

Respuesta de frijol en estrés hídrico a la aplicación de osmoprotectores

Response of bean under water stress to application of osmoprotectants

Magdalena Villa-Castorena^{1*}, Ernesto A. Catalán-Valencia¹, Marco A. Inzunza-Ibarra¹, Hilario Macías- Rodríguez¹ y María del Rosario Jacobo-Salcedo¹

¹Centro Nacional de Investigación en Relación, Agua, Suelo Planta, Atmosfera del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (CENID RASPA INIFAP). Canal Sacramento Km 6.5 margen derecha, Gómez Palacio, Dgo. CP 35140.

*Autor para correspondencia: villa.magdalena@inifap.gob.mx

RESUMEN

El estrés hídrico afecta los procesos fisiológicos y bioquímicos de las plantas lo que se traduce en una disminución del crecimiento y rendimiento de los cultivos. La aplicación de sustancias osmoprotectores es una estrategia para disminuir los efectos nocivos del estrés hídrico en las plantas. En México, el frijol tiene gran importancia económica y social por el área cultivada, el volumen de producción de grano y la generación de empleos. En el presente trabajo se evaluó el crecimiento, acumulación de osmolitos, rendimiento y eficiencia de uso de agua de plantas de frijol común variedad "Pinto Saltillo" como una respuesta a la aplicación foliar de cuatro sustancias osmoprotectores: ácido salicílico (AS), glicina betaina (GB), nitrato de potasio (KNO_3) y nitrato de calcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) en tres concentraciones cada una; se incluyó también un testigo o control sin aplicación. El experimento se desarrolló bajo condiciones de invernadero, en macetas de plástico de 18 L llenas con una mezcla de turba, perlita y vermiculita (80:10:10 v/v). Se utilizó un diseño experimental bloques al azar con siete repeticiones. Las plantas se regaron cuando el contenido de agua en el sustrato disminuyó al 30% de su capacidad de retención. Los resultados indicaron que la aplicación de las sustancias evaluadas afectó de manera positiva al rendimiento de grano y eficiencia de uso de agua, donde la dosis de aplicación determinó la intensidad de la respuesta. La GB y el KNO_3 incrementaron área foliar y biomasa seca total por planta; también la GB influyó en forma positiva en la acumulación de la GB y prolina en la hoja. Las plantas de frijol "Pinto Saltillo" bajo estrés hídrico pueden beneficiarse mediante la aplicación de AS, GB, KNO_3 y $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.

Palabras clave: Ácido salicílico, glicina betaina, nitrato de potasio, nitrato de calcio

ABSTRACT

Bean crop has a significant great economic and social relevance in Mexico, for the cultivated area, harvested volume and the generation of employment. The objective of this work was to evaluate the responses of growth, osmolyte accumulation, yield and water use efficiency of bean plants c.v. "Pinto Saltillo" to the foliar application of four substances. They included salicylic acid (AS), glycine betaine (GB), potassium nitrate (KNO_3) and calcium nitrate ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) at three concentrations each. The experiment was carried out in a greenhouse, where the plants were placed in 18 L plastic pots filled with a mixture of peat, perlite and vermiculite (80:10:10 v/v) as substrate. Plants were irrigated when the water retention capacity of the substrate decreased to 30%. An experimental random block design with seven repetitions was used. The results showed significant increases in grain yield and water use efficiency as responses to the application of the evaluated substances. The GB and the KNO_3 increased the leaf area and the total dry biomass of the plants; GB also had a positive influence on the accumulation of GB and proline in the leaf. Bean plants "Pinto Saltillo" under water stress can benefit by applying AS, GB, KNO_3 and $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.



Keywords: Salicylic acid, glycine betaine, potassium nitrate, calcium nitrate

INTRODUCCIÓN

Las temperaturas extremas y sequías se han acentuado en los últimos años debido a las variaciones en el clima (Ojeda-Bustamante *et al.*, 2011). La producción de frijol, como de otros cultivos, es sensible a condiciones climáticas. El frijol cuando está expuesto al déficit hídrico durante su desarrollo, su rendimiento se reduce (Boutraa and Sanders, 2002; Castañeda *et al.*, 2006). Ante dicha situación, es necesario desarrollar e implementar estrategias que ayuden a reducir el efecto de la sequía en las plantas y así incrementar la eficiencia de uso del agua.

Dentro de tales estrategias destaca la activación de mecanismos de tolerancia al déficit hídrico en plantas mediante la aplicación exógena de sustancias químicas. Esas sustancias incluyen a los solutos orgánicos compatibles como la glicina betaina (GB), reguladores del crecimiento como el ácido salicílico (AS) y algunos fertilizantes como el nitrato de potasio (KNO_3) y nitrato de calcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$). Estudios de campo e invernadero indican que la aplicación de GB incrementa la tolerancia al estrés hídrico en girasol (*Helianthus annuus* L.) (Iqbal *et al.*, 2011) y en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) (Lopez *et al.*, 2002). Esa tolerancia se reflejó en mayor producción de biomasa seca, mayor actividad de enzimas antioxidantes, sin cambios en la fotosíntesis, así como incremento en las concentraciones de GB y prolina en la hoja.

La aplicación exógena de AS también incrementa la capacidad de las plantas para tolerar la sequía en algunas especies. Por ejemplo, en girasol (*Helianthus annuus* L.) (Noreen *et al.*, 2009), garbanzo (*Cicer arietinum* L.) (Farjam *et al.*, 2015) y trigo (*Triticum vulgare* L.) (Sing and Usha, 2003), la aplicación de AS incrementó el área foliar, la altura de planta, el rendimiento de grano, la clorofila total y la actividad enzimática. El efecto benéfico de la aplicación foliar de KNO_3 en plantas en estrés hídrico se ha reportado en estevia (*Stevia*

rebaudiana Bertoni) (Srivastava and Srivastava, 2016) y en limón macrofila (*Citrus macrophylla* L.) (Gimeno *et al.*, 2014). Así mismo, la aplicación foliar de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ favoreció el crecimiento y rendimiento de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) en condiciones de temporal (Kundu and Sarkar, 2009).

Los estudios de la respuesta del frijol a la aplicación foliar de sustancias relacionadas con la mitigación del efecto nocivo del estrés hídrico son escasos. Por lo tanto, se desarrolló la presente investigación con el objetivo de evaluar el efecto de la aplicación foliar de GB, AS, KNO_3 y $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ en el crecimiento, contenido de GB y prolina en la hoja, rendimiento y eficiencia de uso de agua de frijol var. "Pinto Saltillo" en condiciones de déficit hídrico.

MATERIALES Y METODOS

La investigación se desarrolló en un invernadero del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Relación Agua-Suelo-Planta-Atmósfera (CENID RASPA) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en Gómez Palacio Durango México. El invernadero estuvo cubierto en el techo con plástico de polietileno color verde clorofila y en sus lados frontal, posterior y laterales con láminas de policarbonato transparente de doble pared. La temperatura se reguló mediante extractores de aire y un panel de humedad; la temperatura osciló entre 20 a 35°C durante el estudio, la humedad relativa no se registró.

La siembra se llevó a cabo en macetas de plástico con volumen de 18 L llenadas con una mezcla comercial de turba, perlita y vermiculita (BM2, Berger, berger.ca) como sustrato. Se seleccionó la variedad de frijol "Pinto Saltillo", la cual fue desarrollada por el INIFAP y además posee importantes ventajas sobre las variedades tradicionales en cuanto a rendimiento y adaptación a regiones áridas de México. Se sembraron dos semillas por maceta



para asegurar la emergencia, después se dejó sólo la planta que mostró mayor vigor.

Se realizaron tres aplicaciones foliares en tres concentraciones de GB (Sigma, Aldrich), AS (Sigma, Aldrich), $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (Haifa Cal GG 15.5-0-0-26.5, Haifa Group) y KNO_3 (multi KTM GG 13.5-0-46.2, Haifa Group). La primera se inició cuando la planta presentaba el tercer trifolio formado, la segunda al inicio de formación de botones florales y la tercera en la formación de vainas. La sustancia y la concentración se consideraron un tratamiento; se incluyó un testigo sin aplicación foliar con condiciones de manejo similar, los tratamientos se describen en el Cuadro 1. Se usó un diseño experimental de bloques al azar con siete repeticiones, en cada bloque se distribuyeron al azar los trece tratamientos, la unidad experimental constó de tres macetas por tratamiento.

Las plantas se sometieron a una condición de estrés hídrico para lo cual se irrigaron cuando el sustrato tenía del 25 al 30% de la capacidad máxima de retención de agua (Emam *et al.*, 2010). Este nivel de estrés se reflejó en el marchitamiento de las plantas. Previamente se determinó la capacidad máxima de retención de agua del sustrato (100%) y se estableció el peso de la maceta correspondiente. Las macetas se pesaron cada tercer día para definir el momento del riego, se seleccionó una maceta en cada bloque y tratamiento. La aplicación del riego se hizo con vasos de precipitados para cuantificar el volumen aplicado.

A partir de que las plantas desplegaron las primeras hojas verdaderas se empezaron a fertilizar en el agua de riego con una solución nutritiva equilibrada en aniones y cationes de 15 meq L⁻¹ (Cuadro 2), en riegos alternos. Cuando se aplicaba la solución con fertilizantes se usó un 15% más del agua requerida para promover el drenaje y evitar la salinización del sustrato. Se usaron los fertilizantes comerciales nitrato de magnesio (11-0-0-16 MgO), nitrato de calcio (15.5-0-0+26.5 CaO), nitrato de potasio (13.5-0-46.2) y monofosfato de potasio (0-52-34) para

preparar la solución nutritiva; también se usó ácido fosfórico (54%) para regular el pH de la solución a 6.5. Se tomaron en cuenta las aportaciones de nutrientes del agua de riego para el cálculo de los fertilizantes requeridos.

Cuadro 1. Sustancia y concentración aplicada foliarmente en las etapas del tercer trifolio, inicio de formación de botones florales y en la formación de primeras vainas.

Tratamiento	Sustancia	Concentración (mM)
T1	Ácido salicílico	0.025
T2	Ácido salicílico	0.05
T3	Ácido salicílico	0.10
T4	Glicina betaina	10
T5	Glicina betaina	25
T6	Glicina betaina	50
T7	Nitrato de potasio (fertilizante)	5.0
T8	Nitrato de potasio (fertilizante)	10.0
T9	Nitrato de potasio (fertilizante)	15.0
T10	Nitrato de calcio (fertilizante)	2.1
T11	Nitrato de calcio (fertilizante)	4.2
T12	Nitrato de calcio (fertilizante)	6.3
T13	Testigo con estrés hídrico	Sin aplicar

Cuadro 2. Composición de la solución nutritiva usada para la fertilización de las plantas.

Ion	%	meq L ⁻¹
NO_3^-	0.70	10.50
H_2PO_4^-	0.17	2.55
SO_4^{2-}	0.13	1.95
K^+	0.33	4.95
Ca^{2+}	0.45	6.75
Mg^{2+}	0.22	3.30

A los 52 y 82 días después de la siembra (dds) se evaluó la concentración de prolina y GB en hojas. Para ello se muestrearon cuatro hojas recientemente maduras en cada tratamiento y en cuatro de los siete bloques para preservar material para futuras evaluaciones. Las muestras se llevaron al laboratorio donde se procesaron y analizaron para la determinación de cada sustancia. La prolina se determinó según el método de (Bates, 1973) con algunas



modificaciones; se utilizó un espectrofotómetro UV- VIS para la lectura de las muestras a una longitud de onda de 520 nm. La determinación de la GB se realizó acorde al método de Grieve & Grathan (1983) y la lectura de las muestras se llevó a cabo con un espectrofotómetro UV- VIS a una longitud de onda de 365 nm.

A los 82 dds se extrajo una planta por tratamiento en cuatro bloques para determinar el área foliar y biomasa seca total. El área foliar se cuantificó con un integrador de área foliar LI-3100 LI-COR Biosciences. La biomasa seca de la planta se obtuvo mediante la recolección de raíz, tallos, hojas, flores y frutos, los cuales se secaron a peso constante; para ello se presecaron en un invernadero por siete días y luego se secaron en estufa de aire forzado a una temperatura de 68°C por un tiempo de 48 h. El rendimiento de grano por planta se evaluó cuando todas las vainas estuvieron secas y el grano tuvo un 11% de humedad; se determinó la eficiencia de uso de agua (EUA) mediante la relación entre rendimiento de grano y agua aplicada. Los datos se analizaron mediante el análisis de varianza acorde al diseño experimental usado con el programa SAS (SAS Institute, 2004). La separación de medias se llevó a cabo mediante la prueba de Duncan ($P = 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Área foliar (AF)

Los tratamientos afectaron de manera significativa al AF ($P < 0.05$), ($r = 0.83$), con la mejor respuesta de la glicina betaina (GB) a 50 mM y el nitrato de potasio (KNO_3) a 5 y 10 mM. El AF de esos tratamientos fue estadísticamente similar entre sí y en promedio fue de 12 992 cm², la cual fue superior en un 28% al AF del testigo (Cuadro 3). En seguida las plantas tratadas con ácido salicílico (AS) a 0.05 mM, GB a 10 y 25 mM, KNO_3 a 15 mM y nitrato de calcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) a las tres concentraciones evaluadas mostraron un AF promedio entre ellas de 11 651 cm², el cual es mayor en un 15% al AF del

testigo. Finalmente, los tratamientos con AS a 0.025 y 0.10 mM produjeron un AF promedio de 9 991 cm² equivalente al 99% del AF del testigo. El efecto de los bloques no fue significativo a un ($P \leq 0.05$),

Los resultados señalados anteriormente coinciden con diversas investigaciones llevadas a cabo en varios cultivos bajo estrés hídrico, donde se reporta el beneficio de la aplicación de la GB y potasio. En cultivos de girasol (*Helianthus annuus* L.) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.) la aplicación foliar de GB incrementó el AF (Hussain *et al.*, 2010; Ragab *et al.*, 2015). El KNO_3 proporciona dos elementos esenciales para el desarrollo de las plantas lo cual promovió mayor AF con la concentración baja e intermedia. Sin embargo, la respuesta de la planta a las aplicaciones de GB y KNO_3 puede variar con la dosis de aplicación, número de aplicaciones, tipo de planta y época de aplicación (Ashraf *et al.*, 2008). A su vez, el potasio además de ser un nutriente esencial para el desarrollo de las plantas, mejora la retención de agua en las células lo cual promueve que el crecimiento de las plantas se mantenga o incremente en condiciones de estrés hídrico (Cakmak, 2005).

Biomasa seca total (BST)

Las sustancias y las dosis aplicadas afectaron de manera significativa ($P < 0.05$) a la BST. Los tratamientos con GB a la dosis media y alta, con KNO_3 a las tres dosis de aplicación y la aplicación de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ a las dosis baja y media redujeron el efecto negativo en la BST (Cuadro 3). Dichos tratamientos incrementaron la BST en 10 a 34% con respecto a la BST del testigo. El máximo incremento se obtuvo con la aplicación de KNO_3 a la concentración de 5 mM. Por otra parte, la aplicación de AS no incrementó la BST de las plantas.

Estudios en especies, cultivadas en estrés hídrico, reportan incrementos en la BST debido a la aplicación de GB. Tal es el caso de trigo (*Triticum vulgare* L.) (Shahbaz *et al.*, 2011), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Ragab *et al.*,



2015) y tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) (Ma *et al.*, 2007). El tratamiento foliar con KNO_3 también ha aumentado la producción de biomasa seca en cultivos bajo estrés hídrico; entre ellos se encuentra la estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) (Srivastava and Srivastava, 2016), jojoba (*Simmondsia chinensis* Link) (Hussein *et al.*, 2013) y garbanzo (*Cicer arietinum* L.) (Kirty *et al.*, 2007).

Contrario a los resultados señalados en este estudio, donde la aplicación de AS no incrementó la BST, Singh and Usha (2003) y Kang *et al.*, (2013) reportaron aumentos en esta variable cuando se aplicó AS en forma foliar en trigo. También ese efecto positivo en el BST fue señalado en el cultivo de garbanzo ((*Cicer arietinum* L.)(Farjam *et al.*, 2015) y albahaca (Kordi *et al.*, 2013). Esos hallazgos contradictorios del efecto del AS en el BST hacen suponer que las concentraciones evaluadas no fueron lo suficientemente altas para causar algún efecto determinante en la BST. También la respuesta a la aplicación de AS depende de la especie y las condiciones ambientales donde se desarrollan las plantas (Hayat *et al.*, 2010).

Cuadro 3. Efecto de la aplicación foliar en tres etapas fenológicas de frijol de ácido salicílico (AS), glicina betaina (GB), nitrato de potasio (KNO_3) y nitrato de calcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) en el área foliar y biomasa seca total por planta.

Tratamiento	Nomenclatura	AF (cm^2)	BST(g)
T1	AS, 0.025 mM	9977 b ¹	77.2 d
T2	AS, 0.05 mM	11036 ab	89.4 cd
T3	AS, 0.10 mM	10005 b	74.9 d
T4	GB, 10 mM	11394 ab	88.9 cd
T5	GB, 25 mM	12057 ab	97.0 b
T6	GB, 50 mM	12725 a	96.2 bc
T7	KNO_3 , 5 mM	13382 a	111.9 a
T8	KNO_3 , 10 mM	12869 a	102.5 ab
T9	KNO_3 , 15 mM	12192 ab	92.2 bc
T10	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 2.1 mM	11361 ab	91.8 bc
T11	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 4.2 mM	12324 ab	92.8 bc
T12	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 6.3 mM	11192 ab	86.9 cd
T13	Testigo, sin aplic. foliar	10123 b	83.4 cd

AF: Área foliar, BST: Biomasa seca total

¹Medias con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente similares (Duncan $P = 0.05$).

Concentración de glicina betaina

La aplicación foliar de AS, GB y KNO_3 afectó en forma significativa ($P < 0.0001$) la concentración de GB en la hoja, promedio de las dos fechas de muestreo. Con la mayor respuesta de la GB en sus tres dosis de aplicación (Cuadro 4), en promedio esos tratamientos produjeron 46.11mg de GB g^{-1} de peso seco en la hoja, el cual fue superior al testigo en un 29%. En seguida la aplicación del AS a 0.025 mM y de KNO_3 a las concentraciones de 5 y 10 mM incrementaron también la GB en la hoja con respecto al testigo, el incremento fue del 20% con la aplicación del AS y de un 15%, en promedio con los dos tratamientos de KNO_3 . La aplicación de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ no produjo cambios en la concentración de GB en la hoja con respecto al testigo.

Los resultados anteriores en relación con el efecto de la aplicación de GB en la concentración de esta sustancia en la hoja coinciden con otras investigaciones. Tal es el caso reportado en girasol (*Heliantus annuus* L.)(Iqbal *et al.*, 2011), canola (*Brassica napus* L.)(Sulpice *et al.*, 2002) y tabaco (*Nicotiana tabacum* L.)(Ma *et al.*, 2007). Los niveles de respuesta de la concentración de GB en hojas dependieron también de la dosis y época de aplicación (Iqbal *et al.*, 2008), lo cual no ocurrió en este estudio. Bajo condiciones de estrés hídrico, se ha reportado que la biosíntesis de GB se incrementa en diversas especies de cultivos (Ahmad *et al.*, 2013). Aunque en la mayoría, los niveles de concentración de esa sustancia no son suficiente para reducir los efectos adversos del estrés y ahí es donde la aplicación foliar de GB puede mostrar sus beneficios.

Concentración de prolina

El efecto del AS, GB, KNO_3 y $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ en la concentración de prolina en la hoja, promedio de los dos muestreos, fue significativo ($P = 0.024$). La aplicación de GB a 25 mM promovió la mayor biosíntesis de prolina en la hoja, con respecto al resto de los tratamientos, ese tratamiento mostró un 28% más de prolina en la hoja que el producido en el testigo (Cuadro 4). En seguida,



la GB a dosis baja y alta, KNO_3 a la dosis baja y $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ a las tres dosis de aplicación, los cuales no fueron estadísticamente diferentes entre sí, mostraron en promedio un 19% más de prolina que el testigo. El resto de los tratamientos no afectaron al contenido de prolina en el tejido foliar.

El incremento en la concentración de prolina en la hoja debido a la aplicación foliar de GB ha sido reportado en canola (Sulpice *et al.*, 2002) y arroz (Tijen and Türkan, 2006). La acumulación de prolina en la hoja está asociada a la tolerancia al estrés hídrico, lo cual se atribuye en parte a la contribución en el ajuste osmótico, mantenimiento en la estabilización de estructuras sub-celulares como membranas, participación en la eliminación de radicales libres y amortiguamiento en el potencial redox celular aliviando la acidosis citoplasmática, entre otras funciones (Ashraf y Foolad, 2007).

Cuadro 4. Efecto de la aplicación foliar en tres etapas fenológicas de frijol de ácido salicílico (AS), glicina betaina (GB), nitrato de potasio (KNO_3) y nitrato de calcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) en la concentración de glicina betaina y prolina en la hoja promedio de dos fechas de muestreo.

Tratamiento	Nomenclatura	GB (mg g ⁻¹ PS)	PRO (mg g ⁻¹ PS)
T1	AS, 0.025 mM	42.82 ab [†]	7.21 b
T2	AS, 0.05 mM	38.08 cde	7.35 b
T3	AS, 0.10 mM	39.52 bc	7.62 b
T4	GB, 10 mM	45.97 a	8.31 ab
T5	GB, 25 mM	46.30 a	9.29 a
T6	GB, 50 mM	46.06 a	8.62 ab
T7	KNO_3 , 5 mM	41.63 bc	8.82 ab
T8	KNO_3 , 10 mM	40.38 bc	7.43 b
T9	KNO_3 , 15 mM	38.38 cde	7.32 b
T10	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 2.1 mM	32.93 e	8.41 ab
T11	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 4.2 mM	35.01 de	8.86 ab
T12	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 6.3 mM	35.25 de	8.74 ab
T13	Testigo sin aplic. foliar	35.72 de	7.26 b

[†] Medias con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente similares (Duncan $P=0.05$).

GB = glicina betaina, PRO = prolina

Rendimiento de grano por planta

La aplicación foliar de los tratamientos afectó de manera significativa ($P = 0.05$) al rendimiento de grano. Se detectaron efectos positivos con la aplicación de AS a la concentración media, con GB a concentraciones media y alta; con KNO_3 a las tres concentraciones y $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ a la dosis baja (Cuadro 5). Esos tratamientos fueron estadísticamente similares entre sí y en promedio superaron al testigo en un 11%. En otros estudios se ha reportado el beneficio de la aplicación foliar de AS, GB y KNO_3 en el rendimiento de cultivos cuando son sometidos a estrés hídrico. Así, la aplicación foliar de AS incrementó el rendimiento de fruto de okra (Munir *et al.*, 2016), de grano en maíz (Mahdi *et al.*, 2013) y de bulbos en ajo (Bideshki and Arvin, 2010). El AS desempeña una función importante en la regulación de un número de procesos fisiológicos en las plantas. Por ejemplo, en las tasas de fotosíntesis, transpiración, el transporte de los iones promueve cambios en la anatomía de las hojas y en la estructura de los cloroplastos (Uzunova and Popova, 2012).

La aplicación foliar de GB también ocasionó incrementos en el rendimiento de grano en maíz (El-Hendawy *et al.*, 2014). Lo mismo sucedió con trigo (Aldesuquy *et al.*, 2012) y con el rendimiento de fruto en tomate (Ragab *et al.*, 2015). También se ha encontrado que la aplicación de KNO_3 incrementó la producción de hoja en estevia (Srivastava and Srivastava, 2016). Tanto el potasio como el nitrógeno son dos macronutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas. El potasio ejerce un papel crucial en la tolerancia al estrés hídrico ya que interviene en diferentes procesos fisiológicos. Entre ellos destacan la apertura y cierre de estomas, estado hídrico de la planta, estimulación de enzimas, fotosíntesis, translocación de fotosintatos, mantenimiento de la estabilidad e integridad de las membranas celulares (Wang *et al.*, 2013).

Eficiencia de uso de agua (EUA)

Los tratamientos afectaron de manera significativa a la EUA ($P = 0.05$); todas las



sustancias aplicadas promovieron mayor EUA, con respecto al testigo. Sin embargo, esa respuesta estuvo sujeta a la concentración de cada sustancia. El AS a la concentración media, la GB a las concentraciones media y alta, el KNO_3 a las tres concentraciones y el $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ a la baja concentración mostraron los mayores valores de EUA. Esos tratamientos fueron estadísticamente similares entre sí y promediaron entre ellos una EUA de 0.29, superior al testigo en un 10% (Cuadro 5). Incrementos en la EUA como resultado de la aplicación foliar de las sustancias evaluadas se han reportado en otros cultivos. Por ejemplo, la aplicación de GB incrementó la EUA en girasol (Hussain *et al.*, 2010) y maíz (El-Hendawy *et al.*, 2014). La aplicación foliar de KNO_3 incrementó la EUA en betabel (*Beta vulgaris* L.) (Jákli *et al.*, 2018) y el AS aumentó la EUA en girasol (Hussain *et al.*, 2010).

Cuadro 5. Respuesta de los tratamientos en el rendimiento de grano y eficiencia de uso de agua.

Trat.	Nomenclatura	Rendimiento de grano (g)	EUA
T1	AS, 0.025 mM	11.83 ab [†]	0.238 ab
T2	AS, 0.05 mM	13.44 a	0.273 a
T3	AS, 0.10 mM	12.61 ab	0.259 ab
T4	GB, 10 mM	12.50 ab	0.256 ab
T5	GB, 25 mM	14.29 a	0.290 a
T6	GB, 50 mM	14.97 a	0.307 a
T7	KNO_3 , 5 mM	15.99 a	0.327 a
T8	KNO_3 , 10 mM	15.10 a	0.309 a
T9	KNO_3 , 15 g mM	13.91 a	0.283 a
T10	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 2.1 mM	13.43 a	0.271 a
T11	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 4.2 mM	11.67 ab	0.238 ab
T12	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 6.3 mM	8.73 b	0.177 b
T13	Testigo, sin aplic. foliar	13.00 ab	0.266 ab

EUA = eficiencia de uso de agua

[†]Medias con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente similares (Duncan $P = 0.05$).

CONCLUSIONES

La aplicación foliar de los osmoprotectores influyeron de manera positiva en el crecimiento, rendimiento y eficiencia de uso de agua de plantas de frijol bajo estrés hídrico. Las respuestas variaron según las dosis de aplicación; por un lado, la GB a 50 mM y KNO_3 a 5 y 10 mM favorecieron al área foliar. En cambio, el KNO_3 a 5 mM influyó en el peso seco total por planta. A su vez, el AS a 0.05 mM, GB a 25 y 50 mM, KNO_3 a 5, 10 y 15 mM y el $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, a 2.1 mM incrementaron el rendimiento de grano y eficiencia de uso de agua.

La aplicación de GB en sus tres dosis de aplicación promovió una mayor acumulación de la misma sustancia en las hojas, mientras que la GB a una concentración de 25 mM favoreció la acumulación de prolina en la hoja. La aplicación foliar de los osmoprotectores evaluados reducen los efectos nocivos del estrés hídrico en plantas de frijol; sin embargo, se sugiere validar los resultados bajo condiciones de campo.

LITERATURA CITADA

- Ahmad R., Lim C.J. and Kwon SY. 2013. Glycine betaine: a versatile compound with great potential for gene pyramiding to improve crop plant performance against environmental stresses. *Plant Biotechnology Reports*, 7:49–57.
- Aldequy H.S., Abbas M.A., Abo-Hamed S. A., Elhakem A. H. and Alsokari S.S. 2012. Glycine betaine and salicylic acid induced modification in water relations and productivity of drought wheat plants. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 8:72-89.
- Ashraf M. and Foolad M.R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental Experimental Botany*, 59: 206-216.
- Ashraf M., Athar H. R., Harris P. J. C., and Kwon T. R. 2008. Some prospective strategies



- for improving crop salt tolerance. *Advances in Agronomy*, 97:45-110.
- Bates L.S., Waldren R.P. and Tear I.D. 1973. Rapid Determination of Free Proline for Water Stress Studies. *Plant Soil*, 39: 205–207.
- Bideshki A. and Arvin M.J. 2010. Effect of salicylic acid (SA) and drought stress on growth, bulb yield and allicin content of garlic (*Allium sativum*) in field. *Plant Ecophysiology*, 2:73-79.
- Boutraa T. and Sanders F. E. 2002. Influence of water stress on grain yield and vegetative growth of two cultivars of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) *Journal of Agronomy and Crop Science*, 187: 251-257.
- Castañeda-Saucedo. M. C., Córdova-Téllez L., González-Hernández V. A., Delgado-Alvarado A., Santacruz-Varela A. y García-de los Santos. G. 2006. Respuestas fisiológicas, rendimiento y calidad de semilla en frijol sometido a estrés hídrico. *Interciencia*, 31:461-466. Recuperado en 30 de julio de 2019, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000600015&lng=es&tlng=es.
- Cakmak I. 2005. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168: 521–530.
- El-Hendawy S. E., Maher A., Kotab N. A. and. Al-Suhaibani U. S. 2014. Optimal coupling combinations between the irrigation rate and glycinebetaine levels for improving yield and water use efficiency of drip-irrigated maize grown under arid conditions. *Agricultural Water Management*, 140:69 –78.
- Emam Y., Shekoofa A., Salehi F. and Jalali A.H. 2010. Water stress effects on two common bean cultivars with contrasting growth habits. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 5: 495-499.
- Farjam S., Hamdollah K-Ar., Adel S., Mehrdad Y. and Asad R. 2015. Effects of salicylic and ascorbic acid applications on growth, yield, water use efficiency and some physiological traits of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under reduced irrigation. *Legume Research*, 38: 66-71.
- Jimeno V. L., Díaz-López S., Simón-Grao V., Martínez V., Martínez-Nicolás J. and García Sánchez F. 2014. Foliar potassium nitrate application improves the tolerance of *Citrus macrophylla* L. seedlings to drought conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 83: 308-315
- Grieve C. M. and Grattan S.R. 1983. Rapid assay for determination of water-soluble quaternary ammonium compounds. *Plant Soil*, 70:303-307.
- Hayat Q., Hayat S., Irfan M. and Ahmad, A. 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A Review. *Environmental and Experimental Botany*, 68:14-25.
- Hussain M., Farooq M., Jabran K. and Wahid A. 2010. Foliar application of glycinebetaine and salicylic acid improves growth, yield and water productivity of hybrid sunflower planted by different sowing methods. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 196: 136–145.
- Hussein M. M., Tawfik M. M., Ahmed K. A. and El Karamany M. F. 2013. Effect of water stress on vegetative growth and some physiological aspects of jojoba (*Simmondsia chinensis* (Link) Schneider) in newly reclaimed sandy soil. *Elixir Pollution* 55: 12903-12909. www.elixirpublishers.com (Elixir International Journal).
- Iqbal N., Ashraf M. and Ashraf M. Y. 2008. Glycinebetaine, an osmolyte of interest to improve water stress tolerance in

- sunflower (*Helianthus annuus* L.) water relations and yield. South African Journal Botany, 74: 274–281.
- Iqbal N., Ashraf Y. and Ashraf M. 2011. Modulation of endogenous levels of some key organic metabolites by exogenous application of glycine betaine in drought stressed plants of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Plant Growth Regulation, 63:7–12.
- Jákli B., Hauer-Jákli M., Böttcher F., Meyer Z. M. J., Senbayram M., and Dittert K. 2018. Leaf, canopy and agronomic water-use efficiency of field-grown sugar beet in response to potassium fertilization. Journal of Agronomy and Crop Science, 204:99-110.
- Kang G. Z., Li G. Z., Lui G. Q., Xu W., Peng X. Q., Wang C. Y., Zhu Y. J. and Guo T. C. 2013. Exogenous salicylic acid enhances wheat drought tolerance by influence on the expression of genes related to ascorbate-glutathione cycle. Biologia Plantarum, 57:718–724.
- Kirti B., Kumar V. and Dhimmir S. K. 2007. An evaluation of the potentiality of exogenous osmoprotectants mitigating water stress on chickpea. The Journal of Agricultural Sciences, 3:67-74.
- Kundu C. and Sarkar R. K. 2009. Effect of foliar application of potassium nitrate and calcium nitrate on performance of rainfed lowland rice (*Oryza sativa*). Indian Journal of Agronomy, 54: 428-432.
- Lopez C., Takahashi H., and Yamazaki S. 2002. Plant water relations of kidney bean plants treated with NaCl and foliarly applied glycinebetaine. Journal of Agronomy and Crop Science, 188:73-80.
- Ma X.L., Wang Y. J., Xie S. L., Wang C., and Wang W.. 2007. Glycinebetaine application ameliorates negative effects of drought stress in tobacco. Russian Journal of Plant Physiology, 54:472-479.
- Munir M., Amjad M., Khurram Z., and Ashfaq A. 2016. Improving okra productivity by mitigating drought through foliar application of salicylic acid. Pakistan Journal of Agricultural Sciences, 53:879-884.
- Noreen S., Ashraf M., Hussain M., and Jamil A. 2009. Exogenous application of salicylic acid enhances antioxidative capacity in salt stressed sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. Pakistan Journal of Botany, 41: 473-479. www.researchgate.net/publication/228506244.
- Ojeda-Bustamante W., Sifuentes-Ibarra E., Íñiguez-Covarrubias M. y Montero-Martínez M.J. 2011. Impacto del cambio climático en el desarrollo y requerimientos hídricos de los cultivos. Agrociencia, 45: 1-11.
- Ragab M.E., Nesreen A. S., Omaira M. S., Fawzy Z. F. and El-Sawy S. M. 2015. Foliar application of glycine betaine for alleviating water stress of tomato plants grown under sandy soil conditions. International Journal of ChemTech Research, 8: 52-67.
- Sajad K., Mehdi S. and Fardin G. 2013. Induction of drought tolerance in sweet basil (*Ocimum basilicum* L) by salicylic acid. International Journal of Agricultural and Food Research, 2:18-26. www.sciencetarget.com.
- Shahbaz M., Masood Y., Perveen S. and Ashraf M. 2011. Is foliar-applied glycinebetaine effective in mitigating the adverse effects of drought stress on wheat (*Triticum aestivum* L.)?. Journal of Applied Botany and Food Quality, 84:192 – 199.
- Singh B. and Usha K. 2003. Salicylic acid–induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. Plant Growth Regulation, 39:137–141.



- Srivastava S. and Srivastava M. 2016. Improving tolerance of *Stevia rebaudiana* to water deficit stress through foliar spray of potassium nitrate. International Journal of Applied and Natural Sciences, 5:1-8.
- Statistical Analysis Systems Institute (SAS). 2004. The SAS System for windows version eight. Carry, N.C. U.S.A.
- Sulpice R., Gibon Y., Cornic G. and Larher F. A. 2002. Interaction between exogenous glycine betaine and the photo-respiratory pathway in canola leaf discs. Physiologia Plantarum, 116: 460–467.
- Tijen D. and Türkan I. 2006. Exogenous glycinebetaine affects growth and proline accumulation and retards senescence in two rice cultivars under NaCl stress. Environmental and Experimental Botany, 56:72-79.
- Uzunova A.N. and Popova L. P. 2012. Effect of salicylic acid on leaf anatomy and chloroplast ultrastructure of barley plants. Photosynthetica, 38:243-250.
- Wang M., Zheng Q., Shen Q. and Guo S. 2013. The critical role of potassium in plant stress response. International Journal of Molecular Sciences, 14:7370-7390.