos totales por planta (u): Se realizó mediante conteo directo en las raíces.

Número de nódulos efectivos por planta (u): Se determinó a través de su coloración interna, mediante el corte transversal de los nódulos y observación visual. Una coloración roja ó rosada, indicaba que eran efectivos, coloración verde ó negro que eran no efectivos.



Masa fresca y seca de nódulos totales por planta (g). Se tomaron todos los nódulos por cada planta y se pesaron en una balanza digital. Luego, se colocaron en estufa (BINDER) durante 72 horas a una temperatura de 70 °C hasta masa constante y se procedió a determinar su masa seca.

Contenido de Nitrógeno foliar (%): Se tomó la tercera hoja trifoliada de las diez plantas para conformar tres muestras de 0,2 g por cada uno de los tratamientos. Se realizó digestión de las muestras con H_2SO_4 y se desarrolló color con el reactivo de Nessler para N (Paneque *et al.*, 2010).

Contenido de ureidos foliar y nodular ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de masa seca): Las extracciones de ureidos se realizaron en hojas y nódulos. Para ello se tomaron nódulos al azar y ponches de 10 mm de diámetro correspondientes a la tercera hoja trifoliada, de las diez plantas. Las muestras se secaron en estufa (BINDER) a 70 °C durante 72 horas y a partir de 10 mg de masa seca se realizaron las extracciones con 1 mL de NaOH ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$), en baño María durante 30 min. Finalmente, los extractos se centrifugaron a 13 000 rpm durante cinco minutos y los ureidos se determinaron según el método de detección espectrofotométrica de Young y Conway (1942). La cuantificación de ureidos se realizó a partir de una curva de calibración de alantoína (SIGMA), con un rango de concentración de $0,005\text{-}0,3 \mu\text{mol mL}^{-1}$. Los niveles de estos compuestos nitrogenados se expresaron en $\mu\text{mol g}^{-1}$ de masa seca.

3.3. Experimento 3: Efecto de la inoculación con Azofert®-F en el crecimiento y rendimiento de plantas de frijol en condiciones de déficit hídrico.

Se realizó este experimento en condiciones de campo, durante los años 2015-2016 y 2016-2017, en los meses comprendidos de octubre a enero.

Se utilizó un diseño de parcelas divididas, en el que la parcela principal estuvo constituida por el factor riego, con dos niveles de aporte de agua al suelo: 100 % y 50 % de las normas de riego recomendadas en el instructivo técnico del cultivo. La subparcelas estuvieron conformadas por el



factor cultivar: CC-25-9R y Tomeguín-93 y las subsubparcelas por el factor fertilización: F1: NPK + Urea al 100 % de la dosis; F2: NPK + 30 % Urea + Azofert®-F y F3: NPK + 30 % de Urea sin Azofert®-F.

La dosis de NPK, fórmula 9-13-17, correspondiente a 600 kg ha⁻¹ (Minag, 2010), se aplicó en el momento de la siembra (aplicación de fondo). y la dosis de urea, correspondiente a 60 kg ha⁻¹ se aplicó según cada tratamiento, a los 25 DDS.

La parcela principal tuvo 5 metros de largo y 2,8 metros de ancho, con un área total de 14 m² y un área de cálculo de 6,30 m², por descuento de los dos surcos laterales y 0,25 m al principio y final de cada surco, con el objetivo de eliminar el efecto de borde. Se utilizó un marco de siembra de 0,70 m entre surcos y 0,05 m entre plantas.

Se conformaron así 12 tratamientos distribuidos al azar y cuatro réplicas. El esquema del experimento se presenta en el Anexo I. La descripción de los tratamientos es la siguiente:

Riego		Tratamientos
100 % de la norma	T1	CC-25-9R + NPK + 100 % Urea
	T2	CC-25-9R + NPK + 30 % Urea + Azofert®-F
	T3	CC-25-9R + NPK + 30 % Urea – Azofert®-F
	T4	Tomeguín-93 + NPK + 100 % Urea
	T5	Tomeguín-93 + NPK + 30 % Urea + Azofert®-F
	T6	Tomeguín-93 + NPK + 30 % Urea – Azofert®-F
50 % de la norma	T7	CC-25-9R + NPK + 100 % Urea
	T8	CC-25-9R + NPK + 30 % Urea + Azofert®-F
	T9	CC-25-9R + NPK + 30 % Urea – Azofert®-F
	T10	Tomeguín-93 + NPK + 100 % Urea
	T11	Tomeguín-93 + NPK + 30 % Urea + Azofert®-F
	T12	Tomeguín-93 + NPK + 30 % Urea – Azofert®-F

Los porcentajes de humedad del suelo (Phs) se controlaron antes y después del riego o lluvia caída, a una profundidad de 30 cm (Anexos II y III). Las muestras se tomaron con una barrena de tirabuzón, y se colocaron en pesafiltros previamente tarados. Esto se realizó en tres puntos de



cada parcela y se secaron en una estufa a 100°C por 20 a 24 horas. Los datos se expresaron gráficamente como porcentaje de humedad del suelo (%), en base seca, para lo cual se empleó el método gravimétrico y el cálculo mediante la ecuación:

$$\text{Phs} = (\text{MF} - \text{MS}) / \text{MS} \times 100$$

donde: Phs, porcentaje de humedad del suelo; MF, masa fresca; MS, masa seca de la muestra y T, tara.

Las variables climáticas se registraron en la Estación Meteorológica del municipio Guisa, situada a 400 m del Huerto Intensivo "Las Celias" (Anexo IV).

Se realizaron diez riegos por aspersión y se redujo el 50 % de la norma recomendada por el instructivo técnico del cultivo (Minag, 2010). A partir de los 14 DDS se aplicó el tratamiento de reducción de la humedad del suelo (50 %) hasta 15 días antes de la cosecha.

Tabla IV. Normas de riego y entrega de agua. Etapas por tratamiento en el cultivo del frijol.

Fases del cultivo	Norma neta en $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$	Número de riegos	Entrega de agua T1-6 ($\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$)	Entrega de agua T7-12 ($\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$)
Germinación	200	2	400	200
Floración	350	2	700	350
Formación de vainas	350	3	1050	525
Llenado de vainas	450	3	1350	675
Total	1350	10	3500	1750

Para las evaluaciones, en diferentes momentos, se tomaron diez plantas al azar por cada tratamiento en el área de cálculo de cada parcela.

Superficie foliar total (cm^2): Se evaluó cada siete días y se realizó según se describe en el acápite 3.1.

Masa seca total (g): Se realizaron muestreos periódicos cada siete días, a partir de los 14 DDS, para evaluar la dinámica de crecimiento. Se determinó la masa seca total a partir de la masa seca de los diferentes órganos (raíz, tallo, hojas, vainas y granos). Las muestras se colocaron en estufa



(BINDER) de circulación forzada de aire durante 72 horas, a una temperatura de 70 °C hasta masa constante. La determinación se realizó en una balanza *Sartorius* CPA324S con un margen de error de 0,1 mg.

Índices del crecimiento: A partir de la producción de masa seca total (biomasa) y la superficie foliar, se efectuó el análisis del crecimiento cada siete días, desde el momento en que se impusieron los niveles de humedad hasta 15 días antes de la cosecha, a los 70 DDS, a través de la evaluación de la Tasa Relativa de Crecimiento (TRC) y la Tasa de Asimilación Neta (TAN) de las plantas. Se utilizó la metodología descrita por Beadle (1993) y para los cálculos se utilizaron las siguientes expresiones:

$$TRC \text{ (g g}^{-1} \text{ día}^{-1}) = (\ln MSTotal_2) - (\ln MSTotal_1) / (t_2 - t_1)$$

$$TAN \text{ (g cm}^{-2} \text{ día}^{-1}) = [(MSTotal_2 - MSTotal_1) - (SF_2 - SF_1)] [(\ln SF_2) - (\ln SF_1) / (t_2 - t_1)]$$

donde: MSTotal: masa seca total, SF: superficie foliar de la planta, t: tiempo y 1 y 2: inicio y final, del período considerado.

En el momento de la cosecha, correspondiente a los 85 DDS, cuando las plantas tenían la madurez técnica, se evaluaron las variables de rendimiento:

Número de vainas por planta (u): Se contó el número de vainas en las diez plantas de cada tratamiento.

Masa fresca de vainas por planta (g): las vainas de cada planta se pesaron en balanza *Sartorius* CPA324S con un margen de error de 0,1 mg.

Número de granos por vaina (u): Se contó el número de granos en diez vainas tomadas al azar dentro de las diez plantas de cada parcela.

Masa de los granos por planta (g): Se pesaron en una balanza los granos de las diez plantas escogidas al azar en el área de cálculo de cada parcela.



Masa fresca de 100 granos (g): Con una balanza se pesó la masa de 100 granos procedentes de vainas escogidas al azar en las diez plantas.

Rendimiento estimado ($t\ ha^{-1}$): Se cosecharon todas las plantas de cada tratamiento, se trillaron y se secaron los granos hasta el 14 % de humedad, se pesaron todos los granos y se expresó la variable en $t\ ha^{-1}$.

3.4. Procesamiento estadístico.

Los datos obtenidos de todos los experimentos se procesaron mediante el paquete estadístico SPSS 22,0 para Windows. La distribución normal de los datos se comprobó con la prueba de Kolmogorov–Smirnov y la homogeneidad de varianza por la prueba de Bartlett (Cochran y Cox, 1992). Todas las variables cumplieron con esta condición, por lo que no hubo necesidad de realizar ninguna transformación.

Para procesar los datos obtenidos en los experimentos 1 y 2 se realizó un análisis de Varianza de Clasificación doble con arreglo factorial, se tuvo en cuenta los factores (Humedad, Cultivares y Fertilización). Las medias se compararon según la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan ($p \leq 0,05$).

Para la evaluación de la dinámica de crecimiento vegetativo, se calculó en cada momento de muestreo el intervalo de confianza de las medias de cada tratamiento para $\alpha=0,05$.

En el experimento 3, para evaluar la humedad del suelo se calculó en cada punto de muestreo el intervalo de confianza de las medias de cada tratamiento para $\alpha=0,05$, y para determinar la respuesta del rendimiento y algunos de sus componentes en los dos niveles de humedad en el suelo, se realizó un análisis de varianza con arreglo factorial, donde se utilizaron como factores fijos los niveles de humedad en el suelo. Las medias se compararon según la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan ($p \leq 0,05$).



Resultados y Discusión



IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Experimento 1. Efecto de la inoculación con Azofert®-F en indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos, de plantas jóvenes de frijol, en condiciones de déficit hídrico.

El análisis estadístico realizado, arrojó que en este experimento solo se encontró interacción entre los factores nivel de humedad-inoculación para todas las variables evaluadas (Anexo V).

En la tabla V se muestra el comportamiento de la **densidad estomática** y el **índice estomático** en la epidermis abaxial de las hojas, en los dos cultivares de frijol, inoculados y no inoculados, para las dos condiciones de abastecimiento hídrico.

Tabla V. Comportamiento de la densidad estomática y el índice estomático en la epidermis abaxial de dos cultivares de frijol, inoculadas o no y expuestas a dos niveles de humedad, a los 24 y 31 DDS.

Tratamientos	Densidad estomática (u(mm ²) ⁻¹)		Índice estomático (%)	
	24 DDS	31 DDS	24 DDS	31 DDS
	CC-25-9R			
H ₁ Az	14,60 ^c	20,63 ^c	21,79 ^c	25,99 ^c
H ₁ noAz	9,05 ^d	15,87 ^d	15,93 ^d	22,71 ^d
H ₂ Az	24,29 ^a	30,16 ^a	27,65 ^a	30,16 ^a
H ₂ noAz	19,68 ^b	25,40 ^b	25,08 ^b	28,06 ^b
ESx	0,78**	0,67**	0,55**	0,44**
Tomeguín-93				
H ₁ Az	12,70 ^c	19,05 ^c	19,99 ^c	24,99 ^c
H ₁ noAz	7,94 ^d	14,29 ^d	14,66 ^d	21,41 ^d
H ₂ Az	22,86 ^a	28,57 ^a	26,95 ^a	29,50 ^a
H ₂ noAz	17,46 ^b	23,81 ^b	23,39 ^b	27,26 ^b
ESx	0,73**	0,67**	0,77**	0,57**

Leyenda: **Az:** Inoculado con Azofert®-F, **noAz:** no inoculado con Azofert®-F, **H1:** Humedad al 100 %, **H2:** Humedad al 50 %. Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para p≤0,05.

Tanto a los 24 como a los 31 DDS se observó un comportamiento similar para ambos cultivares y en ambas variables. Los mayores valores se alcanzaron en las plantas de los tratamientos inoculados con Azofert®-F y que recibieron un aporte de agua del 50 % de la capacidad máxima de retención de humedad, seguido por aquellas que tuvieron igual condición de humedad, sin inocular. Los menores valores para estas variables se obtuvieron en las plantas que recibieron el



100 % de la humedad sin la inoculación con Azofert®-F. Es decir, que la inoculación con *Rhizobium radiobacter* y el déficit hídrico incrementaron la densidad estomática y el índice estomático.

Las plantas responden al estrés hídrico mediante adaptaciones evolutivas a nivel anatómico, morfológico y celular (Florido, 2014). En este sentido Gan *et al.* (2010), informaron incrementos en la densidad e índice estomático de plantas de frijol ante condiciones de dicho estrés. De manera similar Han *et al.* (2017), encontraron un aumento de estas variables y una disminución en la apertura estomática de plantas de alfalfa en condiciones de estrés hídrico y otros autores refieren un comportamiento similar de plantas de café (Quintana *et al.*, 2017) y lenteja (Sánchez *et al.*, 2018). El funcionamiento estomático es el mecanismo a través del cual las plantas regulan la pérdida de agua y la ganancia de carbono, y estos órganos responden rápidamente a los cambios ambientales (Tanaka *et al.*, 2013).

Se plantea que las plantas de frijol alcanzan una menor área foliar ante el estrés por déficit hídrico y, en compensación, la densidad estomática aumenta para evitar la pérdida de agua por transpiración (Torabian *et al.*, 2018; Nemeskéri *et al.*, 2018). Pungulani *et al.* (2013) señalaron que a medida que se intensifica el estrés hídrico, los cultivares tolerantes a sequía sobreviven por el cierre estomático.

Aunque no abundan en la literatura resultados que demuestren el efecto de los inoculantes bacterianos en la morfología de las plantas en condiciones de estrés hídrico, Paradiso *et al.* (2017), informaron que la inoculación con microorganismos promotores del crecimiento en plantas de soya mostró una mayor densidad estomática en relación con las plantas no inoculadas, lo que atribuyeron a que en las plantas inoculadas, la lámina de las hojas es más gruesa y no aumenta la resistencia al mesófilo en comparación con las no inoculadas, porque está acompañada por



incrementos en los espacios intercelulares que mejoran la accesibilidad a los sitios de carboxilación de los cloroplastos dentro de las células, además incrementa el grosor del tejido parenquimático empalizado que contiene la mayoría de los cloroplastos y por ende incrementa la tasa fotosintética. El hecho de que la inoculación con Azofert®-F provocara un efecto positivo en estas variables, tanto en condiciones de humedad como de déficit hídrico, resulta importante, ya que la transpiración y la intensidad de la respiración en las plantas es directamente proporcional al número y abertura de los estomas, variables que influyen directamente en la regulación del intercambio gaseoso y en la tasa fotosintética de las plantas (Álvarez, 2015).

El efecto de los diferentes tratamientos en la **longitud de la raíz** se puede apreciar en la figura 1 (A y B). Ambos cultivares mostraron un comportamiento similar a los 24 y a los 31 DDS.

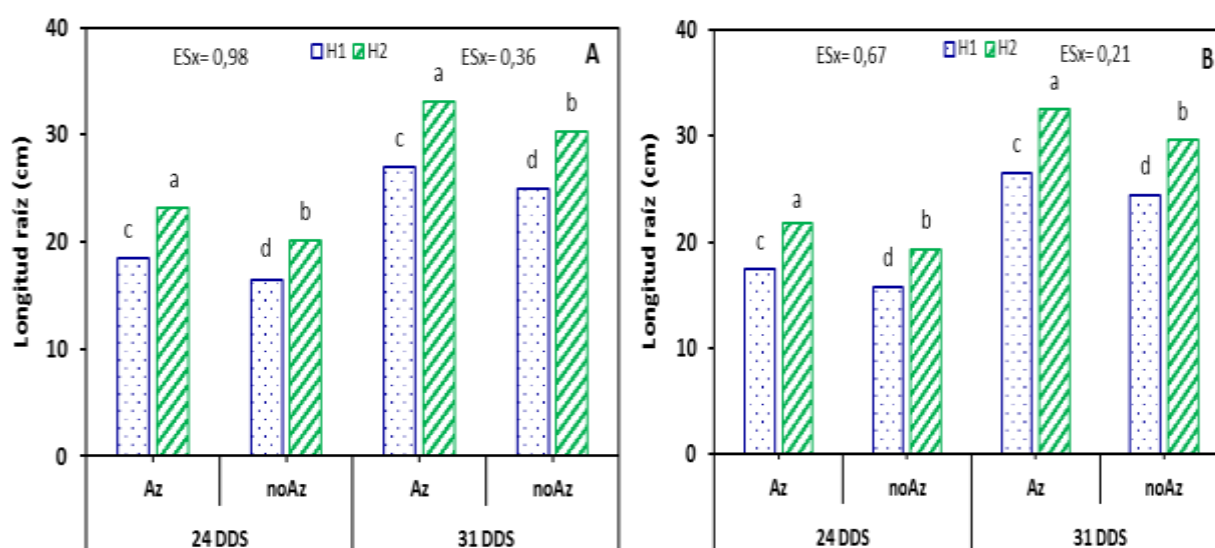


Figura 1. Efecto de la inoculación con Azofert®-F (Az) en la longitud de la raíz de plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % (H1) y 50 % (H2), a los 24 y 31 DDS. Cultivares CC-25-9R (A) y Tomeguín-93 (B). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.

Los mayores valores de longitud radical se alcanzaron en los tratamientos con un menor suministro de agua (50 %) e inoculados, seguidos por los tratamientos donde hubo escasez de agua sin



inoculante y los menores valores de esta variable se alcanzaron en los tratamientos no inoculados, pero mejor abastecidos de agua.

De forma similar a lo encontrado en las variables estomáticas, la longitud radical se incrementó fundamentalmente por el déficit hídrico y particularmente por la inoculación. Una mayor longitud de la raíz en plantas expuestas a menor humedad, indica su necesidad de explorar un mayor volumen de suelo para la absorción de agua, lo cual es de vital importancia para su crecimiento y desarrollo (Polania *et al.*, 2017).

Concerniente al efecto positivo de la inoculación, resultados similares a los aquí encontrados han sido informados por diferentes autores. Hernández *et al.* (2000), al inocular el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) con *A. brasilense* encontraron un aumento en la longitud radical, en condiciones de estrés por sequía. En este mismo sentido la inoculación con *Bradyrhizobium* (Prudent *et al.*, 2015) ó *Azospirillum* (Bulegon *et al.*, 2017) en cultivares de soya, con *Rhizobium* en plantas de trigo (Vimala, 2018) y con *Phyllobacterium brassicacearum* en *Arabidopsis* (Bresson *et al.*, 2014), mostraron incrementos en la longitud de la raíz en condiciones de estrés hídrico. El efecto positivo de la inoculación con estas bacterias puede deberse a su capacidad de producir hormonas vegetales, principalmente ácido indol-acético (AIA), lo que puede ayudar a las plantas a superar el estrés ambiental al inducir la formación de raíces laterales y un mayor crecimiento de éstas (Chibeba *et al.*, 2015; Vurukonda *et al.*, 2016).

Polania *et al.* (2017) encontraron una asociación positiva entre un sistema de raíces más profundo y vigoroso y la movilización de fotosintatos, lo que contribuyó al incremento de la producción de vainas y semillas en frijol común.

El análisis de la **superficie foliar** (Figura 2 A y B) evaluada a los 24 y a los 31 DDS, mostró en ambos cultivares, que los mayores valores se alcanzaron en las plantas inoculadas con Azofert®-F



y con una humedad de 100 %, seguido por el tratamiento no inoculado, pero sin restricciones de humedad, aunque en el cultivar Tomeguín-93 estos dos tratamientos no tuvieron diferencias a los 31 DDS.

Los menores valores en la superficie foliar correspondieron a los tratamientos sin inocular y con el 50 % de la humedad, en ambos cultivares y momentos.

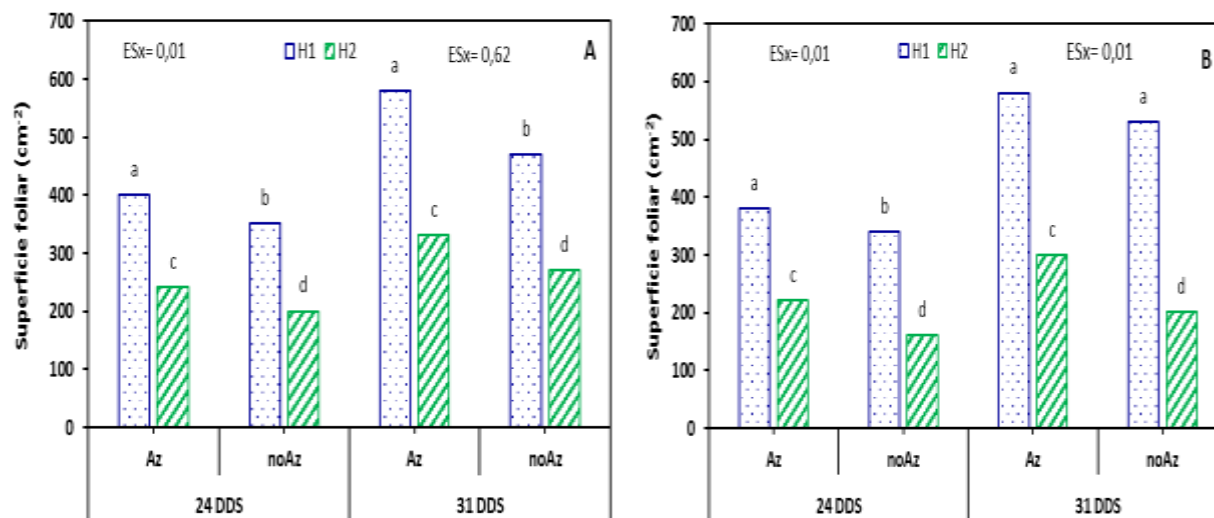


Figura 2. Efecto de la inoculación con Azofert®-F (Az) en la superficie foliar de plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % de humedad (H1) y 50 % de humedad (H2), a los 24 y 31 DDS. Cultivares CC-25-9R (A) y Tomeguín-93 (B). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.

La superficie foliar resulta fundamental como indicador de procesos fisiológicos como la fotosíntesis, la transpiración y la evaporación, permite determinar el estado de nutrición, predecir el crecimiento, la absorción de carbono, la tasa de transpiración, el aporte de hojarasca al suelo, el uso eficiente del agua y la conversión de fotoasimilados (Vallejos *et al.*, 2019).

En un trabajo similar a este, Reyes *et al.* (2014) encontraron que el tratamiento con el 50 % de humedad en plantas de *Phaseolus vulgaris* afectó el número de hojas, ramas y estructuras reproductivas. Según Passioura (2002), la variación de la superficie foliar es una de las respuestas macroscópicas más tempranas en plantas que sufren déficit hídrico.



Con respecto a la inoculación, Mondani *et al.* (2019), encontraron que la aplicación de *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*, incrementó significativamente la superficie foliar en plantas de soya ante diferentes regímenes de riego, este incremento se debe, según explicaron, a la mejora de la fotosíntesis neta, lo que como consecuencia permitió obtener una mayor acumulación de masa seca en las hojas. Estudios similares en plantas de maíz demuestran que la inoculación con *Bacillus subtilis*, *Bacillus safensis* y *Bacillus altitudinis*, incrementa también esta variable (Yaru *et al.*, 2018), lo que pudiera estar asociado con una mayor absorción de nutrientes aportados por la bacteria como nitrógeno y fósforo, lo cual favorece el crecimiento de las plantas en estas condiciones.

Al valorar el comportamiento de la **masa seca de la raíz y aérea** (Figura 3 A, B, C y D), en ambos cultivares se pudo observar que, tanto a los 24 como a los 31 DDS, los tratamientos con mayor suministro de agua, fueron los que mostraron los mayores valores de este indicador, con diferencias significativas del resto de los tratamientos. Los tratamientos con reducción del agua, sin inocular, fueron los más afectados en estas variables. Afectaciones en la masa seca de la raíz y hojas, como consecuencia de un suministro de agua limitado, fue informado también para el cultivo de sesbania por Ali *et al.* (2015).

Las raíces permiten a las plantas tomar el agua y los nutrientes del suelo y en las hojas se realiza la fotosíntesis (Polania *et al.*, 2012), con lo cual afectaciones en estos órganos se traducen en una reducción del crecimiento y los rendimientos (Polania *et al.*, 2016a).

Por otro lado, algunos autores explican el efecto positivo de la inoculación con PGPR en la masa seca de estos órganos ante condiciones de estrés hídrico. Khan *et al.* (2018) lo refieren para plantas de garbanzo inoculadas con *Bacillus megaterium* y Ahmad *et al.* (2019) ante la inoculación con *Pseudomonas putida* y *Pseudomonas fluorescens* en plantas de maíz.

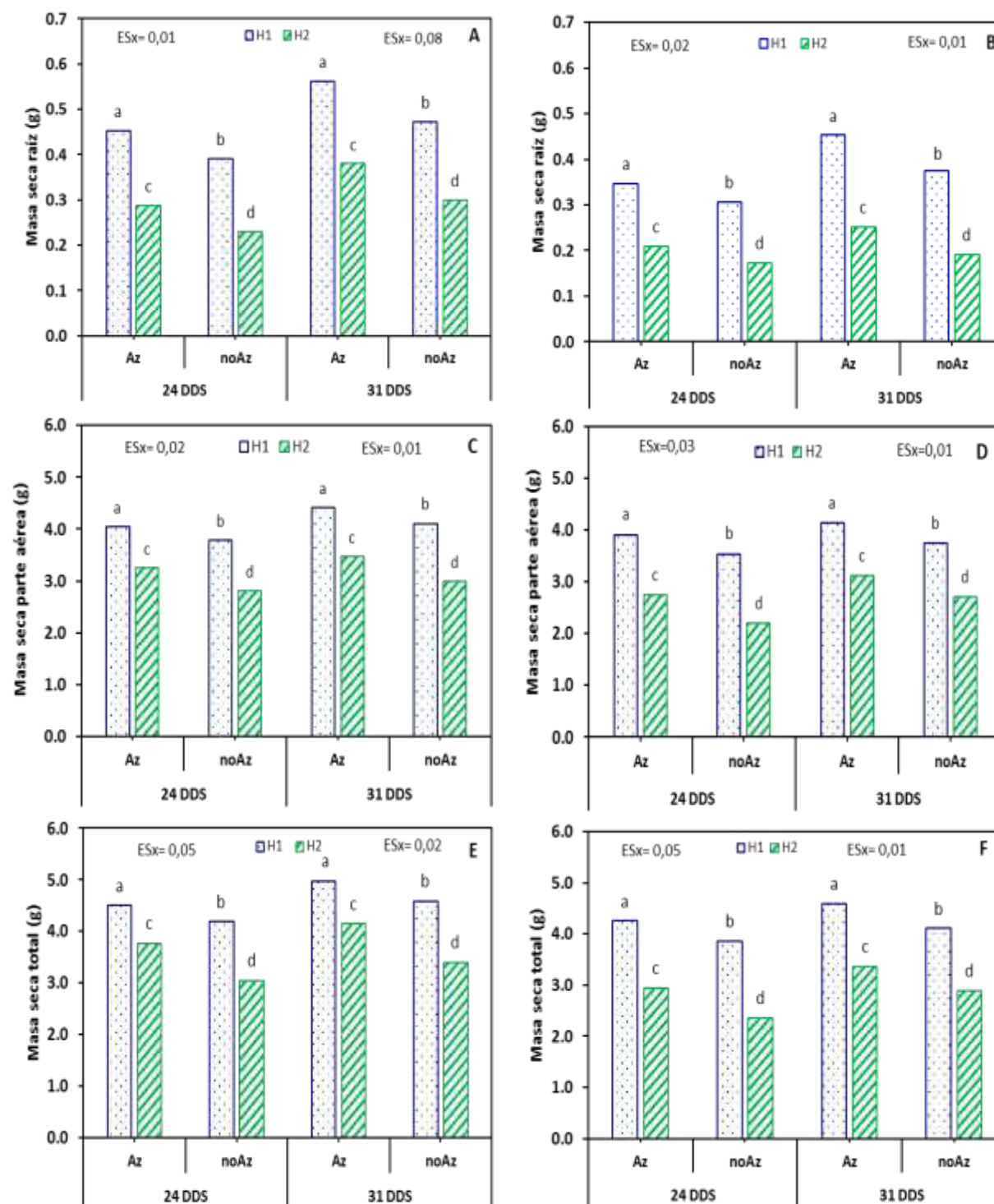


Figura 3. Efecto de la inoculación con Azofert®-F (Az) en la masa seca de raíz, parte aérea y total de plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % (H1) y 50 % (H2), a los 24 y 31 DDS. Cultivares CC-25-9R (A, C, E) y Tomeguín-93 (B, D, F). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.



La respuesta encontrada en la **masa seca total** (Figura 3 E y F), estuvo estrechamente vinculada con la mostrada en las variables que le dieron origen (Figura 3 A-D), donde la parte aérea tuvo la mayor contribución. El cultivar CC-25-9R alcanzó una mayor acumulación de masa seca total que el cultivar Tomeguín-93, lo que resulta un indicativo de su tolerancia ante las condiciones del estrés.

El análisis de los porcentajes de incremento en estas variables entre los tratamientos inoculados con el 100 % y 50 % de la capacidad máxima de retención de humedad, permitió comprobar que tanto a los 24 como a los 31 DDS, en el cultivar tolerante los porcentajes de incremento en la masa seca de la raíz fueron de 64,44 y 67,86 g, respectivamente; en la masa seca de la parte aérea los incrementos fueron de 80,25 y 78,68 g, respectivamente y en la masa seca total se alcanzaron incrementos de 78,67 y 77,46 g, respectivamente. En el cultivar susceptible se encontraron valores inferiores, con 60,00 y 55,56 g de incremento en las raíces, en la masa seca de la parte aérea de 70,08 y 75,36 g y en la masa seca total valores de 69,25 y 73,42 g, respectivamente. La inoculación con *Rhizobium radiobacter* favoreció los incrementos en la masa seca total para ambas condiciones de humedad.

El hecho de que las plantas a las que se les suministró el 100 % del agua mostraran mejor respuesta en la acumulación de masa seca en sus órganos, con respecto a las que recibieron menor aporte hídrico, está en concordancia con los resultados obtenidos por otros autores como Morales *et al.* (2017a) para el mismo cultivo. Otros autores han señalado que se deben tener en cuenta las condiciones experimentales específicas y el estadio de crecimiento en que se aplique la condición de estrés (Akram, 2011), mientras que Ashraf *et al.* (2011) destacan el efecto de los nutrientes minerales, los reguladores del crecimiento y las diferencias varietales, en el comportamiento de esta variable ante condiciones de estrés hídrico.



Resultados similares a los hallados con la inoculación fueron presentados por Da Silva *et al.* (2013), quienes informaron un aumento en la masa seca de la raíz, hojas y total en plantas de *Vigna unguiculata*, inoculadas con *Rhizobium*. Sin embargo, a diferencia de los resultados aquí mostrados, estos autores encontraron una disminución de estas variables sólo cuando las plantas mantuvieron una deficiencia hídrica y no se inocularon con *Rhizobium*. De igual forma sus resultados demostraron que los cultivares sensibles presentaron valores más bajos que los cultivares tolerantes.

Por su parte, Lim y Kim (2013) mostraron que plantas de pimiento tratadas con *Bacillus licheniformis* y expuestas a estrés por sequía, tenían un 50 % más de biomasa que las plantas no inoculadas y lo relacionaron con una mayor traslocación de asimilados hacia las hojas, lo cual provocó también incrementos en el rendimiento del cultivo.

En la figura 4 (A y B) se observa el comportamiento de la **relación masa seca de raíz/parte aérea**, en los dos cultivares de frijol objeto de la investigación, tanto a los 24 como a los 31 DDS.

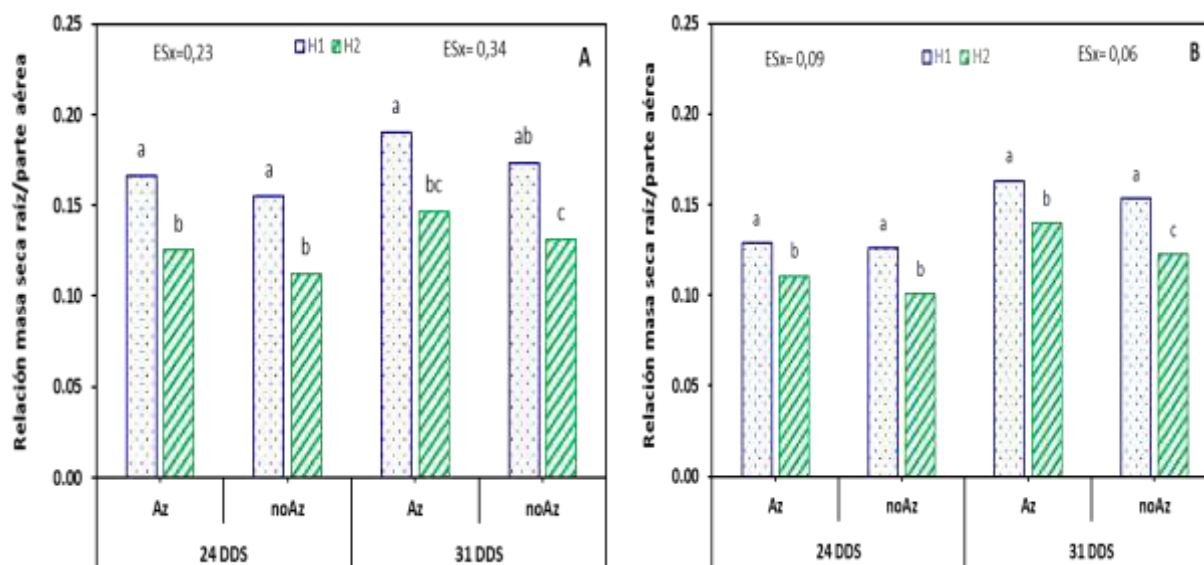


Figura 4. Efecto de la inoculación con Azofert®-F (Az) en la relación masa seca raíz/parte aérea de plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % (H1) y 50 % de (H2), a los 24 y 31 DDS. Cultivares CC-25-9R (A) y Tomeguín-93 (B). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.



Se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos al 100 y 50 % de humedad, favorables para el mayor suministro hídrico en ambos momentos y cultivares.

En los tratamientos inoculados sólo se presentaron diferencias significativas para el cultivar Tomeguín-93 (sensible) a los 31 DDS, cuando se impuso el estrés. La relación masa seca raíz/parte aérea constituye una característica importante en estudios sobre adaptación a sequía, ya que la absorción de agua se mejora a través de un sistema radical más extenso y profundo (Cardona *et al.*, 2013). En este sentido Barrios *et al.* (2012), encontraron a los 23 DDS una mayor relación masa seca raíz/parte aérea, en cultivares de frijol tolerantes a la sequía, que en los cultivares susceptibles, este incremento se debió a mayor longitud de las raíces y masa seca total de este órgano, lo que propició una mejor absorción de agua para distribuirla a la parte aérea. La asignación de masa seca entre las raíces y la parte aérea de la planta constituye un factor importante en la adaptación a la sequía; los cultivares tolerantes a sequía requieren desarrollar un sistema radical extenso y profundo, constituido por raíces delgadas y con vasos de xilema de menor diámetro, que permita mantener la absorción de agua y nutrientes para la expansión de nuevos tejidos, tanto en el sistema radical como en los órganos aéreos de la planta.

Autores como Khan *et al.* (2018) y Ahmad *et al.* (2019) informaron que la inoculación con *Pseudomona putida* y *Pseudomona fluorescens*, incrementó la masa seca radical y foliar en plantas de maíz en condiciones de estrés hídrico, lo que se relaciona con un mecanismo de tolerancia de las plantas al estrés hídrico (Polania *et al.*, 2012). En tal sentido Coelho de Lima *et al.* (2019) encontraron que la inoculación con *Bacillus subtilis* incrementó la masa seca radical de plantas de frijol y maíz en condiciones de estrés hídrico, por lo que un mayor acumulado de masa seca en este órgano también se encuentra un mayor incremento en las hojas, pues autores como (Barnawal



et al., 2017) sugieren que esta respuesta está relacionada con la liberación de hormonas por las bacterias.

En este mismo sentido, Polanía *et al.* (2012), en frijol común encontraron que la masa seca de la raíz está correlacionada positivamente con la producción de biomasa aérea, de tal manera que los cultivares que presentan mayor profundidad radical alcanzan mayor masa seca y están mejor adaptados a periodos de sequía prolongada, puesto que pueden explorar un mayor volumen de suelo y extraer agua de perfiles inferiores.

El análisis del **contenido relativo de agua** (CRA) en ambos cultivares, medido a los 24 y 31 DDS (Figura 5 A y B), mostró una tendencia lógica a descender en las plantas de los tratamientos menos abastecidos de agua. En este sentido De Laat (2014), informó que un menor CRA está relacionado con una baja tasa de fotosíntesis, principalmente debido a una limitación por cierre de estomas, la cual se refleja en los valores bajos de la conductancia estomática y de transpiración.

Para cada nivel de humedad los resultados superiores se obtuvieron en los tratamientos inoculados, por lo que los valores más bajos se encontraron en los tratamientos con un 50 % de humedad y que no recibieron aplicación de Azofert®-F.

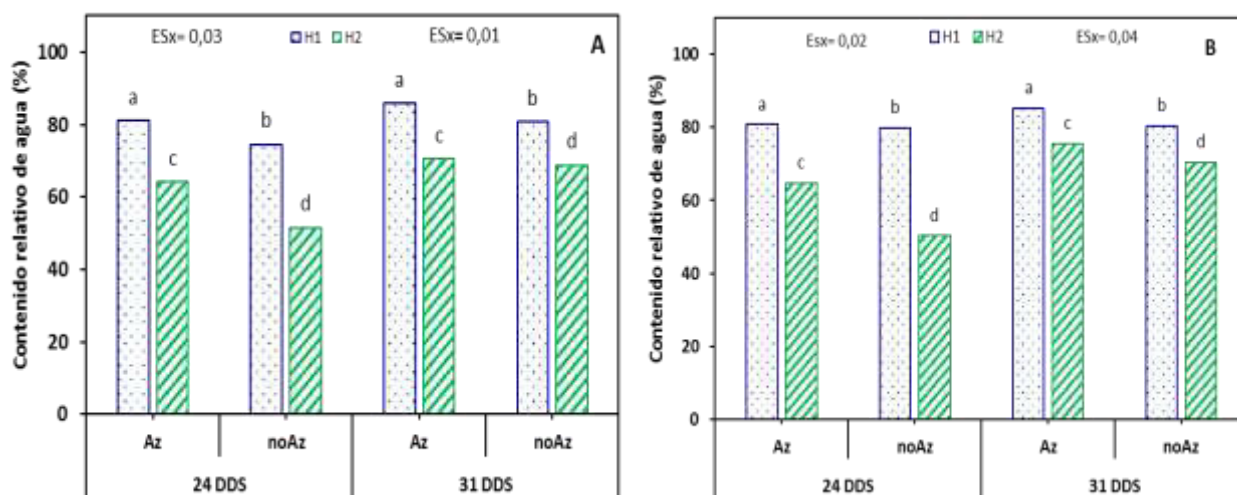


Figura 5. Efecto de la inoculación con Azofert®-F (Az) en el contenido relativo de agua de plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % de humedad (H1) y 50 % de humedad (H2), evaluadas a los 24 y 31 DDS. Cultivares CC-25-9R (A) y Tomeguín-93 (B). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.



El incremento significativo del CRA en los tratamientos inoculados, aún en presencia del 50 % de humedad, indica el efecto positivo del biofertilizante y especialmente ante esta condición de estrés. De manera similar, la inoculación con *A. brasilense* (Casanovas *et al.*, 2002) y con *Pseudomonas putida* (Sandhya *et al.*, 2010) en plántulas de maíz, mejoró el contenido relativo de agua en comparación con las plantas no inoculadas, bajo estrés por sequía. Resultados similares ante este estrés fueron informados para la inoculación de *Arabidopsis* con *A. brasilense* (Cohen *et al.*, 2015), con *Bacillus subtilis* AP-3 y *Bacillus Subtilis* PRBS-1 en plantas de frijol y maíz (Apanachi *et al.*, 2019), y la inoculación con *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomona mendocina* en plantas de *Ocimum basilicum* (Agami *et al.*, 2016).

El efecto positivo encontrado con la inoculación de *Rhizobium radiobacter* pudiera estar relacionado con la producción de hormonas por esta bacteria, lo que incrementa el desarrollo radical y por ende la absorción de agua por las plantas inoculadas (Yaru *et al.*, 2019) y por otro lado, a la presencia en el biofertilizante Azofert®-F de lipoquitinoligosacáridos o factores Nod, compuestos de los que se ha probado su efecto ante el estrés por sequía (Duzan *et al.*, 2005; Nápoles *et al.*, 2016).

Los valores del **potencial hídrico foliar (Ψ_h)**, **potencial osmótico actual (Ψ_s)**, **potencial osmótico saturado (Ψ_{ss})** y **potencial de presión (Ψ_p)** alcanzado por las plantas ante los diferentes tratamientos, se representa en la figura 6 (A, B, C, D, E, F, G y H).

Tanto a los 24 como a los 31 DDS, en ambos cultivares, se observó una disminución del potencial hídrico foliar, potencial osmótico actual y potencial osmótico saturado, en las plantas expuestas a esa condición de estrés, respecto a las plantas que recibieron mayor aporte hídrico. Los mayores valores en estos potenciales los alcanzaron las plantas de los tratamientos que recibieron un mejor abastecimiento hídrico y fueron inoculados con *Rhizobium radiobacter*.

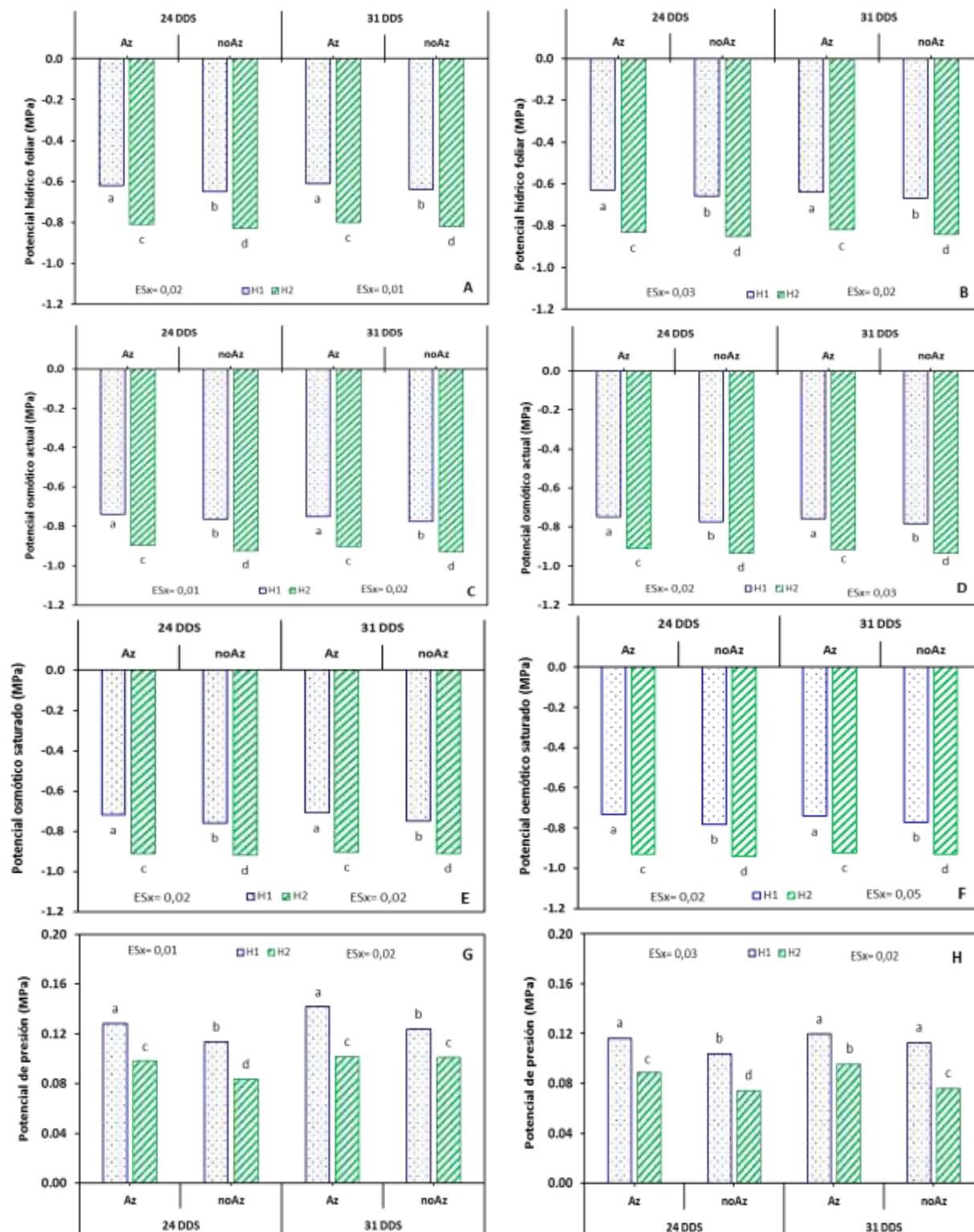


Figura 6. Efecto de la inoculación con Azofert®-F (Az) en el potencial hídrico foliar (Ψ_h), potencial osmótico actual (Ψ_s), potencial osmótico saturado (Ψ_{ss}) y potencial de presión (Ψ_p), de plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % de humedad (H1) y 50 % de humedad (H2), evaluadas a los 24 y 31 DDS. Cultivares CC-25-9R (A, C, E, G) y Tomeguín-93 (B, D, F, H). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.



Se debe destacar el efecto positivo del inoculante al incrementar los potenciales cuando las plantas recibieron una menor humedad. Las diferencias entre cada uno de los tratamientos que tuvieron estrés hídrico y los valores del potencial hídrico pudieran indicar una regulación estomática como mecanismo de tolerancia de las plantas al déficit hídrico.

Al analizar el potencial de presión (Ψ_p) en la figura 6 (G y H), se pudo observar que, a los 31 DDS en ambos cultivares la respuesta fue diferente. En el cultivar CC-25-9R no hubo diferencias entre inoculado o no para la condición de estrés, mientras que en el cultivar Tomeguín no se diferenciaron los tratamientos con el del 100 % de humedad.

En sentido general, se debe resaltar el efecto positivo del inoculante en ambos cultivares y en las dos condiciones de humedad. Resultados similares fueron encontrados por Sandhya *et al.* (2010), quienes informaron que la inoculación con *Pseudomonas putida* mejoró el potencial hídrico de las hojas y la biomasa de las plantas de maíz expuestas a estrés por sequía, de igual manera Saeed *et al.* (2016), al inocular *A. lipoferum* en semillas de canola y Vaishnav *et al.* (2018), con la aplicación de rizobacterias en cultivares de soya.

Sin embargo, en otros trabajos el estrés por sequía redujo el potencial hídrico en plántulas de maíz cuando se inocularon con *A. brasilense* (Casanovas *et al.*, 2002) y la inoculación de dos especies de *Neotropical* (*Anthurium scherzerianum*) con bacterias promotoras del crecimiento, bajo estrés hídrico, provocó un efecto negativo similar en esta variable (Nunes *et al.*, 2018).

Se plantea que las rizobacterias promotoras del crecimiento secretan osmolitos en respuesta al estrés por sequía, los que actúan de forma sinérgica con los osmolitos producidos por las plantas y estimulan su crecimiento (Paul *et al.*, 2008).

La bacteria *Phyllobacterium brassicacearum*, aislada de la rizosfera de *Brassica napus*, mejoró la tolerancia al estrés osmótico en plantas de *Arabidopsis*, resultado que se relacionó con una



elevación del contenido de ABA, lo que llevó a una disminución de la transpiración de las hojas (Bresson *et al.*, 2014).

Según Rosabal *et al.* (2013) la síntesis de ácido abscísico (ABA) está relacionada con una respuesta adaptativa de las plantas. El incremento del ABA es la señal que permite amplificar otras cascadas de señalización que al parecer regulan el balance hídrico en la planta y la tolerancia al estrés. De esta forma, la síntesis y regulación de este biorregulador constituye un mecanismo de respuesta ante el déficit hídrico del suelo. El ABA causa pérdida de potasio, cloro o malato en las células guarda, provoca disminución del volumen celular por la salida de agua del citoplasma, y da lugar al cierre estomático (Moreno, 2009; Taiz y Zeiger, 2010), lo cual tendría un efecto inmediato en la conductancia estomática.

El cultivar tolerante CC-25-9R, mostró valores superiores de potencial de presión que el cultivar susceptible, lo cual resulta una característica deseable en un material seleccionado para condiciones de déficit de humedad, dado por su mayor flexibilidad para responder al estrés (Asfaw *et al.*, 2012; Beebe *et al.*, 2013). Estos últimos autores señalan que la tolerancia a la sequía se atribuye a varias causas: al ajuste osmótico, a un incremento en la elasticidad celular, a una disminución del tamaño de las células y a la resistencia del protoplasma a la desecación.

Las rizobacterias que promueven el crecimiento de las plantas pueden ayudar a aliviar estreses abióticos también mediante una tolerancia sistemática ó sistémica inducida, proceso que modula los niveles de fitohormonas, defensas antioxidantes, ajuste osmótico, respuestas al estrés térmico, mediante la producción de exopolisacáridos y varios compuestos orgánicos volátiles (Kaushal y Wani, 2016).

En general, cuando se analiza el comportamiento de las variables hídricas aquí evaluadas, se puede plantear que hubo un efecto positivo de la inoculación con Azofert®-F en ambos cultivares, ya que



permitió mantener la turgencia celular en las plantas de frijol, lo cual posibilita una mayor tolerancia de las plantas.

El efecto de la inoculación en los valores de la **conductancia estomática** de plantas de frijol, medida en dos momentos del desarrollo del cultivo, se presenta en la figura 7 (A y B).

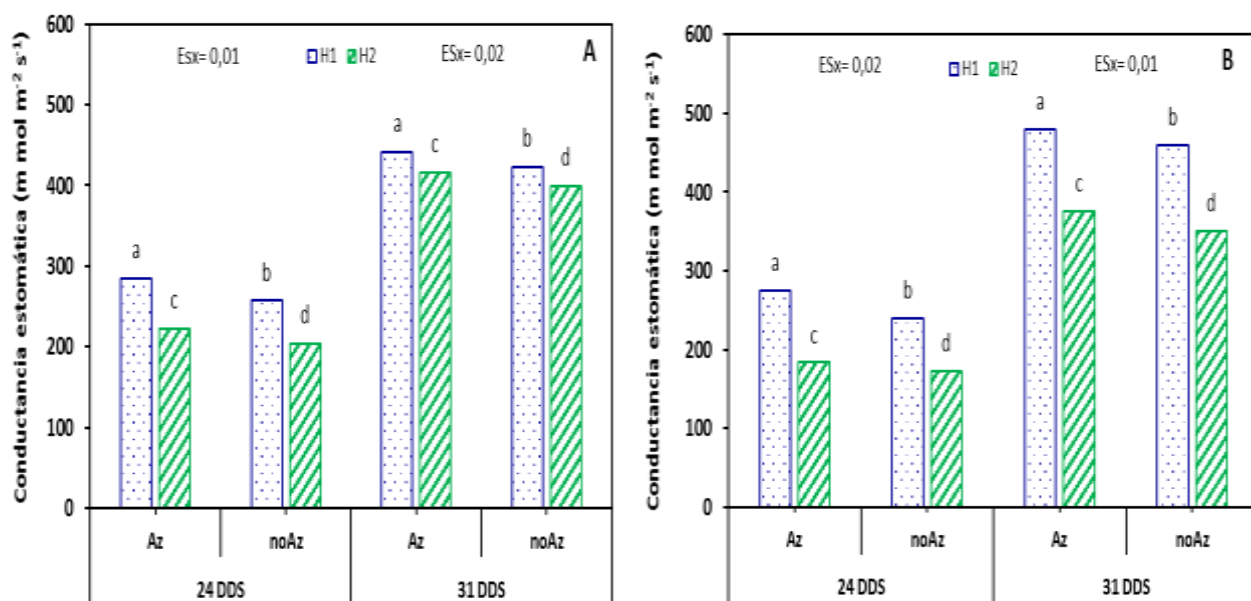


Figura 7. Efecto de la inoculación con Azofert®-F (Az) en la conductancia estomática de plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % de humedad (H1) y 50 % de humedad (H2), evaluadas a los 24 y 31 DDS. Cultivares CC-25-9R (A) y Tomeguín-93 (B). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.

Los resultados mostraron que los menores valores correspondieron a las plantas de los tratamientos que recibieron el 50 % de agua sin la aplicación del biofertilizante. Mientras que, esta variable se vio favorecida con la mayor humedad y la aplicación de Azofert®-F.

El efecto favorable de la inoculación con Azofert®-F en la conductancia estomática, pudo deberse en parte a su efecto positivo en la densidad e índice estomático (tabla V), ya que la conductancia estomática se relaciona directamente con la apertura estomática y el estado hídrico de las plantas, lo que influyó mucho en esta variable. El control estomático, o regulación estomática es un fenómeno de suma importancia para las plantas debido a que permite evitar la deshidratación y asegurar la entrada de CO₂ (Dell' Amico *et al.*, 2017). Este tipo de mecanismo de regulación



estomática se observó en cultivares de maíz, inoculados con cepas bacterianas de *Bacillus megaterium*, *Enterobacter sp.*, *Bacillus thuringiensis* y *Bacillus sp.*, en condiciones de estrés hídrico (Armada *et al.*, 2015).

Según Sharifi y Ryu (2017), las PGPR inducen mayor síntesis de ABA en las plantas bajo estrés por déficit hídrico, por lo que se reduce la transpiración estomática. Así, la inoculación de plántulas de *Platycladus orientalis* con la rizobacteria *Bacillus subtilis*, que produce citoquinina, elevó los niveles de ABA en los brotes y disminuyó la conductancia estomática que confiere resistencia al estrés por sequía (Liu *et al.* 2013).

Se plantea que las legumbres (que comúnmente se asocian a los rizobios), en condiciones de déficit hídrico, mantienen su contenido de agua en las hojas y evitan la deshidratación del tejido, además regulan su conductancia estomática, la abscisión de las hojas y el cierre estomático (Polania *et al.*, 2016; Zegaoui *et al.*, 2017). Esto conduce posteriormente a una disminución en las concentraciones internas de CO₂, lo que limita la fotosíntesis y el crecimiento de los brotes.

El comportamiento de esta variable en condiciones diferenciadas de humedad en el suelo es bien conocido para distintos tipos de plantas y especialmente para el frijol, en el que se ha encontrado una reducción de la conductancia estomática como consecuencia de las regulaciones estomáticas que se producen cuando la disponibilidad de agua en el suelo constituye una limitante para su desarrollo (Cardona *et al.*, 2014; Pedroza *et al.*, 2016).

Según Acosta *et al.* (2009), Asfaw *et al.* (2012), Ghanbari *et al.* (2013), Lizana *et al.* (2006) y Rosales *et al.* (2013), los cultivares de frijol tolerantes al déficit hídrico muestran diferentes mecanismos fisiológicos de tolerancia. Estos incluyen el cierre estomático, que conlleva a una reducción en su tasa de transpiración, mecanismos eficientes de carboxilación, alta concentración de solutos en las células y mayor movilización de sustancias de reserva a los órganos



reproductivos. Esto se hace evidente en características fenotípicas y/o morfológicas visibles, tales como: ciclos productivos más cortos, tallos pequeños, menor producción de brotes y raíces muy desarrolladas.

La respuesta diferenciada de distintos cultivares al estrés hídrico puede estar relacionada con la capacidad de absorción de agua del suelo y/o la capacidad de controlar la pérdida de agua a través de los estomas (Bayoumi, Manal y Metwali, 2008). La respuesta estomática a los cambios en el potencial de agua de las hojas y el ambiente, constituye un mecanismo de regulación importante para la transpiración y la fotosíntesis, así como para la adquisición de CO₂ (Medici *et al.*, 2007).

El **contenido de clorofilas**, medido en dos momentos del desarrollo de las plantas para ambos cultivares se muestra en la figura 8 (A, B, C, D, E y F). **La clorofila a** (Figura 8 A y B) y **clorofilas totales** (Figura 8 E y F), tanto a los 24 como a los 31 DDS exhibieron los valores más altos en los tratamientos inoculados con *Rhizobium radiobacter* y que recibieron un mayor aporte hídrico en el sustrato, mientras que los menores valores fueron para las plantas que no se inocularon y tuvieron un menor abastecimiento de agua. En este sentido, Saeed *et al.* (2016), encontraron que la inoculación con *A. lipoferum* a las semillas de canola (*Brassica napus*) incrementó el contenido de clorofilas en condiciones de déficit hídrico. El cultivar CC-25-9R alcanzó valores superiores de estas variables.

El contenido de **clorofila b** (Figura 8 C y D) presentó un comportamiento similar en ambos momentos de evaluación, entre los tratamientos para igual condición de humedad. Los valores superiores correspondieron al mayor aporte de agua, sin diferencias entre inoculado o no.

El contenido de clorofila a mostró una mayor contribución al contenido de clorofilas totales y estas variables en general estuvieron favorecidas por la presencia del inoculante.

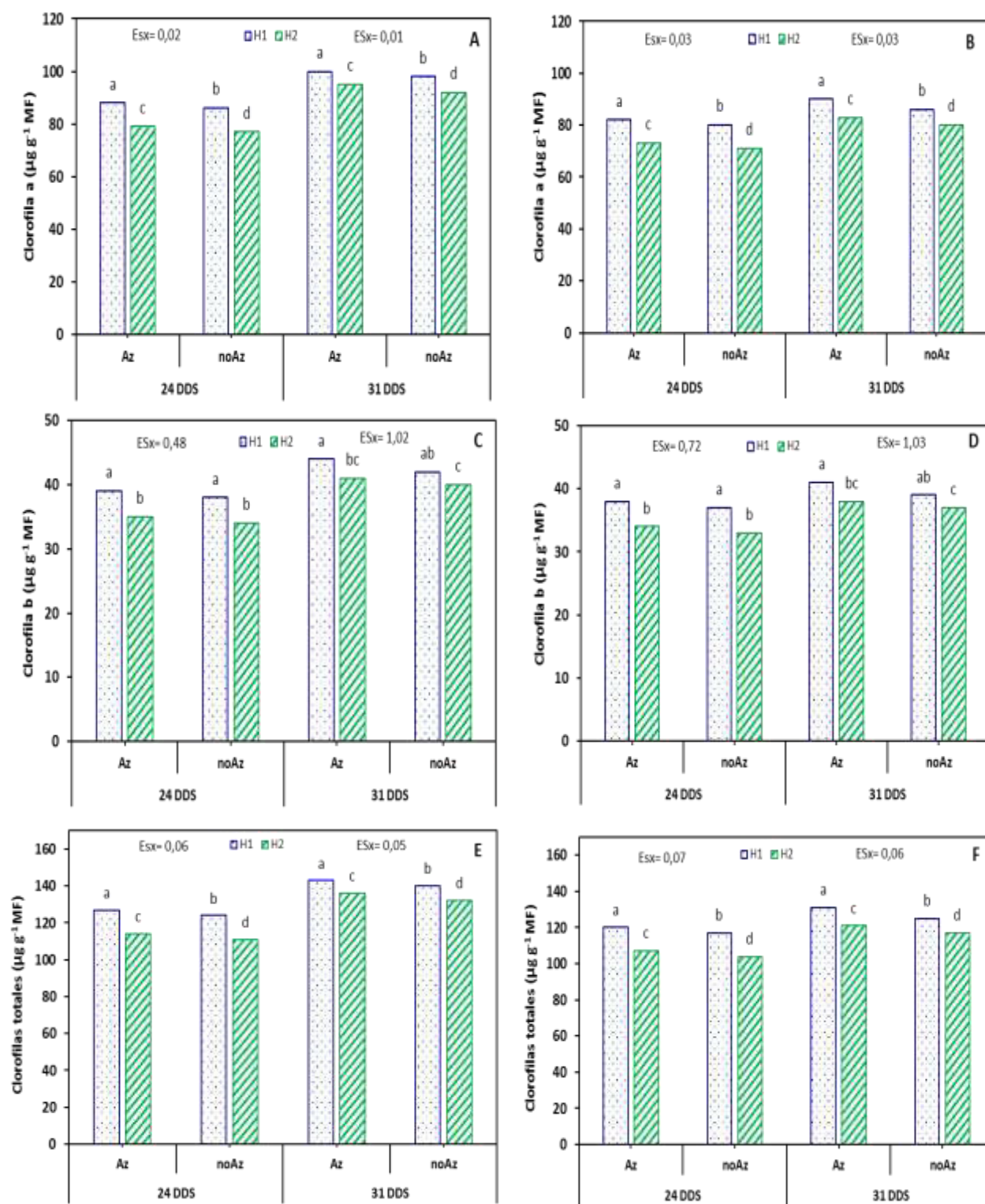


Figura 8. Efecto de la inoculación con Azofert®-F (Az) en el contenido de clorofilas a, b y totales de plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % de humedad (H1) y 50 % de humedad (H2), evaluadas a los 24 y 31 DDS. Cultivares CC-25-9R (A, C, E) y Tomeguín-93 (B, D, F). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.



Resultados similares obtuvieron Chavoshi *et al.* (2018), quienes encontraron que la inoculación con PGPR en condiciones de estrés por déficit hídrico incrementaron el contenido de clorofila a, b y total en el cultivo del frijol, en comparación con el control no inoculado.

Por su parte, Tairo (2017), informó para el mismo cultivo que la inoculación con *R. leguminosarum* bv *phaseoli* sin estrés, aumentó los niveles de clorofila a, b y total, en comparación con los tratamientos sin la inoculación con estrés hídrico. En este sentido Omara y Elbagaroby (2018), encontraron que la inoculación con *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas koreensis*, *Pseudomonas fluorescencia* y *Enterobacter cloacae*, incrementó el contenido de clorofila a, b y total de plantas de trigo (*Triticum aestivum*) en condiciones de estrés hídrico. Sin embargo, en estudios realizados por Tajini *et al.* (2012), mostraron una reducción en la concentración de clorofilas ante déficit de agua en frijol común, al utilizar dos cepas de rizobios como inoculantes. Las reducciones en el contenido de clorofilas en las hojas se deben probablemente a la degradación de los pigmentos fotosintéticos y este proceso también es el resultado de no proporcionar los factores necesarios para la síntesis de clorofila y la destrucción de su estructura en condiciones de estrés (Ashraf y Harris, 2013; Mohtashami *et al.*, 2016; Nematollahi *et al.*, 2017).

Una reducción del contenido de clorofila total bajo estrés hídrico indica una baja capacidad de los centros de reacción de la luz con el propósito de evitar daños por especies reactivas de oxígeno, ya que la producción de éstas es impulsada principalmente por el exceso de absorción de energía en el aparato fotosintético (Herbinger *et al.*, 2002).

Las clorofilas desempeñan un papel importante en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Jahan *et al.*, 2014) y la disminución en su contenido es la principal causa de alteraciones en el proceso de fotosíntesis (Khairi *et al.*, 2015). Según Meher *et al.* (2017), el déficit hídrico interfiere más en la síntesis de clorofila a que en la de clorofila b.



Al evaluar la **relación clorofila a/clorofila b** (Figura 9 A y B), se observó que a los 24 y 31 DDS y en ambos cultivares, sólo se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos con mayor contenido de agua y el menor abastecido sin inóculo. La biofertilización permitió obtener valores similares de esta variable para ambas condiciones de humedad.

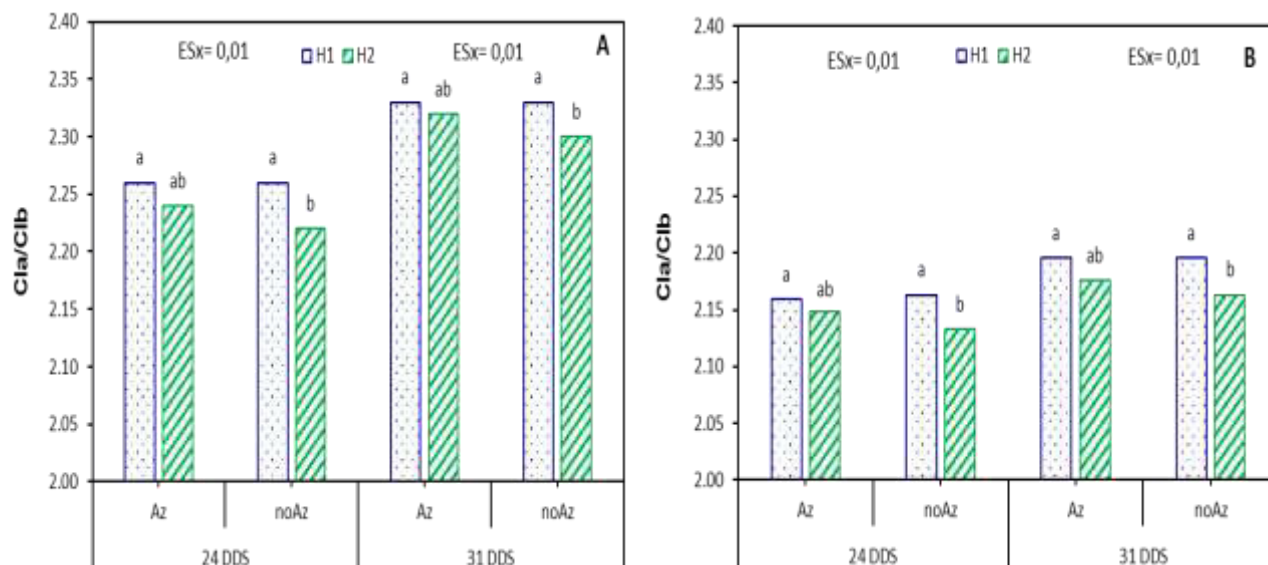


Figura 9. Efecto de la inoculación con Azofert®-F (Az) en la relación Clorofilas a/Clorofilas b (Cia/Cib) de plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % de humedad (H1) y 50 % de humedad (H2), evaluadas a los 24 y 31 DDS. Cultivares CC-25-9R (A) y Tomeguín-93 (B). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.

De esta forma, en ambos cultivares y en los dos momentos evaluados solo se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento que recibió un mayor aporte de humedad y fue inoculado con *Rhizobium radiobacter* y el tratamiento que contó con un menor aporte de humedad sin la inoculación.

La relación entre las clorofilas a y b en los dos cultivares alcanzó valores que se encuentran dentro del rango permisible para estas variables, pues según Srivastava (1998), para las plantas C_3 los valores de esta relación se encuentran en el rango de 1-3.

Se ha demostrado que el déficit hídrico provoca una disminución tanto del crecimiento y desarrollo de las plantas, como del contenido de clorofilas (Abdelraouf *et al.*, 2013; Abu Muriefah, 2013), al



igual que de la relación Cla/Clb, lo que pudiera estar relacionado con limitaciones estomáticas, entre las que se encuentran la difusión de CO₂ desde los estomas hacia los espacios intercelulares y con la restricción de la fotofosforilación (Cardona *et al.*, 2014).

Al analizar el **contenido de carotenoides**, se encontraron resultados similares en ambas variedades, con diferencias estadísticas en todos los tratamientos para cada momento (Figura 10 A y B). Se registró un incremento significativo en la concentración de compuestos carotenoides en los tratamientos que tuvieron deficiencia hídrica en el suelo, especialmente ante la presencia de la bacteria. El incremento del contenido de carotenoides pudiera sugerir un mecanismo de adaptación a estas condiciones, en ambos cultivares en estudio, si se tiene en cuenta el papel de estos pigmentos en la protección de la molécula de clorofila durante el proceso de fotooxidación (Chávez *et al.*, 2015).

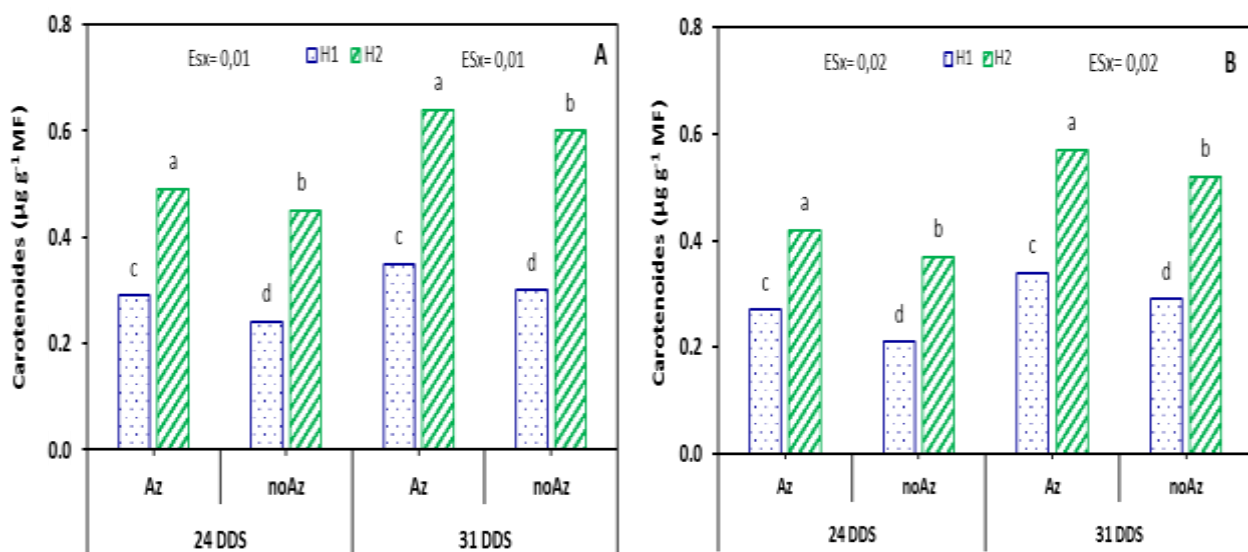


Figura 10. Efecto de la inoculación con Azofert[®]-F (Az) en los contenidos de carotenoides de plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % de humedad (H1) y 50 % de humedad (H2), evaluadas a los 24 y 31 DDS. Cultivares CC-25-9R (A) y Tomeguín-93 (B). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.

Los carotenoides representan un grupo de antioxidantes lipofílicos capaces de desintoxicar varias formas de especies activas de oxígeno. Como antioxidante, pueden atrapar ¹O₂ para inhibir el daño



oxidativo y absorber la energía del triplete de clorofila (3Chl^*) y la molécula de clorofila excitada (Chl^*) para prevenir la formación del oxígeno singlete y proteger el aparato fotosintético. Además, actúan como precursores de moléculas señalizadoras en el desarrollo y la respuesta al estrés (Mattos y Moretti, 2015). Según Raya (1998), una fracción de los carotenoides, la violaxantina, participa en el ciclo de las xantofilas, que se ha propuesto como un mecanismo de protección para las plantas, sobre todo del aparato fotosintético y del daño por radicales libres. De hecho, se ha correlacionado la mayor actividad de este ciclo con la resistencia de las plantas al daño por fotooxidación que se produce bajo el estrés salino o por la sequía.

De acuerdo con Zhang y Kirkhan (1996), los carotenoides pueden reaccionar con los estados excitados de la clorofila y combinados con el oxígeno molecular, constituir un complejo que conduce a la fotooxidación. Estos resultados sugieren que la producción de carotenoides obedece a una estrategia de aclimatación a la condición estresante, la cual está involucrada en las funciones antioxidantes de dichos pigmentos (Efeoğlu *et al.*, 2009).

Los pigmentos fotosintéticos son importantes para las plantas por su función de absorber la energía lumínica y la producción del poder reductor. Además, los carotenoides tienen un papel adicional, dado que forman parte del sistema de defensa antioxidante de las plantas y otorgan protección frente al daño oxidativo causado por el déficit hídrico. Un incremento en el contenido de carotenoides es importante en la tolerancia al estrés hídrico (Jaleel *et al.*, 2009). En tal sentido, Chavoshi *et al.* (2018), informaron que la inoculación con *Pantoea agglomerans*, *Psuedomonas putida*, *Bacillus circulans* y *Bacillus megatherium* incrementó el contenido de carotenoides en plantas de frijol en condiciones de estrés hídrico. En el cultivo del frijol mungo, pero en condiciones de estrés salino la inoculación con *Enterobacter cloacae* y *Bacillus drentensis*



combinado con el Silicio sinérgico (Si) incrementó el contenido de carotenoides (Mahmood *et al.*, 2016).

Por otra parte, Cappellari *et al.* (2015) y Agami *et al.*, (2016), informaron que la inoculación con PGPR aumentó los pigmentos fotosintéticos en plantas de *Ocimum bacilicum* y *Menta piperita* en condiciones de estrés hídrico, debido a que la inoculación con estas bacterias permitió absorber más nutrientes con relación a las plantas no inoculadas, lo cual disminuyó el daño por estrés oxidativo y no afectó los pigmentos fotosintéticos. En tal sentido Humaira *et al.* (2017), informaron también que la inoculación con *Pseudomonas* sp., *Bacillus cereus* y *Bacillus pumilus*, incrementó el contenido de carotenoides de plantas de maíz en condiciones de estrés hídrico, además, Omara y Elbagaroby (2018), encontraron que la inoculación con *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas koreensis*, *Pseudomonas fluorescencia* y *Enterobacter cloacae* produjo un efecto similar en plantas de trigo.

Un comportamiento similar al del contenido de carotenos fue observado en el **contenido de prolina** en las plantas de frijol (Figura 11 A y B). Ambos cultivares mostraron que, tanto a los 24 como a los 31 DDS, los mayores valores se alcanzaron en las plantas del tratamiento inoculado, con un menor suministro de agua (50 %) y los menores correspondieron a las plantas del tratamiento no inoculado y mejor abastecido de agua.

En general, los valores mayores de prolina se observaron en las plantas que fueron expuestas a estrés hídrico en ambos momentos evaluados, tanto en plantas inoculadas como en las no tratadas. Ello corrobora que la acumulación de prolina en hojas es un indicador de estrés hídrico en plantas de frijol (Sánchez *et al.*, 2016). Al respecto, Andrade *et al.* (1995) plantearon, que la acumulación de prolina puede ser un síntoma de estrés hídrico en los cultivares de frijol susceptibles a sequía,



pero tiene una importante contribución, además, al ajuste osmótico en los cultivares que son resistentes a este estrés.

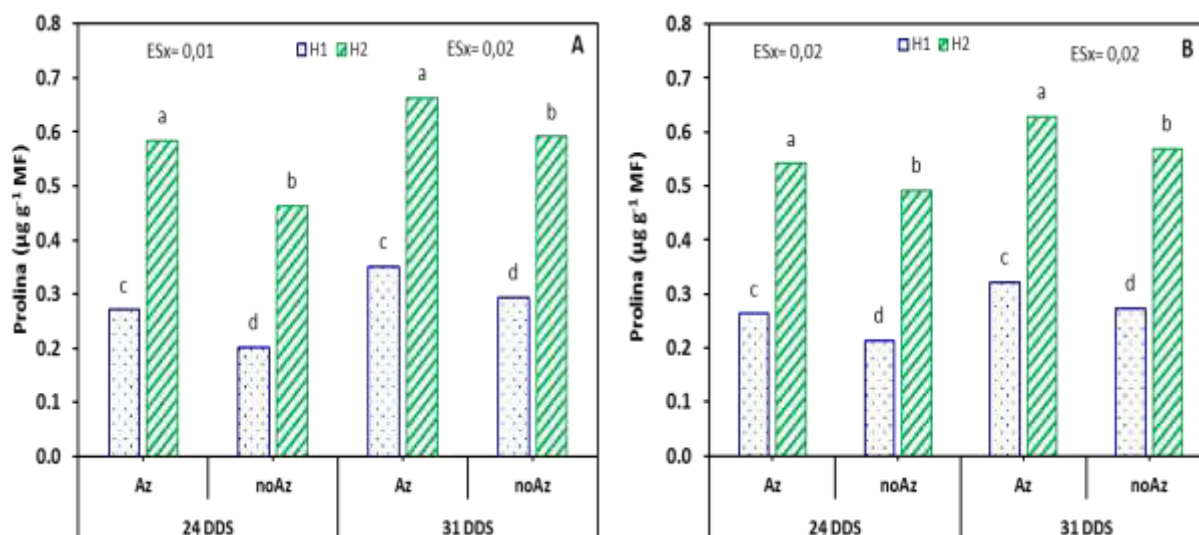


Figura 11. Efecto de la inoculación con Azofert®-F (Az) en el contenido de prolina en plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % de humedad (H1) y 50 % de humedad (H2), evaluadas a los 24 y 31 DDS. Cultivares CC-25-9R (A) y Tomeguín-93 (B). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.

Algunos autores plantean que la acumulación de prolina se considera como un síntoma de daño y no de tolerancia al estrés, mientras que otros informan que los incrementos observados en sus niveles, se relacionan principalmente con mecanismos de tolerancia a corto plazo (Florido, 2014). No obstante, la inoculación con Azofert®-F preparó a las plantas de alguna forma para tolerar mejor las condiciones del estrés hídrico. Gusain *et al.* (2015) proporcionan evidencias de un efecto beneficioso de la aplicación de rizobacterias promotoras del crecimiento en la mejora de la tolerancia a la sequía, al alterar la actividad de los antioxidantes en condiciones de déficit hídrico. Sun *et al.* (2013), encontraron que condiciones de estrés hídrico estimulan la producción de prolina, involucrada en funciones de la planta tales como la regulación osmótica, el mantenimiento de la estabilidad de la membrana, suministro de carbono, entre otras. Estos mismos autores informaron que plantas susceptibles y tolerantes, sometidas a condiciones de estrés hídrico, presentan actividad enzimática antioxidante con el fin de mitigar los efectos provocados por los



radicales libres de oxígeno. Similar resultado fue informado por Osman, (2015) quien considera cultivares tolerantes a aquellos cuya producción de sustancias antioxidantes tales como la prolina y carotenoides son mayores bajo condiciones de estrés.

Las especies reactivas de oxígeno producidas durante la sequía causan estrés oxidativo en las plantas (Vurukonda *et al.*, 2016). Un incremento del contenido de prolina bajo condiciones de este estrés tiene el propósito de mantener la hidratación en la célula y prevenir daño por las condiciones estresantes. Igualmente, este aminoácido actúa como osmolito y fuente de almacenamiento de carbono y nitrógeno, que son posteriormente utilizados para estabilizar macromoléculas, proteínas y membranas celulares, en los tejidos de las plantas (Sánchez, 2016).

Del mismo modo, plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) cv. Anakha, tratadas con bacterias solubilizadoras de fosfato de la especie *Bacillus polymyxa*, incrementaron el contenido de prolina para hacer frente a la condición de sequía (Shintu y Jayaram, 2015).

En este sentido, se ha informado además que los cultivares susceptibles acumulan menor cantidad de materia seca y producen prolina en diferentes cantidades, es decir, aquellos materiales con mayor contenido de prolina tendrían un mejor ajuste osmótico (Sánchez *et al.*, 2010).

Al analizar el **contenido de proteínas solubles totales** en la figura 12 (A y B) se pudo observar, que en los dos momentos evaluados ambos cultivares mostraron diferencias significativas en todos los tratamientos y que los valores superiores correspondieron a la mayor humedad (100 %).

Aunque se debe señalar también que, en ambas condiciones de humedad, los valores más altos de este indicador se correspondieron con la inoculación de Azofert®-F, con lo cual, los menores valores se presentaron en el nivel de humedad al 50 % cuando no se inoculó.

Chavoshi *et al.* (2018), también encontraron una reducción en el contenido de proteínas en plantas de frijol bajo condiciones de déficit hídrico, y en los tratamientos inoculados con PGPR estos



valores aumentaron en la etapa de prefloración. De manera similar se ha informado una disminución de la cantidad de proteínas solubles totales en plantas de caupí, bajo estrés hídrico (Costa *et al.*, 2008; Farouk y Amani, 2012).

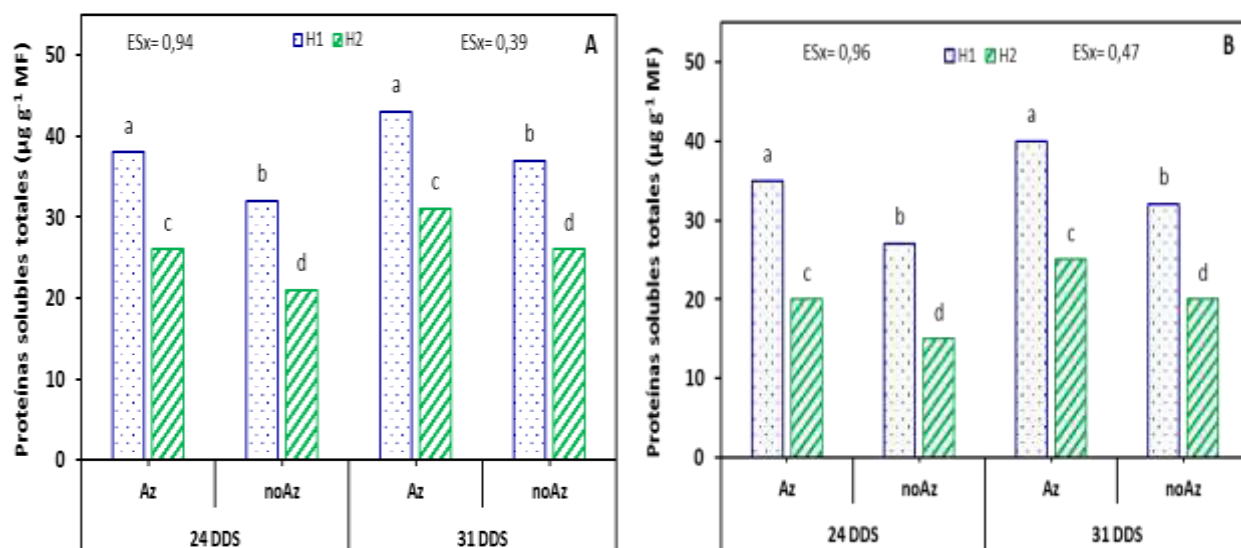


Figura 12. Efecto de la inoculación con Azofert[®]-F (Az) en el contenido de proteínas solubles totales en plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % de humedad (H1) y 50 % de humedad (H2), evaluadas a los 24 y 31 DDS. Cultivares CC-25-9R (A) y Tomeguín-93 (B). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.

Da Silva *et al.* (2013), informaron que el déficit de agua causó una disminución significativa en el contenido de proteínas solubles en dos cultivares de *Vigna unguiculata*, pero estos valores se incrementaron cuando las plantas fueron inoculadas con *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*. En tal sentido Mondani *et al.* (2019), encontraron que la inoculación con PGPR incrementó el contenido de proteínas en las hojas y granos de soya en condiciones de déficit hídrico. Estos resultados y los aquí encontrados resultan lógicos si se tiene en cuenta la actividad de estas bacterias en la fijación de nitrógeno y su transformación posterior en compuestos nitrogenados al unirse con los esqueletos carbonados que se transportan por el floema desde la parte aérea hasta los nódulos. El nitrógeno fijado se convierte finalmente en ureidos o amidas, posteriormente, se transporta hacia las hojas a través del xilema (Rodrigues *et al.*, 2013; Hungría y Kaschuk, 2014), lo que incrementa el contenido de proteínas foliar.



La reducción de proteínas solubles ante el déficit de agua se ha explicado por la generación de especies reactivas de oxígeno, las cuales son responsables del estrés oxidativo en las plantas (Vurukonda *et al.*, 2016). Dichas moléculas tienen un efecto en la síntesis de proteínas, lo que está relacionado con una disminución en el número de polisomas (Creelman *et al.*, 1990), o causan desnaturalización de las proteínas (Schwanz *et al.*, 1996).

Por otro lado, la disminución de las proteínas solubles ante déficit de agua se atribuye a la descomposición de las proteínas, que resulta esencial para producir aminoácidos, los que tienen un papel en la adaptación al estrés por sequía (Ibrahim, 2014).

Al analizar los **contenidos de carbohidratos solubles totales** en los cultivares estudiados (Figura 13 A y B), se aprecia que el cultivar CC-25-9R, tanto a los 24 como a los 31 DDS, alcanzó los mayores valores en el tratamiento inoculado con *Rhizobium radiobacter* y con el mayor aporte de agua, mientras que los menores valores se alcanzaron en las plantas de los tratamientos que recibieron un menor aporte de humedad y no se inocularon. No obstante, la mayor condición de humedad superó siempre al contenido de carbohidratos obtenidos con el déficit hídrico.

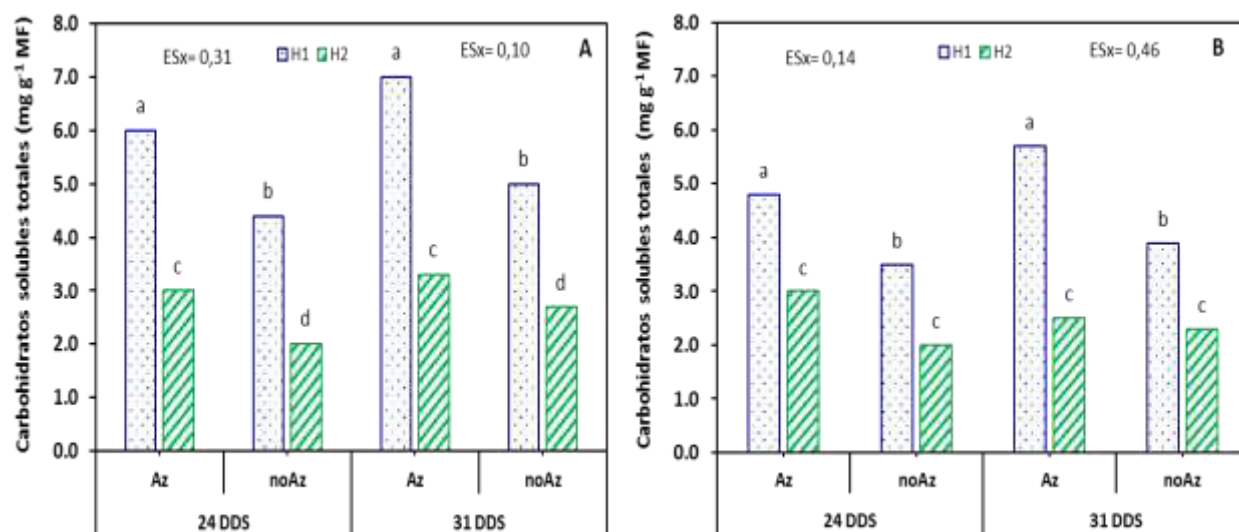


Figura 13. Efecto de la inoculación con Azofert®-F (Az) en los carbohidratos solubles totales de plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % de humedad (H1) y 50 % de humedad (H2), evaluadas a los 24 y 31 DDS. Cultivares CC-25-9R (A) y Tomeguín-93 (B). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.



También el cultivar Tomeguín-93, en ambos momentos de la evaluación, mostró diferencias significativas entre los tratamientos, a favor de los que tuvieron mayor humedad y en esta condición se destacaron aquellos que fueron inoculados. Los menores valores se obtuvieron en los tratamientos menos abastecidos de agua, sin diferencias significativas entre inoculados o no.

Se debe resaltar que en general, el cultivar CC-25-9R alcanzó valores superiores en el contenido de carbohidratos solubles, lo que sugiere alguna relación con un posible mecanismo de respuesta adaptativa, relacionado quizás con una regulación estomática (Tabla V).

Según autores como Beebe *et al.* (2013) el éxito de las plantas en condiciones de estrés puede estar determinado por su capacidad de controlar el uso de carbohidratos para generar energía metabólica.

Por su parte, Travaglia *et al.* (2009), encontraron que la inoculación con PGPR induce la síntesis de ABA y esta hormona provocó aumentos en el contenido de carbohidratos y de carotenoides en las hojas y granos de soya, en condiciones de déficit hídrico moderado. En este sentido, (Gagné *et al.*, 2016), también encontraron que la inoculación con *Bacillus subtilis* B26, incrementó el contenido de carbohidratos de plantas de Timothy (*Phleum pratense* L.) en condiciones de estrés hídrico. De igual forma, Heidari *et al.* (2011), informaron que la inoculación con *Pseudomonades* sp, *Bacillus lentus* y *Azospirillum brasilens*, incrementaron el contenido de carbohidratos de plantas de *Ocimum basilicum* en condiciones de estrés hídrico. Es posible que un mecanismo similar haya funcionado en esta interacción *Rhizobium radiobacter*-frijol, pues se conoce que los rizobios sintetizan y liberan hormonas (Palacio *et al.*, 2016).

Al analizar los valores de la **tasa fotosintética** en la figura 14 (A y B), se apreció que, en los dos momentos evaluados, ambos cultivares mostraron un comportamiento similar, con diferencias significativas entre todos los tratamientos.

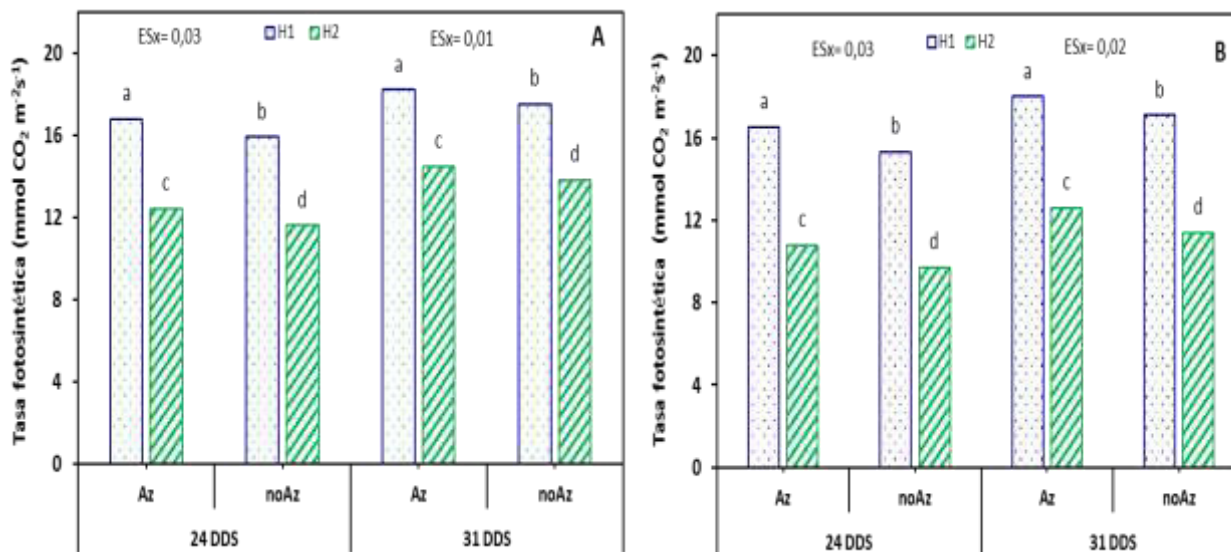


Figura 14. Efecto de la inoculación con Azofert[®]-F (Az) en la tasa fotosintética de plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % de humedad (H1) y 50 % de humedad (H2), evaluadas a los 24 y 31 DDS. Cultivares CC-25-9R (A) y Tomeguín-93 (B). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.

Los valores superiores en la tasa fotosintética se obtuvieron con las mejores condiciones de humedad, mientras que, la deficiencia hídrica afectó esta variable, lo cual es lógico si se tiene en cuenta que este estrés afecta la asimilación de CO₂ en las plantas. Cuando las plantas están expuestas a sequía, la disponibilidad de CO₂ se restringe y la síntesis de ATP es dañada, la concentración de NADP⁺ es generalmente muy baja, lo cual conlleva a un exceso de excitación de energía en la fotosíntesis (Florido, 2014). En este sentido, el déficit hídrico en las plantas genera el cierre de estomas y la disminución de la absorción del CO₂, lo que reduce la tasa fotosintética (Dubberstein *et al.*, 2018).

El incremento obtenido en la tasa fotosintética cuando las plantas se encontraban con el 100 % de humedad e inoculadas, se debe a un mejor crecimiento de las plantas, que por un lado responde a un adecuado balance hídrico y por otro al aporte de nitrógeno y otros elementos nutritivos por las bacterias. Resultados similares fueron obtenidos por Aguilar *et al.* (2017) al evaluar dos cultivares de frijol bajo condiciones de estrés hídrico. Se puede inferir que, en estas condiciones, el sistema



fotosintético de las hojas mantiene su integridad, garantizándose por tanto condiciones favorables para el desarrollo de las plantas, aspectos que han sido señalados por otros autores a partir de trabajos realizados en *Coffea canephora* Pierre (Netto *et al.*, 2005).

Sin embargo, Nunes *et al.* (2018), informaron una disminución en la tasa fotosintética al inocular dos especies de *Neotropical* con bacterias promotoras del crecimiento, en condiciones de estrés por sequía.

La inoculación con *Rhizobium radiobacter* favoreció también las plantas que recibieron un menor aporte de humedad, lo que demuestra el efecto positivo de esta bacteria en esta variable. En tal sentido, la inoculación con *B. thuringiensis* revirtió el efecto inhibitorio del estrés por sequía en la actividad fotosintética de plántulas de trigo, lo cual fue evidente por una mayor tasa de asimilación neta total y conductancia estomática. El efecto del tratamiento con esta bacteria en la tasa fotosintética se relacionó con la regulación positiva en varias enzimas antioxidantes, que sugieren una respuesta más fuerte de la planta al estrés oxidativo (Moustafa, 2015).

De forma general, en este primer experimento se encontró un efecto beneficioso significativo de la inoculación con Azofert®-F en los indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos evaluados en las plantas de frijol, especialmente en condiciones de estrés hídrico. El género *Rhizobium* posee atributos que lo caracterizan como promotor del crecimiento, entre ellos la capacidad de producir hormonas como AIA, las cuales incrementan el sistema radical (Luo *et al.*, 2019), también ABA, hormona que regula la abertura estomática y reduce la pérdida de agua por transpiración, además reduce los niveles de etileno (Sharifi y Ryu, 2017), e incrementa la superficie foliar (Mondani *et al.*, 2019). La activa fijación del dinitrógeno que realizan (Tairo, 2013) incrementa su contenido como elemento esencial en las clorofilas y la fotosíntesis. No



menos importante resulta el papel de los factores Nod producidos por estas bacterias y de los que se ha demostrado un activo papel en el efecto antiestrés (Nápoles *et al.*, 2016).

4.2. Experimento 2. Efecto de la inoculación con Azofert®-F en la nodulación de plantas de frijol en condiciones de déficit hídrico.

El análisis estadístico de este experimento mostró que hubo interacción solo para los factores humedad-inoculación (Anexo V).

Al analizar el número de nódulos totales y efectivos formados sobre las plantas de frijol ante las dos condiciones de humedad (Figura 15 A, B, C y D), se pudo observar que ambos cultivares mostraron un comportamiento similar.

La presencia de condiciones de humedad adecuadas, favoreció la formación y funcionamiento de estas estructuras y la inoculación de la bacteria permitió obtener los mejores resultados. Los menores valores alcanzados para estos indicadores correspondieron al tratamiento no inoculado y con menor abastecimiento hídrico.

La presencia de nódulos en las plantas no inoculadas, indica que en el suelo utilizado residían poblaciones de rizobios afines con el frijol, los que lograron infectar sus raíces, aunque en menor cuantía que cuando se inoculó con Azofert®-F (Figura 15 A y B) y con menor efectividad (Figura 15 C y D).

Un análisis de los porcentajes de reducción del número de nódulos totales entre los tratamientos inoculados y no inoculados en ambas condiciones de humedad, permitió comprobar en el cultivar tolerante que hubo una reducción de 20,00 y de 27,94 %, para 100 y 50 % de humedad, respectivamente; mientras que en el cultivar susceptible los porcentajes de reducción fueron de 30,30 y 38,33 %, respectivamente.

En cuanto a la disminución en la efectividad nodular se encontró un comportamiento similar al número de nódulos totales, el cultivar tolerante presentó valores de reducción cuando no se inoculó



de 23,29 % para el 100 % de humedad y de 33,85 % para el 50 %, mientras que en el cultivar susceptible fue de 35,00 % y 46,15 %, respectivamente.

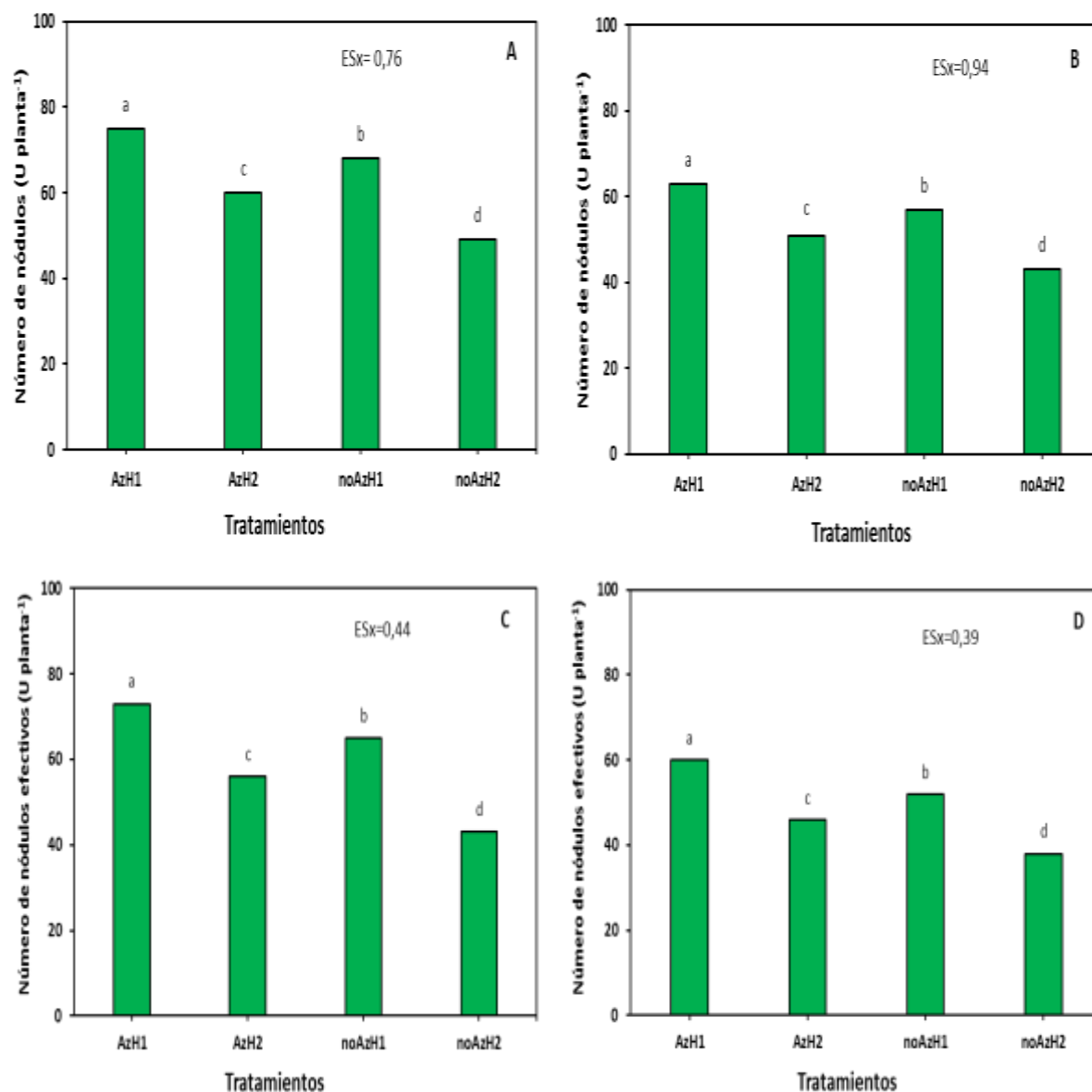


Figura 15. Efecto de la inoculación con Azofert®-F (Az) en el número de nódulos y nódulos efectivos en plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % de humedad (H1) y 50 % de humedad (H2), evaluadas a los 35 DDS. Cultivares CC-25-9R (A, C) y Tomeguín-93 (B, D). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.

Aunque la condición de estrés afectó negativamente la formación y la actividad de los nódulos, la presencia del inoculante disminuyó este efecto adverso y permitió obtener resultados de nodulación superiores a cuando no se inoculó, lo que evidenció el efecto favorable del producto



utilizado en esta investigación, válido no sólo para condiciones favorables de humedad y un cultivar tolerante, sino, y especialmente, cuando hubo una reducción importante del régimen hídrico y se utilizó un cultivar sensible.

Varios trabajos demuestran un efecto similar al encontrado en esta investigación, donde la inoculación con rizobacterias incrementa significativamente la nodulación en condiciones de estrés hídrico: Tilak *et al.* (2006), al inocular *Rhizobium*, *Pseudomonas putida*, *P. fluorescens* y *Bacillus cereus*, en plantas de frijol faba, Figueiredo *et al.* (2008) con *Rhizobium tropici* en plantas de frijol común, Kibido *et al.* (2019) con *Bradyrhizobium japonicum* en plantas de soya, así mismo Youssef *et al.* (2016), quienes informaron que la disminución de la nodulación en plantas de frijol, inducida por la sequía, se contrarrestó con la inoculación de bacterias fijadoras de nitrógeno simbióticas.

Según Delfini *et al.* (2010), la inoculación con rizobios ayuda a aliviar las condiciones de estrés hídrico, dado que estas bacterias contribuyen a un mejor desarrollo del sistema radical e inciden en una mejor eficiencia del mismo, a la vez que pueden facilitar una mayor absorción de nitrógeno. En tal sentido, Nápoles *et al.* (2009), encontraron que la inoculación con *Bradyrhizobium* incrementó la formación de nódulos en plantas de soya sometidas a condiciones de déficit hídrico, lo cual se relacionó con la presencia de la genisteína como inductor de los genes de nodulación en el medio de cultivo.

Por otro lado, varias cepas de rizobios han mostrado un alto nivel de tolerancia a la sequía, lo que ha sido demostrado en los informes de Mouradi *et al.* (2016) en simbiosis con genotipos de alfalfa; Atieno y Lesueur (2019), en especies de rizobios de los géneros *Ensifer*, *Bradyrhizobium* y *Rhizobium*, asociados a leguminosas pertenecientes a los grupos *Papilionoideae* y *Mimosoideae* adaptadas a las condiciones de estrés hídrico.



Los resultados de la **masa fresca y seca de los nódulos** formados se presentan en la Figura 16 (A, B, C y D).

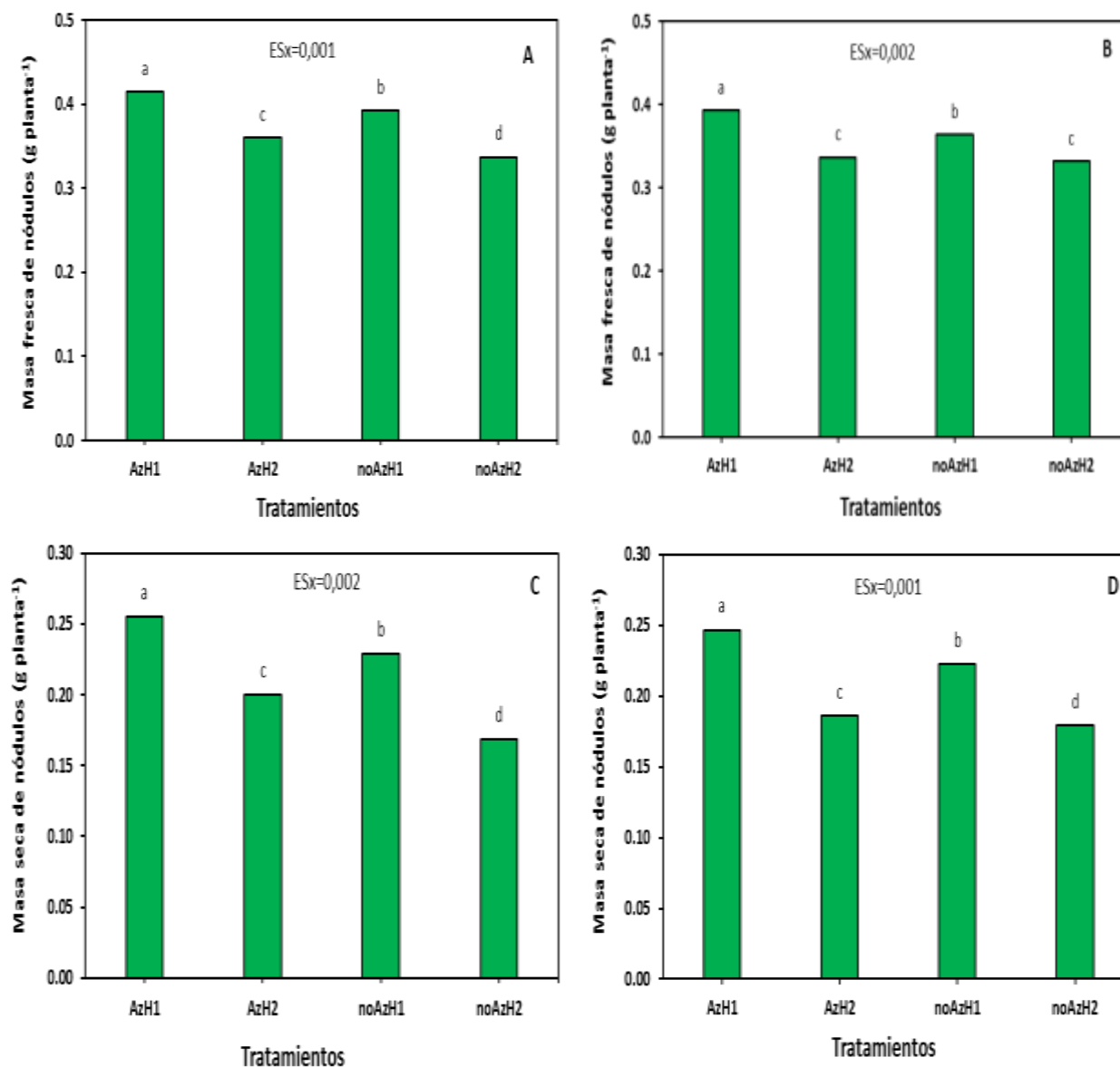


Figura 16. Efecto de la inoculación con Azofert®-F (Az) en la masa fresca y seca de nódulos en plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % de humedad (H1) y 50 % de humedad (H2), evaluadas a los 35 DDS. Cultivares CC-25-9R (A, C) y Tomeguín-93 (B, D). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.

Los mayores valores se localizaron en aquellas plantas que se inocularon y recibieron un mayor aporte de humedad en el suelo, seguido por las plantas no inoculadas en igual condición de humedad, mientras que los resultados inferiores se presentaron en las plantas no inoculadas que



solo recibieron el 50 % de agua, aunque en el cultivar Tomeguín-93 no hubo diferencias en la masa fresca de los nódulos entre los tratamientos bajo la condición de estrés (figura 16 B).

En resumen, en todos los casos la masa nodular se vio favorecida en los tratamientos donde el agua no fue una limitante, aunque los mayores valores se obtuvieron cuando las semillas se inocularon con *Rhizobium radiobacter*.

Trabajos realizados por Aamir *et al.* (2013), informan que la inoculación con rizobios en el cultivo de frijol mungo, provocó un aumento en el número y la masa fresca y seca de los nódulos, en condiciones de estrés salino. De igual forma, aunque en condiciones de estrés hídrico, el efecto de la co-inoculación de bacterias con actividad ACC desaminasa, logró incrementar la nodulación temprana en plantas de alfalfa (Cedeño *et al.*, 2018).

Según Martínez (2016), en cuyo trabajo se demostró también el efecto de Azofert®-F en incrementar la masa seca de los nódulos de frijol, más tejido nodular supone la presencia de más bacteroides en el nódulo y una mayor fijación del nitrógeno. En este sentido, algunos estudios señalan que la masa seca de los nódulos puede ser más relevante para la FBN que el número de esas estructuras (Miller *et al.*, 1982 y 1986).

La figura 17 muestra los niveles de **ureidos foliar y nodular** en los dos cultivares de frijol, inoculados o no con *Rhizobium radiobacter* ante diferentes condiciones de humedad, a los 35 DDS. Se pudo apreciar que en todos los casos los mayores contenidos de ureidos se encontraron cuando hubo un menor aporte de agua a las plantas.

Otra característica relevante es que en casi todos los casos el resultado superior estuvo asociado a la aplicación conjunta del estrés y la inoculación con Azofert®-F, excepto en el contenido de ureidos foliar para el cultivar Tomeguín-93 (figura 17 B), que no se diferenció del tratamiento bajo estrés sin inocular.

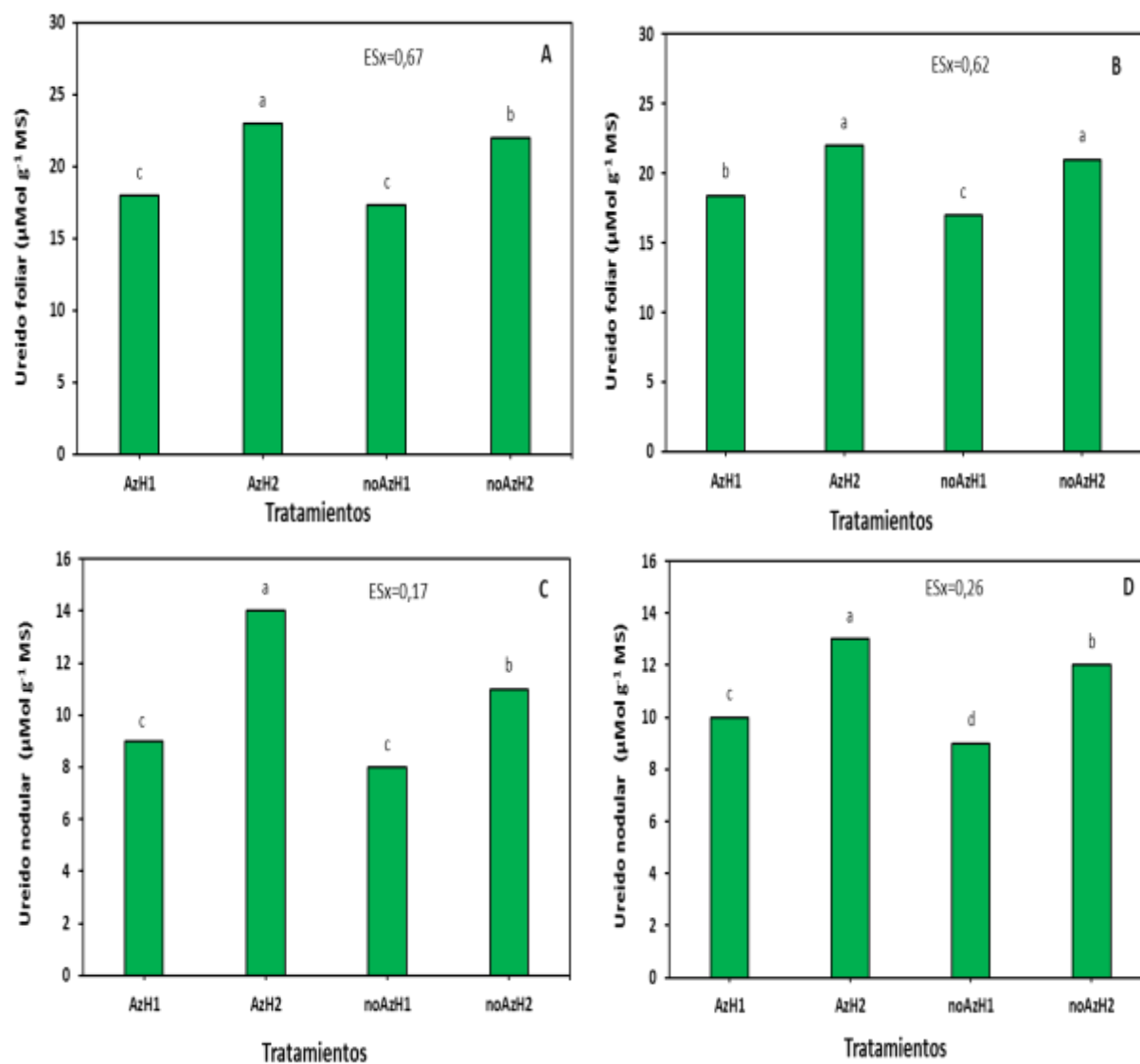


Figura 17. Efecto de la inoculación con Azofert[®]-F (Az) en el contenido de ureidos foliar (A, B) y nodular (C, D) en plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % de humedad (H1) y 50 % de humedad (H2), evaluadas a los 35 DDS. Cultivares CC-25-9R (A, C) y Tomeguín-93 (B, D). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.

Los resultados inferiores correspondieron al mayor contenido de humedad, especialmente sin aplicación del inóculo para Tomeguín-93, aunque sin diferencias con la inoculación para el cultivar CC-25-9R.

Los valores de ureidos obtenidos fueron mayores en hojas que en nódulos, lo que sugiere que el catabolismo del nitrógeno en estas plantas fue eficiente, proceso que favorece la actividad de



fijación. Cuando sucede lo contrario: mayor contenido en nódulos que en hojas, se inhibe la fijación por retroalimentación negativa (Freixas, 2011; Dutta *et al.*, 2018).

Los resultados aquí presentados se asemejan a los informados por King y Purcell (2005), quienes observaron una acumulación de ureidos foliar en las plantas de soya sometidas a un déficit hídrico. Contrario a ello, Ladrera *et al.* (2007) y Freixas (2011), demostraron que, bajo condiciones de déficit hídrico, existió una acumulación de ureidos en nódulos de las plantas de soya sensibles a la sequía. En este sentido, Da-Silva *et al.* (2017), informaron que la tolerancia a la sequía es la respuesta de retroalimentación negativa de los ureidos sobre la actividad de los nódulos, caracterizada por una mayor concentración de estos compuestos en los nódulos durante el estrés. El frijol común produce y trasloca nitrógeno en forma de ureidos, alantoína y alantoato (Alamillo *et al.*, 2011; Díaz *et al.*, 2012). Los ureidos son considerados más favorables energéticamente para transportar el nitrógeno desde los nódulos hasta las hojas (Todd *et al.*, 2006), pues se ha demostrado que sólo requieren la mitad de ATP necesario para producir amidas y menos carbono, lo que le confiere ventajas a estas leguminosas ureídicas sobre las amídicas (Kabahuma, 2013). Sin embargo, se ha demostrado que la fijación biológica en las especies de leguminosas que producen ureidos es más sensible a la sequía que en las especies productoras de amidas, aunque excepcionalmente, entre los productores de ureidos, se encontró que el frijol común tiene niveles relativamente más bajos de ureidos junto a un mayor grado de tolerancia a la sequía y una menor fijación biológica de nitrógeno, en comparación con la soya o el caupí (Sinclair y Serraj, 1995). Otros resultados muestran que el empleo de inoculantes inducidos en la producción de factores de nodulación (similar a Azofert[®]-F), actúa indirectamente sobre el catabolismo de los ureidos en plantas de soya (Freixas, 2011; Duzzan *et al.* 2004).



La respuesta de la fijación biológica del nitrógeno a la sequía se ha estudiado en diferentes leguminosas de granos y se encontró que está asociada con el metabolismo y transporte de ureidos (Sinclair y Serraj, 1995).

La Figura 18 muestra el **contenido de nitrógeno foliar** en los cultivares CC-25-9R (A) y Tomeguín-93 (B), a los 35 DDS, en las plantas de frijol ante dos condiciones de humedad y la inoculación o no con *Rhizobium radiobacter*.

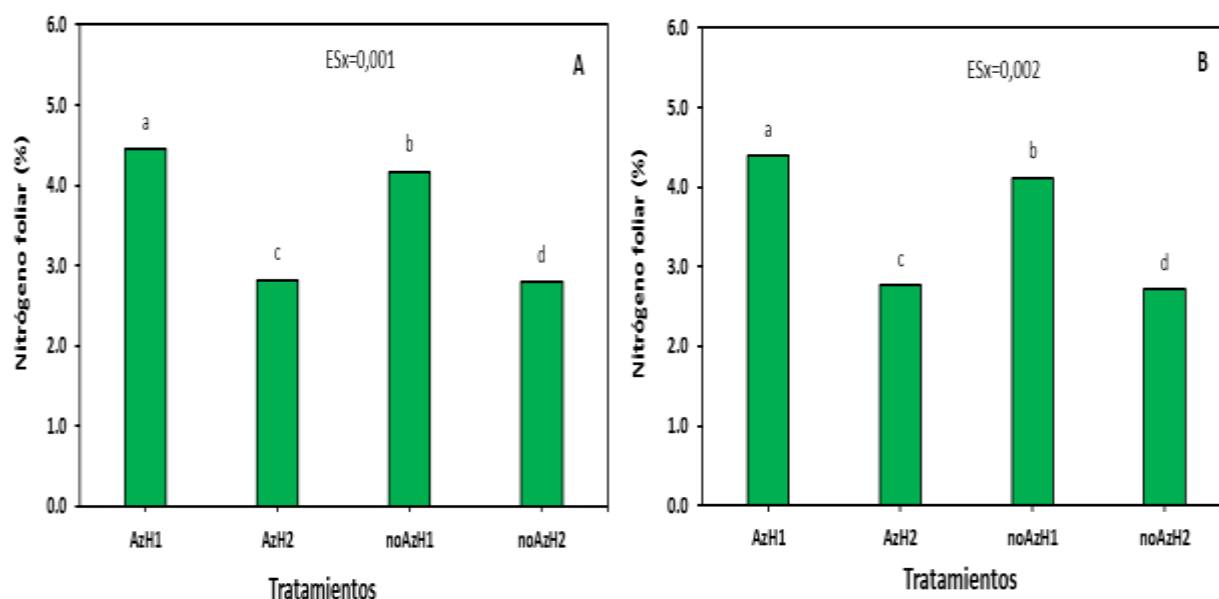


Figura 18. Efecto de la inoculación con Azofert[®]-F (Az) en el contenido de nitrógeno foliar en plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el sustrato: 100 % de humedad (H1) y 50 % de humedad (H2), evaluadas a los 35 DDS. Cultivares CC-25-9R (A) y Tomeguín-93 (B). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.

Se apreció que en ambos cultivares los mayores contenidos de este elemento estuvieron asociados a las plantas sin estrés hídrico, sobre todo cuando se inocularon con Azofert[®]-F, y los menores valores los alcanzaron los tratamientos que no se inocularon con la bacteria y recibieron menor aporte de agua. González *et al.* (2010), informaron que, bajo estrés por sequía, la absorción de nitrógeno en la mayoría de las plantas disminuye, incluso si se proporciona nitrógeno mineral. Evidentemente el efecto negativo ejercido por el estrés hídrico en el número de nódulos y su



efectividad (Figura 15) provocó una menor fijación de este elemento, que luego se tradujo en menor contenido de nitrógeno foliar.

La inoculación propició una mejor respuesta en este indicador, relacionado con el mayor número de nódulos, masa nodular y efectividad (Figuras 15 y 16). Similares resultados obtuvieron Yadegari y Rahmani (2010) con un aumento del nitrógeno fijado por la inoculación de *Rhizobium* en frijol. Martínez (2016), también encontró que la inoculación con Azofert®-F en dos cultivares de frijol incrementó la concentración de nitrógeno en las hojas.

El nitrógeno es uno de los nutrientes primarios y más importantes en el crecimiento, desarrollo y rendimiento de las plantas, constituyente de los aminoácidos y de la clorofila, pigmento necesario para la fotosíntesis; es un macronutriente esencial en las leguminosas que muestran un alto contenido proteico (Delfini *et al.*, 2010; Tairo, 2013), de ahí la relevancia de estos resultados.

La asociación de frijol común con rizobios garantiza una fuente directa de este elemento a ser utilizada por la planta (Zaccardelli *et al.* 2013), lo cual le permite crecer en condiciones de bajo contenido de N y sustituir, en parte, el uso de fertilizante químico (Ribeiro *et al.* 2013).

Al emplear inoculantes inducidos en la síntesis de factores Nod en soya (Abd-Alla, 2011; Nápoles *et al.*, 2009) y en frijol (Nápoles *et al.*, 2016), estos autores encontraron incrementos en el contenido de N foliar y de la masa seca aérea y clorofilas, como medidas indirectas de este elemento. La presencia de los lipoquitinolígosacáridos en el inoculante se relaciona directamente con la nodulación y la eficiencia en la fijación biológica del N en condiciones normales y de estrés abiótico (Nápoles *et al.*, 2016). La inoculación con Azofert®-F en esta investigación, no solo garantiza la presencia de *Rhizobium radiobacter* como microsimbionte, sino también de altas concentraciones de estos determinantes, con su efecto nodulante y antiestrés (Palacio *et al.*, 2016).



Comparado con otras leguminosas, el frijol común no es de las plantas que puede fijar con mayor eficiencia el nitrógeno (Martínez, 2003); sin embargo, existen algunas variedades de *P. vulgaris* y cepas de rizobios afines, que exhiben altos rangos de fijación (Hardarson, 2003). Durante varios años se ha trabajado en la mejorar de la FBN en plantas de frijol, desde el diseño de inoculantes (Nápoles, 2003), la búsqueda de variedades (Devi *et al.*, 2012), hasta el empleo de cepas más competitivas y eficientes (Nápoles *et al.*, 2016).

En sentido general se pudo comprobar que la inoculación con Azofert®-F mostró un efecto positivo en la nodulación del frijol, especialmente en condiciones de estrés hídrico, lo cual propició una mayor actividad en la fijación biológica del nitrógeno y el aporte de este elemento a las plantas.

4.3. Experimento 3. Efecto de la inoculación con Azofert®-F en el crecimiento y rendimiento de plantas de frijol en condiciones de déficit hídrico.

Las variaciones del **contenido de humedad** en el suelo se presentan en los anexos II y III, donde se pudo apreciar que tanto antes como después del riego, en los tratamientos donde se aplicó el agua al 100 % de la norma de riego, la humedad del suelo siempre fue superior.

En el experimento realizado en el período 2015-2016, se representan las variaciones del contenido de humedad en el suelo, donde se pudo apreciar que en todos los tratamientos antes del riego los valores oscilaron entre 20,00 y 30,80 %, lo que representa entre un 40,00 y 61,60 % de la norma de riego, mientras que, después del riego en los tratamientos que recibieron el 100 % de la norma se encontraron valores de 39,10 y 50,00 %, lo que representa entre 78,20 y 100 % de la norma de riego establecida, pero además, la humedad siempre se mantuvo por encima del 38 % y a los 21 y 49 DDS alcanzó valores máximos entre 49,50 y 50,00 % de la norma de riego con escasas diferencias entre tratamientos. Sin embargo, en los tratamientos que se redujo la norma de riego al 50 % los valores de esta variable estuvieron entre 23,50 y 33,30 % lo que representa el 47,00 y



66,60 % de la norma establecida, aunque se presentaron escasas diferencias entre los tratamientos (Anexo II).

En el experimento realizado en el período 2016-2017, se pudo apreciar que en todos los tratamientos antes del riego los valores de humedad oscilaron entre 25,00 y 35,80 %, lo que representa entre un 50,00 y 71,60 % de la norma de riego, mientras que, después del riego aquellos tratamientos que recibieron el 100 % de la norma de riego mostraron valores de 41,00 a 50,00 % lo que representa entre 82,00 y 100 % de la norma, pero además, la humedad siempre se mantuvo por encima del 40 % y a los 35 y 63 DDS alcanzó valores máximos entre 50,00 y 47,90 % con muy pocas diferencias entre tratamientos. Sin embargo, en los tratamientos que se redujo la humedad al 50 % de la norma de riego, los valores de esta variable estuvieron entre 27,20 y 37,80 % lo que representa 54,40 y 75,60 % de la norma establecida con escasas diferencias entre tratamientos. Estos resultados evidencian el efecto del riego en los diferentes tratamientos aplicados al cultivo, condición en la que también influyeron las escasas precipitaciones que tuvieron lugar en el período experimental (Anexo III).

Al analizar el comportamiento de la **superficie foliar** en el experimento en condiciones de campo (Figura 19 A, B, C y D), se comprobó que el patrón de crecimiento de las plantas de frijol no se vio afectado por el efecto de los tratamientos impuestos. En todos los tratamientos, en la superficie foliar se observó el mayor valor a los 70 DDS.

En ambos cultivares, a partir de los 21 DDS y hasta los 77 DDS los mayores valores de esta variable se observaron en los tratamientos que recibieron el 100 % de la norma de riego, lo que se corresponde con el período de reducción de la humedad. En general, no se observó una influencia significativa del Azofert®-F en la superficie foliar en ambos cultivares y períodos de estudio, sin



embargo, el inoculante permite emplear solo el 30 % de Urea sin afectar el crecimiento en el cultivo.

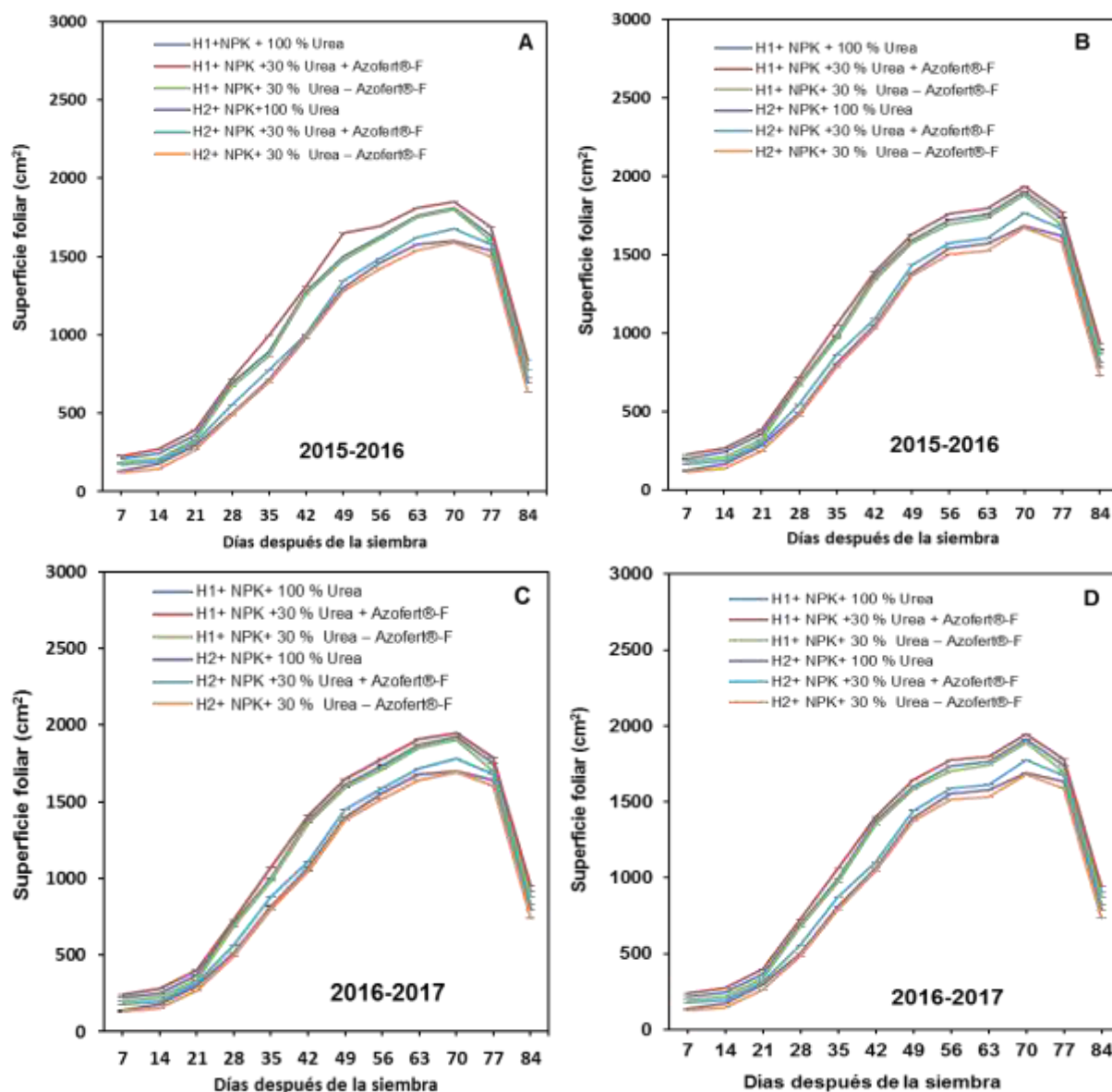


Figura 19. Dinámica de la superficie foliar de plantas de frijol inoculadas con Azofert®-F (Az) y expuestas a dos niveles de humedad en el suelo: 100 % (H1) y 50 % (H2), hasta los 84 DDS. Cultivares CC-25-9R (A, C) y Tomeguín-93 (B, D). Las barras en cada punto significan el intervalo de confianza para las medias ($\alpha=0,05$).

El empleo de biofertilizantes a base de rizobacterias que estimulan el crecimiento de las plantas ha sido de ayuda para combatir el estrés abiótico (Alori *et al.*, 2017a; Staudinger *et al.*, 2016; Azab, 2016). Así la inoculación con rizobacterias de los géneros *Agrobacterium* y *Bacillus* en plantas de



fresa (*Fragaria vesca*) propició incrementos en el área foliar debido a que estas bacterias producen hormonas que incrementan el crecimiento y permiten una mayor absorción de nutrientes por las plantas (Ipek *et al.*, 2014). Estos mismos autores plantean que la inoculación puede sustituir la fertilización con nitrógeno y fósforo y lograr así una producción agrícola sostenible. Según Suhag (2016), una mejor absorción de nutrientes mejora la tolerancia a la sequía.

La superficie foliar tiene una relación directa con la capacidad fotosintética (Calderón *et al.*, 2009; Toebe *et al.*, 2010), al contribuir al aporte de fotoasimilados que son empleados en los distintos procesos fisiológicos que tienen lugar en las plantas (Iglesias y Talón, 2008; Mahouachi, 2009; Jerez y Martin, 2012).

No obstante, se han encontrado resultados contradictorios en este sentido, como es el caso de lo informado por Elijanara *et al.* (2019), quienes encontraron una disminución drástica en la superficie foliar y la producción de masa seca en plantas de soya inoculadas con *Bradyrhizobium* y *Azospirillum* y sometidas a condiciones de estrés hídrico.

Al analizar el efecto de la inoculación en la dinámica de la **masa seca total** de las plantas de frijol expuestas a dos condiciones de humedad en el suelo, durante los experimentos realizados (Figura 20 A, B, C y D), se observó que no se modificó el patrón de crecimiento por efecto de los tratamientos impuestos y el mayor valor de acumulación en todos los tratamientos se alcanzó a los 70 DDS, lo cual coincide con el momento en que se alcanza la mayor superficie foliar.

Las principales diferencias entre los tratamientos estuvieron dadas por las dos condiciones de humedad. La inoculación con Azofert®-F no modificó los valores de masa seca obtenida, por lo que se puede inferir que el producto es capaz de sustituir el 70 % de la Urea sin afectar el patrón de crecimiento del cultivo. Durante ambos períodos se observó una respuesta variable de las



temperaturas medias en rangos de 23 a 27,3 °C, y valores de humedad relativa entre 71 y 82 %, los que propiciaron un normal desarrollo al cultivo (Anexo III).

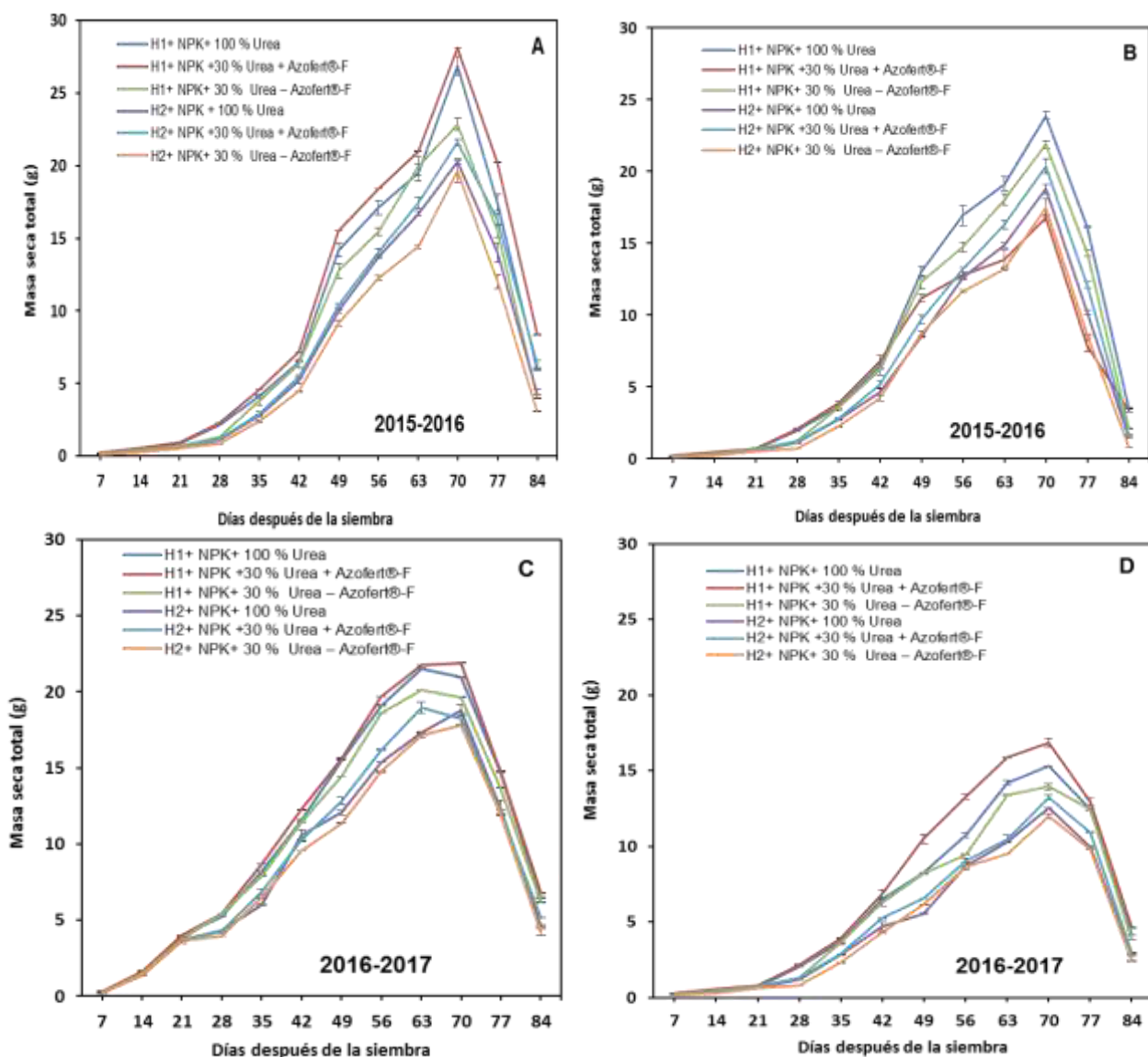


Figura 20. Dinámica de la masa seca total de plantas de frijol inoculadas con Azofert®-F (Az) y expuestas a dos niveles de humedad en el suelo: 100 % (H1) y 50 % (H2), hasta los 84 DDS. Cultivares CC-25-9R (A, C) y Tomeguín-93 (B, D). Las barras en cada punto significan el intervalo de confianza para las medias ($\alpha=0,05$).

En el período 2015-2016, en los dos cultivares, el mayor acumulado de masa seca total fue superior al registrado en el período 2016-2017, donde se destaca el cultivar Tomeguín-93, que no alcanzó en este período los 20 g de masa seca total en ninguno de los tratamientos (Figura 20 D). No obstante, en el cultivar tolerante se encontró un crecimiento acelerado entre los 7 y 21 DDS, lo que



pudiera deberse a que en la primera y segunda decena del mes de octubre del 2016 ocurrieron precipitaciones con valores de 52,7 y 136,3 mm, mientras que en el período anterior solo se alcanzaron valores de 0 hasta 6,3 mm (Anexo IV).

Se reconoce a la biomasa total de la planta, como una medida del balance que se establece entre los procesos de fotosíntesis y respiración, como la capacidad que tienen de sintetizar esa biomasa, lo que da lugar al crecimiento de otros órganos como las vainas y los granos, de ahí el rendimiento. La masa seca resulta el criterio más apropiado para medir el crecimiento y la magnitud de la capacidad del sistema de asimilación de la planta (Ñústez *et al.*, 2009). Por su parte, Santos *et al.* (2010) indicaron que la producción de masa seca total es el resultado de la eficiencia del follaje del cultivo en la captación y utilización de la radiación solar disponible durante el ciclo de crecimiento.

Kasim *et al.* (2013), encontraron que la inoculación con *Bacillus sp.* y *Azospirillum*, incrementó la biomasa seca total de plantas de trigo en condiciones de estrés hídrico. Otros autores como Cohen *et al.* (2015) y Khan *et al.* (2018), demostraron el efecto positivo de la inoculación con PGPR en la producción de biomasa seca de diversos cultivos en condiciones de estrés por sequía.

Ngumbi (2016) resaltó que, tratar las plantas con cepas seleccionadas de PGPR estimula el crecimiento, porque las ayuda a tolerar el estrés por sequía. En consecuencia, la estimulación del crecimiento puede traducirse en un mayor rendimiento y una mayor productividad de las plantas. Chavoshi *et al.* (2018) encontraron que, una mezcla de bacterias solubilizadoras de fósforo y potasio mejoraron significativamente la biomasa del frijol rojo y otros aspectos fisiológicos, en condiciones de riego limitado.

Las PGPR poseen atributos que les permiten promover el crecimiento, entre ellos la capacidad de producir hormonas (Luo *et al.*, 2019), las que estimulan el desarrollo del sistema radical y de esta



forma mejoran la absorción de nutrientes y agua, especialmente en condiciones de estrés por sequía (Ansari y Ahmad, 2019). Además, algunas de estas bacterias poseen la capacidad de fijar nitrógeno (Waqas *et al.*, 2017) y solubilizar fosfatos (Olanrewaju *et al.*, 2017), lo que permite el suministro y una mayor traslocación de estos nutrientes hacia las hojas y por tanto una mayor acumulación de masa seca total. Las bacterias solubilizadoras de fósforo también ayudan a mejorar la eficiencia de la fijación de nitrógeno y la disponibilidad de otros oligoelementos, como los compuestos quelantes de hierro que pueden contribuir al crecimiento de las plantas (Kour *et al.*, 2019). En este último aspecto participan también algunas rizobacterias con capacidad para producir sideróforos y liberar hierro (Ahmed y Holmström; 2014).

La **Tasa Relativa de Crecimiento** es un índice que se utiliza para evaluar la eficiencia de la planta, y se denomina índice de eficiencia de producción de masa seca (Álvarez, 2018). La dinámica de la TRC de las plantas en los dos períodos de estudio se observa en la figura 21 A, B, C y D.

En todas las determinaciones este índice aumentó hasta alcanzar un valor máximo aproximadamente a los 63 DDS, para posteriormente disminuir. La disminución en TRC puede atribuirse a cambios en la respuesta de la asimilación de CO₂ o en la razón del área foliar (Bayuelo *et al.*, 2003). Además, hasta alrededor de los 14 DDS se observaron valores negativos de la TRC, excepto en el período 2016-2017 en el cultivar CC-25-9R. Estos valores negativos pueden deberse a un incremento lento en la masa seca total en los primeros estadios del crecimiento.

De forma general la TRC mostró un comportamiento similar entre los tratamientos, aunque en todos los casos se observaron diferencias significativas entre los tratamientos que recibieron el 100 % de humedad e inoculados con Azofert®-F y los que recibieron el 50 % de humedad y no fueron inoculados con el Azofert®-F. Esto puede deberse a que la limitación de la humedad del



suelo influye en el cultivo de frijol al reducir el tamaño de la planta entre 0,18 y 20,26 g de masa seca, entre otros índices de crecimiento, mejorado con el inoculante.

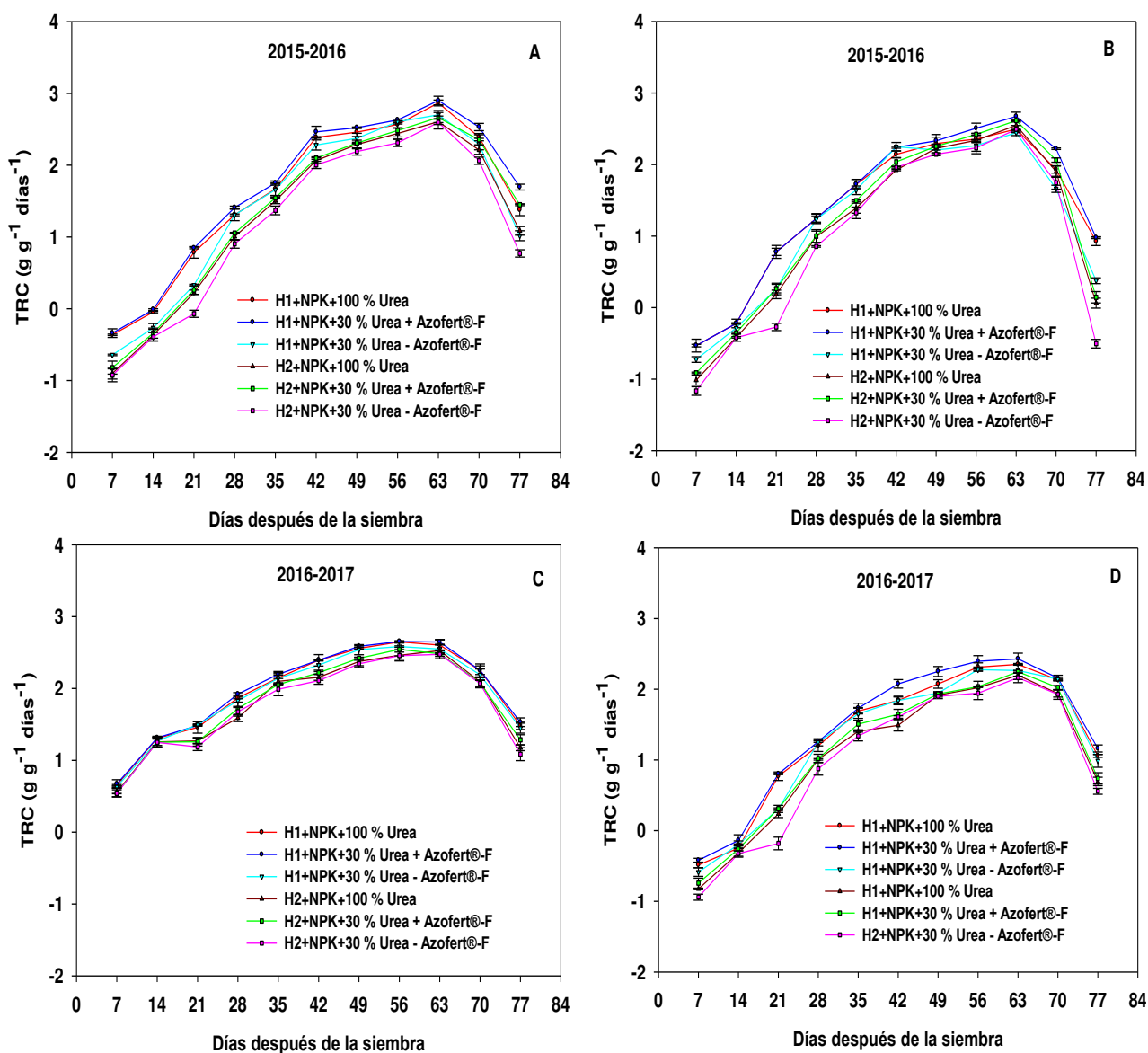


Figura 21. Dinámica de la Tasa Relativa de Crecimiento (TRC) de plantas de frijol inoculadas con Azofert®-F (Az) y expuestas a dos niveles de humedad en el suelo: 100 % (H1) y 50 % (H2), hasta los 84 DDS. Cultivares CC-25-9R (A, C) y Tomeguín-93 (B, D). Las barras en cada punto significan el intervalo de confianza para las medias ($\alpha=0,05$).

Un estrés severo por sequía induce a numerosas irregularidades metabólicas en las plantas, tales como, disminución de la tasa de crecimiento, reducción en la capacidad de intercambio gaseoso, pérdida de turgencia y síntesis de algunos metabolitos secundarios (Dominguez *et al.*, 2016).



Paradiso *et al.* (2017) informaron incrementos en la TRC al inocular plantas de soya con microorganismos promotores del crecimiento y lo relacionaron con una mayor densidad estomática, por lo que evitan la pérdida de agua y el cierre de los estomas para la asimilación de CO₂, lo que va acompañado de incrementos en la producción de masa seca y por tanto un aumento de este índice.

Según Chavoshi *et al.* (2018), bacterias solubilizadoras de fósforo y potasio mejoraron significativamente la biomasa de plantas de frijol y otros aspectos fisiológicos, en condiciones de estrés hídrico, lo que pudiera estar relacionado con una mayor absorción de nutrientes y agua que permiten incrementos de masa seca total y por ende un aumento de la TRC.

La Tasa Relativa de Crecimiento (TRC), representa la capacidad de la planta para producir material nuevo por unidad de tiempo; la misma se ve afectada por diferencias en la tasa de asimilación neta, en la tasa respiratoria, en el grosor de la lámina foliar y en la distribución de los productos elaborados (Jérez *et al.*, 2016).

La dinámica de la **Tasa de Asimilación Neta** (TAN), para los dos cultivares, en ambas condiciones de humedad y en los dos períodos evaluados, se presenta en la figura 22 (A, B, C y D).

De forma general los valores de la TAN resultaron positivos hasta los 63 DDS, lo cual es consecuencia de los incrementos en la superficie foliar y en la masa seca total (Figura 19 y 20). A partir de los 70 DDS estos valores comenzaron a disminuir, por tanto, los valores de la TAN fueron negativos, en este momento del ciclo biológico, las hojas se encuentran en estado de senectud y comienzan a caerse, lo que implica una menor superficie foliar en las plantas, con una disminución en los valores de masa seca total (Figura 20). Sin embargo, Torres *et al.* (2017), al evaluar el efecto del producto Biostan® en el crecimiento del frijol, encontraron que la tasa de asimilación neta expresó valores decrecientes desde los 7 hasta los 21 DDS.

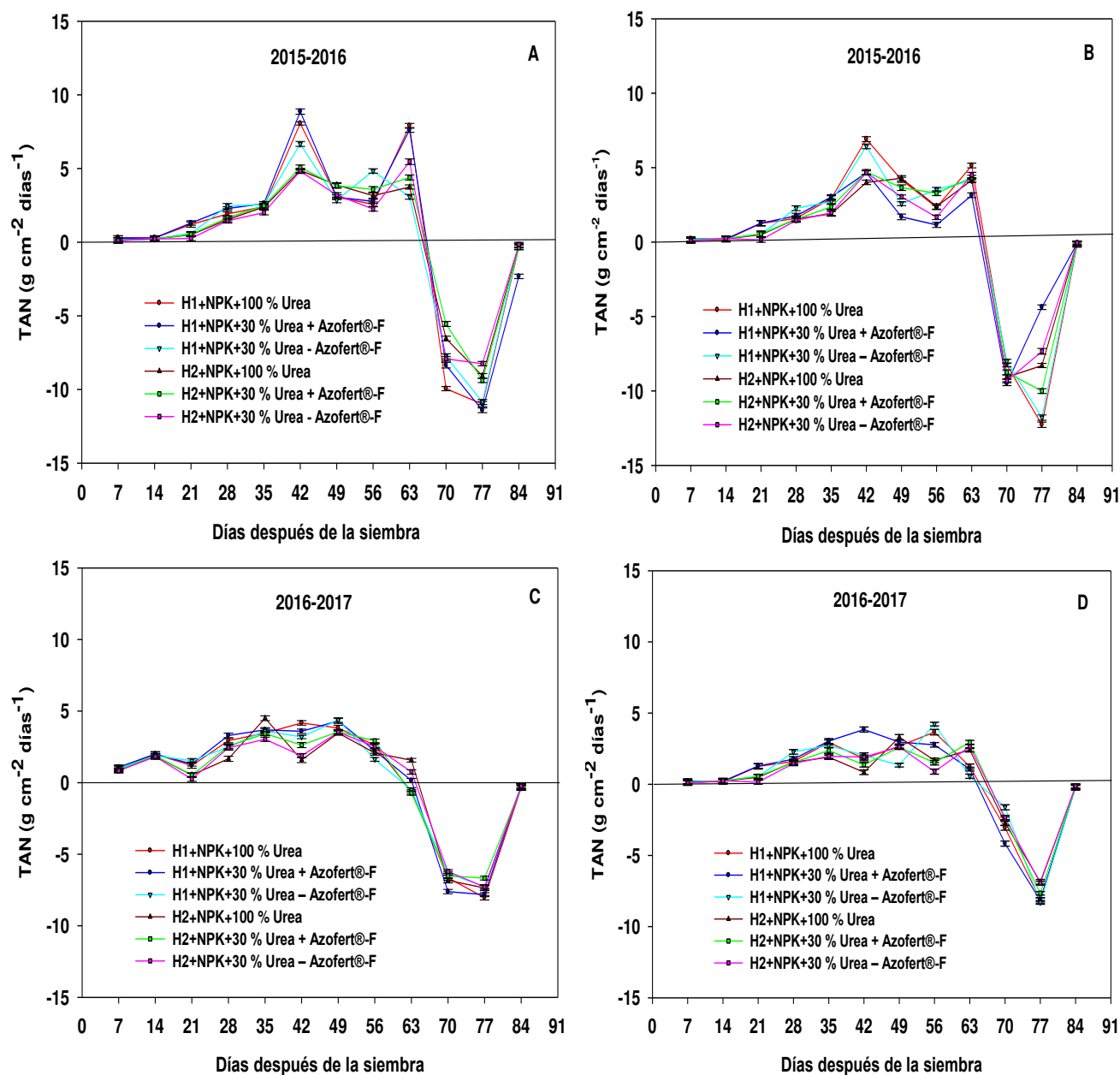


Figura 22. Efecto de la inoculación con Azofert®-F (Az) en la Tasa de Asimilación Neta (TAN) de plantas de frijol expuestas a dos niveles de humedad en el suelo: 100 % (H1) y 50 % (H2), hasta los 84 DDS. Cultivares CC-25-9R (A, C) y Tomeguín-93 (B, D). Las barras en cada punto significan el intervalo de confianza para las medias ($\alpha=0.05$).

En el comportamiento de este índice del crecimiento se observaron diferencias en ambos períodos, con valores inferiores entre la floración (35 DDS) y el llenado de las vainas (63 DDS) para el experimento del 2016-2017. En el comportamiento de este índice las diferencias entre tratamientos se evidenciaron en escasos momentos; en estos los valores de la TAN fueron superiores cuando las



semillas fueron inoculadas con Azofert®-F. Resultados similares informaron Salgado *et al.* (2019), al encontrar que la inoculación con rizobacterias promotoras del crecimiento BRM-32111 y BRM-32113 incrementó la TAN en plantas de palma de acaí (*Euterpe oleracea* Mart) en condiciones de estrés hídrico.

Estos autores plantean que este incremento en la eficiencia de la tasa de asimilación neta se debe a los altos valores de conductancia estomática, que contribuye a aumentar la asimilación de CO₂ por el mesófilo. La TAN resultó significativamente superior en plantas de frijol tratadas con el bioestimulante Biostan® (Torres *et al.*, 2017). Para Rolli *et al.* (2015), el uso eficiente del agua influye en los incrementos de la TAN regulados por las PGPR, por lo que contribuyen a mejorar la tolerancia de las plantas al déficit hídrico. Según Hernández y Soto (2012a), los incrementos iniciales de la TAN están relacionados con los incrementos observados en la superficie foliar, lo que provoca una mayor eficiencia de la captación de la radiación solar.

De acuerdo con Maqueira (2014), las variaciones de la TAN están dadas por una disminución en el proceso de traslocación, un aumento de la edad media de las hojas y una mayor carga respiratoria por el aumento de tejido no fotosintético.

La TAN representa el incremento del material vegetal por unidad del sistema asimilativo, por unidad de tiempo, por tanto, es una medida del balance que existe entre la actividad fotosintética y la respiratoria de la planta (Jarma *et al.*, 2006; Maqueira, 2014), los decrementos o incrementos, tanto en la masa seca, como en la superficie foliar, se ven reflejados en variaciones de este indicador y pueden ser modificados por la inoculación con bacterias promotoras del crecimiento.

Los resultados aquí obtenidos demuestran que la disminución de la TRC se relacionó con la TAN, lo que indica que la reducción del crecimiento en ambos cultivares se debió a una reducción en la tasa fotosintética lo que repercutió en una baja producción de masa seca.



En la tabla VI se muestran los resultados de las diferentes variables de los **componentes del rendimiento** obtenidas para los cultivares CC-25-9R y Tomeguín-93, en dos condiciones de humedad, para ambos períodos. El análisis estadístico realizado mostró una triple interacción entre los factores estudiados: humedad, cultivar y fertilización (Anexo V). De manera general y en todas las variables se obtuvieron los mayores valores en las condiciones de mayor abastecimiento hídrico (T1-T6).

Tabla VI. Efecto de la inoculación con Azofert®-F (Az) en los componentes del rendimiento de dos cultivares de frijol expuestas a dos niveles de aporte de agua al suelo, en experimentos realizados durante los períodos 2015-2016 y 2016-2017.

Ttos	NVP		NGV		NGP		MGP(g)		MF100G(g)	
	15-16	16-17	15-16	16-17	15-16	16-17	15-16	16-17	15-16	16-17
T₁	16,70 ^{ab}	19,55 ^{ab}	4,40 ^{ab}	4,93 ^{ab}	87,03 ^b	92,00 ^b	16,57 ^b	19,50 ^b	19,04 ^b	21,20 ^b
T₂	18,35 ^a	21,40 ^a	5,10 ^a	5,50 ^a	93,73 ^a	99,50 ^a	20,62 ^a	27,46 ^a	22,00 ^a	27,60 ^a
T₃	15,55 ^b	18,33 ^b	3,75 ^b	4,55 ^{ab}	73,58 ^c	84,50 ^c	12,66 ^c	16,79 ^c	17,20 ^{cd}	19,87 ^{cd}
T₄	16,03 ^{ab}	18,40 ^b	4,10 ^b	4,28 ^{ab}	71,28 ^c	78,83 ^c	12,86 ^c	14,22 ^d	18,04 ^{bc}	19,71 ^{bc}
T₅	17,58 ^a	20,38 ^a	4,80 ^a	5,23 ^a	84,45 ^b	90,60 ^b	17,37 ^b	20,36 ^b	20,57 ^b	22,47 ^b
T₆	14,80 ^{bc}	16,50 ^{bc}	3,55 ^{bc}	3,95 ^{bc}	65,95 ^d	71,48 ^d	11,02 ^d	13,43 ^d	16,71 ^{de}	18,80 ^{de}
T₇	14,18 ^{bc}	17,33 ^{bc}	3,30 ^{bc}	3,35 ^{bc}	46,25 ^g	51,95 ^f	7,70 ^e	9,38 ^e	16,65 ^{de}	18,06 ^{de}
T₈	15,28 ^b	18,18 ^b	3,35 ^{bc}	3,73 ^{bc}	57,63 ^e	62,30 ^e	10,58 ^d	12,54 ^d	18,37 ^{bc}	20,13 ^{bc}
T₉	13,70 ^c	16,33 ^c	3,25 ^c	3,33 ^{bc}	46,28 ^g	50,38 ^f	7,18 ^{ef}	8,64 ^{ef}	15,52 ^{fg}	17,14 ^{fg}
T₁₀	10,78 ^d	13,38 ^d	3,00 ^{cd}	3,23 ^c	42,88 ^{gh}	49,20 ^f	6,74 ^{ef}	8,14 ^{ef}	15,72 ^{ef}	16,55 ^{ef}
T₁₁	14,70 ^{bc}	17,40 ^{bc}	3,23 ^c	3,30 ^{bc}	52,58 ^f	58,23 ^e	9,29 ^d	10,58 ^e	17,68 ^{cd}	18,17 ^{cd}
T₁₂	9,48 ^e	12,50 ^d	2,70 ^d	2,90 ^c	41,38 ^h	47,63 ^f	6,10 ^f	7,14 ^f	14,73 ^g	15,00 ^g
ESx	0,25 ^{**}	0,30 ^{**}	0,16 ^{**}	0,11 ^{**}	0,90 [*]	1,47 [*]	0,36 ^{**}	0,45 ^{**}	0,24 ^{**}	0,32 ^{**}

Leyenda: NVP: Número de vainas por planta, NGV: Número de granos por vaina, NGP: Número de granos por planta, MGP: Masa fresca de granos por planta, MF100G: Masa fresca de 100 granos. Los tratamientos T₁, T₂, T₃, T₇, T₈ y T₉ corresponden al cultivar (CC-25-9R), mientras que los tratamientos T₄, T₅, T₆, T₁₀, T₁₁ y T₁₂, al cultivar Tomeguín-93. A la humedad del suelo cuando se regó al 100 %, le corresponden los tratamientos T₁-T₆, el resto corresponde al 50 % de las normas de riego recomendadas para el cultivo. **Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para p<0,05.**

T₁, T₄, T₇ y T₁₀: NPK + 100 % Urea

T₂, T₅, T₈ y T₁₁: NPK + 30 % Urea + Azofert®-F

T₃, T₆, T₉ y T₁₂: NPK + 30 % Urea – Azofert®-F

En el **número de vainas por planta** los mayores valores de esta variable se encontraron en los tratamientos que recibieron mayor humedad en ambos cultivares, cuando se aplicó el 30 % de la urea y se inoculó con Azofert®-F (T₂ y T₅), aunque no se diferenciaron del tratamiento fertilizado con el 100 % de la urea (T₁ y T₄). Los valores inferiores correspondieron al cultivar susceptible, sin la presencia del inoculante en condiciones de déficit hídrico (T₁₀ y T₁₂).

Para el **número de granos por vaina** los resultados fueron similares, los mayores valores en ambos



períodos se encontraron en los dos cultivares cuando se aplicó solamente el 30 % de la urea y se inocularon las semillas, aunque no se diferenció del tratamiento fertilizado ni del no inoculado en el segundo ensayo.

En relación con el **número de granos por planta** y la **masa de granos por planta**, en ambos períodos se encontraron los mejores resultados en el tratamiento que se adicionó el 30 % de la urea más la inoculación con *Rhizobium radiobacter*, con diferencias significativas con el resto de los tratamientos.

En cuanto a la **masa fresca de 100 granos**, los mayores valores se encontraron igualmente en el tratamiento que se aplicó urea al 30 % y la inoculación con *Rhizobium radiobacter* (T2) para ambos períodos 2015-2016 y 2016-2017, con diferencias significativas del resto de los tratamientos.

Según Namugwanya (2018), al evaluar cinco cultivares de frijol común en dos condiciones de humedad, el número de vainas por planta se redujo entre un 24-53 % en todos los cultivares ante la condición de estrés. De igual forma disminuyó el número de granos por planta, así como la masa fresca de 100 granos.

Se ha planteado que el frijol es extremadamente sensible al estrés hídrico y al calor, con frecuencia presentes de forma simultánea en áreas de secano, en las etapas fenológicas más sensibles de la planta para la formación del rendimiento: inicio de la floración, inicio de crecimiento de las vainas y llenado de granos (Reyes *et al.*, 2014); lo cual corrobora los resultados aquí obtenidos en los tratamientos que estuvieron sometidos al 50 % de humedad durante todo el cultivo. El déficit hídrico disminuye, además, la calidad de la producción y afecta significativamente el rendimiento; dado por la disminución en la cantidad de granos y el número de vainas, cuando ocurre durante los estadios de crecimiento, floración y formación de granos (Polania *et al.*, 2016).



Los resultados positivos de la inoculación con Azofert®-F, coinciden con los obtenidos por Amsalu *et al.* (2019), quienes explicaron que la inoculación con *Rhizobium etli*, *Rhizobium phaseoli*, *Bradyrhizobium japonicum* y *Bradyrhizobium elkanii*, incrementaron el número de granos por vaina, número de vainas por planta, así como la masa de 100 granos de plantas de frijol y soya, en condiciones de estrés hídrico por sequía. De igual forma, Khaleghnezhad y Jabari (2015) encontraron un efecto beneficioso de la inoculación con rizobacterias en el cultivo del garbanzo, en condiciones de estrés hídrico, con incrementos significativos en el número de granos por planta, masa de los granos, masa de las vainas por planta, así como en el rendimiento.

En condiciones de estrés hídrico ocurre una severa afectación en la traslocación de asimilados producidos en las hojas hacia los órganos reproductivos como los granos y las vainas (Ruiz, 2015), sin embargo, la inoculación con estas bacterias permitió disminuir la afectación del estrés e incrementar los componentes del rendimiento.

En la figura 23 se muestra el **rendimiento estimado** obtenido para los cultivares CC-25-9R y Tomeguín-93, en las dos condiciones de humedad, para ambos períodos de estudio.

Se puede apreciar resultados similares en ambos períodos donde se encontraron los mayores rendimientos en el tratamiento que recibió el 100 % de la norma de riego y se inoculó con Azofert®-F más el 30 % de Urea, en el cultivar tolerante (T₂). Este resultado fue seguido por el mismo tratamiento, para el cultivar susceptible (T₅). Valores de rendimiento intermedios se obtuvieron en el control con el 100 de la urea (T₁ y T₄) y los valores inferiores correspondieron a la menor condición de humedad, especialmente cuando no se inocularon las semillas en el cultivar sensible (T₁₀ y T₁₂).

El empleo de productos bioestimulantes o biofertilizantes, constituye una alternativa para promover incrementos en el rendimiento de los granos (Quintero *et al.*, 2018), la coinoculación con rizobios y



otras bacterias promotoras del crecimiento vegetal incrementaron los rendimientos de diferentes leguminosas como el frijol común (Hungria *et al.*, 2013) y la soya (Puente *et al.*, 2017).

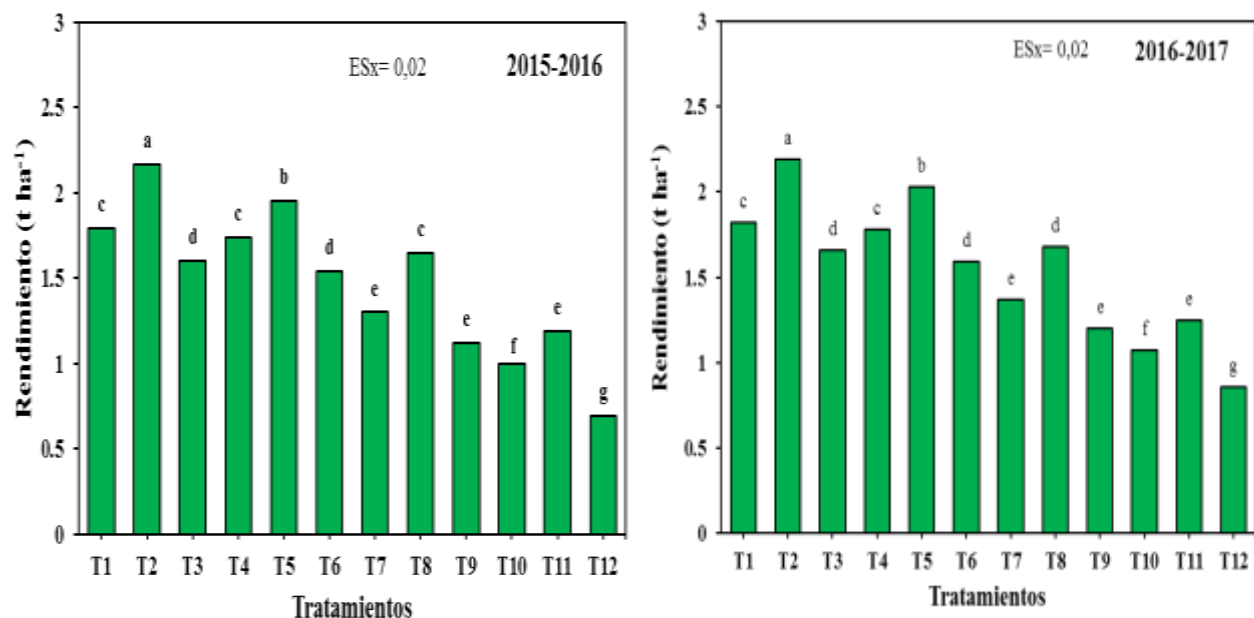


Figura 23. Efecto de la inoculación con Azofert®-F (Az) en el rendimiento de plantas de frijol expuestas a dos niveles de aportes de agua al suelo: 100 % y 50 % de las normas de riego recomendadas para el cultivo, durante los periodos 2015-2016 y 2016-2017.

Leyenda: los tratamientos T1, T2, T3, T7, T8 y T9, corresponden al cultivar (CC-25-9R), mientras que los tratamientos T4, T5, T6, T10, T11 y T12, al cultivar Tomeguín-93. A la humedad del suelo cuando se regó al 100 %, le corresponden los tratamientos T1-T6, el resto corresponde al 50 % de las normas de riego recomendadas para el cultivo. **Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según la Prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0,05$.**

T1, T4, T7 y T10: NPK + 100 % Urea

T2, T5, T8 y T11: NPK + 30 % Urea + Azofert®-F

T3, T6, T9 y T12: NPK + 30 % Urea – Azofert®-F

Resultados similares también han sido informados para condiciones de estrés. Yanni *et al.* (2016), encontraron que la inoculación con *R. radiobacter* y *R. etli*, incrementó el rendimiento del cultivo del frijol en condiciones de estrés hídrico y salino. Cerezini *et al.* (2016) encontraron, por su parte, que la coinoculación con *Azospirillum* y *Bradyrhizobium* aumentó el rendimiento en el cultivo de la soya, en condiciones de estrés hídrico y Yin *et al.* (2018) informaron que la inoculación con rizobacterias que promueven el crecimiento vegetal en plantas de maíz incrementó la resistencia y el rendimiento en condiciones de estrés abiótico.



Según Egamberdiera *et al.* (2017), las plantas que son inoculadas con bacterias endofíticas PGPR incrementan la biomasa y el rendimiento en condiciones de estrés por sequía. En este sentido Amsalu *et al.* (2019) encontraron que la inoculación con *Rhizobium etli*, *Rhizobium phaseoli*, *Bradyrhizobium japonicum* y *Bradyrhizobium elkanii* incrementaron la biomasa y el rendimiento de plantas de frijol y soya en condiciones de estrés hídrico.

Se plantea que las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal producen exopolisacáridos, fitohormonas, 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa y compuestos volátiles que estimulan el crecimiento y el rendimiento de cultivos en condiciones de estrés hídrico (Khan y Bano, 2019). En este sentido autores como Mamnabi *et al.* (2020) plantean que el uso de biofertilizantes a base de PGPR como *Pseudomonas fluorescens*, *Azotobacter oryzae* y *Azospirillum chroococcum*, puede ser una forma adecuada de mejorar el rendimiento de los cultivos en condiciones de estrés hídrico.

La disminución en el riego significó una reducción en el rendimiento de los tratamientos inoculados en el cultivar tolerante de un 23,96 % para el experimento 2015-2016 y en 23,29 %, para el período 2016-2017; mientras que en el cultivar susceptible los porcentajes de reducción fueron de 38,97 y 38,42 %, respectivamente. Cuando no se utilizó la inoculación esta reducción fue más pronunciada, con valores de 30 % para el cultivar tolerante en el experimento 2015-2016 y 27,71 % para el período 2016-2017; mientras que en el cultivar susceptible los porcentajes de reducción fueron de 55,19 y 45,91 %, respectivamente. Este resultado corroboró el efecto beneficioso del producto Azofert®-F utilizado en esta investigación, válido no sólo para condiciones favorables de humedad y el cultivar tolerante, sino, y especialmente, cuando hubo una reducción importante del régimen hídrico y se utilizó un cultivar sensible, ya que se obtuvieron rendimientos similares en los Tratamientos 1 y 8 con el 100 % de urea al 100 % de humedad y con el 30 % de urea más la inoculación con Azofert®-



F al 50 % de humedad. Su uso permitió sustituir el 70 % de la urea y el 50 % de humedad con resultados superiores en el rendimiento.

El rendimiento es la resultante del comportamiento de las diferentes variables del crecimiento, en su interacción con los factores ambientales y de la expresión genética de cada cultivar, por lo que cualquier alteración en cualquiera de ellos provoca modificaciones en el comportamiento del mismo.

El efecto favorable de Azofert®-F, observado en las diferentes variables del crecimiento analizadas anteriormente, se tradujo en un efecto positivo en el rendimiento.

Consideraciones generales

La investigación que se llevó a cabo y que tuvo como objetivo evaluar la influencia del inoculante Azofert®-F en la tolerancia de plantas de frijol sometidas a déficit hídrico, partió de analizar la influencia de este producto en indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos de plantas jóvenes, en condiciones controladas. El papel positivo ejercido por el biofertilizante en la densidad y el índice estomático, variables que permiten regular la pérdida de agua y la ganancia de carbono, influyó positivamente en la tasa fotosintética y por ende en el contenido de carbohidratos solubles, lo que estuvo relacionado también, sin dudas, con el incremento en el contenido de clorofilas, moléculas esenciales en el proceso de fotosíntesis. Todo esto, unido al efecto beneficioso observado en la longitud de la raíz, que permitió explorar un mayor volumen de suelo, con la consiguiente absorción de agua y nutrientes, así como en incrementar la superficie foliar, que garantiza también la absorción de carbono y la conversión en fotoasimilados, redundó en un efecto positivo en el crecimiento y desarrollo de las plantas, especialmente en condiciones del estrés impuesto.

La contribución de *Rhizobium radiobacter* como fijador simbiótico de N₂ pudo haber incrementado la síntesis de clorofilas y el contenido de proteínas, pero la capacidad de estas bacterias de producir hormonas como las auxinas (Zúñiga, 2013) pudo haber incidido en el desarrollo de las raíces (Acebo



et al., 2011, Hernández *et al.*, 2010), y obtenerse como resultado la fitoestimulación. La integración de todos estos efectos logrados con la inoculación tributó a una mejor nutrición de las plantas y su contribución a la masa seca total.

El efecto beneficioso de este bioproducto ante la condición de estrés se demostró por su influencia favorable en las variables de las relaciones hídricas y el funcionamiento de variables bioquímicas como el contenido de prolina, lo que indicó el nivel de tolerancia de las plantas inoculadas al estrés hídrico.

Posteriormente fue evaluado el efecto de Azofert®-F en la nodulación y su efectividad en condiciones semicontroladas, con un metabolismo eficiente de los ureidos que respaldó el papel de este microorganismo en la nutrición nitrogenada de las plantas, confirmado en el contenido de nitrógeno foliar, proteínas y masa seca total, estado nutricional favorable que ayuda a tolerar el estrés.

No sólo el papel fitoestimulador de estas bacterias, comprobado para diferentes sistemas y condiciones, pudo jugar un papel esencial en mitigar las condiciones adversas del estrés por déficit hídrico impuesto en esta investigación, otros atributos relacionados con la formación de estructuras de resistencia como las biopelículas (Vogeleer *et al.*, 2014) pudieron disminuir el efecto adverso de las condiciones ambientales sobre su población y actividad biológica, así como la excreción de compuestos como polisacáridos, los que pueden desencadenar señales que participan en respuestas defensivas de la planta (Alcalá *et al.*, 2017; Hossain *et al.*, 2017). La síntesis y excreción de lipoquitinoligosacáridos o factores Nod por estas bacterias, potenciado por la inclusión de elementos inductores en el biopreparado Azofert®-F (Nápoles *et al.*, 2015 y 2016), confiere la presencia de otra familia de moléculas que participan directamente en la respuesta de las plantas al estrés abiótico.

De esta forma, un balance adecuado de señales, hormonas, nutrientes y mecanismos defensivos, propiciado con la inoculación, influyó positivamente en caracteres morfológicos y procesos



fisiológicos, que tributaron a un mayor crecimiento y tolerancia de las plantas de frijol a la condición de estrés hídrico en el suelo.

Y como colofón se corroboraron estos efectos positivos en el crecimiento y rendimiento de los dos cultivares en condiciones de campo, traducidos en el número de vainas, granos y rendimiento estimado de ambos cultivares, lo cual permitió asegurar que con su empleo en condiciones de déficit hídrico se alcanzan valores aceptables al reducir las dosis de urea.



Conclusiones



V. CONCLUSIONES.

1. La aplicación de Azofert[®]-F a las semillas de frijol afecta positivamente indicadores morfológicos, fisiológicos y bioquímicos en plantas jóvenes, tanto en condiciones adecuadas de humedad en el suelo, como de déficit hídrico.
2. La inoculación con Azofert[®]-F incrementa el contenido relativo de agua y los componentes del potencial hídrico foliar, como respuesta de regulación estomática en las plantas de frijol sometidas a condiciones adecuadas de humedad en el suelo, como de déficit hídrico.
3. El tratamiento a las semillas con *Rhizobium radiobacter*, en el biopreparado Azofert[®]-F, influye positivamente en la nodulación y el catabolismo del nitrógeno fijado, tanto en condiciones adecuadas de humedad en el suelo, como de déficit hídrico.
4. La biofertilización de las semillas de frijol con Azofert[®]-F permite disminuir la dosis de fertilización nitrogenada recomendada en el cultivo e incrementa el crecimiento y el rendimiento de los cultivares CC-25-9R y Tomeguín-93, tanto en condiciones adecuadas de humedad en el suelo, como de déficit hídrico.



Recomendaciones



VI. RECOMENDACIONES

1. Valorar la introducción en la práctica productiva de la provincia Granma de los cultivares CC-25-9R (Tolerante) y Tomeguín-93 (Susceptible), inoculados con Azofert®-F.
2. Evaluar el efecto que ejerce Azofert®-F en otros indicadores fisiológicos y bioquímicos asociados al crecimiento y el rendimiento de las plantas en condiciones de estrés hídrico.
3. Determinar el efecto del biofertilizante Azofert®-F en otros cultivares de frijol, así como en otras condiciones de estrés.
4. Incluir los resultados de esta tesis dentro de los programas de pre y posgrado de la especialidad.



Referencias Bibliográficas



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aamir, M., Aslam, A., Muhammad, Y., Muhammad, U., Ahmad, M., Hafiz, N. y Ahmad, Z. 2013. Coinoculation with rhizobium and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for inducing salinity tolerance in mung bean under field condition of semi-arid climate. Asian J. Agri. Biol. Vol. 1, No. 1, 56-69p.
2. Abd-Alla, M.H. 2011. Nodulation and nitrogen fixation in interspecies grafts of soybean and common bean is controlled by isoflavonoid signal molecules translocated from shoot. Plant Soil Environ. Vol. 57, 453-458p.
3. Abdellatif, KA, El S, El Ab, Zakaria A. 2012. Drought stress tolerance of faba bean as studied by morphological traits and seed storage protein pattern. Journal of Plant Studies Vol.1, No. 2, 47-54p.
4. Abdelraouf, R.E., El-Habbasha, S.F., Hozayn, M. y Hoballah E. 2013. Water stress mitigation on growth, yield and quality traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) using biofertilizer inoculation. Journal of Applied Sciences Research. Vol. 9, No. 3, 2135-2145p.
5. Abu, S.S. 2013. Effect of chitosan on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants grown under water stress conditions. International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science. Vol. 3, No. 6, 192-199p.
6. Acebo, Y.; Hernández, A.; Rives, N. /et al./. 2011. Perspectivas del uso de bacterias rizosféricas en el control de *Pyricularia grisea* (CookeSacc.) en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). Rev Colomb Biotecnol, Vol. 13, No. 1, 16-22p. ISSN 1909-8758.
7. Acosta, E., Acosta, A.J., Trejo, C., Padilla, S.J. y Amador, D.M. 2009. Adaptation traits in dry bean cultivars grown under drought stress. Agricultura Técnica en México. 35: 416-425p.
8. Agami, R.A., Medani, R.A., Abd El-Mola, I.A. and Taha, R.S. 2016. Exogenous application with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) or proline induces stress tolerance in basil plants (*Ocimum basilicum* L.) exposed to water stress. International Journal of Environmental & Agriculture Research, Vol. 2, No. 5, 78-92p.
9. Agriculturers. 2019. Mercado de los biofertilizantes. Tendencias mundiales. Red de especialistas en agricultura. <http://agriculturers.com/mercado-de-los-biofertilizantes-tendencias-mundiales-escenario-competitivo-y-pronosticos2017-2022/>. Consultada: 25-4-2019.
10. Aguilar G., Peña C.B., Castro R., Lara J.P., Cruz E. y Rojas A. N. 2017. Efecto del vermicompost y estrés hídrico en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.): Parámetros productivos y relaciones hídricas. FYTON. Vol. 86, 28-39p. ISSN 0031 9457.



11. Ahmad I., Zaib S., Alves P. C., Luthe D.S., Bano A. y Shakeel S. N. 2019. Molecular and physiological analysis of drought stress responses in Zea mays treated with plant growth promoting rhizobacteria. *Biologia Plantarum*. Vol. 63, 536-547p.
12. Ahmed E, Holmstrom S J M. 2014. Siderophores in environmental research: Roles and applications. *Microb. Biotechnol.* 7: 196-208.
13. Akram M. 2011. Growth and yield components of wheat under water stress of different growth stages. *Bangladesh J. Agric. Res.* Vol. 36, 455-468p.
14. Alamillo, J. M., Díaz, L.J., Sánchez, M.V. y Pineda, M. 2010. Molecular analysis of ureide accumulation under drought stress in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant, Cell & Environment*. Vol. 33, No. 11, 1828-1837p.
15. Alcalá L, Iñaky E, Martínez Hernández JL, Iliná A, Guillen Cisneros L, Hernández Castillo, FD. 2017. Aplicación de ácido jasmónico como inductor de resistencia vegetal frente a patógenos. *Rev Mex De Cienc Agric*, Vol. 8, No. 3, 673-683p. doi: <http://dx.doi.org/10.29312/remexca.v8i3.40>.
16. Alemán, V. 2006. Efecto de niveles de composta y hongo micorrízico arbuscular en el desarrollo y crecimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis de Maestría. Universidad de Colima. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. México. 110 p.
17. Ali, Z., Ashraf, M., Qurainy, F. y Khan, M. S. 2015. Appraising drought tolerance in local accessions of sesbania (*Sesbania sesban* (L.) Merril.) using biomass production, relative membrane permeability and photosynthetic capacity as selection criteria. *Pakistan Journal of Botany*, Vol. 47, No. 3, 845-850p.
18. Alori E. T., Dare M. O. y Babalola O. O. 2017. Sustainable agriculture reviews. Switzerland: Springer; Microbial inoculants for soil quality and plant health. 281-307p.
19. Álvarez D., 2018. Efectividad del Fitomas E® en el crecimiento y rendimiento agrícola en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Trabajo de Diploma para obtener el título de ingeniero agrónomo. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central Martha Abreu de las Villas 47 p.
20. Álvarez I. Reynaldo I. 2015. Efecto del Pectimorf en el índice estomático de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Cultivos Tropicales*, Vol. 36, No. 3, 82-87p.
21. Álvarez, C. N. 2014. Comportamiento agroproductivo del cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) con diferentes frecuencias de aplicación del VIUSID agro. Tesis de Pregrado. Facultad Agropecuaria. Universidad de Sancti Spíritus “José Martí Pérez”. Cuba.



22. Ampofo E. A., Kwakye P. K., Frimpong K. A., Alwa A. 2016. Irrigation and *Bradyrhizobium japonicum* Inoculation Effects on Performance of Soybean Production in Tropical Guinea Savanna Zone of Ghana. Journal of natural Sciences Research Vol. 6, No. 16, 32-41p.
23. Amsalu A., Markos D., Getachew G., Yli-Halla M. y Lindstrom K. 2019. Rhizobial inoculation improves drought tolerance, biomass and grain yields of common (*Phaseolus vulgaris* L.) and soybean (*Glycine max* L.) at Halaba and Boricha in Southern Ethiopia. Archives of agronomy and soil science. 1-14p. <https://doi.org/10.1080/03650340.2019.1624724>.
24. Andrade, J.L., Larqué, A. y Trejo, C. 1995. Proline accumulation in leaves of four cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. with different drought resistance. Fyton. Vol. 57, No. 2, 149-157p.
25. Ansari, F.A., Ahmad, I., 2019. Alleviating Drought Stress of Crops. Through PGPR: Mechanism. Microbial Interventions in Agriculture and Environment: 2: Rhizosphere, Microbiome and Agroecology, 341–358p.
26. Armada E., Azcón R., López Castillo O. M., Calvo-Polanco M., Ruiz-Lozano J.M. 2015. Autochthonous arbuscular mycorrhizal fungi and *Bacillus thuringiensis* from a degraded Mediterranean area can be used to improve physiological traits and performance of a plant of agronomic interest under drought conditions. Plant Physiology Biochemistry Vol. 90. 64-74p.
27. Araus, J. L., Slafer, G. A., Reynolds, M. P. y Royo, C. 2002. Plant breeding and drought in C3 cereals: what should we breed for? Annals of Botany 89, 925-940p.
28. Ashraf M., y Harris P. 2013. Photosynthesis under stressful environments: An overview. Photosynthetica, Vol. 51, No. 2, 163-190p.
29. Ashraf M., N.A. Akram, F. Al-Qurainy and M.R. Foolad. 2011. Drought tolerance: Roles of organic osmolytes, growth regulators and mineral nutrients. Adv. Agron., Vol. 111, 249-296p.
30. Asfaw, A. y Blair, M.W. 2012. Quantitative trait loci for rooting patterns traits of common beans grown under drought stress versus non-stress conditions. Molecular Breeding Vol. 30, 681-695p.
31. Atieno, M. y Lesueur, D. 2019. Opportunities for improved legume inoculants: enhanced stress tolerance of rhizobia and benefits to agroecosystems. Symbiosis. Vol. 77, 191-205p. doi:10.1007/s13199-018-0585-9.
32. Azab E. 2016. Effect of water stress and biological fertilization on maize growth, chemical composition and productivity in calcareous. American Journal plant Physiology, Vol. 11, 1-11p.
33. Baldoquín. M. 2015. Efecto de la sequía sobre el rendimiento y sus componentes de genotipos de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L) en condiciones de campo. Tesis de Maestría. Universidad de Granma. 80 p.



34. Barnawal D, Bharti D, Pandey SS, Pandey A, Chanotiya CS, Kalra A. 2017. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance wheat salt and drought stress tolerance by altering endogenous phytohormone levels and TaCTR1/TaDREB2 expression. *Physiol Plant*. Vol. 161, 502–514p.
35. Barrios, E. J., López, C., Kohashi, J., Acosta, J. A., Miranda, S., Canul, J. y Mayek, N. 2012. Comparison of morphological structures in bean root and hypocotyl. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* Vol. 3, No. 4, 11-23p.
36. Bates, L.S., Waldren R.P. y Teare, D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*. 39: 205-207.
37. Bayoumi, T.Y., Manal, H. E., y Metwali, E.M. 2008. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 7, No. 14, 2341-2352p.
38. Beadle, C.L. 1993. Growth analysis. In: *Photosynthesis and production in a changing environment* (Hall, D. O; Scurtock, J. M. O; Bolhar-Nordentrampf, H: R; Leegood, R. C and Long, S. P. Eds). Chapman and Hall, London. pp: 36-45.
39. Beebe, S.E., Rao, I.M., Blair, M.W. y Acosta, J.A. 2013. Phenotyping common beans for adaptation to drought. *Frontiers. Physiology* 4: 35-43p.
40. Bécquer C. J., Ávila U., Nápoles J. A., Galdo Y., Hernández M., Muir I., Álvarez O. y Medinilla F. 2018. Productividad de bermuda Tifton 85, inoculada con *Bradyrhizobium* sp. y *Trichoderma harzianum*, sometida a estrés de sequía agrícola. *Revista Pastos y Forrajes*. Vol. 41, No. 3, 196-201p.
41. Bécquer C. J., Ávila U., Galdo Y., Quintana M., Álvarez O., Puentes A., Medinilla F. y Mirabal A. 2017. Selección de aislados de *Bradyrhizobium* sp. Por su efecto en maíz en condiciones de sequía agrícola en Santi Spíritus. Cuba. *Revsita Cubana de Ciencias Agrícolas*, Vol. 51, No. 1. 129-138p.
42. Bresson J, Vasseur F, Dauzat M, Labadie M, Varoquax F, Touraine B, Vile D. 2014. Interact to survive: *Phyllobacterium brassicacearum* improves *Arabidopsis* tolerance to severe water deficit and growth recovery. *PLoS One* 9:e107607
43. Bulegon, L.G., Guimarães, V.F., Klein, J., Batisttus, A.G., Inagaki, A.M., Offmann, L.C. y Souza, A.K.P. 2017. Enzymatic activity, gas exchange and production of soybean co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense*. *Aust. J. Crop Sci.* Vol. 11, 888-896p.
44. Calero, A., Castillo, Y., Quintero, E., Pérez, Y. y Olivera, D. 2018. Efecto de cuatro densidades de siembra en el rendimiento agrícola del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Rev. Fac. Cienc.* Vol. 7, No. 1, 88-100p.



45. Calderón, A., Soto, F., Calderón, M. y Fundora, L. R. 2009. Estimación de área foliar en posturas de mango (*Mangifera indica* L.) y aguacatero (*Persea* spp) en fase de vivero a partir de las medidas lineales de las hojas. Cultivos Tropicales. Vol. 30, No. 1, 43-48p.
46. Cappellari, L., Santoro, M.V., Reinoso, H., Travaglia, C., Giordano, W. and Banchio, E. 2015. Anatomical, Morphological, and Phytochemical Effects of Inoculation with Plant Growth- Promoting Rhizobacteria on Peppermint (*Mentha piperita*). Journal of Chemical Ecology, Vol. 41, No. 2, 149-158p.
47. Cardona, C., Jarma, A., Áramendiz, H., Peña, M. y Vergara, C. 2014. Respuestas fisiológicas y bioquímicas del frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp.) bajo déficit hídrico. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas. Vol. 8, No. 2, 250-261p.
48. Cardona Ayala C., Jarma Orozco A., Araméndiz Tatis H. 2013. Mecanismos de adaptación a sequía en caupí (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Una revisión. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas. Vol. 7, No. 2, 277-288p.
49. Casanovas E. M., Barassi C. A. y Sueldo R. J. 2002. Azospirillum inoculation mitigates water stress effects in maize seedlings. Cereal Res. Commun. Vol. 30, 343-350p.
50. Cedeño, G.; Gerding, M.; Moraga, G.; Inostroza, L.; Fischer, S.; Sepúlveda M.; Pyarzúa P. 2018. Plant growth promoting rhizobacteria with ACC deaminase activity isolated from Mediterranean dryland areas in Chile: Effects on early nodulation in alfalfa. Chilean Journal of Agricultural Research, vol. 78, No. 3, 360-369 p.
51. Cedeño, 2018. Tolerancia a estrés hídrico y promoción del crecimiento en alfalfa (*Medicago sativa*) inoculada con bacterias de la rizósfera. Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias de la Agronomía. Universidad de Concepción. Chillan, Chile. 55 p.
52. Centella A, B. Lapinel, O. Solano, R. Vázquez, C. Fonseca, V. Cutié, R. Baéz, S. González, J. Sille, P. Rosario y L. Duarte. 2006. La sequía meteorológica y agrícola en la República de Cuba y la República Dominicana, 172pp.
53. Cerizini P., Harumi B., Barbosa M., Terassi F., Hungria M. y Nogueira M. A. 2016. Strategies to promote early nodulation in soybean under drought. Field Crops Research, 1-8p.
54. CGIAR, 2012. Consultative Group on International Agricultural Research. Common bean. [En línea]. [Consultado: 15 mayo 2014]. Disponible en: <<http://www.cgiar.org/our-research/crop-factsheets/beans/>>.
55. Chanway, C.P., Anand, R. y Yang H. 2014. Nitrogen fixation outside and inside plant tissues, advances in biology and ecology of nitrogen fixation. Prof. Takuji Ohyama (Ed.), ISBN: 978-953-51-1216-7, InTech, DOI: 10.5772/57532.



56. Cháves, M.M., Flexas, J. y Pinheiro, C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*. Vol. 103, 551-560p.
57. Chávez L., Álvarez A., Ramírez R., Infante S., Licea L., García B., García A. y Fonseca M. 2015. Efecto de la salinidad sobre el contenido relativo de agua y la concentración de pigmentos en tres genotipos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Centro Agrícola* Vol. 42, No. 3, 19-24p.
58. Chavoshi, S., Nourmohamadi, G.H., Madani, H., Sharif, H. y Alavi M. 2018. The effect of biofertilizers on physiological traits and biomass accumulation of red beans (*Phaseolus vulgaris* cv. Goli) under water stress. *Iranian Journal of Plant Physiology*. Vol. 8, No. 4, 2555-2562p.
59. Charlson, D.V., Korth, K.L. y Purcell, L.C. 2009. Allantoate amidohydrolase transcript expresión is independent of drought tolerance in soybean. *J. Exp. Bot.* Vol. 60, No. 3, 847-851p.
60. Cheng, Q. 2008. Perspectives in biological nitrogen fixation research. *J. Int. Plant Biol.* Vol. 50, No. 7, 784-796p.
61. Chibeba, A.M., Guimarães, M.F., Brito, O.R., Nogueira, M.A., Araujo, R.S. y Hungria M. 2015. Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation. *Am. J. Plant Sci.* Vol. 6, 1641-1649p.
62. Coelho de Lima B., Lima Moro A., Pacheco Santos A. C., Bonifacio A., Ferreira Araujo A. S. y de Araujo F. F. 2019. *Bacillus subtilis* ameliorates water stress tolerance in maize and common bean, *Journal of Plant Interactions*, Vol. 14, No. 1, 432-439p, DOI: 10.1080/17429145.2019.1645896.
63. Cohen, A.C., Bottini, R., Pontin, M., Berli, F.J., Moreno, D., Boccanlandro, H., Travaglia, C.N. y Piccoli, P.N., 2015. *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels. *Physiol. Plantarum*. Vol. 153, 79-90p.
64. Costa R. C. L., Lobato A. k. S. Oliveira C. F. Maia P. S. P. Alves G. A. R. y Laughinghouse H. D. 2008. Biochemical and physiological responses in two *Vigna unguiculata* (L.) Wall. Cultivars under water stress. *Journal Agronomic*. Vol. 7, No. 1, 98-101p.
65. Creelman, R. A., Mason, M.G., Bensen, R.J., Boyer, J. S. y Mullet, J. E. 1990. Water deficit and abscisic acid causes inhibition of shoots versus root growth in soybean seedlings: Analysis of growth, sugar accumulation and gene expression. *Plant Physiol.* Vol. 92, 205-214p.
66. Cueva, L., Jacinto, S., García, C. y Alejandro, J. 2006. Restauración y conservación de los suelos. Manual de obras y prácticas.
67. Da-Silva, J.R., Alexandre, A., Brígido, C., Oliveira, S. 2017. Can stress response genes be used to improve the symbiotic performance of rhizobia? *AIMS Microbiol.* Vol. 3, 365-382p.



68. Da Silva, A. K., Gomes, J. A., Lobo, R. C., De Oliveira, C. F. 2013. Responses of organisms to water stress. Chapter 3. Edited by Şener Akıncı. 188pp. ISBN 978-953-51-0933-4. Consultado 7 de febrero de 2017 en: <http://dx.doi.org/10.5772/46157>.
69. Dell Amico., Morales, D., Jerez, E., Rodríguez, P. y Álvarez, I. 2017. Efecto de dos variantes de riego y aplicaciones foliares de Pectimorf® en el desarrollo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Cultivos Tropicales. Vol. 38, No. 3, 129-134p.
70. De Laat, D., Colombo, C., Chiorato, A. y Carbonell, S. 2014. Induction of ferritin synthesis by water deficit and iron excess in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Molecular Biology Reports, Vol. 41, No. 3, 1427-1435p.
71. Delfini, R., Belgoff, C., Fernández, E., Fabra, A. y Castro, S. 2010. Symbiotic nitrogen fixation and nitrate reduction in two peanut cultivars with different growth habit and branching pattern structures. Plant Growth Regulation. Vol. 6, 153-159p.
72. Devi, M. J., Sinclair, T.R., Beebe, S.E. y Rao, I.M. 2012. Comparison of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes for nitrogen fixation tolerance to soil drying''. Plant and Soil. Vol. 364, No. 1-2, 29-37p.
73. Díaz L. J. L., Gálvez V. G., Fernández J. Pineda M. y Alamillo J. M. 2012. Developmental effects on ureide levels are mediated by tissue-specific regulation of allantoinase in *Phaseolus vulgaris* L. Journal of Experimental Botany. Vol. 63, No. 11, 4095-4106p.
74. Díaz, C. 2010. Aislamiento, caracterización y selección de rhizobia autóctonos que nodulan habichuela roja (*Phaseolus vulgaris* L.), en la República Dominicana. Tesis Doctoral. Universidad de León, Instituto de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Biodiversidad. República Dominicana. 97 p.
75. Dixon, R. y Kahn, D. 2004. Genetic regulation of biological nitrogen fixation. Nature Reviews Microbiology. Vol. 2: 621-631p.
76. Domínguez A., Pérez Y., Sosa M., Alemán S., Fuentes L., Darías R., Rea R., y Sosa D. 2016. Evaluación de líneas avanzadas de caraota al déficit hídrico durante la fase de plántula. Revista Agronomía Tropical, Vol. 66, No. 1-2, 145-153 p.
77. Domínguez A., Pérez Y., Sosa M., Alemán S., Fuentes L., Darías R., Rea R., y Sosa D. 2014. Respuesta de cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. al estrés por sequía. Revista Biotecnología Vegetal, Vol. 14, No. 1, 29-36p.
78. Dubberstein, D., Rodrigues, W., Semedo, J., Rodrigues, I., Leitão, A., Partelli, E., Reboredo, F., Scotti, P., Lidon, F., Ribeiro, A., DaMatta, F. y Ramalho, J. 2018. Mitigation of the negative impact of warming on the coffee crop: The role of increased air [CO₂] and management



- strategies. Climate Resilient Agriculture-Strategies and Perspectives. 57-85p. doi: 10.5772/intechopen.72374.
79. Duncan, D. 1955. Multiple range and multiple F Test. Biometrics 11: 1.
80. Dutta, T., Rao, N., Shabir, H. y Surekha, C. 2018. Response of pulses to drought and salinity stress response: a physiological perspective. Chapter 4. Springer Nature Switzerland AG. S. H. Wani, M. Jain (eds.), Pulse Improvement, https://doi.org/10.1007/978-3-030-01743-9_4.
81. Duzan, H. M.; Mabood, F.; Zhou, X.; Souleimanov, A. y Smith, D. L. 2005. “Nod factor induces soybean resistance to powdery mildew”. Plant Physiology and Biochemistry, Vol. 43, No. 10–11, 1022-1030p, ISSN 0981-9428, DOI 10.1016/j.plaphy.2005.08.004.
82. Echevarría, I., Reynaldo, I. y Mainardi S. 1996. Some aspects of nitrogen metabolism in rice seeds germinating at two NaCl concentrations. II. Pokkali variety. Cultivos Tropicales. 17(1): 20-23.
83. Efeoğlu, B., Ekmekci, Y. y Cicek, N. 2009. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. South African Journal of Botany. Vol. 75, No. 1, 34-42p.
84. Egamberdieva D., Wirth S. J., Alqarawi A. A., Abd Allah E. F., Hashem A. 2017. Phytohormones and beneficial microbes: essential components for plants to balance stress and fitness. FMC 8:2104.
85. Elijanara, R., Zoz, J., Silva, C.E., Zuffo, A, Steiner, F., Zoz, T. y Pradi, E. 2019. Can co-inoculation of Bradyrhizobium and Azospirillum alleviate adverse effects of drought stress on soybean (*Glycine max* L. Merrill.). Archives of Microbiology. Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/s00203-018-01617-5>.
86. EMNDC. 2017. Procedimiento operativo integral para los decisores sobre la organización y el funcionamiento del sistema de alerta temprana ante la amenaza o la afectación de eventos hidrometeorológicos extremos. Colectivo de autores: Estado Mayor Nacional de la Defensa Civil de Cuba, Instituto de Meteorología, Instituto de Recursos Hidráulicos. Casa Editorial Verde Olivo. ISBN 978-959-224-396-5.
87. Escoto, N. 2013. El Cultivo del Frijol. Secretaría de Agricultura y Ganadería. Dirección de Ciencia y Tecnología Agropecuaria. Tegucigalpa, M.D.C., Honduras C.A. disponible en <http://www.dicta.hn/files/Guia-cultivo-de-frijol-2011.pdf>
88. Estrada, W., Jerez, E., Nápoles, M. C., Sosa, A., Maceo, Y. y Cordoví, C. 2016. Respuesta de cultivares de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a la sequía utilizando diferentes índices de selección. Cultivos Tropicales. 37(3): 79-84.
89. FAO, 2019. FAOSTAT-statistical databases. FAO. <http://www.fao.org/faostat/es/#home> Consultado 24 de abril 2019.



90. FAO, 2018. FAOSTAT-statistical databases. FAO. <http://www.fao.org/faostat/es/#home> Consultado 17 de mayo 2018.
91. Farouk S. y Amani A. R. 2012. Improving growth and yield of cowpea by foliar application of chitosan under water stress. Egypt. Journal Biology, Vol. 14, 14-26p.
92. Faure, B., Benitez, R., Rodriguez, E., Grande, O., Torres, M. y Pérez, P. Guía Técnica para la producción de frijol común y maíz. 2014. Edición y diseño: Molinos S.A. Instituto de Investigaciones de Granos. MINAG. ISBN: 978-959-296-036-7. 39 p.
93. Ferreira, T. H. S., et al. 2017. "Sugarcane water stress tolerance mechanisms and its implications on developing biotechnology solutions." Frontiers in plant science Vol. 8, p1077.
94. Figueiredo M., Burity H., Martínez C. y Chanway C. P. 2008. Alleviation of drought stress in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation with *paenibacillus polymixa* and *Rhizobium tropici*. Science Direct. Applied Soil Ecology, Vol 40, 182-188p.
95. Figueredo, O. y Fuentes, T. 2017. Sequía en Cuba: ¿Un problema sin solución?, Cubadebate, Disponible en: <http://www.cubadebate.cu/especiales/2017/03/10/trashed-7/>.
96. Fischer, K., Jhonson, E. C. y Edmeades, G. O. 1994. Mejoramiento y selección del maíz tropical para incrementar su resistencia a la sequía. Centro internacional de mejoramiento de maíz y trigo, CIMMYT. México.
97. Fitouri S. D., Trabelsi D., Saidi S., Zribi K., Jeddi F. B. y Mhamdi R. 2012. Diversity of rhizobia nodulating Sulla (*Hedysarum coronarium* L.) and selection of inoculant strains for semi-arid Tunisia. Ann. Microbiol. Vol. 62, No. 1, 77-84p.
98. Flexas, J. y Medrano, H. 2002. Drought – inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. Annals of Botany 89, 183-190p.
99. Florido, M. y Bao, L. 2014. Tolerancia al estrés por déficit hídrico en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Cultivos Tropicales. Vol. 35, No. 3, 70-88p.
100. Fonseca, C., Alpizar Tirzo M., Cutié Cancino V., González García I.T., Hernández-Sosa M., Valderá Figueredo N., Hernández González D, Cabrera Medina A. 2018. Estado del Clima en Cuba 2017. Resumen ampliado. Revista Cubana de Meteorología. 24(2): 226-237.
101. Freixas, J. A., Torres, W., Reynaldo, I. M. y Nápoles, M.C. 2011. Niveles de ureidos en plantas de soya con diferentes inoculantes y sometidas a déficit hídrico. Cultivos Tropicales. 32(2): 122-135.
102. Freixas, J.A. 2011. Influencia de los inoculantes a base de *Bradyrhizobium elkanii* ICA8001, sobre la fijación biológica de nitrógeno en plantas de soya (*Glycine max* (L.) Merrill), con y sin déficit hídrico. Tesis de Maestría. Mayabeque, 55 p.



103. Fuentes, A, Martínez, F. 2015. Indicaciones prácticas para la conservación, mejoramiento y fertilización de los suelos. La Habana, Cuba: Pueblo y Educación.
104. Gagné-Bourque F., Bertrand A., Claessens A, Aliferis K. A. and Jabaji S. 2016. Alleviation of Drought Stress and Metabolic Changes in Timothy (*Phleum pratense* L.) Colonized with *Bacillus subtilis* B26. Front. Plant Sci. 7:584. doi: 10.3389/fpls.2016.00584.
105. Galindo D.M. 2019. Caracterización de bacterias asociadas a la rizosfera de plantas de yuca (*Manihot esculenta* crantz) sometidas a estrés por déficit hídrico. Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Microbióloga Universidad Santiago de Cali. Facultad de Ciencias Básicas. Programa de Microbiología. Cali, Colombia. 24 p.
106. Gan, Y., Zhou, L., Shen, Z. J., Shen, Z. X., Zhang, Y. Q. y Wang, G. X. 2010. Stomatal clustering, a new marker for environmental perception and adaptation in terrestrial plants. *Bot. Stud.* Vol. 51, 325– 336p.
107. Ghanbari, A.A., Shakiba, M.R., Toorchi, M. y Choukan, R. 2013. Morphophysiological responses of common bean leaf to water deficit stress. *European Journal of Experimental Biology*: Vol. 3, 487-492p.
108. Gheysari M., Hossein S., Loescher H., Amiri S., Javad M., Majidi M., Asgarinia P. y Payero J. O. 2017. Comparison of deficit irrigation management strategies on root, plant growth and biomass productivity of silage maize. *Agricultural Water Management*, Vol. 182, No. 1, 126-138p.
109. Glick, B. 2016. Alleviating plant stress using bacteria. III Taller Latinoamericano de PGPR Pucón, Chile, 13p.
110. Gómez J. A., Cadena M. C. 2017. Actualización de las estadísticas de la sequía en Colombia. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales – Ideam. Subdirección de meteorología. Nota técnica. 1-60p.
111. González, O., Abreu, B., Herrera, M. y López, E. 2017. Uso del agua durante el riego del frijol en suelos Eutric Cambisol. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*. Vol. 26, No. 1, 70-77p.
112. González, V., Durand, J.L. y Gastal, F. 2010. Water deficit and nitrogen nutrition of crops. A review. *Agron. Sustain. Dev.* Vol. 30, 529-544p.
113. Gusain, Y.S., Singh, U.S. y Sharma, A.K. 2015. Bacterial mediated amelioration of drought stress in drought tolerant and susceptible cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). *Afr. J. Biotechnol.* Vol. 14, 764-773p.
114. Guzmán, E., de la Garza, M.T., García J.A., Rebollar, S. y Hernández, J. 2019. Análisis económico del mercado de frijol grano en México. *Agron. Mesoam.* 30(1): 131-146.



115. Han R., Gao G., Li Z., Dong Z. y Guo Z. 2017. Effects of exogenous 5-aminolevulinic acid on seed germination of alfalfa (*Medicago varia* Martyn.) under drought stress. Japanese Society of Grassland Science. 1-8p. doi. 10.1111/grs.12189
116. Han, L.L., Wang, E.T., Lu. Y.L., Zhang, Y.F., Sui, X.H., Chen, W.F. y Chen W.X. 2009. *Bradyrhizobium* spp. and *Sinorhizobium fredii* are predominant in root nodules of *Vigna angularis*, a native legume crop in the Subtropical Region of China. J. Microb. Vol. 47, No. 3, 287-296p.
117. Hardarson, G. y Atkins, C. 2003. Optimising biological N₂ fixation by legumes in farming systems. Plant and Soil. Vol. 252, No. 1, 41-54p.
118. Hasanah Y. y Rahmawati N. 2012. Soybean production under drought stress with application of *Bradyrhizobium japonicum* induced by genistein. The proceedings of The 2nd Annual International Conference Syiah Kuala University and The 8th IMT-GT Uninet Biosciences Conference. Vol 2, No.1, 145-149p.
119. Heidari, M., Mousavinik, S.M., Golpayegani, A. 2011. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) effect on physiological parameters and mineral uptake in basil (*Ocimum basilicm* L.) under water stress. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science 6, 6–11p.
120. Herbinger, K., Tausz, M., Wonisch, A., Soja, G., Sorger, A. y Grill, D. 2002. Complex interactive effects of drought and ozone stress on the antioxidant defence systems of two wheat cultivars. Plant Physiol. Biochem. Vol. 40, 691-696p.
121. Hernández L. y Salido Y., 2019. Influencia de la aplicación de Azofert-F inoculante a base de *Rhizobium* en el cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) var. Delicias 364 en finca Juan Sáez. Manatí. Revista Caribeña de Ciencias Sociales. En línea: <https://www.eumed.net/rev/caribe/2019/01/cultivo-frijol-comun>.
122. Hernández, I; Nápoles, M.C; González, P.J. 2016. Rizobios promisorios para la inoculación de gramíneas y leguminosas. Editorial Académica Española, 90p. ISBN 978-3-639-75534-3. ciudad.
123. Hernández, A., Pérez, J., Bosch, D. y Castro, N. 2015. Clasificación de los suelos de Cuba 2015, edit. Ediciones INCA, Mayabeque, Cuba. 93 p, ISBN 978-959-7023-77-7.
124. Hernández C. N., y Soto C. F. 2012a. Influencia de tres fechas de siembra sobre el crecimiento y la relación fuente-demanda del cultivo del maíz (*Zea mays* L.). Cultivos Tropicales. Vol. 33, 28-34p.
125. Hernández, G.; García, A.; Faure, B.; Chaveco, O.; Méndez, N.; Toscano, V. y Mulling, M. 2000. Selección de genotipos de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y cepas de *Rhizobium* con alta expresión del potencial agronómico y de fijación simbiótica del nitrógeno en condiciones de



- suelos con bajos contenidos de fósforo. Informe del Tema 19 del Programa Nacional de Producción de Alimentos por Métodos Sostenibles. Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente (CITMA). La Habana, Cuba. 92 p.
126. Hernández, G., García, A., Faure, B., Chaveco, O., Méndez, N., Toscano, V. y Mulling, M. 2000. Selección de genotipos de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) Métodos Sostenibles. Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente (CITMA). La Habana, Cuba. 92 p.
127. Hossain MM, Sultana F, Hyakumachi M. 2017. Role of ethylene signalling in growth and systemic resistance induction by the plant growth-promoting fungus *Penicillium viridicatum* in *Arabidopsis*. J Phytopathol, Vol. 165, No. 7-8, 432-441p. doi: <https://doi.org/10.1111/jph.12577>.
128. Humaira Y., Asia N., Naz R., Bano A., y Rumana K. 2017. 1-tryptophan-assisted PGPR-mediated induction of drought tolerance in maize (*Zea mays* L.), Journal of Plant Interactions, Vol. 12, No. 1, 567-578p, DOI: 10.1080/17429145.2017.1402212.
129. Hungria M. y Kaschuk G. 2014. Regulation of N₂ fixation and NO₃⁻/NH₄⁺ assimilation in nodulated an N-fertilized *Phaseolus vulgaris* L. exposed to high temperature stress. Environmental and Experimental Botany 98, 323-39. doi: 10.1016/j.envexpbot. 2013.10.010.
130. Hungria M., Nogueira M. A. y Silva R. 2013. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. Biology and Fertility of Soils, Vol. 49, 791-801p.
131. Hussain M. B., Zahir Z. A., Asghar H. N. y Mahmood S. 2014. Strutinizing Rhizobia to rescue maize growth under reduced water conditions. Soil Science Society of america Journal. Vol. 78, No. 2, 538-545p. Doi: 10.2136G/ssa2013.07.0315.
132. Ibrahim M.F.M. 2014. Induced Drought Resistance in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by Exogenous Application with Active Yeast Suspension. Middle East Journal of Applied Sciences, Vol. 4. No.4. 806-815p. ISSN: 2077-4613.
133. Iglesias, D. J. y M. Talón. 2008. Giberelinas. In: J. Azcón-Bieto y M. Talón (eds.). Fundamentos de Fisiología Vegetal. McGraw Hill Interamericana. Madrid. 399-420p.
134. Ipek M., Pirlak L., Esitken A., Figen Donmez M., Turan M., Sahin F. 2014. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) increase yield, growth and nutrition of satrawberry u nder high-calcareous soil conditions. Journal Plant Nutrition, Vol. 37, No. 7, 990-1001.
135. INSMET, 2017. Estado de la sequía en Cuba. Instituto de Meteorología de la República de Cuba. Disponible en: <https://www.insmet.cu/clima/sequia>. Consultada 6 de julio de 2020.
136. Jaemsaeng, R., Jantasuriyarat, C., Thamchaipenet, A. 2018. Molecular interaction of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACCD)-producing endophytic Streptomyces sp. GMKU 336 towards salt-stress resistance of *Oryza sativa* L. cv. KDML105. Sci. Rep. 8, 1950.



137. Jahan, M.S.; M. Nozulaidi; M. Moneruzzaman; A. Ainun; N. 2014. Husna: Control of plant growth and water loss by a lack of light-harvesting complexes in photosystem-II in *Arabidopsis thaliana* ch1-1 mutant. *Acta Physiologiae Plantarum*, Vol. 36, 1627-1635p.
138. Jaleel, A.C., K. JayaKumar, Z. Chang-Xig and M.M Azooz. 2009. Antioxidant potentials protect *Vigna radiata* (L.) Wilczek plants from soil Cobalt stress and improve growth and pigment composition. *Plants Omics Journal*, Vol. 2, No. 3, 120-126p.
139. Janczarek, M., Rachwał, K., Marzec, A., Grządziel, J. y Palusińska, M. 2015. Signal molecules and cell-surface components involved in early stages of the legume-*Rhizobium* interactions. *Applied Soil Ecology*. Vol. 85: 94-113p.
140. Jarma, A., Rengifo, T. y Aramendiz, H. 2006. Physiology of stevia (*Stevia rebaudiana*) regarding radiation near the Colombian Caribbean coast. II. Growth analysis. *Agronomía Colombiana*. Vol. 24, 38-47p.
141. Jerez, E., Martín, R., Morales, D. y Díaz, Y. 2016. Análisis clásico del crecimiento en tres variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Cultivos Tropicales*, 2016, vol. 37, no. 2, 79-87 p. ISSN impreso: 0258-5936. ISSN digital: 1819-4087. DOI: 10.13140/RG.2.1.4860.0568.
142. Jerez M. E. y Martín, M. R. 2012. Comportamiento del crecimiento y el rendimiento de la variedad de papa (*Solanum tuberosum* L.) Spunta. *Cultivos Tropicales*. Vol. 33, No. 4, 53-58p.
143. Kabahuma M. K. 2013. Enhancing biological nitrogen fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) [en línea]. Graduate Theses and Dissertations, Iowa State University, 81p., [Consultado: 12 de enero de 2016], Disponible en: <<http://lib.dr.iastate.edu/etd/13162>>.
144. Kasim W. A., Osman M. N., Omar I. A. Abd El-Daim, S. Bejai and Meijer J. 2013. Control of drought stress in wheat using plant-growth-promoting-bacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, Vol. 32, 122-130p. Doi:10.1007/s00344-012-9283-7.
145. Kaushal y Wani, S.P. 2016. Rhizobacteria-plant interactions: Strategies ensuring plant growth promotion under drought and salinity stress. *Agric. Ecosyst. Environ.* Vol. 232, 68-78p.
146. Khairi, M.; M. Nozulaidi; M. Sarwar. 2015. Effects of different water levels on physiology and yield of salinity rice variety. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, Vol. 9, No. 2, 339-345p.
147. Khaleghnezhad V, Jabari F. 2015. Effect of seed inoculation with *Rhizobium* and Plant Growth Promoting *Rhizobacteria* (PGPR) on yield and yield components of chickpea in irrigated and rainfed conditions. *J Crop Improv (J Agric)*, Vol. 16, No. 4, 957-972p.
148. Khan N., Bano A., Shahid M. A., Nasim W., y Babar MD. A. 2019. Interaction between PGPR and PGR for water conservation and plant growth attributes under drought condition. *Biologia. Review. Plant Science and Biodiversity Centre*. Doi.org/10.2478/s11756-018-0127-1.



149. Khan, N., Ali, S., Shahid, M.A. y Kharabian-Masouleh, A. 2017. Advances in detection of stress tolerance in plants through metabolomics approaches. *Plant Omics*, Vol. 10, No. 3, 153-163p.
150. Kibido T., Kunert K., Makgopa M. y Greve M. 2019. Improvement of Rhizobium- soybean symbiosis and nitrogen fixation under drought. *Food Energy Secur*, 1-14p.
151. King C. A. y Purcell L. C. 2005. Inhibition of N₂ fixation in soybean is associated with elevated ureides and amino acids. *Plant Physiology*, Vol. 137, 1389-1396p.
152. Kisiel, A.; Kepczynska, E. 2016. *Medicago truncatula* Gaertn. as a model for understanding the mechanism of growth promotion by bacteria from rhizosphere and nodules of alfalfa. *Planta*, Vol. 243, 1169-1189p.
153. Kour D. Rana K. L., Yadav N., Yadav AN., Kumar A., Mena VS., Singh B., Chauhan VS., Dhaliwal HS., Saxena AK. 2019. Rhizospheric microbiomes: mechanisms of plant growth promotion, and biotechnological applications for sustainable agriculture. In: Kurmar A., Mena VS (eds) *Plant growth promoting rhizobacteria for agricultural sustainability: from theory to practices*. Springer, Singapore, 19-65p.
154. Kusvuran, S., Dasgan, H. Y. 2017. Effects of drought stress on physiological and biochemical changes in (*Phaseolus vulgaris* L). *Legume Research*, Vol. 40, No. 1, 55–62p. <https://doi.org/10.18805/lr.v0i0.7025>
155. Ladrera, R., Marino, D., Estíbaliz, L., González, E.M. y Arrese-Igor, C. 2007. Reduced carbón availability to bacteroids and elevated ureides in nodules, but not in shoots, are involved in the nitrogen fixation response to early drought in soybean. *Plant Physiol.* Vol. 145: 539-546p.
156. Lanna, A. C.; Mitsuzono, S. T.; Rios, T. T. G.; Pereira, V. R. and Alves, F. C. M. 2016. Physiological characterization of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes, water-stress induced with contrasting response towards drought. *Australian J. Crop Science*. Vol. 10, No. 1, 1-6p.
157. Laraflores, M. 2015. El cultivo del frijol en México. *Revista Digital Universitaria* 16 (2). Disponible: <http://www.revista.unam.mx/vol.16/num2/art09/>. Consultado 17 de marzo de 2017.
158. Lardizabal, R., Arias, S. y Segura, R. 2013. Manual de Producción del frijol. USAID. Acceso. 24 p.
159. Levitt J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Academic Press. New York.
160. Lichtenthaler, H.K. y A.R. Wellburn: Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 603: 591-592, 1984.
161. Lim J. H. y Kim S. D. 2013. Induction of drought stress resistance by multi-functional PGPR *Bacillus licheniformis* K11 in pepper. *Plant Pathol. J.* Vol. 29, 201-208p.



162. Linné C.1753. Species plantarum: exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas. Holmiae: Impensis Laurentii Salvii 1-572.
163. Liu F., Xing S., Zhenyu H. M. y Ma B. 2013. Cytokinin-producing, plant growth-promoting rhizobacteria that confer resistance to drought stress in *Platycladus orientalis* container seedlings. *Appl Microbiol Biotechnol*, Vol. 97, 9155-9164p.
164. Lizana, C., Wentworth, M., Martínez, J.P., Villegas, D., Meneses, R., Murchie, E.H., Pastenes, C., Lercari, B., Vernieri, P., Horton P. y Pinto M. 2006. Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress: I. Effects of drought on yield and photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 57, 685-697p.
165. Long, S. 2001. Genes and signals in the *Rhizobium*-legume symbiosis. *Plant Physiol*. 125: 69-72.
166. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. y Rondall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biological Chemistry*. 193: 265-275.
167. Luna W., Estrada H., Morales E., Álvarez O. 2015. Estrés por déficit hídrico en plantas: una revisión. *Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia*, Vol.30, No. 3, 61-69p.
168. Luo Y., Wang F., Huang Y.L., Zhou M. Gao J., Yan T., Sheng H., An L. 2019. *Sphingomonas* sp. Cra20 increases plant growth rate and alters rhizosphere microbial community structure of *Arabidopsis thaliana* under drought stress”, *Front. Microbiol.*, Vol. 10, 1–19p.
169. Lyra, M.A; Nascimento, L.R.S; Fracetto, G.M.G. 2015. Legume-rhizobia signal exchange: promiscuity and environmental effects. *Front. Microbiol*, Vol. 6, No. 945, 1-9p.
170. Mahmood S, Daur I, Al-Solaimani SG, Ahmad S, Madkour MH, Yasir M, Hirt H, Ali S. y Ali Z. 2016. Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Silicon Synergistically Enhance Salinity Tolerance of Mung Bean. *Front. Plant Sci.* Vol. 7, Article. 876. 1-14p. doi: 10.3389/fpls.2016.00876.
171. Mahouachi J. 2009. Changes in nutrient concentrations and leaf gas exchange parameters in banana plantlets under gradual soil moisture depletion. *Scientia Horticulturae*, Vol. 120, 466-469p.
172. Mamnabi S., S. Nasrollahzadeh, K. Ghassemi-Golezani, Y. Raei. 2020. Improving physiological traits and grain yield of spring rapeseed by integrated fertilizer management under water deficit, *Saudi Journal of Biological Sciences*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.01.00>.
173. Maqueira, 2014. Relación de los procesos fisiológicos del desarrollo y de variables meteorológicas, con la formación del rendimiento en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.) en los Palacios Pinar del Rio. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. 100p.



174. Martín, G., Reyes, R. y Ramírez, J. 2015. Coinoculación de *Canavalia ensiformis* (L.) D.C. con *Rhizobium* y hongos micorrízicos arbusculares en dos tipos de suelos de Cuba. Cultivos Tropicales. Vol. 36, No. 2, 22-29p.
175. Martínez, L. 2016. Respuesta de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a la aplicación de productos biactivos previo a la inoculación con *Rhizobium*. Tesis de Maestría. INCA. 57 p.
176. Martínez, R.E. 2003. Diversity of *Rhizobium-Phaseolus vulgaris* symbiosis: overview and perspectives. Plant and Soil. Vol. 252, No. 1, 11-23p.
177. Masson, C., Giraud, E., Perret, X. y Batut, J. 2009. Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes: how many *Rhizobium* recipes? T. Microb. vol. 17, 458-466p.
178. Mattos, L. M.y Moretti, C.L. 2015. Oxidative stress in plants under drought conditions and the role of different enzymes. Enzyme Engineering. Vol. 5, 136-142p.
179. Médici L. O., Azevedo R. A., Canellas L. P., Machado A. T. y Pimentel C. 2007. Stomatal conductance of maize under water and nitrogen deficits. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Vol. 42, 599-601p.
180. Mayz, J. 2004. Fijación biológica de nitrógeno. Revista UDO Agrícola. Vol. 4, No. 1, 1-20p.
181. Medrano, H y Flexas, J. 2002. Capítulo 1. Respuesta de las plantas al estrés hídrico. En: Fundamentos de Fisiología Vegetal (eds. J. Azcón-Bieto y M. Talón), Ed. McGraw-Hill Interamericana-Ediciones de la Universidad de Barcelona, Madrid- Barcelona. España.
182. Meher, P., Ashok, K.R. y Manohar, R.D. 2017. Effect of PEG-6000 imposed drought stress on RNA content, relative water content (RWC), and chlorophyll content in peanut leaves and roots. Saudi J Biol Sci. 10.1016/j.sjbs.2017.04.008.
183. Mejías, D. 2018. Evaluación tecnológica explotativa y energética de la sembradora fertilizadora de granos neumática JM 2670 PD SH EX-C3,90 durante la siembra de frijol en la Empresa agroindustrial de Granos valle de Caonao. Tesis de Maestría. Universidad Martha Abreu de la Villa. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 89 p.
184. Miller, J., Zary, K.W. y Fernández, G.C.J. 1986. Inheritance of N₂ fixation efficiency in cowpea. Euphytica. Vol. 35, 551-560p.
185. Miller, J., Scott, J.S., Zary, K.W. y Hair, S.K. 1982. The influence of available nitrate levels on nitrogen fixation in three cultivars of cowpea. Agron. J. Vol. 74, 14-18p.
186. MINAG, 2020. Manual práctico para uso de bioproductos y fertilizantes líquidos. Departamento de Suelos y Fertilizantes. La Habana. 21p.
187. MINAG, 2016. Producción sostenible de frijol en Cuba. https://www.minag.gob.cu/sites/default/files/noticias/produccion_sostenible_del_frijol_comun_en_cuba.pdf. Consultada 24-4-2019.



188. MINAG, 2010. Guía técnica del cultivo de frijol común. 12 p.
189. Mohammadi, K., Sohrabi, Y., Heidari, G., Khalesro, S. y Majidi, M. 2012. Effective factors on biological nitrogen fixation. *African Journal of Agricultural Research*. Vol. 7, No. 12, 1782-1788p.
190. Mondani F., Khani K., Jalali S. y Saeidi, M. 2019. Evaluating effects of plant growth-promoting rhizobacteria on the radiation use efficiency and yield of soybean (*Glycine max*) under water deficit stress condition. *Agricultural Water Management*. Vol. 213, 707-713p.
191. Morales, D., Dell Amico, J.M., Jerez E., Rodríguez, P., Álvarez, I., Díaz, Y. y Martín R. 2017a. Efecto del Quitomax en plantas de (*Phaseolus vulgaris* L.) sometidas a dos regímenes de riego. I. Crecimiento y rendimiento. *Cultivos Tropicales*. Vol. 38, No. 2, 119-128p.
192. Morales, D., Dell Amico J.M., Jerez, E., Rodríguez, P., Álvarez, I., Díaz, Y. y Martín R. 2017. Efecto del Quitomax en plantas de (*Phaseolus vulgaris* L.) sometidas a dos regímenes de riego. II. Variables fisiológicas. *Cultivos Tropicales*. Vol. 38, No. 4, 92-101p.
193. Moreno, L.P. 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agron. Colomb.* 27(2): 179-191.
194. Morgan, J., Bending, G. y White, P. 2005. Biological costs and benefits to plant-microbe interactions in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* Vol. 56: 1729-1739p.
195. Monteoliva, M.I., Bustos D., Luna C. 2019. Abordajes fisiológicos para el estudio del estrés abiótico en plantas: disertaciones y protocolos. Buenos Aires Argentina. Ediciones INTA, 87 p: il. ISBN: 978-987-521-986-1.
196. Mouradi, M., Bouizgaren, A., Farissi, M., Latrach, L., Qaddoury, A. y Ghoulam, C. 2016. Seed osmopriming improves plant growth, nodulation, chlorophyll fluorescence and nutrient uptake in alfalfa (*Medicago sativa* L.)-rhizobia symbiosis under drought stress. *Sci. Hortic.* Vol. 213, 232-242p.
197. Moustafa I. A. 2015. Use de Rhizobacteria for the alleviation of plant stress. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala Faculty of Forest Science Department of Forest Mycology and Plant Pathology Uppsala. 58p.
198. Mohtashami, M.A., Naderi, A.A., Ghanbari, M., Fazel, A., y S. Lak. 2016. Biochemical characteristics of red bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes as affected by seed pre-treatment with growth regulators. *Iranian Journal of Plant Physiology*, Vol. 6, No. 2, 1643-1649p.
199. Mc Cready, J., Vernon, S. y Owens, H.S. 1950. Determination of starch and amyloase in vegetables. *Analytical Chemistry*. 22(9): 1156-1158.



200. Mutuma, S.P; Okello, J.J; Karanja, N.K; Woomer, P. 2014. Smallholder farmers of legume inoculants in Western Kenya. *African Crops Science Journal* Vol. 22, No. 3, 205-214 p.
201. Nápoles, M.C., Cabrera, J.C., Onderwater, R., Wattiez, R., Hernández, I., Martínez, L. y Núñez, M. 2016. Señales producidas por *Rhizobium leguminosarum* en la interacción con frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Cultivos Tropicales*. Vol. 37, No. 2, 37-44p.
202. Nápoles García M. C., Rivera Espinosa R, González Cañizares P. J. y Falcón Rodríguez A. B. 2015. Impacto ambiental de Bioproductos en la agricultura. Premio MES al Mérito Científico Técnico Al resultado ya aplicado de mayor contribución a la protección del Medio Ambiente en Cuba.
203. Nápoles, M.C., Gómez, G., Costales, D., Freixas J.A., Guevara, E., Meira S.; González, G. y Ferreira, A. 2011. Signals in soybean's inoculants. *Soybean - Biochemistry, Chemistry and Physiology*. Edited by InTech - Open Access Publisher. ISBN 978-953-307-219-7. 654 p.
204. Nápoles, M.C., Guevara, E., Montero, F., Rossi, A. y Ferreira, A. 2009. Role of *Bradyrhizobium japonicum* induced by genistein on soybean stressed by water deficit. *Spanish Journal of Agricultural Research*. Vol. 7, No. 3, 665-671p.
205. Nápoles, M. C; Gómez, G; Costales, D. 2008. Factores de Nodulación. Experiencia en Cuba. *Cultivos Tropicales*, Vol. 28, No. 4, 71-80p. ISSN 0258-5936.
206. Nápoles, M. C., Cabrera, J. C., Varela, M., González, G., Nogueras, F., Cricco, J., Guevara, E. y Meira, S. 2003. Influencia de inoculantes y factores edáficos en el rendimiento de la soya. *Cultivos Tropicales*. Vol. 30, No. 3, 18-22p.
207. Nápoles, M.C. 2003. Inducción de la nodulación en soya (*Glycine max.* L Merrill) por *Bradyrhizobium sp.* Influencia del medio de cultivo. Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Biológicas. La Habana. 119 p.
208. Nápoles, M. C.: Gutiérrez, A. y Corbera, J. 2002. Medio de cultivo para *B. japonicum*. Biopreparado resultante". Certificado Nro. 22 797. Concedido por resolución No. 556/2002.
209. Nematollahi, D., Eisvand, H.R., Sanavi, A.M., Akbari, N. e Ismaili, A. 2017. The effects of various levels of water deficit stress on forage yield and physiological characteristics of four cultivars of clover (*Trifolium spp*) under low input condition. *Iranian Journal of Plant Physiology*. Vol. 7, No. 3, 2125-2134p.
210. Nemeskéri E., Molnár K., Pék Z., Helyes L. 2018. Effect of water supply on the water use-related physiological traits and yield of snap beans in dry seasons. *Irrigation Science*. Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature. doi.org/10.1007/s00271-018-0571-2.



211. Netto A.T., Campostrini E., Oliveira J.G., Bressan R.E. 2005. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. *Scientia Horticulturae*. Vol. 104, No. 2, 199-209p.
212. Ngumbi, E. y Kloepper, J. 2016. Bacterial-mediated drought tolerance: Current and future prospects. *Applied Soil Ecology*, Vol. 105, 109-125p.
213. Nunes, A., Fernandes, M., Santos, S., Kikuchi, A., Martínez, A. L., Pimenta J. A., Caixeta, H., Bianchini, E. y Stolf, R. 2018. Enhanced drought tolerance in seedlings of Neotropical tree species inoculated with plant growth-promoting bacteria. *Plant Physiology and Biochemistry*. Vol. 130, 277-288p.
214. Núñez Cobo, J. y Verbist K. 2018. Atlas de Sequía de América Latina y el Caribe. (Eds.). UNESCO y CAZALAC, 204p.
215. Núñez, C.E.; Santos, M. y Segura, M. 2009. Acumulación y distribución de materia seca de cuatro variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) en Zipaquirá, Cundinamarca (Colombia). *Revista. Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, Vol. 62, No. 1, 4823-4834p.
216. Olanrewaju O. S., Glick B. R. y Babalola O. O. 2017. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World J Microbiol Biotechnol*, Vol. 33, 197p.
217. Oliva, G.J.J. 2008. Mutualismo y patogénesis: Importancia de Genes Implicados en la Virulencia para el Establecimiento de la Simbiosis *Rhizobium-leguminosa*. Tesis doctoral. Universidad de Granada. Departamento de microbiología del suelo y sistemas simbióticos. Granada. España. p. 259.
218. Olivares, J. 2017. Cuatro décadas en la simbiosis *Rhizobium-leguminosa*. Academia de Ciencias Matemáticas, fisicoquímicas y naturales de Granada. España. 2003. 31p.
219. Omara El-Dein A., Elbagory M. 2018. Enhancement of Plant Growth and Yield of Wheat (*Triticum aestivum* L.) under Drought Conditions Using Plant-growth-promoting Bacteria. *Annual Research and Review in Biology*. Vol. 28, No. 6, 1-18p.
220. ONEI. Anuario Estadístico de Cuba. 2018. Panorama ambiental. Lluvia total anual por provincias. ONEI, República de Cuba. <http://www.onei.cu/publicaciones> pdf. Consultado: 30 sep. 2019.
221. ONEI. Anuario Estadístico de Cuba 2018. Capítulo 9: Agricultura, ganadería, silvicultura y pesca. 2017. República de Cuba. Disponible en: <http://www.onei.cu>. Consultado: 16 de abril de 2019.
222. ONEI. ONEI. Anuario Estadístico de Cuba. 2017. Panorama ambiental. Lluvia total anual por provincias. ONEI, República de Cuba. <http://www.onei.cu/publicaciones> pdf. Consultado: 6 jul. 2020.



223. Osakabe Y., Osakabe K., Shinozaki K., y Tran LP. 2014. Response of plants to water stress. *Plant Science*. Vol.5: article 86, 1-8p. doi: 10.3389/fpls.2014.00086.
224. Osman H. S. 2015. Enhancing antioxidant-yield relationship of pea plant under drought at different growth stages by exogenously applied glycine betaine and proline. *Annals of Agricultural Sciences*.
225. Pageau, K., Reisdorf, M., Morot, J.F. y Masclaux, C. 2006. The two senescence-related markers, GS1 (cytosolic glutamine synthetase) and GDH (glutamate dehydrogenase), involved in nitrogen mobilization, are differentially regulated during pathogen attack and by stress hormones and reactive oxygen species in *Nicotiana tabacum* L. leaves. *J. Exp. Bot.* Vol. 57: 547-557p.
226. Palacio R., Ramos B. P., Coria J. L., Nava B. y Sáenz J. 2016. Mecanismos de las PGPR para mitigar el estrés abiótico de plantas. *Árido-Ciencia*, Vol. 1, No. 1, 4-11p.
227. Paneque, V.M., Calaña, J.M., Calderón, M., Borges, Y., Hernández, T. y Caruncho, M. 2010. Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos. Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las plantas. INCA. 62 p. ISBN: 978-050-7023-50-0.
228. Paradiso R., Arena C., De Micco V., Giordano M., Aronne G. y De Pascale S. 2017. Changes in Leaf Anatomical Traits Enhanced Photosynthetic Activity of Soybean Grown in Hydroponics with Plant Growth Promoting Microorganisms. *Front. Plant Sci.* Vol. 8, 674p. doi: 10.3389/fpls.2017.00674
229. Passioura, J.B. 2002. Soil conditions and plant growth. *Plant Cell and Environment*. Vol. 25, 311-318p.
230. Paul D., y Nair S. 2008. Stress adaptations in a plant Growth Promoting Rhizobacterium (PGPR) with increasing salinity in the coastal agricultural soils. *Journal of Basic Microbiology*. Vol 48, 378-384p.
231. Pedro Gervásio G. K. 2019. Rizobios como promotores del crecimiento vegetal y alternativa para disminuir la fertilización en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.). Tesis presentada en opción al título académico de Maestro en Ciencias en Nutrición de las plantas y Biofertilización. Mayabeque 57p.
232. Pedroza, A., Trejo, R., Sánchez, I., Samaniego, J.A. y Yáñez, L.G. 2016. Evaluación de tres variedades de frijol pinto bajo riego y sequía en Durango, México. *Agronomía Mesoamericana*. Vol. 27, No. 1, 167-176p.
233. Peláez, O. 2007. Vigías del clima. Disponible en <http://www.granma.cubasi.cu> Consultado el 13 de marzo 2008.



234. Pérez A. 2016. Evaluación de cinco cultivares de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Fundamentos Teóricos. Las Tunas. La Habana: Editorial Universitaria del Ministerio de Educación Superior. 42 p. ISBN 978-959-16-3215-9.
235. Peticari, A. 2005. Inoculación de calidad para un máximo aprovechamiento de la FBN. Actas del Congreso Mundo Soja, Buenos Aires (Argentina). 121-126p.
236. Polania, J., Poschenrieder, C., Rao, I., Beebe, S. y Ryser, P. 2017. Root traits and their potential links to plant ideotypes to improve drought resistance in common bean. Theoretical and Experimental Plant Physiology. Vol. 29, 143-154p.
237. Polania, J., Poschenrieder, C., Rao, I. y Beebe, S. 2016. Estimation of phenotypic variability in symbiotic nitrogen fixation ability of common bean under drought stress using ¹⁵N natural abundance in grain. Eur. J. Agron. Vol. 79, 66-73p.
238. Polania J., Poschenrieder C, Beebe S, Rao IM. 2016a. Effective use of water and increased dry matter partitioned to grain contribute to yield of common bean improved for drought resistance. Front Plant Sci 7:1-10. Doi: 10.3389/fpls.2016.00660.
239. Polanía, J.A., Rao, I.M., Mejía, S., Beebe, S.E. y Cajiao, C. 2012. Características morfo-fisiológicas del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) relacionadas con la adaptación a sequía. Acta Agron. Vol. 61, No. 3, 197-206p.
240. Polón, R., Ruiz, M., Miranda, A. y Ramírez, M.A. 2017. Efecto del estrés hídrico sobre el rendimiento de los granos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Revista Ciencias técnicas Agropecuarias. Vol. 26, No. 1, 66-70p.
241. Prasad U. 2016. Diversity of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), Int. J. Res. Rev., vol. 2, No. 3, 56–64p.
242. Prell, J. y Poole, P. 2006. Metabolic changes of rhizobia in legume nodules. Trends Microbiol. Vol. 14: 161-168p.
243. Prudent M, Salon C, Souleimanov A, Emery R. J., Smith D. L. 2015. Soybean is less impacted by water stress using *Bradyrhizobium japonicum* and thuricin-17 from *Bacillus thuringiensis*. Agron Sustain Dev, Vol. 35, 749–757p. doi:10.1007/s13593-014-0256-z.
244. Pungulani, L.L.M., Millner, J.P., Williams, W.M. y Banda, M. 2013. Improvement of leaf wilting scoring in cowpea (*Vigna sinensis* (L.) Walp.): From qualitative scale to quantitative index. Aust. J. Crop Sci. Vol. 7, No. 9, 1262-1269p.
245. Puente M. L, Gualpa J. L, Lopez G. A, Molina R. M, Carletti S. M, Cassán F. D. 2017. The benefits of foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean are explained by an auxin signaling model. Symbiosis (Online). <https://doi.org/10.1007/s13199-017-0536-x>.



246. Quintana, A., Iracheta, L., Méndez, I. y Alonso, M. 2017. Caracterización de genotipos élite de *Coffea canephora* por su tolerancia a la sequía. *Agronomía Mesoamericana*. Vol. 28, No. 1, 183-198p.
247. Quintana, W.A., Pinzón, E.H. y Torres, D.F. 2017. Efecto de un fosfato térmico sobre el crecimiento y producción de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Cv Ica Cerinza. *Rev. U.D.C.A Act. y Div. Cient.* Vol. 20, No.1, 51-59p.
248. Quintero, E., Calero, A., Pérez, Y. y Gómez L.E. 2018. Efecto del diferentes bioestimulantes en el rendimiento del frijol común. *Revista Centro Agrícola*. Vol. 45, No. 3, 73-80p.
249. Rai, R., Dash, P.K., Mohapatra, T. y Sing, A. 2012. Phenotypic and molecular caracterización of indigenous rhizobia nodulating chickpea in India. *Indian Journal of Experimental Biology*. Vol. 50, No. 5, 340-350p.
250. Rajasekaran, S., Sankar, K.G., Jayakumar, K., Rajesh, M., Bhaaskaran, C. y Sundaramoorthy, P. 2012. Biofertilizers-Current Status of Indian Agriculture. *Inter. J. Environ. Bioen.* Vol. 4, No. 3, 176-195p.
251. Ramos, E., Bonilla, S. y Aguilar, M. 2018. Interacciones entre plantas y bacterias promotoras de crecimiento vegetal. *CITECSA*. Vol. 10, No. 15, 23-31p.
252. Raya-Pérez, J.C. 1998. Resistencia a sequía, un avistamiento. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* Vol. 4, No. 2, 267-272p
253. Remans, R., Ramaekers, L., Schelkens, S., Hernandez, G., Garcia, A., Reyes, J.L. y Vanderleyden, J. 2008. Effect of *Rhizobium*–*Azospirillum* coinoculation on nitrogen fixation and yield of two contrasting *Phaseolus vulgaris* L. genotypes cultivated across different environments in Cuba. *Plant and Soil*. Vol. 312, No. 1-2, 25-37p.
254. 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*, Vol. 1, No. 2, 191-203p.
255. Reyes Y., Mazorra, L. M. y Núñez, M. 2008. Aspectos fisiológicos y bioquímicos de la tolerancia del arroz al estrés salino y su relación con los brasinoesteroides. *Revista Cultivos Tropicales*, Vol. 29, No. 4. 67-75p.
256. Ribeiro R., Ormeño, E., Fuzinatto, R., Graham, P., Martinez, E. y Hungria, M. 2013. Novel *Rhizobium* lineages isolated from root nodules of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Andean and Mesoamerican areas. *Res. Microbiol.* Vol. 164, 740-748p.
257. Rivera, R., Calderón, A., Nápoles, M.C., Falcón, A., Martin, J.V., Marrero, Y., Lara, D., Calaña, J.M., Mederos, J.D., Coll, Y. y Nuñez, M. 2015. La factibilidad de la aplicación conjunta de biofertilizantes y bioestimulantes en el cultivo del frijol. En: “Impacto ambiental de



- bioproductos en la agricultura”. Premio MES al Resultado de Mayor Contribución al Medioambiente.
258. Rodés G. R. y Collazo, O.M. 2006. Manual de prácticas de fotosíntesis. Primera Edición. ISBN: 970-32-3313-9. Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 7-13.
259. Romero C.S., López C., Kohashi J., Miranda S., Aguilar V., Martínez C. 2019. Cambios en el rendimiento y sus componentes en frijol bajo riego y sequía. *Rev. Mex. Ciencias Agrícolas*, Vol. 10, No. 2, 351-364p.
260. Romero C; Lazaro Y; Santana Y; Miranda E. 2017. Efecto de la inoculación de *Rhizobium* sobre el crecimiento de *Phaseolus vulgaris* (frijol) en condiciones semicontroladas. *Revista Científica*, Vol. 19, No. 1, 66-74 p. ISSN: 1542-3297.
261. Rodríguez M. 2017. Respuesta agroproductiva de cuatro cultivares comerciales de *Phaseolus vulgaris* L. en época tardía. Tesis presentada para obtener el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Central Martha Abreu de las Villas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 37 p.
262. **Rodrigues** A. C., Gomes, J. A., Bonifacio A., Barreto M. 2013. Metabolism of nitrogen and carbón: Optimization of biological nitrogen fixation and cowpea development. *Soil Biology y Biochemistry* 67, 226-234 doi: 10.1016/j.soilbio.2013.09.001.
263. Rodríguez, A. y Sicardi, M., 2010. Competition for nodule occupancy between introduced and native strains of *Rhizobium leguminosarum* biovar trifolii. *Biol. Fertil. Soils*. Vol. 46: 419-425p.
264. Rolli E, Marasco R, Vigani G., Ettoumi B., Mapelli F., Deangelis ML., Gandolfi C., Casati E., Previtali F., Gerbino R., Pierotti Cei F., Borin S., Zocchi G, Daffonchi D. 2015. Improved plant resistance to drought is promoted by the root-associated microbiome as a water stress-dependent trait. *Enviromental Microbiology*. Vol. 17, 316–331p.
265. Rosabal, L., Martínez, L., Reyes, Y. Núñez, M. 2013. Resultados preliminares del efecto de la aplicación de Biobras-16 en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Cultivos Tropicales*. Vol. 34, No. 3, 71-75p.
266. Rosales, M.A., Cuellar, S.M., De la Paz, M.M., Acosta, G.J. y Covarrubias, A.A. 2013. Physiological traits related to terminal drought resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 93, 324-331p.
267. Ruiz. M. 2015. Comportamiento del arroz (*Oryza sativa* L.) inoculado con hongos micorrizicos arbusculares y expuesto a diferentes a diferentes condiciones hídricas en el suelo. Tesis presentada en opción al título de Doctor en Ciencias Agrícolas. 100p.
268. Saeed M, Ilyas N, Mazhar R, Bibi F, Batool N. 2016. Drought mitigation potential of *Azospirillum* inoculation in canola (*Brassica napus*). *J Appl Bot Food Qual* Vol. 278, 270p. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2016.089.035>.



269. Sahgal, M; Jaggi, V. 2018. Rhizobia: Culture Collections, Identification, and Methods of Preservation. In Microbial Resource Conservation, 175-197 p. Springer, Cham.
270. Saikia, J., Sarma, R.K., Dhandia, R., Yadav, A., Bharali, R., Gupta, V.K., Saikia, R. 2018. Alleviation of drought stress in pulse crops with ACC deaminase producing rhizobacteria isolated from acidic soil of Northeast India. Sci. Rep. 8, 3560.
271. Salgado G. L., Dias da Silva D., Gómez R., Ferreira M. C. Barata da Silva G. 2019. Photosynthetic apparatus protection and drought effect mitigation in acaí palm seedlings by rhizobacteria. Acta Physiologiae Plantarum, Vol. 41, 163p.
272. Sánchez D., Cervera M. T., Escolano Miguel A., Velez M. D., de María N., Díaz L., Sánchez R., Aranda I., Guevara M. A. 2018. Drought escape can provide high grain yields under early drought in lentils. Brazilian Society of Plant Physiology. doi.org/10.1007/s40626-018-0136-z.
273. Sánchez, F. O. 2018. Evaluación de la eficiencia de un biofertilizante de residuos orgánicos en relación a otras fuentes de fertilización en el desarrollo del cultivo de Rábano (*Raphanus sativus* L.). Tesis presentada para optar por el título profesional de Ingeniero Ambiental. Universidad Peruana Unión. Facultad de Ingeniería y Arquitectura. 183 p.
274. Sánchez, A. D. 2016. Caracterización de la respuesta fisiológica de cinco cultivares de frijol arbustivo (*Phaseolus vulgaris* L.) bajo condiciones de estrés por déficit hídrico. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agrarias. Departamento de agronomía. 102 p.
275. Sánchez E., Ruiz J. M., y Romero. 2016. Compuestos nitrogenados indicadores de estrés en respuesta a la dosis tóxicas y deficiente de nitrógeno en frijol ejotero. Revista Electrónica Nova Scientia, Vol. 8, No.1, 228-244.
276. Sánchez, A. D., Garcés, G. y Restrepo, H. 2014. Biochemical and physiological characterization of three rice cultivars under different daytime temperature conditions. Chilean Journal of Agricultural Research. Vol. 74, No. No. 4, 373-379p.
277. Sánchez, E. 2013. Evaluación de biofertilizantes en el cultivo de Orégano en la granja experimental querochaca. Tesis de grado. Universidad técnica de Ambato. Ambato-Ecuador.
278. Sánchez, E., Rubio, M., Cervilla, L.M., Blasco, J.J., Rios, J.J., Rosales, M.A., Romero, L. y Ruiz, J.M. 2010. Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. Plant Science, Vol. 178, No. 1, 30-40p.
279. Sánchez, M. y Aguirreola, J. 2008. Capítulo 2. El agua en la planta. En: Fundamentos de Fisiología Vegetal (. J. Azcón-Bieto y M. Talón), Ed. McGraw- Hill Interamericana-Ediciones de la Universitat de Barcelona, Madrid-Barcelona, pp. 25-40.



280. Sandhya V., Ali S. Z., Grover M. Reddy G., Venkateswarlu B. 2010. Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. *Plant Growth Regul.* Vol. 62, 21-30p.
281. Santos, C.M., Segura, M.A. y Eduardo, C.N.L. 2010. Análisis de crecimiento y relación fuente-demanda de cuatro variedades de papa. (*Solanum tuberosum* L.) en el municipio de Zipaquirá (Cundinamarca, Colombia). *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, Vol. 63, No. 1, 5253-5266p.
282. Sarma, R.; Saikia, R. 2014. Alleviation of drought stress in mung bean by strain *Pseudomonas aeruginosa* GGRJ21. *Plant Soil*, vol. 377, 111-126p.
283. Shintu P. V. y Jayaran K. M. 2015. Phosphate solubilising bacteria (*Bacillus Polymyxa*)- An effective approach to mitigate drought in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) *Tropical Plant Research*, Vol. 2, No. 1, 17-22p.
284. Schwanz, P. Picon, C., Vivin, P., Dreyer, E., Guehl, J. y Polle, A. 1996. Responses of antioxidative system to drought stress in pedunculate oak and maritime pine as modulated by elevated CO₂. *Plant Physiology*. Vol. 110, 393-402p.
285. Sharifi R. y Ryu C. M. 2017. Chatting with a tiny belowground member of the holobiome: communication between plants and growth-promoting rhizobacteria. *Adv. Bot. Res.* Vol. 82, 135-160p.
286. Silva, L. 2014. Tecnologías relacionadas con biofertilizantes. Boletín tecnológico. Industria y comercio Superintendencia. Grupo Banco de Patentes. Bogotá Colombia.
287. Sinclair, T. R. y Serraj R. 1995. Dinitrogen fixation sensitivity to drought among grain legume species. *Nature* Vol. 378, 344p.
288. Singh DP Singh HB Prabha R, editores, 2016. Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity. Vol. 2. Functional Applications India: Springer.
289. Smith, K. (2002). Advances in Feeding Soybean Meal. <http://www.soymeal.org/ksmith1.html>. Marzo/2002.
290. Solano, O., R. Vázquez, J.A. Menéndez, E. Pérez y M. Figueredo. 2006. Monitoring and early warning systems for potentially dangerous vegetation fires in Cuba. In *Strengthening Operational Agrometeorological Services at the National Level*. Technical Bulletin WAOB-2006-1 (1277): 9-17p.
291. Srivastava, M. 1998. Effects of ionizing radiation on Xanthine oxidoreductase system. Doctor Thesis. Jawaharlal Neru University. New Delhi, 100p.



292. Staudinger, C., Mehmeti, V., Gil, E., Gonzalez, E.M., Hofhans, F., Bachmann, G., Wienkoop, S. 2016. Evidence for a rhizobia-induced drought stress response strategy in *Medicago truncatula*. J Proteome. Vol. 136, 202–213p.
293. Suhag M., 2016. Potential of biofertilizers to replace chemical fertilizer. Int. Adv. Res. Journal Sci. Eng. Technol, Vol. 3, No. 5, 163-167p.
294. Sun J., Gu J., Zeng, J., Han S., Song A., Chen F. y Chen S. 2013. Changes in leaf morphology, antioxidant activity and photosynthesis capacity in two different drought-tolerant cultivars of chrysanthemum during and after water stress. Scientia Horticulturae: Vol. 161, 249-258p.
295. Tambussi, A. E. 2004. Fotosíntesis, fotoprotección, productividad y estrés abiótico: algunos casos de estudio. Memoria presentada para optar al grado de Doctor en Biología. Barcelona. España.
296. Tairo E. V., Mtei K. M. y Ndakidemi P. A. 2017. Influence of water stress and rhizobial inoculation on the accumulation of chlorophyll in (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivars. International Journal of Plant & Soil Science. Vol. 15, No. 4, 1-13p.
297. Tairo E. V. y Ndakidemi, P. A. 2013. *Bradyrhizobium japonicum* inoculation and phosphorus supplementation on growth and chlorophyll accumulation in soybean (*Glycine max* L.). Am. J. Plant Sc., Vol. 4, 2281-2289p.
298. Taiz, L. y Zeiger, E. 2010. Plant physiology. 5th ed. Sinauer Associates, Inc. Redwood City, CA. 644-645p.
299. Tajini, F., Trabelsi, M., Drevon, J.J. 2012. Comparison between the reference *Rhizobium tropici* CIAT899 and the native *Rhizobium etli* 12a3 for some nitrogen fixation parameters in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under water stress. Afr. J. Microbiol. Res. Vol. 6, , No. 18, 4058-4067p.
300. Tamayo, O. y Boicet T. 2012. Utilización de diferentes índices como criterios de tolerancia a la sequía en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Trabajo de Diploma. Universidad de Granma. 38 p.
301. Tanaka, Y.; Sugano, S.S.; Shimada, T. y Hara-Nishimura, I. 2013. “Enhancement of leaf photosynthetic capacity through increased stomatal density in Arabidopsis”, New Phytologist, Vol. 198, no. 3, 757-764p, ISSN 1469-8137, DOI 10.1111/nph.12186.
302. Taiz, L. & Zeiger, E. 2002. Plant Physiology. 3ª ed. Sinauer Associates, (Versión electrónica) Inc. Sunderland, MA, EEUU. p.690.
303. Tilak, K.V.B.R., Ranganayaki N. y Manoharachari. C. 2006. Synergistic effects of plant-growth promoting rhizobacteria and *Rhizobium* on nodulation and nitrogen fixation by pigeon pea (*cajanus cajan*). European Journal of Soil Science, Vol. 57, 67-71p.



304. Torabian S., Reza M. S., Mohammadi A. D. y Toorchi M. 2018. Exogenous Spermidine Affected Leaf Characteristics and Growth of Common Bean Under Water Deficit Conditions. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 1-13p.
305. Travaglia C, Reinoso H, Bottini R. 2009. Application of abscisic acid promotes yield in field-cultured soybean by enhancing production of carbohydrates and their allocation in seed. Crop Pasture Sci, Vol. 60, 1131–1136p.
306. Treviño, C. y Rosas R. 2013. El frijol común: factores que merman su producción. Revista de Divulgación Científica y Tecnología de la Universidad VeracruzanaXXVI(1).https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol26num1/articulos/el_frijol.html.
307. Tuberosa, R. y Salvi, S. 2006. Genomics-based approaches to improve drought tolerance of crops. TRENDS in Plant Science, Vol. 11, No. 8, 25-29p.
308. Turner, N.C. 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. Plant and Soil. 58: 339-366.
309. Toebe, M., Betânia, B., José, L.S., Cargnelutti, F.A. y Reis, S. T. 2010. Estimativa da área foliar de *Crambe abyssinica* por discos foliares e por fotos digitais. Ciência Rural. Vol. 40, No. 2, 475-478p.
310. Todd, C.D., Tipton, P.A., Blevins, D.G., Piedras, P., Pineda, M. y Polacco, J.C. 2006. Update on ureide degradation in legumes. Journal of Experimental Botany. Vol. 57, No. 1, 5-12p.
311. Torres A., Héctor E. F., Hernández G., Cué J. L. y Fosado A. 2017. Efectos del Biostán en los índices de crecimiento y los pigmentos fotosintéticos de *Phaseolus vulgaris* L. Revista La Técnica. No 18, 25-35p.
312. Urbina, I, Sardans, J., Beierkuhnlein, C., Jentsch, A., Backhaus, S., Grant, K., Kreyling, J. y Peñuelas J. 2015. Shifts in the elemental composition of plants during a very severe drought. Environmental and Experimental Botany. 111: 63-73.
313. Vaishnav A., Kasotia A., Choudhary DK. 2018. Role of functional bacterial phylum proteobacteria in Glycine max growth promotion under abiotic stress: a Glimpse on case study. In: Choudhary DK, Kumar M, Prasad R, Kumar V (eds) In silico approach for sustainable agriculture. Springer, Singapore, 17–49p.
314. Vallejos, B., Ponce, D., Heinrich, P. y Doll, U. 2019. Área y biomasa foliar total de *Nothofagus glauca* (Phil) Krasser en zona Andina, Región del Maule, Chile. Colombia forestal, Vol. 22, No. 2, 5-14p.
315. Villazón J. A., Martín G., Cobo Y. 2017. Análisis multivariado de las propiedades químicas de los suelos pardos erosionados. Revista Centro Agrícola Vol. 44, No. 1. 56-62p.



316. Vimala Gandhi S., Manohar N., Jayashree S. 2018. Influence of *rhizobium* on the Growth and Symbiotic Performance of *Arachis hypogaea* L under the Water Stress Condition. American Journal of Agricultural Science. Vol. 5, No. 1, 10-18p.
317. Vogeleeer P, Tremblay YD, Mafu AA, Jacques M, Harel J. 2014. Life on the outside: role of biofilms in environmental persistence of Shiga-toxin producing *Escherichia coli*. Front Microbiol, Vol. 317, No. 5, 1-12p. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00317>.
318. Vurukonda, S.S.K.P., Vardharajula, S., Shrivastava, M., Ali, S.K.Z., 2016. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. Microbiol. Res.184, 13–24p.
319. Waqas M., Kim Y-H., Khan AL., Shahzad R., Asaf S., Hamayun M. 2017. Additive effects due to biochar and endophyte application enable soybean to enhance nutrient uptake and modulate nutritional parameters. Journal of Zhejiang. University-Science B. (Biomed and Biotechnol) Vol. 18, No. 2, 109-124p. Doi. 10.1631/jzus.B1500262.
320. Wang, T.; Romero, J. y López, I. 2014. *Rhizobium* y su destacada simbiosis con plantas. <http://www.iblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap8/>.
321. Waters, J.K. y Emerich, D.W. 2000. Transport of metabolites to and from symbiosomes and bacteroides. En: Prokaryotic nitrogen fixation: a model system for the analysis of a biological process. Amsterdam, Holanda. Elsevier Science Publisher, 549-558p.
322. Werner, A.K.; Sparkes, I.A.; Romeis, T. y Witte, C-P. 2008. Identification, biochemical characterization, and subcellular localization of allantoate amidohydrolases from Arabidopsis and soybean. Plant Physiol., vol. 146, 418-430p.
323. White, J.; Prell, J.; James, E.K. y Poole, P. 2007. Nutrient sharing between symbionts. Plant Physiol., vol. 144, 604-614p.
324. Yadegari, M. y Rahmani. H. A. 2010. Evaluation of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds' inoculation with *Rhizobium phaseoli* and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and yield components. *African Journal of Agricultural Research*, Vol. 5, No. 9, 792-799p, ISSN: 1991-637X.
325. Yanni Y., Zidan M., Dazzo F., Rizk R., Mehesen A., Abdelfattah F. y Elsadany A. 2016. Enhanced symbiotic performance and productivity of drought stressed common bean after inoculation with tolerant native rhizobia in extensive fields. Agriculture, Ecosystems and Environment, Vol. 232, 119-128p.
326. Yaru Lin. Dexter B. Watts. Joseph W. Kloepper Yucheng Feng y H. Allen Torbert. 2019. Influence of plant growth promoting Rhizobacteria on Corn growth under drought. Communications in soil science and plant analysis. Doi.org/10.1080/00103624.2019.1705329.



327. Yin A, Jia Y, Qiu T, Gao M, Cheng S, Wang X, Sun Y. 2018. Poly-c-glutamic acid improves the drought resistance of maize seedlings by adjusting the soil moisture and microbial community structure. *Appl Soil Ecol*, Vol. 129, 128–135p.
328. Young, E. G. y Conway, C. F. 1942. On the estimation of allantoin by the Rimini-Schryver reaction. *J. Biol. Chem.*, vol. 142, p. 839-853.
329. Youssef Yannia, Zidan Mohamed, Dazzo Frank, Rizk Rizk, Mehesen Ahlam, Abdelfattah Faiza, Elsadany Abdelgawad, 2016. Enhanced symbiotic performance and productivity of drought stressed common bean after inoculation with tolerant native rhizobia in extensive fields. *Agriculture, Ecosystems and Environment* Vol. 232. 119-128p.
330. Yoshida S, Forno D, Cock J, Gomez K. 1976. Determination of sugar and starch in plant tissue In: S Yoshida (Eds) *Laboratory manual for physiological studies of rice* 3rd Edition IRRI, Los Baños Philippine, p 46-49.
331. Zaccardelli, M.; Pentangelo, A. y Tripodi, P. 2013. Characterization of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) ecotype "Fagiolo Occhio Nero Di Oliveto Citra" using agronomic, biochemical and molecular approaches. *Pakistan J. Biol. Sci.*, Vol. 16, No. 18, p. 901-910.
332. Zegaoui Z, Planchais S, Cabassa C, Djebbar R, Belbachir OA, Carol P. 2017. Variation in relative water content, proline accumulation and stress gene expression in two cowpea landraces under drought. *J Plant Physiol* Vol. 218, 26–34p.
333. Zhang, J. y M. Kirkhan. 1996. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. *New Phytology*, Vol. 132, 361-373p.
334. Zhao, Y.; Bian, S.M.; Zhou, H.N. y Huang, J.F. 2006. Diversity of nitrogenase systems in diazotrophs. *J. Integr. Plant Biol.* Vol. 48, 745-755p.
335. Zozaya-Hinchliffe, M.; Potenza, C.; Ortega, J.L. y Sengupta-Gopalan, C. 2005. Nitrogen and metabolic regulation of the expression of plastidic glutamine synthetase in alfalfa (*Medicago sativa*). *Plant Sci.*, vol. 168, 1041-1050p.
336. Zúñiga D. 2013. Influencia de las bacterias promotoras del crecimiento en el contenido de nutrientes de la quinua, para la seguridad alimentaria en la zona altoandinas. Informe Técnico Final. Proyecto. Procyt- 335-2012-concytec-oaj.



ANEXOS



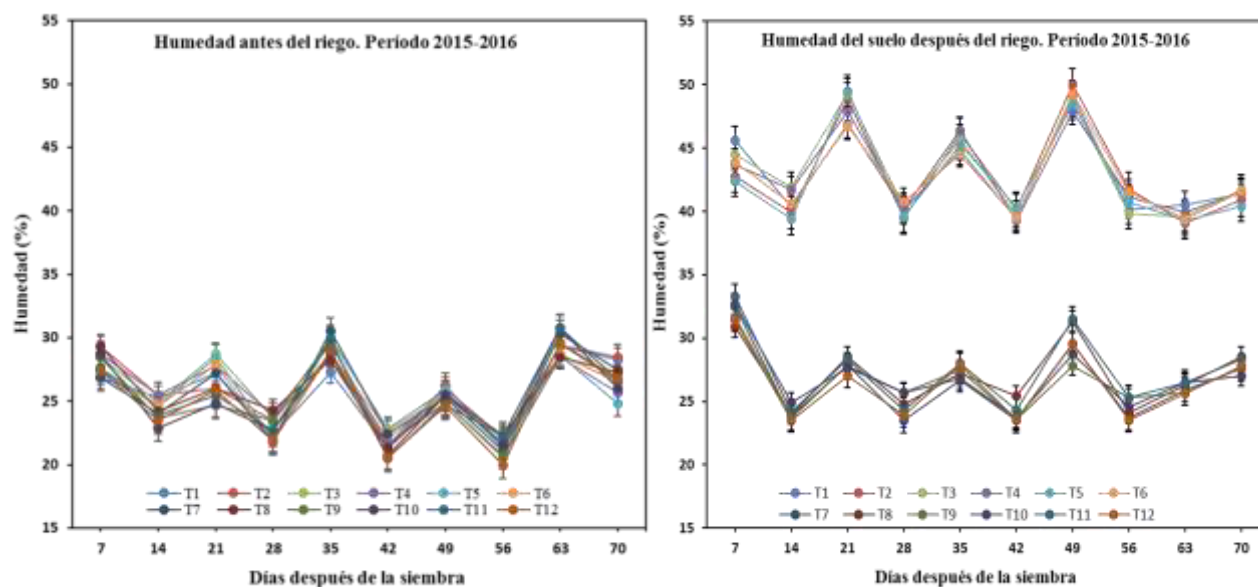
Anexo I. Esquema del experimento realizado en condiciones de campo y tratamientos empleados.

	Diseño de parcelas divididas																
0,70	T ₆		T ₅		T ₁		T ₄	Surcos sin sembrar	T ₁₂		T ₁₀		T ₉		T ₁₁	0,70	
0,70	T ₅		T ₆		T ₂		T ₃			T ₁₁		T ₉		T ₈		T ₁₂	0,70
0,70	T ₄		T ₂		T ₆		T ₅			T ₁₀		T ₈		T ₇		T ₁₀	0,70
0,70	T ₃		T ₁		T ₅		T ₆			T ₉		T ₇		T ₁₂		T ₉	0,70
0,70	T ₂		T ₄		T ₃		T ₁			T ₈		T ₁₂		T ₁₁		T ₇	0,70
0,70	T ₁		T ₃		T ₄		T ₂		T ₇		T ₁₁		T ₁₀		T ₈	0,70	
	Riego al 100 % de la norma									Riego al 50 % de la norma							
	R _I		R _{II}		R _{III}		R _{IV}			R _I		R _{II}		R _{III}		R _{IV}	

Riego		Tratamientos	
100 % de la norma	T ₁	CC-25-9R + 100 % NPK + Urea	
	T ₂	CC-25-9R + 100 % NPK + 30 % Urea + Azofert [®] -F	
	T ₃	CC-25-9R + 100 % NPK + 30 % Urea – Azofert [®] -F	
	T ₄	Tomeguín-93 + 100 % NPK + Urea	
	T ₅	Tomeguín-93 + 100 % NPK + 30 % Urea + Azofert [®] -F	
	T ₆	Tomeguín-93 + 100 % NPK + 30 % Urea – Azofert [®] -F	
50 % de la norma	T ₇	CC-25-9R + 100 % NPK + Urea	
	T ₈	CC-25-9R + 100 % NPK + 30 % Urea + Azofert [®] -F	
	T ₉	CC-25-9R + 100 % NPK + 30 % Urea – Azofert [®] -F	
	T ₁₀	Tomeguín-93 + 100 % NPK + Urea	
	T ₁₁	Tomeguín-93 + 100 % NPK + 30 % Urea + Azofert [®] -F	
	T ₁₂	Tomeguín-93 + 100 % NPK + 30 % Urea – Azofert [®] -F	



Anexo II. Variación del contenido de humedad en el suelo, a 30 cm de profundidad, en los diferentes tratamientos de riego. Experimento correspondiente al período 2015-2016.

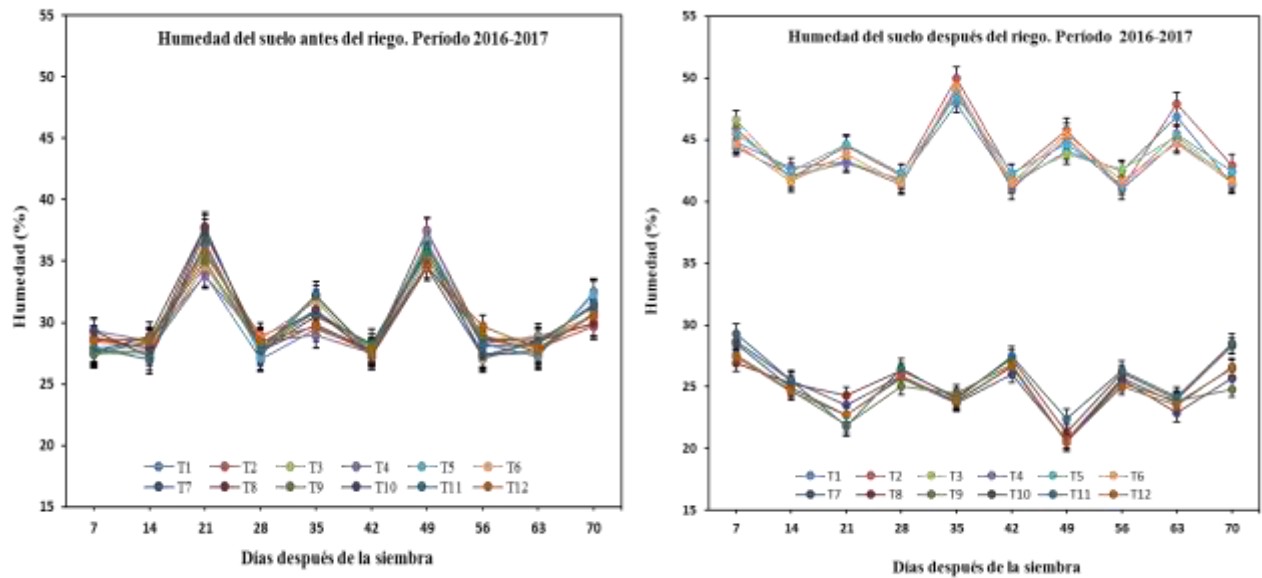


Leyenda: T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₆: representan el 100 % y T₇, T₈, T₉, T₁₀, T₁₁, T₁₂: representan el 50 % de las normas de riego recomendadas para el cultivo.

Las barras sobre los valores medios representan los intervalos de confianza para $\alpha = 0,05$



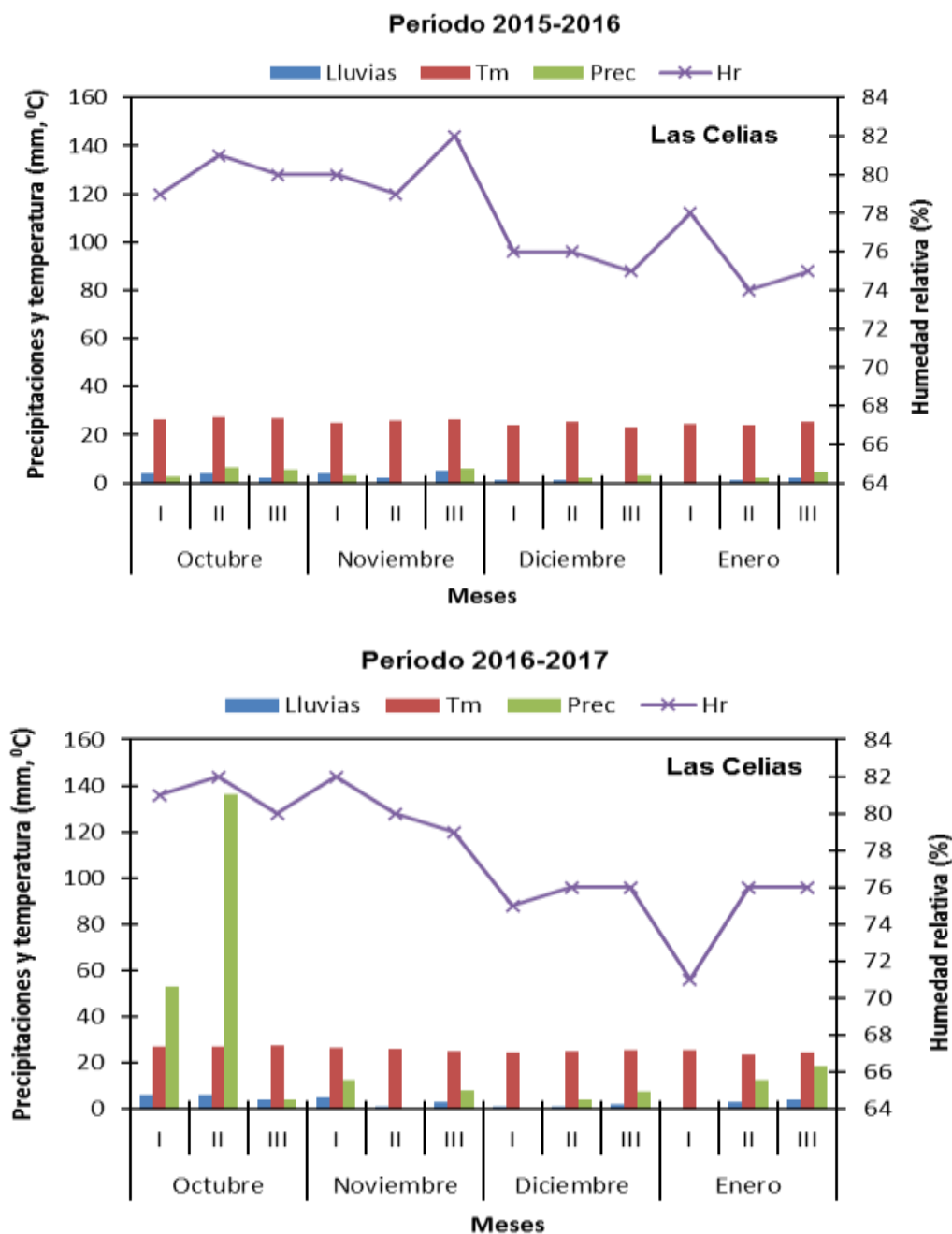
Anexo III. Variación del contenido de humedad en el suelo, a 30 cm de profundidad, en los diferentes tratamientos de riego. Experimento correspondiente al período 2016-2017.



Leyenda: T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₆: representan el 100 % y T₇, T₈, T₉, T₁₀, T₁₁, T₁₂: representan el 50 % de las normas de riego recomendadas para el cultivo.
Las barras sobre los valores me dios representan los intervalos de confianza para $\alpha = 0,05$



Anexo IV. Comportamiento de las variables meteorológicas por decenas entre los meses de octubre a enero, correspondiente a los periodos 2015-2016 y 2016-2017. Tomado de la Estación meteorológica situada a 400 m del Huerto “Las Celias” del municipio Guisa.





Anexo V: Resultados del análisis de varianza $p \leq 0,05$ realizado para los tres experimentos. En las tablas aparecen los valores de F calculados.

Experimento 1

Efecto	DE 24 DDS	DE 31DDS	IE 24 DDS	IE 31 DDS	LR 24 DDS	LR 31 DDS	SF 24 DDS	SF 31 DDS
Intercepto	108.14*	135.20*	104.58*	116.70*	124.72*	133.38*	164.83*	170.51*
Cultivar	127.08*	130.00*	111.96*	121.72*	112.23*	145.48ns	153.49*	166.21ns
Agua	104.60*	112.00*	136.92*	142.77*	114.43*	122.53*	142.52*	159.53*
Az	117.00*	126.00*	140.84*	154.16*	117.45*	131.98*	150.71*	162.36*
Cultivar*Agua	15.60ns	17.75ns	12.10ns	15.29ns	19.77ns	22.58ns	15.33ns	18.00ns
Cultivar*Az	17.07ns	19.33ns	13.22ns	16.16ns	20.46ns	24.31ns	17.71ns	19.42ns
Agua*Az	147.00*	155.40*	153.20*	164.22*	130.37*	146.09*	170.19*	176.45*
Cult*Agua*Az	16.50ns	18.24ns	15.36ns	17.37ns	22.89ns	25.43ns	16.01ns	19.78ns

Efecto	MSR 24 DDS	MSR 31 DDS	MSPA 24 DDS	MSPA 31DDS	MST 24 DDS	MST 31 DDS	MSR/MSPA 24 DDS	MSR/MSPA 31 DDS
Intercepto	183.11*	207.00*	196.45*	202.33*	214.74*	218.67*	205.76*	213.43*
Cultivar	165.33*	198.64*	172.18*	176.59*	205.26*	212.31*	210.98*	217.59*
Agua	178.70*	204.37*	183.91*	195.86*	219.37*	223.72*	215.13*	226.94*
Az	174.45*	200.54*	179.44*	188.65*	210.58*	216.59*	17.98ns	221.82*
Cultivar*Agua	24.67ns	28.71ns	23.31ns	27.24ns	25.02ns	29.10ns	24.00ns	26.32ns
Cultivar*Az	28.63ns	31.12ns	27.89ns	29.88ns	28.73ns	32.50ns	20.43ns	22.94ns
Agua*Az	189.82*	211.26*	208.24*	227.11*	223.32*	247.53*	217.72*	235.59*
Cult*Agua*Az	26.39ns	30.46ns	25.65ns	28.30ns	26.97ns	31.14ns	22.91ns	24.75ns

Efecto	CRA 24 DDS	CRA 31 DDS	PH 24 DDS	PH 31 DDS	POA 24 DDS	POA 31 DDS	POS 24 DDS	POS 31 DDS
Intercepto	276.38*	290.13*	103.84*	123.49*	125.38*	133.71*	140.73*	151.17*
Cultivar	264.79*	279.87*	100.00*	117.61*	16.86ns	128.46*	132.88*	141.62*
Agua	281.27*	297.14*	109.76*	126.54*	127.67*	139.75*	145.83*	156.39*
Az	270.75*	285.89*	105.10*	120.37*	14.41ns	13.17ns	137.29*	147.22*
Cultivar*Agua	26.10ns	29.23ns	13.78ns	14.20ns	14.22ns	15.76ns	16.18ns	19.53ns
Cultivar*Az	22.00ns	25.57ns	10.22ns	12.91ns	11.92ns	12.08ns	14.41ns	17.78ns
Agua*Az	303.00*	318.33*	116.17*	131.36*	138.56*	145.37*	156.00*	164.58*
Cult*Agua*Az	24.52ns	27.00ns	11.52ns	13.75ns	12.79ns	14.07ns	15.79ns	18.19ns



Anexo V. Experimento 1 (continuación)

Efecto	P 24 DDS	P 31 DDS	CONDE 24 DDS	CONDE 31 DDS	Cla 24 DDS	Cla 31 DDS	Clb 24 DDS	Clb 31 DDS
Intercepto	161.57*	176.95*	654.73*	743.21*	262.90*	273.86*	146.87*	177.04*
Cultivar	149.26*	17.54ns	648.11*	63.74ns	244.26*	260.92*	133.76*	165.95*
Agua	164.93*	184.31*	677.44*	747.57*	265.00*	279.79*	151.97*	183.81*
Az	158.39*	18.89ns	669.82*	692.86*	257.13*	267.68*	139.85*	170.56*
Cultivar*Agua	16.97ns	19.60ns	56.84ns	69.25ns	29.35ns	33.07ns	19.32ns	24.63ns
Cultivar*Az	20.88ns	25.67ns	43.16ns	60.87ns	26.00ns	29.91ns	17.91ns	20.32ns
Agua*Az	175.89*	196.27*	689.94*	776.80*	276.80*	291.94*	163.11*	195.70*
Cultivar*Agua*Az	18.71ns	23.73ns	47.52 ns	64.31ns	27.46ns	30.56ns	16.74ns	22.97ns

Efecto	Cltotal 24 DDS	Cltotal 31 DDS	Cla/Clb 24 DDS	Cla/Clb 31 DDS	Carotenoides 24 DDS	Carotenoides 31 DDS	Prolina 24 DDS	Prolina 31 DDS
Intercepto	286.94*	298.76*	111.81*	130.79*	107.48*	113.24*	103.17*	118.85*
Cultivar	274.66*	281.80*	107.76*	126.58*	101.39*	107.61*	100.96*	112.54*
Agua	290.75*	305.08*	14.25ns	15.00ns	109.82*	116.49*	110.75*	120.00*
Az	282.81*	293.87*	13.10ns	14.57ns	105.55*	110.37*	105.81*	116.33*
Cultivar*Agua	26.00ns	30.73ns	13.49ns	15.92ns	12.84ns	13.56ns	12.93ns	14.38ns
Cultivar*Az	23.14ns	26.81ns	11.94ns	13.78ns	10.68ns	11.98ns	10.71ns	12.82ns
Agua*Az	303.52*	317.75*	124.48*	141.72*	114.76*	127.40*	116.82*	131.71*
Cultivar*Agua*Az	25.11ns	28.90ns	12.85ns	14.29ns	11.76ns	12.91ns	11.87ns	13.73ns

Efecto	Proteínas 24 DDS	Proteínas 31 DDS	Carbohidratos 24 DDS	Carbohidratos 31 DDS	Fotosíntesis 24 DDS	Fotosíntesis 31 DDS
Intercepto	224.59*	243.83*	152.25*	169.76*	182.39*	207.52*
Cultivar	213.00*	232.15*	141.16*	160.37*	173.46*	197.89*
Agua	226.81*	245.33*	156.25*	173.91*	185.18*	210.27*
Az	221.78*	239.92*	148.74*	165.28*	179.57*	204.96*
Cultivar*Agua	25.89ns	30.13ns	19.92ns	22.17ns	24.00ns	25.32ns
Cultivar*Az	21.74ns	32.56ns	17.80ns	20.96ns	20.46ns	21.79ns
Agua*Az	234.65*	257.22*	167.12*	184.39*	196.86*	219.45*
Cultivar*Agua*Az	23.57ns	31.84ns	18.69ns	21.91ns	22.08ns	23.82ns

Leyenda: DE: densidad estomática; IE: índice estomático; LR: longitud de la raíz; SF: superficie foliar, MSR: masa seca raíz; MSPA: masa seca parte aérea; MST: Masa seca total; MSR/MSPA: relación Masa seca raíz/Masa seca parte aérea; CRA: contenido relativo de agua; PH: potencial hídrico; POA: potencial osmótico actual; POS: potencial osmótico saturado; P: presión; CONDE: conductancia estomática, Cla: clorofila a; Clb: clorofila b; Cltotal: clorofila total; Cla/Clb: relación clorofila a/clorofila b. * significativo.



Anexo V. Experimento 2

Efecto	NNP 35 DDS	NNE 35 DDS	MFN 35 DDS	MSN 35 DDS	Nitrógeno foliar 35 DDS	Ureido Foliar 35 DDS	Ureido Nodular 35 DDS
Intercepto	276.47*	267.84*	119.41*	117.05*	160.70*	176.77*	173.20*
Cultivar	261.30*	253.79*	113.75*	13.00ns	151.62*	168.14*	21.13ns
Agua	279.00*	270.35*	125.88*	120.98*	163.33*	180.29*	175.57*
Az	268.14*	264.97*	14.93ns	115.56*	156.78*	172.94*	169.00*
Cultivar*Agua	32.22ns	29.17ns	15.11ns	14.27ns	20.06ns	24.25ns	23.30ns
Cultivar*Az	28.91ns	26.89ns	13.74ns	12.69ns	16.74ns	20.73ns	19.85ns
Agua*Az	286.78*	278.92*	137.56*	134.70*	175.00*	192.85*	187.00*
Cultivar*Agua*Az	30.75ns	27.95ns	14.46ns	13.89ns	18.88ns	22.47ns	21.50ns

Leyenda: NNP: número de nódulos por planta; NNE: número de nódulos efectivos; MFN: masa fresca de nódulos; MSN: masa seca de nódulos. * significativo.

Experimento 3

Período 2015-2016

Efecto	NVP	NGV	NGP	MGP	MF100G	Rend
Intercepto	193.75*	157.83*	271.60*	159.43*	200.04*	1010.21*
Agua	195.33*	160.19*	274.00*	162.98*	202.26*	1013.94*
Fertilización	189.56*	154.45*	268.89*	157.75*	198.39*	1007.83*
Cultivar	21.10ns	18.52ns	260.13*	18.31ns	22.65ns	997.37*
Agua*Fertilización	181.00*	149.26*	265.74*	152.17*	194.77*	1000.19*
Agua*Cultivar	23.39ns	140.78*	27.21ns	19.89ns	23.73ns	82.26ns
Agua*Fertilización*Cultivar	204.00*	169.88*	283.17*	173.51*	211.92*	1021.87*



Período 2016-2017

Efecto	NVP	NGV	NGP	MGP	MF100G	Rend
Intercepto	200.36*	161.77*	283.00*	168.24*	206.83*	1111.62*
Agua	204.47*	164.89*	286.70*	171.86*	209.26*	1114.78*
Fertilización	197.51*	158.30*	280.18*	165.37*	201.47*	1108.91*
Cultivar	26.39ns	19.73ns	276.11*	18.51ns	26.51ns	94.35ns
Agua*Fertilización	193.72*	150.96*	271.28*	159.59*	197.52*	1092.43*
Agua*Cultivares	28.53ns	20.81ns	30.57ns	19.72ns	28.87ns	96.71ns
Agua*Fertilización*Cultivar	213.76*	175.93*	294.47*	182.86*	217.39*	1122.00*

Leyenda: NVP: número de vainas por planta; NGV: número de granos por vainas; NGP: número de granos por planta; MGP: masa de granos por planta; MF100G: masa fresca de 100 granos; Rend: rendimiento. * significativo.