

## **INFORME CIENTÍFICO TÉCNICO**

### **PROGRAMA DE CAMBIO CLIMÁTICO EN CUBA: IMPACTOS, MITIGACIÓN Y ADAPTACIÓN**

**Estudio de los efectos de las altas temperaturas sobre el crecimiento y  
desarrollo de cultivares de granos de interés agrícola.**

**P211LH001011**

**Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical  
“Alejandro de Humboldt” INIFAT**

**Año 2016**

## Índice

<b>Resumen.....</b>	<b>3</b>
<b>1 INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>4</b>
<b>2 MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>6</b>
2.1. Etapa de Laboratorio (preliminar) .....	6
2.2. Efecto de las altas temperaturas sobre la germinación, supervivencia, crecimiento y floración en condiciones de campo .....	7
2.2.1. Porcentaje de supervivencia en campo.....	8
2.2.2. Altura de las plantas .....	9
2.2.3. Tasa de crecimiento .....	9
2.2.4. Floración.....	9
2.3. Efecto de las altas temperaturas sobre la incidencia de plagas.....	10
2.4. Efecto de las altas temperaturas sobre la actividad microbiana de cepas de <i>Rhizobium in vitro</i> .....	10
2.5. Efecto de las altas temperaturas sobre el contenido de nitrógeno en la planta.....	11
2.6. Variables evaluadas durante la cosecha.....	12
<b>3 RESULTADOS ALCANZADOS .....</b>	<b>13</b>
3.1. Etapa de Laboratorio (preliminar) .....	13
3.1.1. Germinación.....	13
3.1.2. Longitud del tallo y la raíz .....	15
3.1.3. Masa fresca y seca por planta .....	17
3.1.4. Análisis general sobre los cinco indicadores estudiados.....	19
3.2. Efecto de las altas temperaturas sobre la germinación, supervivencia, crecimiento y floración en condiciones de campo.....	20
3.2.1. Porcentaje de supervivencia .....	20
3.2.2. Altura de las plantas .....	23
3.2.3. Tasa de crecimiento .....	25
3.2.4. Fechas de arribo a la floración .....	28
3.3. Efecto de las altas temperaturas sobre la incidencia de plagas.....	30
3.4. Efecto de las altas temperaturas sobre el crecimiento de cepas de <i>Rhizobium in vitro</i> .....	31
3.5. Efecto de las altas temperaturas sobre el contenido de nitrógeno en la planta.....	33
3.6. Variables evaluadas durante la maduración de las vainas y la cosecha del grano .....	34
3.6.1. Fecha de arribo a la etapa de maduración de vainas .....	34
3.6.2. Variables evaluadas en la etapa de cosecha .....	36
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>43</b>
<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>44</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>45</b>
<b>ANEXO I .....</b>	<b>48</b>

## RESUMEN

Para el estudio de los efectos de las altas temperaturas sobre el crecimiento y desarrollo de *Phaseolus vulgaris* L., se utilizaron variedades tradicionales, comerciales y algunas líneas de mejora. En condiciones de laboratorio se realizó una siembra en placas Petri con varios tratamientos mediante exposición a golpes de calor por intervalos de 1 y 2 horas, a temperaturas de 40 y 55°C y durante los primeros cinco días de la siembra. Se evaluó el porcentaje de germinación, la longitud del tallo y de la raíz y la masa fresca y seca por planta. En condiciones de campo se efectuaron siembras en los meses de mayores valores de temperatura para los años 2013, 2014 y 2015 y se midió la temperatura media diaria durante el ciclo de crecimiento y desarrollo del cultivo. Los indicadores evaluados en las plantas fueron: el porcentaje de supervivencia a los 11 días después de la siembra, la altura de las plantas, la tasa de crecimiento, las fechas de arribo a la floración y maduración, el contenido de nitrógeno en las plantas y algunos indicadores en época de cosecha como son: altura de las plantas, largo y ancho de las vainas, número y masa de los granos por vaina y masa de 100 semillas. Para las comparaciones estadísticas en todos los casos se empleó un ANOVA. Los resultados de laboratorio indicaron que la aplicación de golpes de calor de 2 horas diarias a 55°C, permitieron identificar accesiones tolerantes a estas condiciones extremas. En condiciones de campo, las accesiones con menor porcentaje de supervivencia mostraron mayor tasa de crecimiento relativa. Las variables evaluadas en el momento de cosecha constituyeron un indicador para evaluar el grado de tolerancia, lo que permitió clasificar las variedades comerciales Caujeri2170 y Güira89 y las accesiones P662, P1185 y P690 como tolerantes y las variedades CC25-9N, CC25-9B y CC25-9R como altamente susceptibles. Por otra parte las altas temperaturas aplicadas en cepas de *Rhizobium in vitro* mostró que la cepa R18 asociada a *P. vulgaris* resultó ser tolerante a 30 y 40°C.

## 1. INTRODUCCIÓN

El incremento de las altas temperaturas ocasionadas por el cambio climático tienen una repercusión directa en la agricultura cubana. Se pronostica que esta problemática va a incidir en la Agricultura, ya que las situaciones de estrés térmico causadas por incrementos de la temperatura por encima de las medias históricas, han repercutido negativamente en los rendimientos agrícolas (Morales *et al.*, 2006). A ello se adicionan otros factores abióticos como la salinidad y la sequía. Para el estudio de los efectos de las altas temperaturas sobre el crecimiento y desarrollo de *Phaseolus vulgaris* L.,

En Cuba la situación no escapa al escenario global que experimentará la producción agrícola mundial y por tanto se toman las medidas para mitigar los efectos del cambio climático (específicamente en la línea de adaptación), la cual representa aquella dimensión donde las ciencias agrícolas pueden destacar su aporte. La adaptación va dirigida específicamente hacia aquella respuesta a los efectos del cambio climático, donde no se puede ni mitigar, ni revertir los procesos que dan lugar a este fenómeno. Por el contrario, persigue como objetivo identificar variantes dentro de los propios escenarios de cambio climático previstos, que faciliten conocer la base científica que permite establecer la capacidad de tolerancia desde un determinado sistema. En el caso específico de la agricultura, la adaptación bien pudiera enfocarse, entre otras líneas de investigación, hacia la identificación de aquellas variedades que toleran diferentes condiciones de estrés.

Desde el punto de vista fisiológico, la temperatura incide directamente en la velocidad de las reacciones químicas catalizadas enzimáticamente, modifica la estructura y actividad de las macromoléculas y determina el estado físico del agua. Las especies se ven expuestas generalmente a fluctuaciones estacionales de la temperatura (Azcon-Bieto y Talón, 2008) y la mayoría de las plantas ralentizan su crecimiento a temperaturas superiores a los 40°C, aunque hay plantas como las xerófitas que pueden resistir hasta 50°C sin llegar a la senescencia. En el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), una de las etapas más sensibles a modificarse bajo la acción del estrés abiótico es el crecimiento (Cabrera *et al.*, 2014). Los mecanismos biofísicos no solo afectan los fenómenos de transporte a través de la membrana, sino que se afecta además la viscosidad del agua y su potencial electroquímico. Según la definición de potencial de agua, la temperatura incide directamente en el flujo de esta sustancia que contiene además los nutrientes que provienen del suelo, a través de la savia xilemática. Las altas temperaturas afectan de igual modo el ascenso del agua, debido a que las plantas sometidas tanto al estrés térmico como al hídrico, tienden a sufrir lo que se conoce como embolismo xilemático, lo cual según algunos modelos se debe a las imperfecciones de los tubos xilemáticos y a la temperatura (Melcher *et al.*, 2003; Sperry y Hacke, 2004 y Socorro, 2009).

Altas temperaturas (mayores que 30°C día y/o 20°C en la noche) en zonas tropicales de baja altitud (inferior a 650 m.s.n.m) pueden limitar severamente la producción de frijol (Voyset., 2000). La región del Caribe estará propensa a experimentar un mayor estrés hídrico y térmico dentro de escenarios climáticos futuros incluyendo un incremento de la actividad ciclónica (Bates *et al.*, 2008). La temperatura óptima para el crecimiento del tubo polínico en granos de polen de cultivares de frijol corresponde a 25°C y el porcentaje de viabilidad del polen se reduce con temperaturas por encima de 35°C. (Halterlein *et al.* 1980) En el mismo sentido Farlow *et al.* (1979) ya habían demostrado

que a temperaturas de 38,3°C la germinación *in vitro* de los granos de polen se reduce a cero.

Al tener en cuenta los intervalos de temperaturas descritos para la especie y las condiciones climáticas actuales de Cuba, el cultivo del frijol se encuentra limitado al período poco lluvioso comprendido entre los meses de octubre a febrero (Fernández *et al.*, 2014), donde las temperaturas medias diarias oscilan sobre los 24-25°C. En este período se encuentra el trimestre diciembre-febrero, que teniendo en cuenta el promedio de la década del 90 y principios del siglo XXI, manifiesta una marcada tendencia a ser más cálido, con un incremento de 2.0°C aproximadamente.

El estudio sobre bases científicas del efecto del cambio climático sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas, así como la utilización de modelos de predicción del comportamiento del crecimiento vegetal, es muy necesario como garantía para el desarrollo de una agricultura sustentable. Por ello, surge la necesidad de conocer con mayor precisión como se modifican los procesos fisiológicos vegetales, a partir de la presencia de valores de temperaturas más elevadas, lo que permitiría trazar estrategias tecnológicas que incluyan las variedades y su manejo, para contrarrestar estos efectos y así minimizar las pérdidas en la producción agrícola debido a este factor abiótico.

En el contexto cubano, los granos básicos son de vital importancia para la alimentación. En el caso del frijol, este cultivo no escapa a la posibilidad de ser perjudicado por altos valores de temperatura. Por ello en el presente proyecto se propuso como **objetivo General** "Identificar cultivares de granos que muestran mayor resistencia al estrés causado por altas temperaturas (especie modelo *Phaseolus vulgaris* L.)". Mientras que los **objetivos específicos propuestos al inicio del proyecto son:**

1. Analizar el comportamiento de la tasa de crecimiento de diferentes cultivares representativos de granos de especies de interés, sometidas a altos valores de temperatura, así como su efecto sobre las membranas celulares de los tejidos de las hojas y sobre la conductancia hidráulica en las mismas durante la transpiración. (\*)
2. Cuantificar el efecto de las altas temperaturas sobre el contenido de nitrógeno en las plantas durante el crecimiento y como ello repercute sobre los rendimientos en diferentes variedades. (\*)
3. Estudiar el efecto de las altas temperaturas sobre la actividad estimuladora de inoculantes microbianos en el crecimiento vegetal.
4. Estudiar los efectos de las altas temperaturas sobre la incidencia de plagas mediante muestreos periódicos, así como detectar la presencia de nuevos agentes patógenos provocado por este estrés abiótico.

(\*) Debido a la modificación de una de las etapas del proyecto durante el período de ejecución del mismo, los objetivos específicos 1 y 2 se reformularon del modo siguiente.

1. Analizar el comportamiento de la germinación, crecimiento, desarrollo y cosecha de diferentes accesiones de *P. vulgaris*, sometidas a altos valores de temperatura, bajo condiciones de laboratorio y campo.
2. Cuantificar el efecto de las altas temperaturas sobre el contenido de nitrógeno en las plantas durante el crecimiento.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Etapa de Laboratorio (preliminar)

En esta etapa se seleccionaron 12 accesiones de *Phaseolus vulgaris* L. procedentes del banco de germoplasma del INIFAT, dentro de las que se encuentran algunas variedades comerciales (Fernández *et. al*, 2014)(Tabla 1). Las semillas fueron sometidas a condiciones de estrés térmico, mediante la aplicación de golpes de calor bajo condiciones controladas.

**Tabla 1. Accesiones de frijol común utilizadas en los experimentos en ambiente controlado en laboratorio.**

Rayado2258	P690	P3084
P30L50	Caujerí2170	Lewa
CC25-9R	P790	P577
P667	P192-1	P889

Se realizó una siembra en placas Petri con papel de filtro humedecido con 10 mL de agua destilada. Los golpes de calor aplicados se realizaron a dos valores de tiempo de exposición (una y dos horas) y a dos valores de temperaturas (40 y 55°C) por medio de una estufa termo-regulada (Tabla 2), de forma análoga a los estudios de estrés térmico donde se aplican golpes de calor en condiciones controladas según metodología descrita por Morales *et al.*, (2006).

**Tabla 2. Tratamientos utilizados durante el ensayo experimental.**

Tratamientos	Tiempo (h)	Temperatura(°C)
Control	0	20
T1	1	40
T2	2	40
T3	1	55
T4	2	55

Estos cuatro tratamientos se aplicaron diariamente durante los cinco primeros días (0, 24, 48, 72 y 96 h posteriores a la siembra). Se determinó el porcentaje de germinación (PG) durante ocho días, y al final se evaluaron los indicadores longitud de tallo (LT) y raíz (LR) así como masa fresca (MF) y seca (MS) por planta. Las longitudes de los órganos se evaluaron con una regla milimetrada y los valores de las masas se obtuvieron a través de una balanza analítica táctil Ohaus-Explorer (capacidad hasta 200 g y una resolución de 0.1mg).

El diseño experimental fue completamente aleatorizado con la aplicación de un ANOVA bifactorial, donde los factores fueron los cuatro tratamientos y las 12 accesiones, mientras que las variables dependientes en cada caso fueron los indicadores evaluados (PG, LT, LR, MF y MS). Posteriormente se aplicó una estimación de medias entre los tratamientos para cada accesión utilizando la prueba de Tukey con una significancia del ( $P < 0.05$ ). Para los cálculos estadísticos se utilizó el programa InfoStat (Versión 2008-I). Para el procesamiento estadístico de los datos del porcentaje de germinación "PG", los se transformaron mediante la ecuación  $pt = \arcseno\left(\sqrt{PG/100}\right)$  para su análisis estadístico.

Posteriormente con el tratamiento de mayor estrés aplicado (T4), se obtuvieron los valores relativos con respecto al control para cada una de las 12 accesiones. Se realizó un ANOVA unifactorial donde el factor fue la accesión y una prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ), para comparar cuál de ellas fue más tolerante al golpe de calor extremo. Para ello se estableció como criterio de tolerancia aquellos valores respecto al control por encima del 30%, teniendo en cuenta que T4 es un tratamiento de condiciones extremas para esta especie.

## 2.2. Efecto de las altas temperaturas sobre la germinación, supervivencia, crecimiento y floración en condiciones de campo

Se realizó el diseño del plan de siembra en un diseño alfa-latino 54 parcelas, con tres réplicas para cada accesión. El mismo se llevó a cabo en las campañas 2013 y 2014, con 18 accesiones de *P. vulgaris* en cada una, mientras que para el 2015 se incluyeron nuevas accesiones para un total de 20. Cada parcela estaba formada por 5 surcos de 0.9 m de ancho con una distancia de siembra de 10 cm, según instructivo técnico del cultivo (MINAG, 2010).

Las fechas de siembra estuvieron comprendidas entre el 27 de junio y 2 de julio. De esta manera se tuvo en cuenta que los mayores valores de temperaturas estuvieran contemplados dentro de los 30-60 días posteriores a la siembra para que incidiera directamente sobre la floración y maduración. Específicamente son los meses de julio y agosto donde la temperatura media del aire, (según el promedio de 1979-2000), está por encima de 27,3°C para ambos meses (Álvarez y Mercadet, 2012).

**Tabla 3. Accesiones utilizadas en las tres campañas.**

Accesiones	Campañas			Color	Características principales	
	2013	2014	2015		M <sub>100S</sub> * (g)	Hábito de crecimiento
1 Caujerí2170	X	X	X	Negro	21.6	Indeterminado tipo IIb
2 Rayado2258	X	X	X	Rojo bayo	35.0	Indeterminado tipo IIb
3 P882	X	X	X	Beige	16.0	Indeterminado tipo IIb
4 Lewa	X	X	X	Blanco	22.7	Indeterminado tipo IIb
5 P30L50	X	X	X	Carmelita	19.0	Indeterminado tipo IIb
6 P871	X	X	X	Negro	16.0	Indeterminado tipo IIb
7 P1185	X	X	X	Negro (brillo)	18.0	Indeterminado tipo IIb
8 P646	X	X	X	Negro	15.5	Indeterminado tipo II
9 P667	X	X	X	Negro	19.0	Indeterminado tipo IIb
10 CC25-9R	X	X	X	Café Oscuro	21.0	Indeterminado tipo III
11 CC25-9N	X	X	X	Negro	22.5	Indeterminado tipo III
12 P662	X	X	X	Rojo oscuro	15.55	Indeterminado tipo IIb
13 P657	X	X		Negro	16.0	Indeterminado tipo IIb
14 P192-1	X		X	Colorado	23.2	Indeterminado tipo IIb
15 P790	X		X	Rosado	22.0	Indeterminado tipo II
16 P889	X			Negro	16.28	Indeterminado tipo II
17 P248-1	X			Negro (brillo)	24.0	Indeterminado tipo II
18 P577	X			Negro	16.75	Indeterminado tipo II
19 CC25-9B		X	X	Blanco	21.0	Indeterminado tipo III
20 Guira89		X	X	Negro	20.7	Indeterminado tipo II
21 Triunfo70		X	X	Negro	19.8	Indeterminado tipo IIb
22 P3084		X	X	Negro	18.0	Indeterminado tipo IIb
23 Rubí		X	X	Rojo	42.8	Indeterminado tipo IIb
24 P690			X	Negro	13.5	Indeterminado tipo IIb

**Tipos de indeterminaciones: II y IIb- arbustivo, III-postrado (Fernández et al., 2014)**

La Tabla 3 muestra las accesiones estudiadas en cada campaña de siembra. El suelo utilizado es del tipo ferralítico rojo lixiviado ubicado dentro del perímetro de lotes experimentales del INIFAT. En todos los casos se aplicó riego y fertilizante de acuerdo a las normativas del cultivo de *P. vulgaris*, en dosis y fecha similar al utilizado en época óptima (período no lluvioso), teniendo en cuenta para el caso del riego, que los meses de julio-septiembre son de alta actividad de lluvia. La fertilización fué aplicada de acuerdo a los requerimientos establecidos para el cultivo (MINAG, 2010).

### 2.2.1. Porcentaje de supervivencia en campo

Se realizó un conteo de plantas germinadas a los 11 días posteriores a la siembra, según las fechas de las primeras tres etapas correspondientes a la fase vegetativa: 1-germinación (0-5 días), 2-emergencia (5-7) y 3-hojas primarias (7-11 días) (IICA, 2011). Se aplicó un ANOVA unifactorial para las accesiones en cada campaña y una estimación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de  $P < 0.05$ .

Los valores de temperatura y pluviometría en todas las campañas fueron obtenidos en la estación meteorológica de Santiago de Las Vegas, a 300 metros del lote experimental cuyos valores se muestran en el ANEXO I. Con los datos diarios de la temperatura media se calculó el Factor Térmico ( $F_T$ ) (Vidal, 2006, Yoldas y Esiyok, 2009), también denominado temperatura acumulada. Para ello se empleó la siguiente expresión:

$$F_T = \sum_{n=1}^N (T_n - T_{Base}) \quad (1)$$

Donde  $T_n$  es la temperatura diaria que se evalúa hasta el N-ésimo día, de modo que  $F_T$  se relaciona con un determinado período de tiempo.  $T_{base}$  es un valor de temperatura que se elige como referencia para cada cultivo y de acuerdo con las condiciones ambientales donde se desarrolle. En este trabajo este valor se adoptó como  $15^\circ\text{C}$ , teniendo en cuenta que la planta de frijol crece a temperaturas promedio de 15 a  $27^\circ\text{C}$  (White, 1985).

En el caso de las primeras 12 accesiones de la Tabla 3 (desde la Caujerí2170 hasta la P662) evaluadas las tres campañas, se estableció una relación entre el factor térmico, calculado sobre la suma de las temperaturas medias durante los primeros 11 días posteriores a la siembra (fase vegetativa que incluye las etapas germinación, emergencia y hojas primarias). Para ello se seleccionó como temperatura óptima  $25^\circ\text{C}$ , teniendo en cuenta el período de siembra del cultivo y dentro del cual se obtienen valores del porcentaje de supervivencia de 100%. El ajuste de esta dependencia se realizó a partir de la ecuación sigmoidea:

$$P_s = \frac{100\%}{1 + b_s e^{k_s F_T}} \quad (2)$$

Donde  $b_s$  y  $k_s$  son coeficientes. En el caso de  $k_s$ , este refleja la susceptibilidad del cultivo a disminuir su porcentaje de supervivencia ante incrementos de la temperatura media diaria (incrementos del factor térmico  $F_T$ ). El ajuste de la relación entre los valores del porcentaje de supervivencia y  $F_T$ , con respecto a la curva de ecuación (2) se realizó por medio del programa CURVE EXPERT (versión 1.3). Para determinar la calidad de la aproximación a (2) se obtuvo además el valor del coeficiente de determinación para la bondad de ajuste (Yamane, 1967).

Con los valores de  $k_S$  y  $b_S$  se procedió a calcular el indicador “ $F_{T50}$ ”, el cual representa el valor del factor térmico, que provoca una disminución del porcentaje de supervivencia hasta un 50% (ecuación 3) y cuya expresión se obtiene a partir de la ecuación (2):

$$F_{T50} = -\frac{\ln(b_S)}{k_S} \quad (3)$$

### 2.2.2. Altura de las plantas

Para cuantificar la dinámica de crecimiento se evaluó la altura de las plantas "h" a los 20 días después de la siembra y por intervalos de 5-10 días. Se utilizó un modelo logístico (curva sigmoidea) para representar la altura de las plantas con respecto al tiempo, a través de la ecuación:

$$h = \frac{h_{MAX}}{1 + b_H e^{-k_H t}} \quad (4)$$

Donde  $h_{MAX}$ ,  $b_H$  y  $k_H$  son constantes mientras que  $t$  son los días posteriores a la siembra. El valor de  $k_H$  está muy relacionado con la dinámica de crecimiento del tallo. La derivada de  $h$  es siempre positiva, por lo que esta crece durante todo el dominio de  $t$  hasta estabilizarse en la altura límite ( $h_{lim}=h_{MAX}$ ). El punto de inflexión de la curva sigmoidea (en  $t_{50}$ ), refleja el tiempo que transcurre para que la planta alcance la mitad de la altura máxima.

$$t_{50} = \frac{1}{k_H} \ln(b_H) \quad (5)$$

### 2.2.3. Tasa de crecimiento

Para la evaluación de la tasa de crecimiento se seleccionaron 18 accesiones de *P. vulgaris* en la campaña del 2014. A los 21 y 30 días posteriores a la siembra, correspondiente a las respectivas etapas “tercera hoja trifoliada” y “prefloración”, se colectaron 3 plantas por réplica para un total de 9 por variante experimental. Las muestras se colocaron en una estufa a 75°C durante 8 horas por 3 días, hasta llegar a un valor de peso constante y de esta forma obtener el valor de la masa seca de cada una (Virgen *et al.*, 2001). Entre ambas fechas se calcularon las tasas de crecimiento absoluta (TAC) y relativa (TRC), por medio de las expresiones (Maqueira *et al.*, 2010):

$$TAC = \frac{MS_2 - MS_1}{t_2 - t_1} \quad (6) \quad TRC = \frac{\ln[MS_2] - \ln[MS_1]}{t_2 - t_1} \quad (7)$$

Donde  $MS_1$  y  $MS_2$  son las masas secas por planta evaluadas en tiempos posteriores a la siembra  $t_1=21$  días y  $t_2=30$  días. Para las comparaciones estadísticas se realizó una ANOVA unifactorial y la comparación de medias atendiendo a la prueba de Tukey para  $P<0.05$ .

### 2.2.4. Floración

Las fechas de floración se determinaron teniendo en cuenta el momento en que se detectó la aparición de flores en más del 50% de las plantas (MINAG, 2010). Se realizaron conteos de plantas florecidas en cada una de las réplicas por cada accesión.

En cada caso se registró el valor del factor térmico desde el inicio de la siembra hasta el instante de arribo a la etapa.

### 2.3. Efecto de las altas temperaturas sobre la incidencia de plagas

Se evaluó la incidencia de las plagas asociadas a las accesiones de *P. vulgaris* utilizadas en las campañas 2013 y 2014 (Tabla 9) se realizaron observaciones en las diferentes fases fenológicas del cultivo (vegetativa, floración, formación y llenado de vainas y madurez técnica), las cuales corresponden a las fases más vulnerables de este cultivo al ataque de plagas y tuvieron como objetivo detectar e identificar la presencia de insectos relacionadas con las diferentes accesiones y las fases.

Se realizaron nueve observaciones con frecuencia semanal en el total de la parcela, revisando las plantas completas y colectando insectos presentes los cuales se colocaron en frascos con alcohol al 70% y fueron trasladadas al laboratorio de entomología aplicada, para su identificación con la ayuda de un microscopio y de la colección entomológica ubicada en el grupo de Protección de Plantas del INIFAT (Hidalgo-Gato y Reyes, 2013). De esta manera, la incidencia de plagas ( $P_i$ ) quedó cuantificada por el número de veces que las plagas fueron identificadas en cada parcela  $NO_P$  respecto al número total de observaciones realizadas  $NO_T$ :

$$P_i = \frac{NO_P}{NO_T} \quad (8)$$

Se llevaron a cabo tres análisis comparativos. El primero tuvo en cuenta como se comportó la incidencia de cada una de las principales plagas detectadas entre ellas por cada año. Para ello, se promediaron las incidencias de las plagas en las 18 accesiones por cada plaga en cada año y se calcularon los porcentajes de incidencia  $P_i$ . Se realizó una ANOVA bifactorial (los factores fueron el año y el tipo de plaga). En la segunda comparación se seleccionaron las accesiones estudiadas en las campañas 2013 y 2014 y se comparó la presencia de cada una de las plagas, teniendo como réplicas los resultados de ambos años. De esta forma para cada plaga se realizó un ANOVA unifactorial donde la variable a analizar es la accesión. En el tercer estudio de caso se promediaron las incidencias de las 5 plagas para cada accesión y se analizaron los respectivos análisis de varianzas para cada año. En todos los análisis, los datos se transformaron por medio de la función *arcoseno de la raíz cuadrada* del porcentaje expresado en unidades decimales y se realizó un ANOVA con una comparación múltiple de medias a través de la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ).

### 2.4. Efecto de las altas temperaturas sobre la actividad microbiana de cepas de *Rhizobium in vitro*

Se utilizaron 17 cepas de *Rhizobium* de diferentes procedencias (Tabla 4), que se encuentran conservadas en la Colección de Bacterias Beneficiosas del INIFAT (CBBI), para observar su respuesta a altas temperaturas. Los microorganismos se inocularon sobre el medio de cultivo YMA (Sacarosa: 40 g,  $K_2HPO_4$ : 0.5 g;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ : 0.2g; NaCl: 0.1 g;  $CaCO_3$ : 0.7g; extracto de levadura: 0.5g; agua destilada 1000 mL; a un pH 6,8-7.0) citado por Martínez *et al.*, (2006). Se utilizaron placas Petri de 90 mm de diámetro, con un total de cuatro colonias por cada placa y tres placas por cada cepa.

Se establecieron cuatro valores de temperaturas de incubación: 20, 30, 40 y 55°C. Las cepas se mantuvieron durante 48 horas bajo cada una de ellas y posteriormente se evaluó el crecimiento bacteriano mediante la medición del diámetro de la colonia con un pie de Rey. Las cepas y el cultivar asociado se exponen en la Tabla 4. Se realizó un ANOVA de clasificación simple con las cuatro réplicas de cada variante, para cada una de las cepas, donde el factor a analizar fue la temperatura. Posteriormente se realizaron estimaciones múltiples de medias (Prueba de Tukey  $P < 0.05$ ). Se comprobó previamente la pureza de cada cepa mediante Tinción de Gram y la observación de la morfología de la colonia crecida en el medio de cultivo YMA (Martínez *et al.*, 2006), a través de un microscopio estereoscópico.

**Tabla 4. Cepas utilizadas en el estudio.**

<b>Cepa</b>	<b>Cultivo asociado</b>
R1	Garbanzo ( <i>Cicer arietinum</i> L.)
R2	Garbanzo ( <i>Cicer arietinum</i> L.)
R3	Garbanzo ( <i>Cicer arietinum</i> L.)
R12	Garbanzo ( <i>Cicer arietinum</i> L.)
R6	Habichuela china ( <i>Vigna unguiculata</i> (L) Walp.cv.gr.sesquipedalis)
R7	Habichuela china ( <i>Vigna unguiculata</i> (L) Walp.cv.gr.sesquipedalis)
R8	Soya ( <i>Glycine max</i> (L) Merr.)
R9	Frijol Chino ( <i>Vigna radiata</i> (L) R.Wilczek)
R11	Frijol chino ( <i>Vigna radiata</i> (L) R.Wilczek)
R10	Frijol mambí ( <i>Vigna umbellata</i> (Thund) Ohwi&Ohashi)
R13	Frijol común Lewa ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L)
R5	Frijol común ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L)
R14	Frijol común CC25-9N ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L)
R16	Frijol común Triunfo 70 ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L)
R17	Frijol común CC25-9R ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L)
R18	Frijol común Velazco largo ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L)
R19	Frijol común P258 ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L)

## 2.5. Efecto de las altas temperaturas sobre el contenido de nitrógeno en la planta

En el día 40 posterior a la siembra (etapa de floración retardada), se colectaron muestras de plantas completas en las tres parcelas de cada variante a razón de diez por parcela. Estas fueron sometidas a un proceso de secado durante sesiones de 8 horas a 75°C y durante 6 días (Virgen *et al.*, 2001) hasta que las plantas quedaron deshidratadas, para que luego estas fueran trituradas.

Se utilizó el método de Kjeldhal (Faust *et al.*, 1987) para evaluar el contenido de nitrógeno total en la planta (tallo y hoja), evaluando la cantidad de amonio,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , obtenida por digestión con ácido sulfúrico concentrado  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , en presencia de catalizadores (Se, Cu), un oxidante peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y sulfato de potasio  $\text{K}_2\text{SO}_4$  para aumentar el punto de ebullición, con el fin de favorecer la oxidación de la materia orgánica. Una vez terminada la digestión, se procedió a destilar el material digerido en medio alcalino, liberando todo el nitrógeno como amoniaco ( $\text{NH}_3$ ), el que se recolecta cuantitativamente en una alícuota de ácido clorhídrico HCl (0,1N) (20-25mL),

que se valora con hidróxido de sodio NaOH (0,1N). Los resultados obtenidos se cuantificaron como cantidad de mg de nitrógeno total por cada 100 mg de masa seca de la muestra total.

## **2.6. Variables evaluadas durante la cosecha**

Para evaluar el arribo a la etapa de maduración se llevó a cabo un procedimiento análogo al caso de la floración. En cada réplica se realizó un conteo de plantas con vainas maduras y se anotó la fecha en la que se observaron más del 50% en esta etapa de la fase reproductiva (Pastenes y Horton, 1996; MINAG, 2010). En las tres campañas se calcularon los valores del factor térmico teniendo en cuenta la fecha de la floración y maduración como intervalo para acumular los valores de la temperatura media diaria. Posteriormente se procedió a cosechar las plantas para evaluar las siguientes variables:

- Número de nudos por planta (NNxP)
- Número de vainas por planta (NVxP)
- Longitud de las vainas (LV)
- Ancho de las vainas (ANxP)
- Altura de las vainas (ALxP)
- Número de semillas por vaina (NSxV)
- Masa de las semillas por vainas (MSxV)

Las mediciones se realizaron utilizando una cinta métrica y una balanza técnica KERN, para un valor máximo de masa de 3000 g y una precisión de 0.1 g. A cada indicador se le aplicó una ANOVA unifactorial con una prueba de Tukey para un nivel de significancia de  $P < 0.05$ . Se realizó un análisis de la calidad de los granos cosechados a partir de las dimensiones de las mismas (largo, ancho y espesor de la semilla y masa de 100 granos a 12% de humedad).

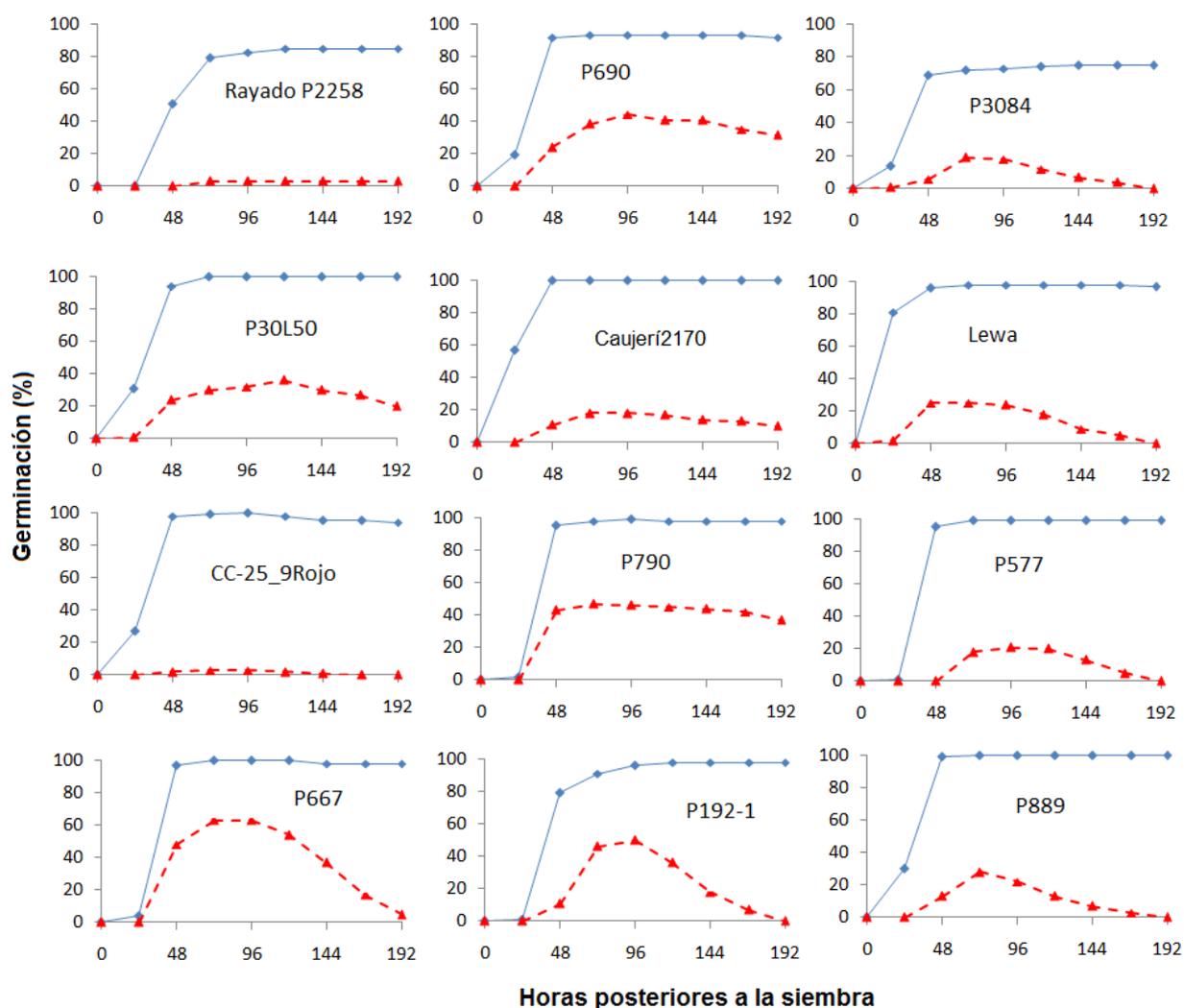
Con los valores de las variables en etapa de cosecha obtenidos para las campañas 2014 y 2015, se llevó a cabo un análisis multivariado mediante el método conglomerado. Se realizó además una prueba de Hotelling con nivel corregido de Bonferoni ( $P < 0.05$ ), a través del programa InfoStat (Versión 2008-I), para obtener criterios en la selección de la distancia euclidiana adecuada que permita la cuantificación y clasificación de los grupos, mediante el programa SSPS para Window (versión 11.5). El criterio de tolerancia se estableció a partir de las comparaciones entre accesiones, así como con respecto a los datos obtenidos para siembras en época óptima, utilizados como testigo.

### 3. RESULTADOS ALCANZADOS

#### 3.1. Etapa de Laboratorio (preliminar)

##### 3.1.1. Germinación

La figura 1 muestra el comportamiento del porcentaje de germinación en las 12 accesiones, durante las 192 h de la siembra en condiciones de laboratorio, para el tratamiento T4.



**Figura 1: Comportamiento de la germinación en plantas sometidas al tratamiento extremo 55°C durante dos horas (T4), (líneas discontinuas) y plantas control (líneas continuas), con relación al tiempo posterior a la siembra en condiciones de laboratorio.**

En este tratamiento aplicado como condición estresante extrema se observa como las variedades Rayado2258 y la variedad CC25-9R, no presentaron desde las primeras horas de siembra ninguna respuesta germinativa, lo que significa que son susceptibles al calor. Sin embargo, accesiones como la P667 expresaron una inmediata respuesta de resistencia al estrés para luego propiciar un brusco descenso debido a la incidencia acumulativa de los dos últimos golpes de calor aplicados en el tratamiento T4.

También se pudo encontrar que en accesiones como la P790 los valores de la germinación mostraron una tendencia al incremento con respecto al tiempo, aunque luego manifestaron un ligero descenso debido a la acción de los golpes de calor (presentes hasta las 96 horas). El proceso de germinación requiere intervalos de temperatura óptimos para cada especie vegetal y para el caso de *P. vulgaris* este se encuentra cerca de los 15-20°C, para la media diaria (White, 1985; León, 2012), aunque puede tolerar valores máximos durante el día hasta 30°C, los cuales son registrados en varias regiones productoras de Cuba, en los meses de Octubre a Enero.

La acción directa de los golpes de calor sobre plántulas de este cultivo, con temperaturas en el intervalo 20-30°C, generalmente no provoca efectos significativos (en dependencia de la etapa fenológica). Al coexistir este proceso con situaciones de temperaturas en exceso, combinado con períodos de exposición relativamente altos, y una débil capacidad de respuesta por parte del genotipo, se afectan diversos mecanismos que implican la formación de una planta poco viable, tal y como mostraron Li y Udomprasert (1993) en más de 70 accesiones. En la Tabla 5 se observan los valores de la germinación para los 4 tratamientos y el control, así como para las 12 accesiones estudiadas. El análisis bifactorial mostró que hay diferencia significativa con relación a la accesión, el tratamiento y en la interacción entre ambos factores. Por otra parte la prueba de Tukey mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las diferentes interacciones accesión-tratamiento.

La variedad CC-25\_9R y la accesión P889, mostraron diferencias significativas entre tratamientos T1, T2 y T3 con relación al control. No obstante, los porcentajes de germinación en el caso de T3 (55°C-1h) superaban el 70%, para posteriormente llegar a perder la casi totalidad de la germinación en T4 (55°C-2h). Por otro lado, la accesión P790, fue la de mejores resultados con este tratamiento extremo (Tabla 5).

**Tabla 5. Valores del porcentaje de germinación para cada tratamiento y accesión. Letras diferentes indican diferencias de acuerdo a la Prueba de Tukey ( $P < 0.05$ )**

Accesión	Control	T1	T2	T3	T4
Rayado P2258	85.00 abcd	71.67 bcdef	70.00 cdef	69.17 cdef	3.33 h
P690	91.67 abcd	90.00 abcd	90.00 abcd	97.50 abcd	42.50 efg
P3084	75.00 abcde	70.00 cdef	73.00 bcdef	68.00 def	0.00 h
P30L50	100.00 a	100.00 a	100.00 a	99.00 ab	31.00 fgh
Caujerí2170	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	18.00 gh
Lewa	98.00 abc	95.00 abcd	100.00 a	99.00 ab	25.00 gh
CC25-9R	95.00 abcd	100.00 a	92.00 abcd	99.00 ab	3.00 h
P790	98.00 abcd	100.00 a	99.00 ab	100.00 a	46.00 efg
P577	99.00 ab	97.00 abcd	98.00 abcd	95.00 abcd	21.00 gh
P667	98.00 abcd	100.00 a	98.00 abcd	98.00 abcd	5.00 h
P192-1	96.00 abcd	91.00 abcd	94.00 abcd	99.00 ab	0.00 h
P889	100.00 a	97.00 abcd	97.00 abcd	77.00 abcde	0.00 h

De modo general en el tratamiento T4, se observó una significativa disminución de este indicador, llegando a no germinar ninguna semilla en las accesiones P192-1, P889 y P3084, así como otras accesiones cuyos valores no mostraron diferencias significativas con relación a cero porcentaje de germinación. Esto podría deberse a que existen

determinadas rutas metabólicas que según Atkin *et al.*, (2002) se modifican bajo los efectos de un aumento de la temperatura lo que repercute en un incremento del consumo de las sustancias de reserva en los cotiledones. Ello también puede ser la causa de la senescencia de las plántulas de unas variedades y la tolerancia de otras, a partir de las características morfo-fisiológicas y composición bioquímica, propias de cada una.

El estrés provocado por el golpe de calor sobre el tejido embrionario, pudo haber provocado pérdidas de semi-permeabilidad, ya que según lo referido por Azcón-Bieto y Talón (2008) se modificó la micro-viscosidad o fluidez de las membranas. Por otra parte, el estrés provocado tiene otros efectos sobre la actividad de las enzimas que participan en los procesos germinativos. Con valores inferiores de temperatura (34-37°C) y en plantas de espárragos Yen *et al.* (1993) también observó cambios en la síntesis de proteínas después de someter a estas a golpes de calor de durante intervalos de tiempo desde 2 hasta 6 horas. En algunas experiencias anteriores se ha encontrado además que una combinación de una situación de estrés térmico (36°C de forma crónica) con un bajo potencial de agua, provocó una significativa disminución de la germinación en varios cultivos (El-Sharkawi, 1993). En algunos casos la respuesta al estrés se asocia a determinados genes responsables de participar en respuestas fisiológicas, que dan lugar a diferentes vías alternativas para enfrentar situaciones adversas (Hemming *et al.*, 2012).

### 3.1.2. Longitud del tallo y la raíz

La Tabla 6 recoge los valores de la longitud del tallo en la segunda semana posterior a la siembra bajo condiciones de laboratorio.

**Tabla 6. Valores de la longitud del tallo (cm) en las plantas correspondientes a cada tratamiento y accesión. Letras diferentes indican diferencias de acuerdo a la Prueba de Tukey (P<0.05)**

Accesión	Control	T1	T2	T3	T4
Rayado P2258	3.87 efg hij	2.54 ghijkl	1.29 jkl	1.19 jkl	0.00 l
P690	6.52 cdef	2.97 fghijkl	2.07 hijkl	2.75 ghijkl	0.29 kl
P3084	6.02 cdefg	2.01 hijkl	1.80 jkl	1.17 jkl	0.00 l
P30L50	8.35 cd	2.75 ghijkl	1.63 jkl	2.24 hijkl	0.08 l
Caujerí 2170	8.91 cd	4.27 efg hij	1.65 jkl	2.09 hijkl	0.05 l
Lewa	6.81 cde	2.82 ghijkl	2.29 hijkl	2.38 hijkl	0.00 l
CC-25_9Rojo	3.05 fghijkl	2.04 hijkl	1.55 jkl	1.72 jkl	0.00 l
P790	5.57 defgh	2.58 ghijkl	1.93 ijkl	2.19 hijkl	0.75 jkl
P577	4.27 efg hij	2.13 hijkl	1.82 jkl	1.71 jkl	0.00 l
P667	16.34 b	17.69 ab	2.61 ghijkl	2.87 ghijkl	0.10 l
P192-1	7.94 cd	5.48 defghi	2.09 hijkl	3.73 efg hijk	0.00 l
P889	21.04 a	17.90 ab	9.49 c	1.35 jkl	0.00 l

Se observó una diferencia marcada entre los tratamientos y una ralentización del crecimiento en el tallo a medida que se aumentan los golpes de calor con respecto al control, lo que impidió la formación de plántulas consistentes y vigorosas, preparadas para realizar todas las funciones fisiológicas necesarias durante su desarrollo. Algunas

accesiones como la P667, P192-1 y la P889 mostraron tolerancia ante los cambios bruscos de temperatura durante 1 h a 40°C (T1), pero al igual que el resto de las accesiones, ante las altas temperaturas prolongadas, prácticamente no desarrolló el tallo, órgano fundamental para un buen crecimiento de las plantas. En el caso de la accesión P790 se evidenció que la planta, a pesar de estar sometida a situaciones de estrés térmico extremo, llegó a alcanzar hasta 0,75 cm, muy por encima del resto. La misma no mostró diferencias significativas entre los tratamientos (mantuvo el valor más alto de longitud de tallo respecto al resto de las accesiones). A pesar de que también se afectó su desarrollo.

Estos resultados concuerdan con lo planteado por Azcón-Bieto y Talón, (2000), quienes refieren que la temperatura condiciona la velocidad de las reacciones químicas catalizadas enzimáticamente, modifica la estructura y la actividad de las macromoléculas y determina el estado físico del agua. Las plantas con una disminución en su desarrollo del tallo sufren afectaciones en la formación del primer par de hojas verdaderas, lo que trae como consecuencia que la actividad fotosintética que la planta comienza a desarrollar, se ve seriamente limitada.

El comportamiento de la longitud de la raíz (Tabla 7) resultó similar al obtenido en la longitud del tallo. En la referida Tabla se puede apreciar una diferencia significativa según la prueba de Tukey entre los distintos tratamientos y la disminución de la longitud de la raíz en las 12 accesiones. Además la diferencia de 1 hora a la misma temperatura de 40°C (T1 y T2), muestra un cambio brusco en la disminución de la longitud de la raíz, y en el T4 prácticamente no se desarrolló la misma, donde se vieron afectados algunos procesos en la planta que son producto de la adsorción de agua a través de las raíces. Las que presentaron los mayores valores fueron la accesión P30L50 y la variedad Caujerí2170. Estas a pesar de que muestra significancia, ante el T4, desarrollaron una raíz pequeña, a diferencia del resto de las accesiones que se mostraron totalmente indiferentes en su desarrollo radicular.

**Tabla 7. Valores de la longitud de la raíz (cm) en las plantas correspondientes a cada tratamiento y accesión. Letras diferentes indican diferencias de acuerdo a la Prueba de Tukey (P<0.05)**

Accesión	Control	T1	T2	T3	T4
Rayado P2258	4.94 d	5.12 cd	2.35 de	2.13 de	0.00 f
P690	5.08 d	4.42 d	3.70 de	4.28 d	0.05 f
P3084	4.51 d	4.62 d	2.79 de	1.47 e	0.00 f
P30L50	7.02 c	7.70 c	5.53 cd	5.78 cd	0.19 ef
Caujerí 2170	6.34 cd	6.89 cd	4.51 d	5.53 cd	0.07 f
Lewa	5.95 cd	6.31 cd	4.93 d	5.71 cd	0.00 f
CC-25_9Rojo	3.73 de	4.08 d	2.75 de	3.16 de	0.00 f
P790	5.99 cd	5.62 cd	4.50 d	4.39 d	0.00 f
P577	7.20 c	7.11 c	4.70 d	5.80 cd	0.00 f
P667	7.55 c	12.37 b	2.62 de	5.16 cd	0.00 f
P192-1	4.81 d	4.90 d	2.96 de	4.38 d	0.00 f
P889	12.86 b	33.02 a	9.69 bc	1.20 e	0.00 f

La longitud de la raíz, de manera análoga a la longitud del tallo, es un indicador que refleja la capacidad de la planta para poder realizar una mayor absorción de agua y nutrientes, indispensables para las etapas fenológicas posteriores a la germinación. En esta etapa la planta está en condiciones de suplir sus requerimientos nutricionales por vías propias y no depende de las sustancias de reserva almacenadas en los cotiledones. Según Azcón-Bieto y Talón, (2000), la presencia de condiciones adversas para la raíz está muy ligada a los efectos en el resto de los órganos, ya que la limitación del crecimiento de la primera, induce respuestas específicas en la parte aérea, como la ralentización del crecimiento de las hojas.

Los golpes de calor empleados no solo provocan un efecto térmico en los tejidos vegetales, sino que además reducen el potencial de agua en las placas Petri por un incremento de la evaporación durante el tratamiento. Por tal razón, se producen dos tipos de estrés de forma combinada, que según experiencias anteriores inhibe de forma significativa la emergencia radicular y el crecimiento de la plúmula (El-Sharkawi, 1993). El empleo de los golpes de calor usualmente se emplea cuando no se dispone de una cámara de fitotrón, que permita controlar todas las variables atmosféricas que incluyen no solo la temperatura y la humedad, sino también las concentraciones de las componentes de la atmósfera que rodea la planta (dióxido de carbono, di-oxígeno, etc.), así como la intensidad de la radiación que incide en las hojas. Por ello se emplean a pequeñas cámaras donde se colocan las plantas en sistema de placas petri o en macetas (Morales *et al.*, 2006), dependiendo de las dimensiones de la referida cámara. Ante tal situación, las diferentes variantes experimentales no pueden someterse al tratamiento de forma crónica y el proceso debe realizarse por intervalos de tiempo. En este trabajo se seleccionaron dos valores de temperatura. El primero a 40°C refleja posibles futuros escenarios reales, donde se han alcanzado temperaturas máximas cercanas a ese valor en algunas regiones de Cuba, y un segundo valor de 55°C considerado un límite de tolerancia fisiológica, teniendo en cuenta que hay plantas que soportan valores entre 50 y 60°C (Levitt, 1980), aunque a valores de tiempo de 30-60 minutos. El análisis estadístico de la Tabla 7 muestra que entre los tratamientos T2 y T3 (40°C-2horas y 55°C-1hora, respectivamente), no se aprecian diferencias, las cuales sí se manifiestan en T4 cuando a la misma temperatura de 55°C se aplicó un tiempo de exposición de 2 horas.

### **3.1.3. Masa fresca y seca por planta**

Los valores de la masa fresca por planta que se recogen en la Tabla 6, evidencian que la accesión P790 no mostró diferencias significativas entre tratamientos; es decir, la aplicación del golpe de calor (T4) solo disminuyó en un 44.9% con relación al control. Sin embargo, para la mayoría de las accesiones este tratamiento impactó de forma negativa en el referido indicador, lo que propició valores nulos de la masa fresca. Es decir aunque se observó una clara emergencia radicular, las plántulas no experimentaron crecimiento alguno.

La tasa de respiración se relaciona de manera proporcional con la temperatura (Schopfer, 1995; Azcón Bieto y Talón, 2000), y representa un proceso degradativo. Los resultados obtenidos pudieran suponer la accesión P790 pudo mantener su tasa de respiración en niveles cercanos al normal. Los índices de biomasa son representativos de la calidad de una planta y su capacidad de enfrentar las condiciones ambientales en

las que estará sometida durante las fases posteriores del ciclo de vida. La Tabla 8 muestra para la masa fresca de las 12 accesiones, un comportamiento significativo para este indicador, sobre todo ante el tratamiento (T4), donde en siete de ellas el valor de la masa fresca fue nulo.

**Tabla 8. Valores de la masa fresca por planta (g) en las variantes experimentales correspondientes a cada tratamiento y accesión. Letras diferentes indican diferencias de acuerdo a la Prueba de Tukey (P<0.05)**

Accesión	Cont	T1	T2	T3	T4
Rayado P2258	1,160 bcdef	1,041 bcdefg	0,923 cdefgh	0,806 efghij	0,000 q
P690	0,720 ghijkl	0,693 ghijkl	0,588 hijklm	0,790 efghij	0,152 nopq
P3084	0,834 defghij	0,519 ijklmno	0,475 ijklmno	0,344 lmnopq	0,000 q
P30L50	0,851 cdefghi	0,697 ghijkl	0,678 ghijkl	0,753 fghijk	0,121 opq
Caujerí 2170	0,805 efghij	0,707 ghijkl	0,465 ijklmnop	0,467 ijklmnop	0,066 pq
Lewa	0,705 ghijkl	0,678 ghijkl	0,569 hijklm	0,629 hijklm	0,000 q
CC-25_9Rojo	0,623 hijklm	0,628 hijklm	0,475 ijklmno	0,549 hijklmn	0,000 q
P790	0,562 hijklm	0,529 ijklmn	0,497 ijklmno	0,455 jklmnop	0,253 mnopq
P577	0,542 hijklmn	0,454 jklmnop	0,394 klmnopq	0,460 ijklmnop	0,000 q
P667	1,217 abcd	1,349 ab	0,546 hijklmn	0,575 hijklm	0,000 q
P192-1	0,798 efghij	0,772 fghijk	0,740 ghijkl	0,812 efghij	0,000 q
P889	1,248 abc	1,578 a	1,179 abcde	0,591 hijklm	0,000 q

**Tabla 9. Valores de la masa seca por planta (g) en las variantes experimentales correspondientes a cada tratamiento y accesión. Letras diferentes indican diferencias de acuerdo a la Prueba de Tukey (P<0.05)**

Accesión	Cont	T1	T2	T3	T4
Rayado P2258	0,3068 a	0,2684 a	0,2986 a	0,2496 ab	0,0000 m
P690	0,1380 cdefghi	0,1358 cdefghi	0,1384 cdefghi	0,1361 cdefghi	0,0459 jklm
P3084	0,1020 defghij	0,0957 efghijk	0,0890 ghijkl	0,0741 hijklm	0,0000 m
P30L50	0,1605 cdefg	0,1647 cd	0,1649 cd	0,1523 cdefg	0,0274 klm
Caujerí 2170	0,1259 cdefghi	0,1264 cdefghi	0,1562 cdefg	0,1341 cdefghi	0,0152 lm
Lewa	0,1400 cdefghi	0,1562 cdefg	0,1410 cdefghi	0,1494 cdefg	0,0000 m
CC-25_9Rojo	0,1525 cdefg	0,1608 cdefg	0,1572 cdefg	0,1531 cdefg	0,0000 m
P790	0,1916 bc	0,1716 cd	0,1634 cdef	0,1736 cd	0,0672 ijklm
P577	0,1539 cdefg	0,1614 cdefg	0,1615 cdefg	0,1611 cdefg	0,0000 m
P667	0,0948 efghijk	0,0895 efghijk	0,1399 cdefghi	0,1361 cdefghi	0,0000 m
P192-1	0,1514 cdefg	0,1466 cdefgh	0,1422 cdefgh	0,1267 cdefghi	0,0000 m
P889	0,131 cdefghi	0,115 defghij	0,126 cdefghi	0,136 cdefghi	0,000 m

Las accesiones P2258, P30L50, P192-1 y las variedades Lewa y CC-25\_9R se mantuvieron sin diferencias ante los tratamientos T1, T2 y T3 con respecto al control, pero se vieron afectadas con el tratamiento T4. No sucedió lo mismo con la accesión P790, que no mostró diferencias significativas ante los tratamientos aplicados y fue la única capaz de dar una respuesta positiva en cuanto a la masa fresca a temperaturas de 55°C durante 2 h (T4). En el caso de la masa seca (Tabla 9) el comportamiento fue similar, destacando a la propia accesión P790 como la que mayor cantidad de biomasa posee durante la segunda semana posterior a la siembra, luego de ser sometida a los

golpes de calor del tratamiento T4. Los datos de la masa seca entre tratamientos se comportaron de manera similar en la mayoría de las accesiones donde los tratamientos T1, T2 y T3 y no mostraron diferencias significativas entre ellos. Se puede observar además que ante el tratamiento T4, solo una variedad y tres accesiones mostraron alguna respuesta diferente de la masa con relación al resto. Estas fueron: P690, P30L50, Caujerí2170 y P790, siendo esta última la del mayor valor.

### 3.1.4. Análisis general sobre los cinco indicadores estudiados

La Tabla 10 muestra a modo de resumen como se comportó el tratamiento T4 con respecto al control para las 12 accesiones y para cada uno de los cinco indicadores morfo-fisiológicos estudiados. La prueba de Tukey para el tratamiento T4 no mostró diferencias entre las accesiones; sin embargo para el caso de las accesiones P790, P30L50, P690 y las variedades Rayado 2258 y Caujerí2170 se aprecia un incremento de la tolerancia en la fase de germinación por parte del embrión para su desarrollo, a pesar del intenso estrés térmico al que se sometió. Los golpes de calor de 55°C durante 2h pudieron haber provocado un daño irreversible en la estructura de estas membranas dando lugar a la senescencia celular. Durante el proceso de germinación tienen lugar eventos que comienzan con absorción de agua por la semilla y culmina con la elongación del ápice embrionario, tal y como plantea Bewley (1997). Es un proceso de tres etapas donde la entrada de agua provoca perturbaciones estructurales (específicamente en las biomembranas), con una pérdida inmediata de solutos y metabolitos de bajo peso molecular. Aquí, ocurre una transición de los fosfolípidos de la membrana, desde la fase de gel que se produce durante la maduración, hacia un estado normal de líquido cristalino (Matilla, 2008).

**Tabla 10. Valores de los 5 indicadores evaluados en el tratamiento T4, expresados como porcentaje con respecto al control. Letras diferentes indican diferencias entre accesiones de acuerdo a la Prueba de Tukey (P<0.05)**

Accesión	PG		LT		LR		MFxP		MSxP	
Rayado P2258	3,92	cd	0,00	c	0,00	b	0,00	c	0,00	b
P690	46,36	a	4,45	b	0,98	a	21,09	ab	33,23	a
P3084	0,00	d	0,00	c	0,00	b	0,00	c	0,00	b
P30L50	31,00	ab	0,92	bc	2,75	a	14,18	abc	17,05	ab
Caujerí 2170	18,00	bcd	0,53	bc	1,07	a	8,25	bc	12,06	ab
Lewa	25,51	abc	0,00	c	0,00	b	0,00	c	0,00	b
CC-25_9Rojo	3,16	cd	0,00	c	0,00	b	0,00	c	0,00	b
P790	46,94	a	13,40	a	0,00	b	45,01	a	35,08	a
P577	21,21	bcd	0,00	c	0,00	b	0,00	c	0,00	b
P667	5,10	bc	0,58	bc	0,00	b	0,00	c	0,00	b
P192-1	0,00	d	0,00	c	0,00	b	0,00	c	0,00	b
P889	0,00	d	0,00	c	0,00	b	0,00	c	0,00	b

**PG: Porcentaje de germinación, LT: Longitud de las plantas, LR: Longitud de la raíz, MFxP: Masa fresca por planta y MSxP: Masa seca por planta.**

Algunas accesiones pudieron mostrar diferentes niveles de tolerancia a las altas temperaturas debido a su composición bioquímica. Por ejemplo, se ha determinado que el contenido de grasas en semillas de diferentes especie y/o variedad puede incidir

sobre la cantidad de agua adsorbida en su interior, para un valor fijo de la humedad relativa o presión de vapor externo (Socorro *et al.*; 2010). Aunque el frijol común posee bajo contenido de grasas con relación a otras especies leguminosas, entre los distintos genotipos pudieran existir algunas diferencias que permitieran variaciones en el coeficiente de difusión del agua a través de los tejidos, factor que depende a su vez de la temperatura y refleja la capacidad de absorción en la fase de germinación. Aquellas semillas con un ligero aumento en su contenido de humedad pudieran tener una pequeña tendencia a soportar el estrés térmico.

Estos resultados evidencian una mayor tolerancia de algunas accesiones como la P790 y P690, en situaciones extremadamente adversas como las utilizadas. Aunque los valores de temperatura empleados son relativamente altos (55°C), con tiempos de exposición relativamente cortos de 1 y 2 h respecto al ciclo circadiano, las plantas poseen mecanismos alternativos para poder llevar a cabo sus procesos fisiológicos en las dos primeras semanas del ciclo de vida.

### 3.2. Efecto de las altas temperaturas sobre la germinación, supervivencia, crecimiento y floración en condiciones de campo

#### 3.2.1. Porcentaje de supervivencia

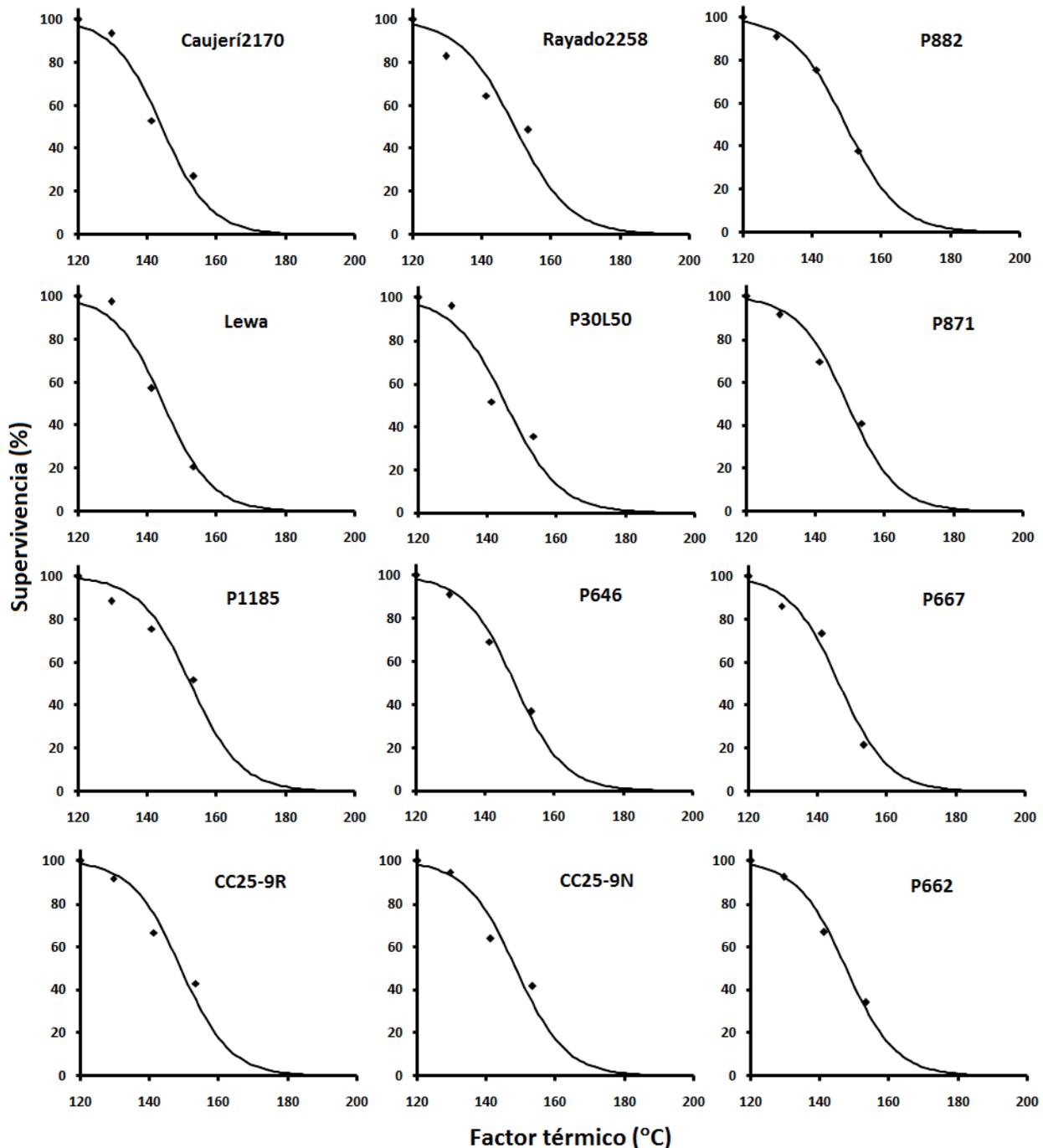
El empleo de la ecuación (1) permitió calcular los tres valores del factor térmico correspondientes al intervalo de tiempo desde el día de la siembra hasta el día 11, cuando concluye la etapa de formación de las hojas primarias.

**Tabla 11. Valores de los porcentajes de supervivencia en las accesiones estudiadas.**

Accesión	2013		2014		2015	
	PS (%)		PS (%)		PS (%)	
Caujerí2170	93.6	e	66.0	ab	27.3	ab
Rayado2258	82.9	l	64.7	ab	48.7	ab
P882	91.0	g	75.7	ab	38.0	ab
Lewa	97.6	a	57.3	ab	21.0	b
P30L50	96.2	b	51.7	b	35.7	ab
P871	91.3	g	69.7	ab	41.0	ab
P1185	88.4	i	75.7	ab	52.0	a
P646	91.1	g	69.3	ab	37.0	ab
P667	86.2	k	73.3	ab	21.7	b
CC25-9R	91.8	fg	66.7	ab	43.0	ab
CC25-9N	94.7	cd	64.0	ab	41.7	ab
P662	92.4	f	67.0	ab	34.3	ab
P657	95.1	c	73.7	ab	-	
P192-1	87.3	j	-		38.7	ab
P790	94.4	d	-		21.0	b
P889	90.0	h	-		-	
P248-1	89.6	h	-		-	
P577	94.9	cd	-		-	
CC25-9B	-		57.7	ab	43.7	ab
Güira 8989	-		67.3	ab	44.7	ab
Triunfo70	-		65.0	ab	41.3	ab
P3084	-		53.7	ab	32.0	ab
Rubí	-		64.0	ab	35.0	ab
P 690	-		-		39.7	ab

(-) Representa accesiones no estudiadas en determinada campaña, mientras que letras diferentes muestran diferencias entre accesiones dentro de cada campaña según la prueba de Tukey (P<0.05).

Se observó que para los años 2013, 2014 y 2015 estos valores se correspondían a 129.4; 141.1 y 153.2°C, respectivamente (un aumento progresivo con respecto al año). Para las primeras 12 accesiones de la Tabla 11 (repetidas en las tres campañas), se observó una relación inversamente proporcional entre el porcentaje de supervivencia y el factor térmico.



**Figura 2. Valores del porcentaje de supervivencia y ajuste por medio de la ecuación (2) en las 12 accesiones que repitieron en las tres campañas.**

Las experiencias en el período poco lluvioso y con temperaturas inferiores a 25°C para la media diaria, que corresponde a la fecha óptima para esta especie (León, 2012), han

demostrado que con semillas a 100% de germinación, se obtienen porcentajes de supervivencia de 100%. Por tanto, suponiendo que en el día inicial y los 11 días siguientes, la temperatura estuvo a 25°C (10°C por encima del valor base), el factor térmico ( $F_T$ ) sería de 120°C. Al seguir este razonamiento y a partir de una simulación matemática de una dependencia sigmoidea (ecuación 2), de las primeras 12 accesiones de las Tabla 11 (desde la Caujerí2170 hasta la P662), se observa una clara disminución del número de plantas germinadas con relación al factor térmico, calculado sobre la suma de las temperaturas medias durante los primeros 11 días posteriores a la siembra (Fig. 2).

Los datos del ajuste por (2) se presentan en la Tabla 12. A través del coeficiente  $r^2$  se muestran altos valores de la bondad de ajuste, que a excepción del cultivar Rayado2258 (0.80), todos estuvieron por encima de 0.9.

En el caso de las accesiones P1185, P882 y la variedad Rayado 2258, se obtuvieron los mayores valores de  $F_{T50}$ : 152.4, 149.5 y 149.4°C, respectivamente, lo cual indica que fueron las que ante incrementos de la temperatura por encima de la óptima, pudieron mostrar un mayor grado de tolerancia a sobrevivir durante los primeros días posteriores a la siembra. Estos valores reflejan que durante 12 días, aún con valores acumulados de una temperatura promedio diaria de 27.7°C, accesiones como la P1185 pueden producir el 50% de las plantas sembradas con un 100% de germinación inicial. Esto indica que esta accesión sería capaz de tolerar un ambiente de 2.7°C por encima de la óptima, antes de perder el 50% de la germinación bajo condiciones de campo, mientras que la Caujerí2170 lo pierde con solo 2.0°C.

**Tabla 12. Valores de los coeficientes de ajuste de los valores del porcentaje de supervivencia por medio del modelo sigmoideo.**

Accesión	$b_s (10^{-9})$	$k_s (°C^{-1})$	$FT_{50} (°C)$	$r^2$
Caujerí 2170	1.30	0.1420	144.1	0.966
Rayado2258	8.10	0.1247	149.4	0.807
P882	4.00	0.1293	149.5	0.996
Lewa	1.29	0.1417	144.5	0.997
P30L50	6.92	0.1292	145.4	0.907
P871	0.92	0.1395	149.1	0.968
P1185	0.86	0.1370	152.4	0.901
P646	1.03	0.1395	148.3	0.985
P667	1.27	0.1402	146.1	0.971
CC25-9R	0.80	0.1407	148.9	0.932
CC25-9N	1.31	0.1378	148.4	0.933
P662	1.15	0.1396	147.5	0.988

Experimentos realizados en especies modelos (como la *Arabidopsis thaliana*) han encontrado que las altas temperaturas reducen el porcentaje de germinación (termo-inhibición). Esto se explica por los efectos de este tipo de estrés sobre el control que ejercen los reguladores del crecimiento como el ácido abscísico (ABA) y las giberelinas (GAs) (Toh *et al.*, 2008). Esta especie posee una alta resistencia a los cambios de temperatura, de modo que se han identificado algunos mecanismos moleculares que intervienen en lo que se conoce como termo-tolerancia (Larkindale y Vierling, 2008).

### 3.2.2. Altura de las plantas

Los valores de las alturas de las plantas evaluados durante la etapa de crecimiento para las campañas 2013 y 2014, se muestran en las figuras 3 y 4.

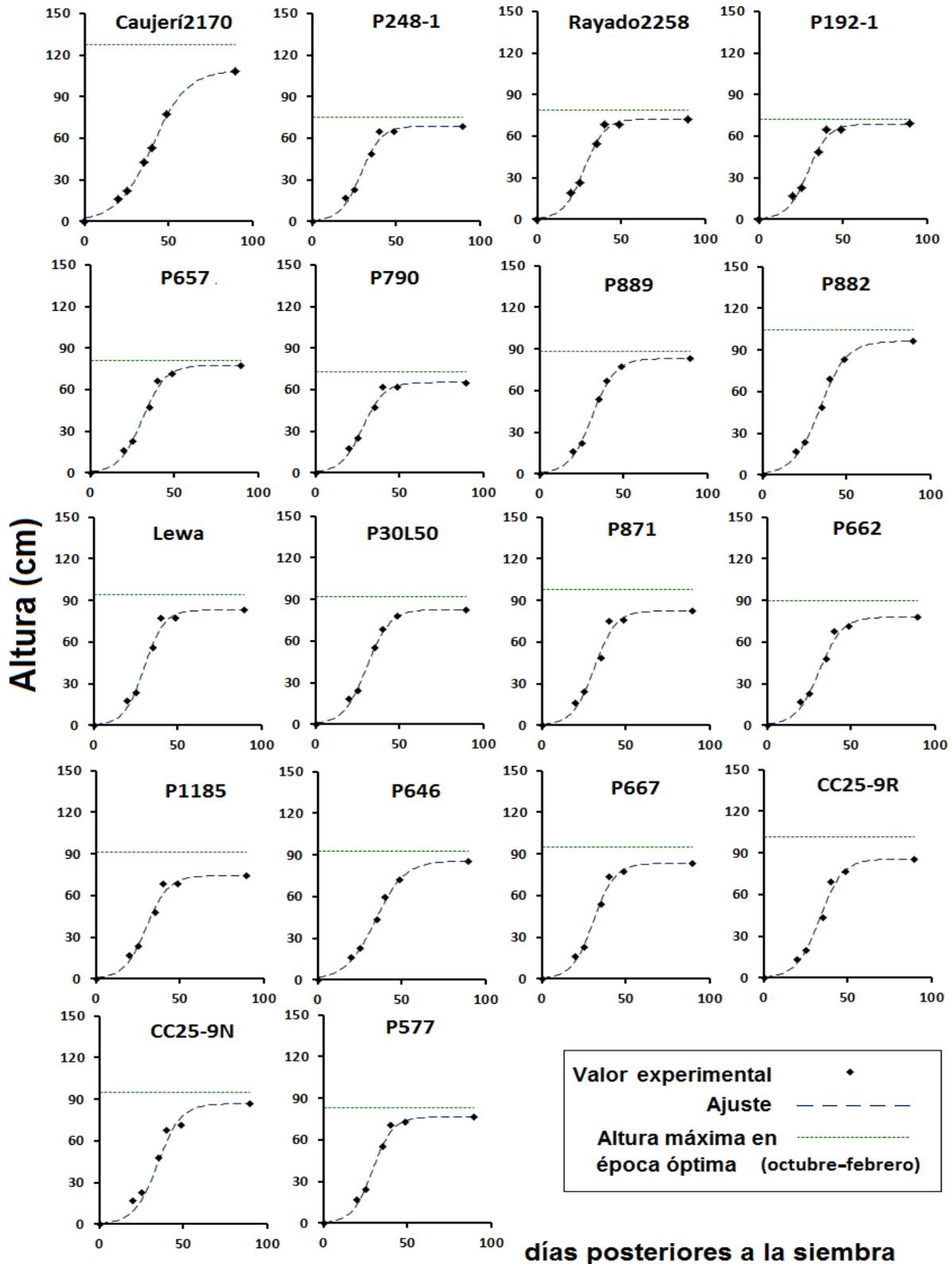


Figura 3. Valores de la altura de las plantas y ajuste por modelo logístico en las 18 accesiones utilizadas en la campaña 2013.

En todos los casos se aprecia un comportamiento sigmoideo de acuerdo a la expresión (4) (línea discontinua), donde se alcanza el valor de la altura máxima inferior al caso de la altura alcanzada en la época óptima (línea de puntos).

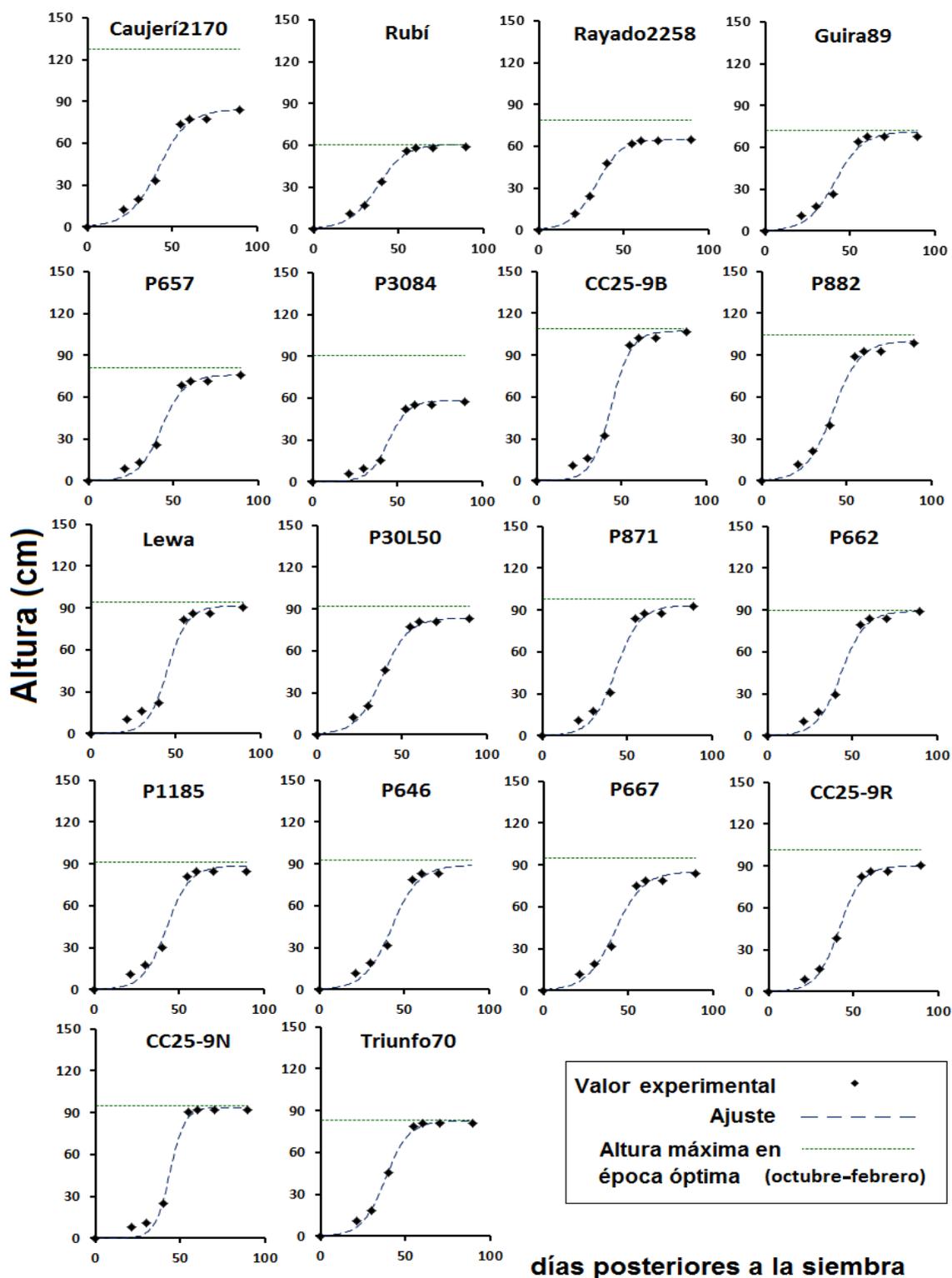


Figura 4. Valores de la altura de las plantas y ajuste por modelo logístico en las 18 accesiones utilizadas en la campaña 2014.

Los valores del ajuste matemático por medio de la referida ecuación (Tabla 13) muestran que en ambas campañas, la variedad Rayado2258 fue la que mostró una mayor rapidez en alcanzar el instante de tiempo  $t_{50}$ , donde las plantas llegan a la mitad de la altura máxima a alcanzar durante el crecimiento.

**Tabla 13. Valores de los coeficientes de ajuste de la curva altura respecto a tiempo, por medio del modelo logístico (4) (campañas 2013-2014).**

Accesión	2013					Variedad/ Accesión	2014				
	$k_H$ (día <sup>-1</sup> )	$t_{50}$ (día)	$F_T(t_{50})$ (°C)	$h_{MAX}$ (cm)	$h_{op}$ (cm)		$k_H$ (día <sup>-1</sup> )	$t_{50}$ (día)	$F_T(t_{50})$ (°C)	$h_{MAX}$ (cm)	$h_{op}$ (cm)
Caujerí2170	0.095	40.0	456.9	109.1	127.7	Caujerí2170	0.112	41.6	474.6	84.2	127.7
P248-1	0.164	28.8	325.3	68.7	75	Rubí	0.119	37.3	424.5	60.8	60.5
Rayado2258	0.163	27.7	312.0	72.3	79.11	Rayado2258	0.134	33.3	377.6	64.9	79.11
P192-1	0.164	28.8	325.3	68.7	72.1	Guira89	0.120	40.9	467.1	71.1	71.8
P657	0.146	30.8	348.3	77.6	80.9	P657	0.143	42.9	490.1	75.7	80.9
P790	0.157	27.8	313.8	65.2	72.78	P3084	0.168	44.6	509.8	58.1	90.4
P889	0.148	31.0	351.5	83.1	88.67	CC25-9B	0.167	43.8	501.4	107.3	109.2
P882	0.127	34.0	386.3	96.4	104.4	P882	0.123	41.9	478.2	100.3	104.4
Lewa	0.170	29.9	337.6	83.1	94.11	Lewa	0.165	45.0	515.2	91.4	94.11
P30L50	0.147	30.4	343.4	82.8	91.67	P30L50	0.127	38.2	435.2	83.5	91.67
P871	0.157	31.0	350.7	82.5	98.1	P871	0.139	43.1	492.4	93.3	98.1
P662	0.146	30.8	348.9	78.0	90	P662	0.139	43.2	494.3	89.1	90
P1185	0.154	29.8	336.6	74.3	91	P1185	0.143	42.3	483.5	88.6	91
P646	0.114	34.1	387.1	85.8	93	P646	0.122	42.4	484.5	89.1	93
P667	0.159	30.5	344.6	83.1	95.17	P667	0.117	41.9	478.5	85.2	95.17
CC25-9R	0.147	33.2	376.3	85.5	101.5	CC25-9R	0.148	41.4	472.9	90.1	101.5
CC25-9N	0.145	34.5	392.3	86.8	95	CC25-9N	0.225	43.8	500.6	93.8	95
P577	0.169	29.0	328.1	76.4	83.4	Triunfo70	0.144	38.0	433.2	82.7	83.2

En el caso del factor térmico evaluado en la campaña 2014, se aprecian mayores valores causados por el hecho de que en los primeros 45 días del ciclo del cultivo, la temperatura media diaria en ese año mostró valores por encima de lo registrado en el 2013. Por tal razón, los indicadores  $t_{50}$  para las accesiones estudiadas en 2014, que representan repeticiones con respecto al experimento en 2013, resultaron ser superiores. Ello incluye al cultivar Rayado2258 con  $t_{50}$ =27.7 y 33.3 días en los años 2013 y 2014 respectivamente.

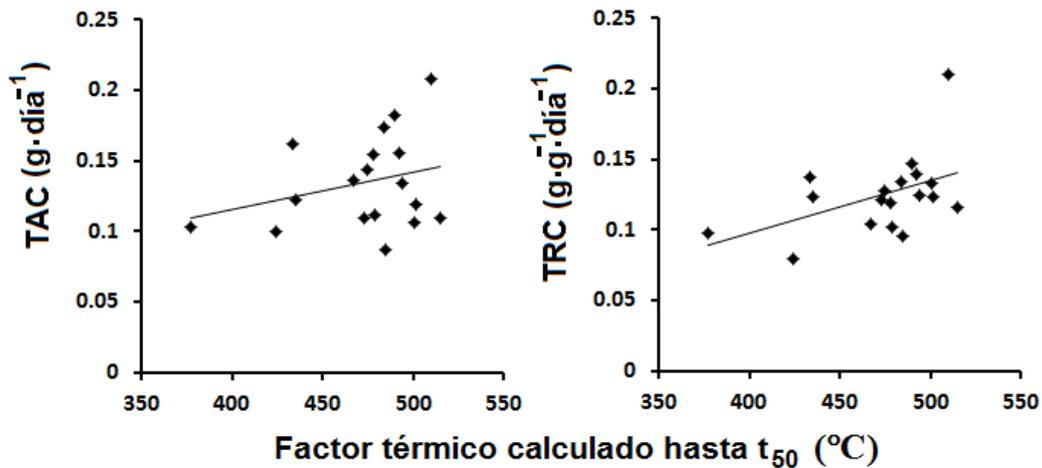
### 3.2.3. Tasa de crecimiento

Los datos correspondientes a la tasa de crecimiento absoluta (TAC) y relativa (TRC) evaluados en la campaña 2014, se muestran en la Tabla 14. Aunque las diferencias entre algunos grupos de accesiones se manifestaron de forma significativa, solo la accesión P3084 mostró un mayor incremento de masa seca por día durante la fase vegetativa. Por otra parte en la Figura 5 se muestran los valores de las magnitudes TAC y TCR, con relación al factor térmico calculado hasta la fecha  $t_{50}$ , cuando las plantas alcanzan la mitad de su altura final.

Aunque el valor de  $t_{50}$  (diferente para cada accesión) representa un instante de tiempo, el factor térmico calculado desde la siembra hasta esa fecha, tiene en cuenta toda la incidencia del estrés térmico en la planta (Vidal, 2006). Aquí tiene lugar un incremento de la tasa de respiración debido al incremento de la temperatura (Azcón-Bieto y Talón, 2008), por lo que cabe esperar una disminución de la tasa de crecimiento evaluada dentro del intervalo de tiempo en que se calcula el factor térmico.

**Tabla 14. Valores de las tasas de crecimiento absoluta (TAC) y relativa (TRC) en las 18 accesiones de *P. vulgaris* utilizadas durante la campaña 2014 en la etapa previa a la floración.**

Accesión	TAC		TRC	
	(g·día <sup>-1</sup> )		(g·g <sup>-1</sup> ·día <sup>-1</sup> )	
Caujeri2170	0.144	ab	0.128	b
Rubí	0.100	b	0.080	c
Rayado2258	0.090	b	0.090	c
Guira89	0.136	ab	0.105	b
P657	0.183	ab	0.147	ab
P3084	0.208	a	0.211	a
CC25-9B	0.119	ab	0.124	b
P882	0.154	ab	0.119	b
Lewa	0.134	ab	0.131	ab
P30L50	0.123	ab	0.123	b
P871	0.156	ab	0.140	ab
P662	0.134	ab	0.124	b
P1185	0.173	ab	0.134	b
P646	0.108	b	0.119	b
P667	0.165	ab	0.130	b
CC25-9R	0.110	ab	0.122	b
CC25-9N	0.106	ab	0.134	b
Triunfo70	0.162	ab	0.137	ab



**Figura 5. Análisis de correlación entre las tasas de crecimiento absoluta (TAC) y relativa (TRC) con relación al factor térmico calculado en el instante  $t_{50}$  cuando las plantas alcanzan la mitad de su altura máxima.**

**TAC:  $r=0.442$ , ( $P<0.05$ ) (no significativo); TRC:  $r=0.565$ , ( $P<0.05$ ) (significativo)**

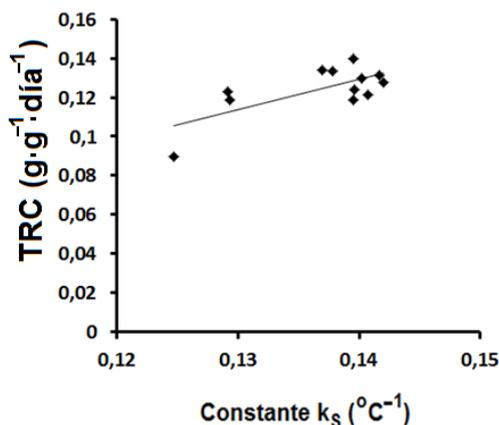
La correlación significativa (con parámetro de regresión positivo) observada entre la TRC y el factor térmico en  $t_{50}$  (Figura 5), muestra cómo las plantas que disminuyen la cinética de producción de biomasa (menor valor de TRC), debido a un proceso de degradación como el respiratorio, responden al estrés mediante un incremento de la velocidad de crecimiento en cuanto a longitud de los órganos (menor valor de  $t_{50}$ ) y no de masa seca. Para el caso de la tasa de crecimiento absoluta (TAC), la correlación con respecto al factor térmico en  $t_{50}$  resultó ser no significativa, aunque sí mostró cierta tendencia al aumento de una variable respecto al incremento de la otra. Ello puede estar dado por el hecho de que matemáticamente los valores de TAC, tienden a poseer una mayor

dispersión de los datos respecto a los obtenidos para TRC, este último con una expresión logarítmica en la ecuación (7).

A pesar de que se observó cómo las alturas máximas son inferiores al caso de la siembra en época óptima, se encontró que la razón entre estas magnitudes no está correlacionada con el factor térmico, aunque se aprecia cierta tendencia a disminuir. Sin embargo al analizar el factor térmico para cada accesión en el instante en que cada una arribó al instante  $t_{50}$ , aquellas accesiones que alcanzaron este momento con mayor rapidez como el Rayado2258, mostraron los menores valores de la tasa relativa de crecimiento (Tabla 13). Ello indica que ante la situación de estrés causado por altas temperaturas, mostró diferentes respuestas en las accesiones. En aquellas donde se alcanzaron mayores alturas y se llegó a la mitad de la altura máxima en menor tiempo, se apreció una menor producción de masa seca, dando lugar a una menor tasa de crecimiento relativa.

Se puede considerar que la temperatura incidió de forma diferente sobre los indicadores de crecimiento y sobre las accesiones. Se observó una tendencia al retardo del crecimiento en cuanto a la longitud de los tallos de las plantas, y en los casos de algunas como Rayado2258, (arribó a la mitad de la altura máxima antes que el resto), el incremento de masa seca fue uno de los más bajos de acuerdo al coeficiente TRC. Parece indicar que la incidencia de un mayor valor de temperatura en el aire, provoca que las plantas retarden su crecimiento como respuesta al estrés ambiental y cada genotipo responde de forma distinta.

Los mecanismos fisiológicos que intervienen en el crecimiento del tallo no son los mismos que tienen lugar en la formación de masa seca, si se tiene en cuenta además que ante una exposición de las plantas a temperaturas extremas (valores máximos diarios mayores que  $30^{\circ}\text{C}$ ), la tasa de respiración aumenta.



**Figura 6. Análisis de correlación entre las tasas de crecimiento relativa (TRC) y la constante  $k_s$ . Significativo  $P < 0.05$ ,  $r = 0.706$ ,  $R^2 = 0.499$ .**

La Figura 6 muestra la relación entre la tasa de crecimiento relativa y la constante  $k_s$ . De acuerdo al análisis realizado, se obtuvo que la correlación lineal entre estas magnitudes es significativa. Ello indica que bajo situaciones de estrés térmico existe correspondencia inversa entre la respuesta germinativa de la plántula, durante los primeros 12 días (cuando se nutre a partir de los cotiledones) y la capacidad de las plantas a crecer

mediante la incorporación de masa seca por medio de la fotosíntesis y la nutrición mineral desde el suelo. De esta manera se puede plantear que las plantas con un mayor valor de  $k_s$ , (las que contienen una mayor susceptibilidad a disminuir su porcentaje de supervivencia por efecto de la temperatura), fueron las que mostraron los mayores valores de la tasa de crecimiento relativo. Esto se puede explicar dado el hecho de que las plantas que son afectadas bajo situaciones de prolongado estrés, pueden utilizar esos estímulos para potenciar los procesos fisiológicos en etapas posteriores.

### 3.2.4. Fechas de arribo a la floración

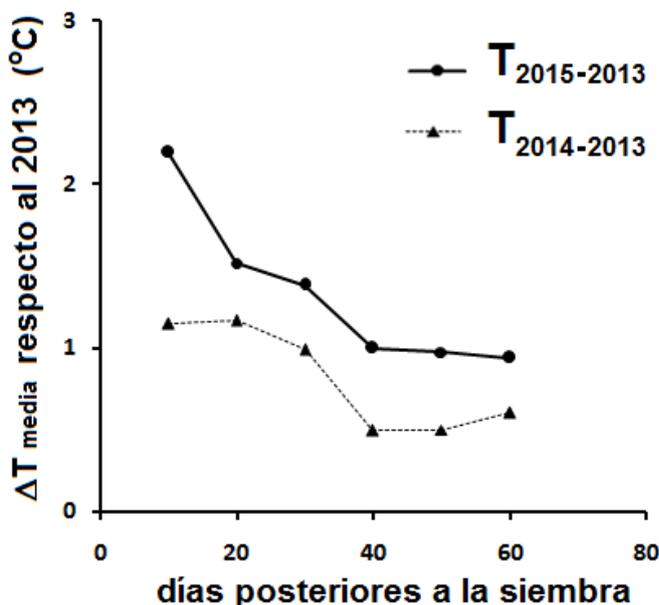
La Tabla 15 muestra los valores de los días cuando las plantas arribaron a la etapa de floración en las tres campañas. Se observó que las plantas correspondientes a la siembra de la campaña 2013, mostraron mayor diferencia en cuanto a la retención de flores debido a la acción de temperaturas por encima de la óptima. Se muestra la incidencia del factor térmico durante la etapa de floración, con un retardo en el arribo a la misma en la mayoría de las accesiones con respecto a los años. Según el instructivo técnico para *P. vulgaris*, la floración debe tener lugar aproximadamente entre los 32 y 38 días posteriores a la siembra (IICA, 2011) y las únicas accesiones que se acercaron a este intervalo fueron la P790, P248-1, P871 y la P667.

**Tabla 15. Valores de las fechas de arribo a la etapa de la floración (ff) de cada una de las variedades y accesiones, el promedio de estas por cada campaña y la temperatura promedio para el intervalo desde la siembra hasta 32 días (fecha en la que concluye la etapa de prefloración) (IICA, 2011). Se muestran además los valores del factor térmico correspondiente al valor ff en cada una.**

Accesión	2013		2014		2015	
	ff (día)	$F_T(f)$ (°C)	ff (día)	$F_T(f)$ (°C)	ff (día)	$F_T(f)$ (°C)
Caujeri2170	42	481.7	47	563.6	54	674.7
Rayado2258	43	491.7		NF	55	686.6
P882	42	481.7	47	563.6	57	711.6
Lewa	46	529.7	50	601.6	57	711.6
P30L50	63	725.1		NF		NF
P871	39	447.2	47	563.6	53	662.8
P1185	42	481.7	47	563.6	57	711.6
P646	42	481.7	47	563.6	55	686.6
P667	39	447.2	47	563.6	57	711.6
CC25-9R	63	725.1		NF		NF
CC25-9N	46	529.7	53	639.2	57	711.6
P662	42	481.7	50	601.6	57	711.6
P657	42	481.7	47	563.6		
P192-1	43	491.7				NF
P790	32	359.3			57	711.6
P889	39	447.2				
P248-1	36	408.3				
P577	39	447.2				
CC25-9B			50	601.6	57	711.6
Güira 89			50	601.6	53	662.8
Triunfo70			47	563.6	57	711.6
P3084			50	601.6	57	711.6
Rubí			50	601.6	57	711.6
P 690					57	711.6
<b>Promedio (días)</b>	<b>43.3±1.8</b>		<b>48.6±0.5</b>		<b>56.1±0.4</b>	
<b>Temperatura media 0-32 días</b>	<b>26.2±0.2</b>		<b>27.0±0.2</b>		<b>27.4±0.2</b>	

NF: Variedades y /o accesiones cuyas plantas no arribaron a la etapa de floración.

Los experimentos mostraron además que debido a los incrementos de la temperatura en el 2015 con respecto al 2013, las fechas de arribo a la floración se extendieron hasta los 57 días. La propia accesión P790, que bajo condiciones de laboratorio toleró golpes de calor excesivos, floreció en tiempo durante la campaña del 2013, con respecto al resto de las accesiones, aunque para el 2015 se extendió su fecha de floración hasta el día 57. Dentro de las accesiones evaluadas en los tres años, fué la P871, la que se comportó con una fecha de arribo a esta etapa mas temprana con relación al resto. En cambio, se encontraron algunas que sí se retrasaron significativamente en su llegada a la etapa de floración, como es el caso de la P30L50 en la campaña 2013 y su total ausencia de flores en las campañas 2014 y 2015 cuando las temperaturas medias diarias fueron aún mayores (Figura 7 y ANEXO I). De forma general, la tendencia al aumento en el promedio de los días de arribo a la floración, está en relación con las temperaturas medias registradas en los tres años, promediadas desde la fecha de siembra hasta los 32 días posteriores, fecha cuando concluye la etapa de prefloración (IICA, 2011)(primera etapa correspondiente a la fase reproductiva del cultivo) (Tabla 15).



**Figura 7. Valores de los incrementos de temperatura media diaria (promediados cada 10 días), en los años 2014 y 2015, con respecto al 2013.**

Estos altos valores de temperatura acumulada incidieron en una respuesta sensible que muestran estas accesiones ante el estrés por altas temperaturas. Ello repercutió en la transpiración y en la temperatura de la hoja, pues para ambas variables se debe registrar una relación significativa entre el tipo de hoja y cultivar de frijol. La tolerancia de cada una de las accesiones durante el crecimiento y el período anterior a la floración, pudo incidir en los efectos de retardo en la formación de las flores.

Omae *et al.* (2012) mostraron evidencias experimentales de que una de las causas fundamentales de las afectaciones de las altas temperaturas, sobre el cultivo del frijol común en la etapa reproductiva, se debe a un déficit del contenido de agua en las hojas. Independientemente de que los experimentos fueran realizados en época de lluvia, los altos valores de temperatura y radiación solar, típicos de verano, inciden en una elevada tasa de transpiración. Sin embargo, cada variedad y/o accesión puede controlar la

transpiración mediante mecanismos como el embolismo xilemático, el cual afecta la elevación de la columna de savia hacia la zona superior de la planta y su manifestación depende de las características morfológicas intrínsecas de este tipo de tejido conductor, para cada accesión (Socorro, 2009).

### 3.3. Efecto de las altas temperaturas sobre la incidencia de plagas

Los resultados de las incidencias se muestran en la Tabla 16. El análisis bifactorial mostró diferencias muy significativas en el coeficiente  $P_i$  (porcentaje de incidencia) con respecto a las plagas y a la combinación plaga-año. Sin embargo en relación al año no se encontró diferencia significativa. Se observaron los mayores valores de la incidencia de plagas para la mosca blanca (*Bemisia sp*), en la campaña del 2014, donde se llegó a un 82% de presencia de acuerdo a al número total de observaciones. Al analizar los efectos del factor accesión, sobre cada tipo de plaga promediando ambos años, no se obtuvo diferencia significativa, al igual que al promediar las incidencias de las mismas y analizar cada año por separado utilizando a la accesión como factor. Los resultados obtenidos demuestran que bajo estas condiciones de siembra fuera de temporada, existen plagas que inciden con mayor frecuencia que otras, sin embargo, ello no dependió de la accesión.

Cabe señalar que, aunque se registraron mayores valores de temperaturas (media diaria) en la campaña del 2014 respecto a la del 2013 (Ver ANEXO I), existen ejemplos como *E. fabae* y *L. trifolii* donde no se encontraron diferencias significativas entre años.

**Tabla 16. Análisis de comparación de las medias del porcentaje de incidencia ( $P_i$ ) con respecto al año y a la plaga.**

Orden	Familia	Nombre Común	Nombre Científico	Año	$P_i$ (%)	Sig
Coleoptera	Crisomelidae	Crisomélidos	<i>Diabrotica balteata</i> (Le Conte) <i>Andrectur ruficornis</i> (Oliv.)	2013	53	b
				2014	29	c
Hemiptera	Aleyrodidae	Mosca blanca	<i>Bemisia sp</i>	2013	9	d
				2014	82	a
Hemiptera	Cicadellidae	Salta hojas del frijol	<i>Empoasca fabae</i> (Roos y Moore)	2013	26	c
				2014	38	c
Diptera	Agromycidae	Minador común	<i>Liriomyza trifolii</i> (Burgess)	2013	11	d
				2014	9	d
Hemiptera	Coreidae	Chinche	No identificada	2013	12	d
				2014	3	e
Hemiptera	Fulgoridae	Salta hoja del maíz	<i>Peregrinus maidis</i>	2013	13	d
				2014	0	e

En época de lluvia (temporada donde se realizó el estudio), la mayoría de estos agentes fitopatógenos poseen las condiciones para aumentar el número de sus poblaciones, aunque con igual grado de variabilidad de las especies. La detección de estas plagas tuvo lugar tanto en las primeras etapas de la fase vegetativa como en la fase reproductiva. En este caso la variable cantidad de lluvia sería un factor más sensible con relación a la temperatura, teniendo los valores relativamente altos que se presentan en los meses de julio y agosto. Por otra parte, se destaca la presencia de *P. maidis* (salta hojas del maíz), el cual es una plaga que habitualmente no ataca al cultivo del frijol en una siembra bajo condiciones de época óptima (octubre-febrero).

La Tabla 17 muestra una comparación del comportamiento de la cantidad de lluvia durante los primeros 60 días posteriores a la siembra, en los años 2013 y 2014.

**Tabla 17. Cantidad de lluvia caída (mm) en las campañas 2013 y 2014, considerados en intervalos de 10 días y durante un total de 60 días.**

	2013	2014
Fechas (60 días)	28/Jun - 26 /Ago	03/Jul - 31/Ago
Días 1-10 (mm)	78.9	101.3
Días 11-20 (mm)	135.3	45.8
Días 21-30 (mm)	67.6	30.5
Días 31-40 (mm)	7.4	155.8
Días 41-50 (mm)	74.6	38.2
Días 51-60 (mm)	67.4	66.8
<b>Suma Total (mm)</b>	<b>431.2</b>	<b>438.4</b>
<b>Media diaria (mm)</b>	<b>7.2 ± 1.6</b>	<b>7.3 ± 1.6</b>

### 3.4. Efecto de las altas temperaturas sobre el crecimiento de cepas de *Rhizobium in vitro*

La Tabla 18 muestra los valores de los diámetros de las colonias de las cepas de *Rhizobium* crecidas a diferentes temperaturas. Se utilizó como patrón el valor de temperatura 30°C, por encontrarse el intervalo óptimo de crecimiento (28 y 32°C), para este grupo de microorganismos (Lugtenberg y Kamilova, 2009).

**Tabla 18. Diámetro de las colonias de cepas de *Rhizobium* crecidas a diferentes temperaturas y el correspondiente análisis de comparación de medias.**

Cepa	20°C		30°C		40°C	
	Diámetro (cm)	Sig (P<0.05)	Diámetro (cm)	Sig (P<0.05)	Diámetro (cm)	Sig (P<0.05)
R1	0.275	f	1.45	bcd	0	d
R2	0.575	bcdef	1.28	cdef	0.375	abcd
R3	0.650	bcdef	1.33	cde	0.350	abcd
R5	0.275	f	0.43	g	0.425	abcd
R6	0.650	bcdef	0.85	defg	0.425	abcd
R7	0.575	bcdef	0.95	defg	0.500	abcd
R8	0.575	bcdef	1.15	defg	0.725	ab
R9	0.725	bcde	1.15	defg	0.800	a
R10	0.725	bcde	1.55	bcd	0.600	abcd
R11	0.350	ef	0.60	efg	0.775	a
R12	1.325	a	1.60	bcd	0.675	abc
R13	0.425	cdef	0.45	fg	0.425	abcd
R14	0.375	def	0.93	defg	0.450	abcd
R16	0.750	bcd	2.05	abc	0.100	bcd
R17	0.800	bc	2.18	ab	0.300	abcd
R18	0.425	cdef	2.60	a	0.550	abcd
R19	0.900	b	1.30	cde	0.050	cd

A los 30°C de temperatura los caracteres culturales de todas las cepas fueron los siguientes: forma circular, elevación convexa, consistencia mucosa, bordes enteros y color beige. Estos coinciden con los que se describen para el grupo de *Rhizobium*

(Lugtenberg y Kamilova, 2009). Se puede apreciar además, que la mayor parte de las cepas presentan crecimiento rápido o moderado, destacándose solamente la R5, la R11 y la R13 por el menor diámetro en sus colonias después de 48 horas de incubación.

Cabe señalar además que la cepa R18 asociada a *P. vulgaris*, mostró el mayor diámetro de crecimiento a temperaturas de 30°C, mientras que en el caso de 40°C, no presentó diferencias significativas con las cepas que alcanzaron los mayores valores a esa temperatura (R9 y la R11).

En la literatura se describe que las especies de *Rhizobium* tienen distintas velocidades de crecimiento. Inclusive, una misma especie puede mostrar diferencias en las cepas que agrupa (Zakhia y Lajudie, 2001). Es importante iniciar el estudio con cepas de crecimiento rápido teniendo en cuenta otras investigaciones donde microorganismos de este grupo con esta característica, resultaron tolerantes a factores abióticos extremos, incluyendo salinidad, temperatura, acidez, alcalinidad, presencia de antibióticos y metales pesados (Maâtallah *et al.*, 2002).

Al disminuir o aumentar la temperatura se observó una afectación en la velocidad de crecimiento en los microorganismos en estudio (Tabla 18). A los 20°C, por ejemplo, se aprecia una disminución del diámetro de las colonias, que puede relacionarse con una menor velocidad de crecimiento por la ralentización de las reacciones metabólicas (Madigan *et al.*, 2012). Para los 40°C, en muchos de los casos la colonia presentó un diámetro menor al observado con la temperatura anterior, lo que puede relacionarse con el efecto negativo que producen las altas temperaturas sobre el funcionamiento de las enzimas y por ende, sobre el metabolismo del microorganismo (Nelson y Cox, 2004).

A los 40°C se modificó además la morfología de las colonias, al transformarse la elevación de convexa a plana y la consistencia de mucosa a seca. Este cambio morfológico podría asociarse a la modificación o la pérdida de la capacidad de producción y/o liberación de exopolisacáridos (EPS). Los polisacáridos secretados por las cepas de *Rhizobium* intervienen, de conjunto con los factores de nodulación, en el reconocimiento de la planta, su adherencia a los pelos radicales y su interacción con el microorganismo. Las cepas mutantes con deficiencias en la formación de este tipo de compuesto, no pueden llevar a cabo una infección eficiente, afectando inclusive el proceso de fijación biológica de nitrógeno por parte del microorganismo. Los EPS pueden además, constituir un mecanismo de protección para la célula bacteriana ante condiciones ambientales adversas (Soto *et al.*, 2006). Se describe también la relación entre su presencia y la tolerancia de *Rhizobium* a condiciones de estrés (Kober *et al.*, 2004).

Los EPS forman parte de las biopelículas que constituye, según varios investigadores, una estrategia de vida de los microorganismos que garantiza su supervivencia y brinda resistencia ante condiciones ambientales adversas. Ramírez-Mata *et al.* (2014) incluyen a especies del grupo de *Rhizobium* dentro de las bacterias que forman biopelículas. El incremento de la temperatura pudo también provocar afectaciones serias en dichas estructuras, lo que puede haber condicionado las modificaciones en la morfología de las colonias. No se observó crecimiento bacteriano a los 55°C, donde también se mostró un daño elevado en el medio de cultivo con un rápido agotamiento de éste y modificaciones en su coloración.

Si se observa el porcentaje que representa el diámetro de la colonia al crecer los microorganismos a los 20 y 40°C, con respecto a su crecimiento a los 30°C (Tabla 18) se puede apreciar que las cepas R5, R7, R8, R9, R11 y R13 sobresalen al mantener valores superiores al 50% en ambas condiciones de temperatura. Ello sugiere la presencia en estos microorganismos de atributos metabólicos favorables para resistir las modificaciones de este factor abiótico, tanto si se incrementa como si disminuye. El comportamiento tolerante de las cepas R9 y R11 a 40°C, puede estar determinado por el hecho de que son cepas asociadas a *V. radiata*, una especie que tiene como período de siembra óptimo los meses de marzo-agosto y de forma general puede cultivarse todo el año bajo un ambiente relativamente cálido (Fernández *et al.*, 2014).

En otras investigaciones también pocas cepas de *Rhizobium* mostraron tolerancia a condiciones de estrés. Por ejemplo, Chen *et al.* (2002) encontraron solamente cinco microorganismos que crecían a 40°C de un total de 20 cepas de este grupo bacteriano. De ellas, dos lo hacían de forma moderada. Existen investigaciones que demuestran que las altas temperaturas pueden afectar la nodulación y la FBN, situando el rango límite entre 32 y 47°C, con un comportamiento que varía entre especies de *Rhizobium* y cepas (Chueire *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2002). El daño que las altas temperaturas producen al microorganismo se asocia con modificaciones fisiológicas y genéticas que también afectan la interacción del microorganismo con la planta (Hungria y Vargas, 2000). Teniendo en cuenta la contribución que realiza la FBN de cepas de *Rhizobium* a las leguminosas (Chueire *et al.*, 2000) y su papel en la estimulación del crecimiento de este tipo de cultivos (Lugtenberg y Kamilova, 2009) sería conveniente realizar otras investigaciones donde se evalúe el comportamiento de las cepas que mostraron los mejores resultados de tolerancia en interacción con la planta.

### 3.5. Efecto de las altas temperaturas sobre el contenido de nitrógeno en la planta

La Tabla 19 muestra los valores de la cantidad de Nitrógeno total en las muestras correspondientes a las 20 accesiones analizadas. Aunque la prueba estadística se encuentra en el límite de sensibilidad al margen de variabilidad, se observa que las accesiones P30L50, P3084 y la variedad Rayado2258 mostraron una tendencia a los mayores valores.

**Tabla 19. Contenido de Nitrógeno Total en las 20 accesiones analizadas durante la campaña del 2015.**

Accesión	mg N·10 <sup>-2</sup> mg <sup>-1</sup> masa		Sig.	Accesión	mg N·10 <sup>-2</sup> mg <sup>-1</sup> masa		Sig.
	seca				seca		
Caujerí2170	3,64		abcde	P871	3,80		abcde
P3084	4,08		ab	Rubí	3,66		abcde
Rayado2258	3,99		abc	P1185	3,43		cde
P192-1	4,01		abc	P646	3,83		abcd
CC25-9B	3,55		bcde	P667	3,17		e
P690	3,52		bcde	CC25-9R	3,20		de
Triunfo70	3,94		abc	CC25-9N	3,54		bcde
P882	3,97		abc	Guira89	3,77		abcde
Lewa	3,38		cde	P790	3,50		bcde
P30L50	4,25		a	P662	3,46		bcde

A pesar de que la cantidad de nitrógeno presente en las plantas de cada una de las accesiones dependen del genotipo, estas comparaciones pueden estimar determinado grado de tolerancia ante situaciones de estrés térmico. Por ejemplo, la variedad Rayado2258, que mostró ser tolerante a la sequía según Cabrera *et al.*, (2009; 2014), en este resultado se obtuvo que fue una de las de mayor contenido de nitrógeno en sus tejidos. Ello significa que independientemente del estrés térmico, la planta es capaz de continuar con su desarrollo vegetativo y las diferentes funciones metabólicas.

En situaciones de estrés hídrico o térmico las plantas de metabolismo  $C_3$  como el frijol, deben cerrar sus estomas para evitar las pérdidas por transpiración (Azcon-Bieto y Talón, 2008). Sin embargo existen mecanismos como el embolismo xilemático o ruptura de la continuidad de la columna de savia que se eleva por el xilema, que da lugar a la posibilidad de que la planta pueda intercambiar gases por los estomas, al tiempo que la conductancia hidráulica decae a cero. Ello aunque representa una ventaja adaptativa para resistir el estrés térmico, impide el óptimo flujo de los nutrientes hacia las regiones más elevadas de la planta.

Las diferencias en las cantidades de nitrógeno (aunque pequeñas) pudieran estar dadas por la respuesta individual de cada accesión a proporcionar resistencia al flujo de savia (nitratos), cuando estas se sometieron a los altos valores de temperatura que llegaron a ser máximas de 35°C hasta los primeros 40 días posteriores a la siembra, fecha en la cual se recolectaron las muestras.

Otro factor que puede justificar estas pequeñas diferencias constituye la tasa de respiración. A temperaturas más altas este coeficiente se incrementa dentro de la planta, los azúcares se consumen más rápido, lo que los hace menos disponibles para el metabolismo de amonio en las raíces. Este metabolismo consume mucho más oxígeno que el de los nitratos. El amonio es metabolizado en las raíces, donde reacciona con los azúcares y estos a su vez tienen que ser liberados de su centro de producción en las hojas hasta las raíces. Por otra parte el nitrato es transportado hasta las hojas, donde se reduce a amonio y luego reacciona con los azúcares (Schopfer, 1995).

### **3.6. Variables evaluadas durante la maduración de las vainas y la cosecha del grano**

#### **3.6.1. Fecha de arribo a la etapa de maduración de vainas**

La Tabla 20 muestra los valores de las fechas de arribo de las diferentes variedades y accesiones a la etapa de maduración, así como los valores del factor térmico. Aunque en todos los casos se evidenció un significativo retraso con respecto al período óptimo (62-77 días) (IICA, 2011; León, 2012) en el 2013 y 2014, algunas lograron llegar a madurar sus vainas dentro de dicho intervalo de tiempo, propiciando que el valor promedio esté contemplado en la fecha óptima.

Sin embargo, el hecho de que en el 2015 los valores de temperatura estuvieran por encima de los valores en los dos años anteriores (Figura 7 y ANEXO I), ocasionó un significativo retraso en la maduración de las vainas. Este retraso estuvo asociado al aumento progresivo de la temperatura.

**Tabla 20. Valores de las fechas de arribo a la etapa de la maduración (fm) de cada una de las variedades y accesiones, el promedio de estas por cada campaña y la temperatura promedio para el intervalo de 33-77 días, establecido para las etapas floración-maduración (IICA, 2011). Se muestran además los valores del factor térmico correspondiente al valor fm en cada una.**

Accesión	2013		2014		2015	
	fm (día)	F <sub>T</sub> (f) (°C)	fm (día)	F <sub>T</sub> (f) (°C)	fm (día)	F <sub>T</sub> (f) (°C)
Caujerí2170	81	436.9	75	331.4	85	372.3
Rayado2258	81	426.9		NM		NM
P882	71	329.5	71	288.4	78	258.4
Lewa		NM	83	383.9	84	324.9
P30L50		NM		NM		NM
P871	71	364	71	288.4	78	307.2
P1185	71	329.5	71	288.4	78	258.4
P646	81	436.9	75	331.4	81	317.6
P667	71	364	71	288.4	78	258.4
CC25-9R		NM		NM		NM
CC25-9N		NM		NM	84	324.9
P662	81	436.9	71	250.4	84	324.9
P657	71	329.5	71	288.4		
P192-1	81	426.9				NM
P790	66	398.5			85	335.4
P889	81	471.4				
P248-1	66	349.5				
P577	71	364				
CC25-9B			79	336.5	85	335.4
Guira89			77	314.1	81	341.4
Triunfo70			78	363.3	84	324.9
P3084			75	293.4	78	258.4
Rubí				NM		NM
P 690					78	258.4
<b>Promedio (días)</b>	<b>74.6±1.4</b>		<b>74.5±0.9</b>		<b>81.4±0.7</b>	
<b>Temperatura media 33-77 días</b>	<b>26.45±0.14</b>		<b>26.79±0.14</b>		<b>27.50±0.13</b>	

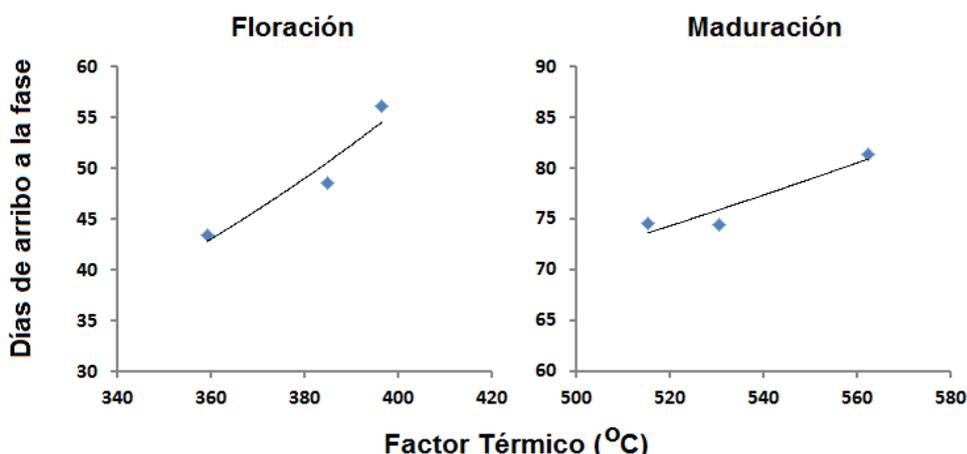
**NM: Accesiones cuyas plantas no arribaron a la etapa de maduración**

La Tabla 20 muestra que las fechas de llegada a la etapa de maduración de las vainas, aumentaron en forma directamente proporcional con relación a la temperatura media promediada entre 33 y 77 días, fechas entre las que se encuentran las etapas de floración y maduración dentro de la fase reproductiva (IICA, 2011). Las accesiones P1185, P657, P882, P690 y P667 no mostraron atraso en la llegada a la etapa de maduración y entre ellas cabe señalar a la P882 y la P667, que arribaron a las dos etapas reproductivas analizadas (floración y maduración) en fecha más temprana con relación al resto de las accesiones. Estos desplazamientos de las fechas que llegaron a ser de hasta 81 días en el 2015, afectan significativamente las componentes del rendimiento, al no concretarse de forma adecuada el proceso de llenado de los granos (Pastenes y Horton, 1996).

Los incrementos de la temperatura analizados como efecto promedio en las accesiones utilizadas en cada una de las campañas, arrojan una dependencia exponencial con relación a las fechas de arribo a las fases reproductivas. La figura 8 muestra esta dependencia tanto para la floración como para la maduración, donde el factor térmico se calculó para cada fase (0-32 días) para la floración y (33-77 días) para la maduración. Esta dependencia, para las condiciones de suelo y clima en que se trabajó, quedó ajustada por la forma:

$$d = De^{\lambda F_T} \quad (9)$$

Donde D y  $\lambda$  son constantes. Para el caso de la floración D=4.11 día;  $\lambda=0.0065 \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$ , mientras que en la maduración: D=26.11 día;  $\lambda=0.002 \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$ , con valores de  $r^2$  superiores a 0.8. A partir de estos ajustes es posible predecir que si se llega a un escenario donde la temperatura media diaria fuese de solo  $28^\circ\text{C}$ , ello representaría que en los primeros 32 días el factor térmico alcanzaría un valor de  $32 \cdot (28-15)^\circ\text{C}=416^\circ\text{C}$ . Con este valor del factor térmico y según la ecuación (9), se tendría un arribo a la floración a los 61.4 días.



**Figura 8. Dependencia exponencial de las fechas promedio de arribo a las fases reproductivas con relación a factor térmico. Como referencia se estimó para la floración un cálculo desde 0 a 32 días y para la maduración de 33 a 77 días, según etapas del cultivo (IICA, 2011).**

Siguiendo un razonamiento análogo se puede obtener para la maduración un factor térmico de  $585^\circ\text{C}$  con un arribo a la referida etapa a los 84.13 días. Esta fecha de arribo sería inadecuada desde el punto de vista fisiológico para que el frijol común, ya que pudiera afectar el proceso de formación de los granos, por lo que probablemente las vainas estuviesen vanas. De hecho se plantea que con arribos excesivamente tardíos a la floración, las vainas no se formarían. Esta es la razón por la que algunas variedades como la comercial CC25-9R que floreció a los 63 días en la campaña del 2013, no produjo vaina alguna. Para relacionar la etapa de maduración con el rendimiento, se muestran a continuación los valores de algunas variables evaluadas en la etapa de cosecha.

### 3.6.2. Variables evaluadas en la etapa de cosecha

En la campaña del 2013 los resultados obtenidos estuvieron muy por debajo del que se prevé para fecha óptima. A ello se le adjudica el hecho de que algunas accesiones fueron afectadas por otros factores relacionados con un manejo fuera de la temporada adecuada, como por ejemplo los altos niveles de lluvias en las fechas previas a la cosecha. Esto representa un factor no previsto en la época óptima del frijol (época poco lluviosa y de temperaturas relativamente más bajas). La Tabla 21 muestra los valores de las variables evaluadas en esta campaña: el número de vainas y su masa. En ambos casos el ANOVA mostró que existe un efecto significativo causado por la variedad y/o

accesión. Se observa que la variedad Caujerí2170 mostró un mayor valor en estos indicadores, de acuerdo con la prueba de Tukey realizada.

**Tabla 21. Valores del número de vainas por planta y masa de las vainas. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (P<0.05).**

<b>Accesión</b>	<b>Número de vainas/planta</b>	<b>Masa de las vainas (g)</b>
Caujerí2170	25.10 a	17.97 a
P248-1	17.90 bcd	8.87 bcd
Rayado2258	6.70 e	5.16 e
P192-1	23.10 ab	11.53 b
P657	15.37 cd	8.13 bcde
P790	19.17 abc	5.41 de
P889	18.07 bcd	8.13 bcde
P882	14.47 cd	7.85 cde
P871	13.70 cd	6.06 de
P662	12.17 de	5.69 de
P1185	14.27 cd	7.14 cde
P646	22.47 ab	10.49 bc
P667	12.90 cd	5.72 de
P577	18.77 bc	8.58 bcde

**Lewa, P30L50, CC25-9R y CC25-9N no arribaron a la etapa de cosecha**

Algunas accesiones que arribaron de forma tardía a la floración no arribaron a la etapa de maduración y en determinados casos las plantas sufrieron el ataque de plagas. Por tal razón, estas no pudieron llegar a la etapa de cosecha. En las campañas 2014 y 2015 (Tablas 22 y 23) aunque los valores medios de temperatura diaria fueron superiores, con relación al 2013, la cantidad de lluvia caída fue menor, lo cual permitió la evaluación de las variables en etapa de cosecha. De modo general, al analizar las tres campañas, se observa que la variedad Caujerí2170 representó una de las accesiones de mayor tolerancia al estrés térmico, con valores de las variables evaluadas por encima del resto de las accesiones.

Aunque la variedad Caujerí2170 no fue de las primeras en arribar a la fase de maduración, sí estuvo entre las que mostraron mayores valores de contenido de nitrógeno en sus tejidos, lo que podría suponer posibles mecanismos propios de respuesta al estrés térmico. La eficiencia fotosintética de las plantas aclimatadas a luz solar plena, puede estar relacionada con la concentración de nitrógeno (Pérez *et al.*, 2007).

Los resultados mostraron además, que existen variedades como la CC25-9R y la accesión P30L50 que no llegaron a sobrepasar la etapa de maduración y por tanto, no se obtuvieron vainas en ninguna de las tres campañas. El análisis de los indicadores de postcosecha y calidad del grano se muestran en la Tabla 24. De forma general no se apreciaron grandes diferencias entre accesiones en el caso del largo de la semilla, aunque si se observó para el resto de los indicadores.

**Tabla 22. Valores de diferentes indicadores fisiológicos en cosecha. NN: número de nudos, LV: largo de las vainas, AnV: Ancho de las vainas, AIV: Alto de las vainas, NV: número de vainas, NSxV: número de semillas por vaina y MSxV: masa de las semillas por vaina; para la campaña 2014. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (P<0.05).**

Accesión	NN	LV (cm)	AnV (cm)	AIV (cm)	NV	NSxV	MSxV(g)
Caujerí2170	19.43 a	8.57 a	0.89 bc	0.55 b	17.52 a	4.39 a	7,07 ab
Guira89	18.97 a	8.13 ab	0.87 bc	0.54 b	18.03 a	3.47 ab	4.35 b
P657	14.02 b	8.91 a	0.93 bc	0.55 b	17.44 a	3.22 b	3.72 b
P3084	10.77 ab	5.23 b	1.08 a	0.55 b	9.99 b	3.43 ab	4.87 ab
P882	15.77 ab	8.51 a	0.97 bc	0.54 b	13.23 ab	4.23 a	7.66 ab
Lewa	14.00 b	7.25 ab	1.05 bc	0.65 a	6.50 b	4.12 a	7.05 ab
P871	16.77 ab	8.52 a	1.01 bc	0.56 ab	16.45 a	3.62 ab	7.13 ab
P662	15.03 ab	8.34 a	0.93 bc	0.56 ab	15.85 a	4.25 a	9.52 ab
P1185	15.03 ab	8.72 a	0.95 bc	0.56 ab	14.33 ab	3.89 ab	5.32 ab
P646	17.35 ab	7.89 ab	1.07 ab	0.59 ab	17.33 a	4.15 a	12.52 a
P667	15.67 ab	8.93 a	0.93 bc	0.56 ab	11.65 ab	4.30 a	7.82 ab

Las variedades Rubí, Rayado2258, CC25-9B, CC25-9R, CC25-9N y Triunfo70 así como la accesión P30L50, no arribaron a la fase de cosecha.

**Tabla 23. Valores de diferentes indicadores fisiológicos en cosecha. NN: número de nudos, LV: largo de las vainas, AnV: Ancho de las vainas, AIV: Alto de las vainas, NV: número de vainas, NSxV: número de semillas por vaina y MSxV: masa de las semillas por vaina; para la campaña 2015. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (P<0.05).**

Accesión	NN	LV (cm)	AnV (cm)	AIV (cm)	NV	NSxV	MSxV(g)
Caujerí2170	17.00 ab	8.38 abc	0.90 abc	0.65 ab	15.92 abcd	5.83 a	7.65 abcd
P 3084	14.43 bcd	8.33 abc	0.98 abc	0.61 ab	12.55 abcd	5.10 ab	4.93 abcd
CC25-9B	12.50 cd	4.60 d	1.00 ab	0.60 ab	4.00 cd	5.50 a	1.75 d
P690	13.73 bcd	7.91 abc	0.99 ab	0.64 ab	20.15 a	5.52 a	10.73 ab
Triunfo70	14.08 bcd	8.08 abc	1.00 ab	0.60 ab	16.67 abc	5.33 ab	11.07 a
Lewa	20.00 a	7.25 c	1.05 a	0.65 ab	5.00 bcd	4.29 bc	3.81 bcd
P871	15.97 bc	8.58 ab	1.01 a	0.61 ab	10.40 abcd	5.00 ab	3.60 cd
P1185	14.92 bcd	8.93 a	0.80 c	0.58 ab	21.00 a	5.75 a	8.99 abc
P646	14.44 bcd	7.66 bc	0.98 abc	0.63 ab	12.08 abcd	4.92 abc	4.96 abcd
P667	12.17 d	7.93 abc	0.98 abc	0.54 b	14.71 abcd	4.76 abc	5.53 abcd
CC25-9N	15.00 bcd	8.00 abc	0.90 abc	0.70 a	1.50 d	5.00 ab	0.81 d
Guira 89	16.81 ab	7.86 abc	0.82 bc	0.65 ab	10.38 abcd	5.00 ab	4.76 abcd
P790	13.60 bcd	7.71 bc	1.07 a	0.56 b	12.60 abcd	3.80 c	5.60 abcd
P662	15.86 bc	8.91 a	1.05 a	0.64 ab	20.04 ab	5.89 a	7.70 abcd

Las variedades Rubí, Rayado2258 y CC25-9R, y las accesiones P192-1, P882, P30L50, no arribaron a la fase de cosecha.

Al analizar los valores de la masa de 100 semillas a 12% de humedad, estos se consideran aceptables teniendo en cuenta los altos valores de temperatura media diaria, a la que fueron sometidas las plantas durante la campaña del 2015, inclusive con valores de temperatura máxima diaria de hasta 33.9°C. Los valores más bajos para este indicador corresponden a la variedad CC25-9B y la accesión P662, con 15.17 y 14.36 g,

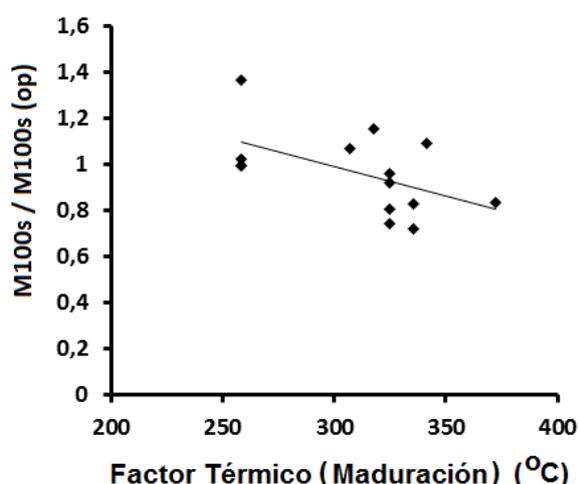
respectivamente. Para la época óptima de la mayoría de las variedades de frijol común (período poco lluvioso y de valores de temperaturas inferiores), estas poseen una masa de 100 semillas entre 16 y 23 g. Se debe tener en cuenta además que no todas las accesiones pudieron arribar a completar la fase de llenado de los granos y que algunas de ellas mostraron valores bajos de la masa de semillas por vaina con respecto a su valor en fecha óptima (0.81 en la variedad CC25-9N). Sin embargo, cabe destacar que algunas variedades como Güira 89, y las accesiones P646, P871, P1185 y P690, mostraron valores de la masa seca de los granos a 12% de humedad de equilibrio, por encima de su valor en condiciones óptimas. Estas diferencias entre accesiones pueden estar relacionadas con los efectos térmicos en la fase de maduración de las vainas.

**Tabla 24. Indicadores de calidad del grano cosechado. LGS: Largo de semilla, ANS: Ancho de la semilla, ESS: Espesor de la semilla, M<sub>100S</sub>: Masa de 100 semillas (campana 2015) y M<sub>100S</sub><sup>\*</sup>: Masa de 100 semillas obtenidos en época óptima. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (P<0.05).**

Accesión	LGS (cm)	ANS (cm)	ESS (cm)	M <sub>100S</sub> (g)	M <sub>100S</sub> <sup>*</sup> (g)
Caujerí 2170	0.97 a	0.60 ab	0.47 ab	18.05 ab	21.6
P3084	1.04 a	0.62 a	0.43 bc	17.94 ab	18.0
CC25-9 B	0.95 a	0.55 ab	0.45 bc	15.17 b	21.0
P690	0.91 a	0.63 a	0.46 ab	18.46 ab	13.5
Triunfo 70	1.03 a	0.60 ab	0.44 bc	19.07 ab	19.8
Lewa	0.97 a	0.59 ab	0.44 bc	16.93 ab	22.7
P871	1.06 a	0.61 a	0.42 bc	17.15 ab	16.0
P1185	0.97 a	0.55 ab	0.36 c	18.44 ab	18.0
P646	0.89 a	0.63 a	0.47 ab	17.89 ab	15.5
P 667	1.02 a	0.52 b	0.41 bc	18.95 ab	19.0
CC 25-9 N	0.95 a	0.55 ab	0.55 a	18.20 ab	22.5
Guira89	0.93 a	0.61 ab	0.42 bc	22.58 a	20.7
P 790	1.02 a	0.61 ab	0.40 bc	18.26 ab	22.0
P 662	0.95 a	0.62 a	0.44 bc	14.36 b	15.55

Por otra parte, en época óptima la variedad Güira89 permite obtener rendimientos de 2.5 y 3 t·ha<sup>-1</sup>, mientras que la Caujerí2170 oscila entre 2 y 2.5 t·ha<sup>-1</sup>. La plantas de CC25-9R, que fueron seriamente afectadas por la temperatura durante su fase reproductiva, bajo condiciones de siembra en el período lluvioso y altas temperaturas, corresponden a una variedad que en la época óptima aporta un mayor rendimiento que llega hasta 3.5 t·ha<sup>-1</sup> (Fernández *et al.*, 2014). Por esta razón las investigaciones futuras deben encaminarse hacia experimentos donde se puedan controlar el efecto de los factores climáticos, sin tener que recurrir a afectar los ciclos de siembra propios de cada cultivo, ya que aunque una variedad determinada pueda tolerar un incremento de la temperatura ambiental, el resto de los factores asociados a una época de manejo no óptima, puede afectar significativamente sus procesos fisiológicos. Ello puede ocurrir independientemente de que dicha variedad posea un alto rendimiento en época óptima. Para estos estudios en condiciones controladas se utilizan cámaras especializadas (Fitotrón), donde se pueda analizar el comportamiento de las plantas bajo la acción de determinados factores abióticos.

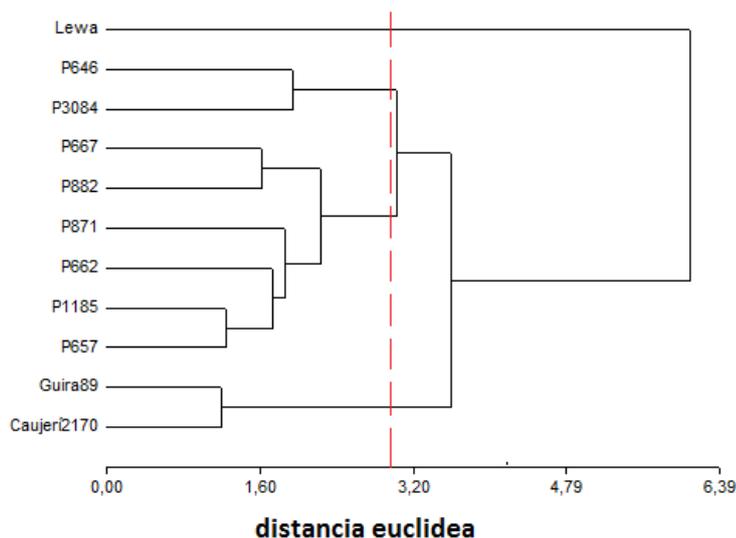
La figura 9 representa un análisis de correlación lineal entre dos variables. La primera es el factor térmico en etapa de maduración, donde se obtiene la suma de las temperaturas diarias para cada variedad y/o accesión, desde la fecha de arribo a la floración hasta la fecha de arribo a la maduración. La segunda variables es la relación entre la masa seca de 100 semillas a 12% de humedad de equilibrio, con respecto al valor que se obtiene en condiciones de siembra en época óptima. En este caso se apreció que existe una correlación significativa entre ambas variables ( $P < 0.05$ ), lo que justifica un posible efecto negativo de dos factores: 1-la extensión de la fase de la maduración (mayor cantidad de días) y 2-el aumento del valor de temperatura media diaria. Ambos inciden en valores de  $F_T$  por encima de lo que habitualmente se registra en época óptima y afecta la formación de biomasa seca durante la maduración de las vainas.



**Figura 9. Análisis de correlación lineal entre el factor térmico en la etapa de maduración (campaña 2015) y el cociente que se obtiene al dividir la masa seca de 100 semillas a 12% de humedad de equilibrio con respecto a su correspondiente valor en época óptima. Significativo  $P < 0.05$ ,  $r = 0.546$ .**

Estos cálculos estimados sobre la base de su relación con los valores obtenidos en fecha óptima, (sin el efecto del estrés térmico), refleja el hecho de que la incidencia de un exceso de calor en las plantas, puede modificar la actividad de algunas fitohormonas reguladoras del crecimiento (Pastenes y Horton, 1996; Atkin *et al.*, 2002) y que participan en el proceso de formación y llenado de las vainas. En el horario de máxima temperatura, las plantas  $C_3$  cierran las estomas dificultando el proceso de fijación mediante el ciclo de Calvin, lo cual afecta la producción de fotoasimilados y la formación de los granos. Varios autores coinciden en que un exceso de calor provocado por altas temperaturas puede tener una marcada incidencia en algunas rutas metabólicas que se relacionan con estos procesos (Yamakawa *et al.*, 2007).

Los resultados del análisis de conglomerado se muestran en las figuras 10 y 11. La variedad Caujerí2170 se ubicó en los primeros grupos de cada campaña, mientras que las accesiones como la P1185, P871 y la P662 también mostraron mayores valores con relación al resto. Por otra parte la variedad Lewa, la cual no arribó a la maduración en la campaña 2013, se mostró menos tolerante al estrés térmico para las variables evaluadas, con relación al resto de las accesiones.



Distancia Euclídea: 2.95

**Grupos (de mayor a menor):**

- I. Caujeri2170, Guira89
- II. P657, P1185, P662, P871, P882, P667
- III. P646, P3084
- IV. Lewa

**Variedades y/o accesiones no analizadas:**

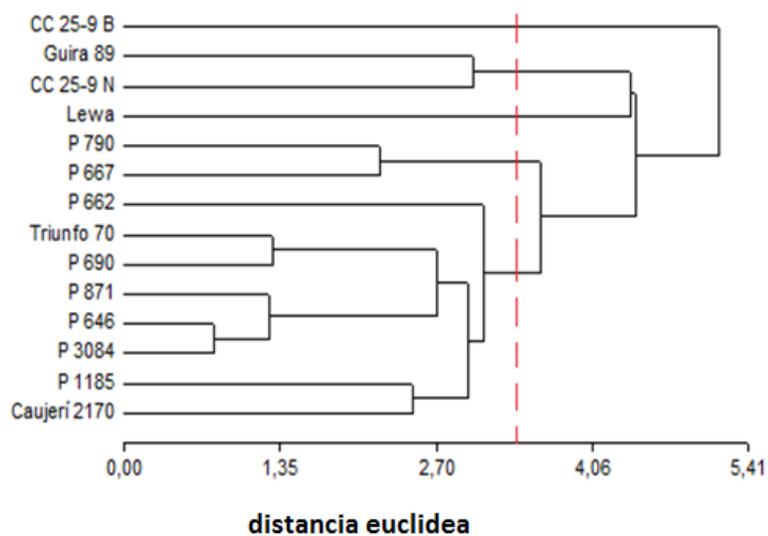
- P2170, Rubí, CC25-9B, P30L50, CC25-9R, CC25-9N, Triunfo70

**Figura 10. Análisis de Conglomerado realizado en las 11 accesiones que arribaron a la etapa de cosecha en la campaña del 2014, dentro del total de 18 estudiadas en ese año.**

Al analizar los resultados obtenidos, de forma general se muestra que en las tres campañas los resultados presentaron variabilidad en cuanto a algunas variedades y accesiones, lo cual puede ser condicionado por el hecho de que los valores de temperatura media en la época de siembra, crecimiento y desarrollo, presentaron incrementos significativos en 2015 y 2014 con respecto al 2013 (Figura 7).

Sin embargo se pudo observar en algunos casos, una tendencia a la repetitividad de los resultados, tanto en las accesiones tolerantes a este tipo de estrés abiótico, como en las más susceptibles. En el primer caso se encuentran la variedad Caujeri2170 y las accesiones P1185, P871 y la P662, mientras que algunas variedades como la Lewa y las tres CC25-9 (R, B y N) se mostraron susceptibles.

En algunos ejemplos como la Lewa en 2013, las plantas sufrieron afectaciones por el ataque de crisomélidos (*Diabrotica balteata*) perdiendo toda su masa foliar, razón por la cual no arribó a la fase de maduración de vainas. Otras como la CC25-9R no arribaron a la fase reproductiva (floración-maduración), lo cual pudiera estar ocasionado por bajos valores de absorción de nitrógeno con relación al resto de las accesiones. Aunque el estrés térmico incide directamente en la dinámica de ascenso de la columna de savia con nutrientes del suelo, no se descartan otros posibles factores que hayan propiciado que las tres variedades CC25-9, mostraran bajos valores en los indicadores evaluados en la época de cosecha.



Distancia Euclidea: 3.01

**Grupos (de mayor a menor):**

I. Caujerí 2170, P 1185, P 3084, P 646, P 871, P 690, Triunfo 70, P 662

II. P 667, P 790

III. Lewa

IV. CC 25-9N, Guira 89

V. CC 25-9B

**Variedades y/o accesiones no analizadas:**

P 2258, P 192-1, P 882, P 30L50, Rubí, CC 25-9R

**Figura 11. Análisis de Conglomerado realizado en las 14 accesiones que arribaron a la etapa de cosecha en la campaña del 2014, dentro del total de 20 estudiadas en ese año.**

## CONCLUSIONES

La aplicación de golpes de calor de 2 horas diarias a 55°C, durante los primeros 5 días, afectó el 60% de las accesiones estudiadas bajo condiciones de laboratorio, mientras que las plantas de la accesión P690 y la variedad Caujerí2170 mostraron mayor nivel de tolerancia.

Se obtuvo un modelo matemático que permite predecir el comportamiento de supervivencia en campo, de las accesiones estudiadas, a valores de temperatura media diaria mayores que 28°C .

La disminución de la tasa de crecimiento relativa bajo la acción de altas temperaturas puede estar relacionada con una respuesta de incremento de la longitud del tallo y de la pérdida del porcentaje de supervivencia.

La variedad Caujerí2170 y las accesiones P882 y P1185 arribaron a las etapas reproductivas en un tiempo inferior al resto de las accesiones, bajo condiciones de altas temperaturas.

Los valores del componente del rendimiento “masa de 100 semillas”, quedaron por debajo de los que se obtienen en época óptima, aunque la variedad Guira89 y la accesión P690, mostraron valores por encima de los registrados en dicha época.

La cepa de *Rhizobium* R18 asociada a *P. vulgaris* mostró ser tolerante a temperaturas de 30°C y 40°C con relación al resto de las cepas estudiadas.

Bajo condiciones de altas temperaturas, las accesiones P30L50, P3084, P192-1 y la variedad Rayado2258, mostraron una tendencia al incremento del contenido de nitrógeno en la planta.

Se observaron ataques de diferentes plagas asociadas a este cultivo así como la incidencia de *Peregrinus maidis*, que es un hemíptero que ataca al maíz (*Zea mays* L.).

## RECOMENDACIONES

Continuar profundizando en los procesos fisiológicos que diferencian la respuesta varietal en el cultivo de frijol común, ante el estrés causado por altas temperaturas, tales como: conductancia hidráulica del xilema, los mecanismos osmoregulatorios y la estimación de las tasas de fotosíntesis y respiración.

Realizar estas investigaciones en otras regiones del país, para proponer estudios de la relación genotipo-ambiente.

Profundizar en los estudios del comportamiento de *Bemisia sp.*, en cuanto a la relación de su virología y mortalidad, con respecto a la temperatura y las precipitaciones.

## BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, A.F. y Mercadet, A. (2012). **El sector forestal cubano y el cambio climático**. Ed: Inst. Inv. Forestales, Ministerio de la Agricultura, La Habana, Cuba, 248 pp.
- Atkin, O; Zhang, Q. y Wiskich, J.T. (2002). **Effect of Temperature on Rates of Alternative and Cytochrome Pathway Respiration and Their Relationship with the Redox Poise of the Quinone Pool**. *Plant Physiology*, 128(1): 212–222.
- Azcon-Bieto J. y Talón M. (2008). **Fundamentos de Fisiología Vegetal**. 2da Edición. McGraw Hill Interamericana. 638 pp.
- Bewley, J. D. (1997). **Seed germination and dormancy**. *ThePlantCell*, 9(7), 1055-1066.
- Carrasco-Ríos, L. (2009). **Efecto de la radiación ultravioleta-B en plantas**. *IDESIA (Chile)* 27(3): 59-76.
- Cabrera, M.; León, N.; Mendoza, M.J.; Palacios, Z. y Ortega, Y. (2009). **Comportamiento fisiológico de variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) con diferente grado de tolerancia a la sequía en condiciones de campo**. *Agrotecnia de Cuba* 33 (2): 53-62.
- Cabrera, M.; León, N.; Gutiérrez, L.; Mendoza, M.J.; López, H.; Ortega, Y. y Marrero, S. (2014). **Variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) con diferente grado de tolerancia a la sequía**. Memorias del XIX Congreso Internacional del INCA, Taller de Fisiología y Bioquímica Vegetal EFV-14.26, 27 y 28 de noviembre, Cuba/2014.
- Chen, L.S., Figueredo, A., Villani, H., Michajluk, J y Hungria, M. (2002). **Diversity and symbiotic effectiveness of rhizobia from field-grown soybean nodules in Paraguay**. *Biol Fertil Soils*. 35:448–457. DOI 10.1007/s00374-002-0493-1.
- Chueire, LM., Bangel, E., Ferreira, M.C., Grange, L., Campo, R.J., Mostasso, F.L., Andrade, D., Pedrosa, F.O y Hungria, M. (2000). **Classificação taxonômica, baseada na caracterização molecular, das estirpes de rizóbio recomendadas para as culturas da soja e do feijoeiro**. *Embrapa Soja. Boletim de Pesquisa*. 3. 32 pp. ISSN 1518-1642.
- El-Sharkawi, H.M. (1993). **Temperature effects on the Germination of some Crop Plant Seeds Under two types of Stress**: En "Proceeding of an International Symposium"13-18 August 1992, ISBN: 92-9058-081-X pp 91-99, Ed: Kuo, C. George, Taiwan, 531 pp.
- Farlow, P.J., Byth, D.E., Kruger, N.S. 1979. **Effect of temperature on seed set and in vitro pollen germination in french beans (*Phaseolus vulgaris* L.)**. *Australian journal of experimental Agriculture and Animal Husbandry*, Melbourne, v. 19, p. 725-731.
- Faust, H.; Sebastianelli, J.A. y Axmann, H.; (1987). **Determinación de nitrógeno total por el método de Kjeldhal. Manual de Laboratorio. Método para el análisis de <sup>15</sup>N**. Academia de Ciencias de la RDA. Instituto Central de Investigaciones Isotópicas y radiaciones, 26-33 p.
- Fernández, L. y colectivo de autores (2014). **Catálogo de variedades**. Ed: INIFAT. La Habana, 165 pp.
- Halterlein, A.J. et al 1980. **Influence of high temperature on pollen grain viability and pollen tube growth in the stigma of *Phaseolus vulgaris* L**. *Journal of the America Society for Horticultural Science*, St. Joseph, v. 105, n.1 .12-4
- Hemming, M.N.; Walford, S.A.; Fieg, S.; Dennis, E.S. y Trevaskis, B. (2012). **Identification of High-Temperature-Responsive Genes in Cereal**. *PlantPhysiology* 158(3): 1439–1450
- Hidalgo-Gato, M.M. y Reyes, E.E. (2013). **Insectos de la estación experimental agronómica de Santiago de Las Vegas representados en las colecciones del Instituto de Ecología y Sistemática**. *Agrotecnia de Cuba* 37(1): 95-99.
- Hungria, M y Vargas, M.A.T. (2000). **Environmental factors affecting N<sub>2</sub> fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil**. *Field Crops Research* 65. 151-164.
- IICA, 2011. **Guía de identificación y manejo integrado de enfermedades del frijol en América Central**. Eds: Red SICTA, Proyecto Red de Innovación Agrícola, Managua, 38 pp.
- Kober, M., Saccol de Sá, E.L., Jardim Freire, J.R y Giongo, A. (2004). **Characterization of variants of *Bradyrhizobium elkanii* and *B. japonicum* and symbiotic behaviour in soybeans**. *Ciência Rural*. 34: 5.1459-1464. ISSN 0103-8478
- Larkindale, J. y Vierling, E. (2008). **Core Genome Responses Involved in Acclimation to High Temperature**. *Plant Physiology* 146:748-761.
- León N. (2012). **Regeneración y caracterización morfoagronómica de los cultivares tradicionales de la colección nacional de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y frijol caballero (*Phaseolus lunatus* L.) en la identificación de atributos para el mejoramiento y la producción**. Informe Final de Proyecto. Programa Nacional de Mejoramiento Vegetal y Recursos Fitogenéticos.
- Levitt, J. (1980). **Responses of plants to environmental stresses**. Vol. 1, 2da ed. Academic Press, New York.1(2):372.

- Li, P.H. y Udomprasert, N. (1993). **Improving Crop Performance of Phaseolus vulgaris in High-Temperature Environments by heat Acclimation Potential:** En "Proceeding of an International Symposium" 13-18 August 1992, ISBN: 92-9058-081-X Ed: Kuo, C. George, Taiwan, pp 303-315.
- Lugtenberg, B y Kamilova, F. (2009). **Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria.** Annual Review of Microbiology. 63: 541-556.
- Maâtallah, J., Berraho. E.B., Muñoz, S., Sanjuan, J y Lluch, C. (2002). **Phenotypic and molecular characterization of chickpea rhizobia isolated from different areas of Morocco.** Journal of Applied Microbiology. 93: 531–540
- Madigan, M.T., J.M. Martinco., D.A. Stahl y Clarck, D.P. (2012). **Brock Biology of Microorganisms.** Thirteenth Edition. ISBN 13: 978-8-321-64963-8. 1155 pp.
- Maqueira L. L. A.; Torres-de-la-Noval W.; Pérez S.A. (2010). **Crecimiento y productividad de variedades de arroz de diferentes ciclos en dos fechas de siembra en la época de frío en Los palacios Pinar del Río.** Cultivos Tropicales 31(4):87-92.
- Martínez, V. R; López, M; Brossard, F. M; Tejeda, G. G; Pereira, A. H; Parra, Z. C; Rodríguez, S. J y Alba, A. (2006). **"Procedimientos para el estudio y fabricación de Biofertilizantes Bacterianos"**. Ed. INIA - Maracay. Venezuela, 88 pp.
- Matilla, A. (2008). **Desarrollo y germinación de las semillas.** En: Fundamentos de Fisiología Vegetal. Ascón-Bieto J; Talón M (eds.) p 537-558.
- Melcher, P.J.; Zwieniecki, M.A. y Holbrook, N.M. (2003). **Vulnerability of Xylem Vessels to Cavitation in Sugar Maple. Scaling from Individual Vessels to Whole Branches.** *Plant Physiology*, 131(4): 1775-1780.
- MINAG. (2010). **Guía Técnica del cultivo de frijol común.** Ed. Instituto de Investigaciones del Tabaco, MINAG, La Habana, 12 pp.
- Morales, D.; Rodríguez, P.; Dell'Amico, J.A.; Torrecillas, A. y Sánchez-Blanco, M.J. (2006). **Efecto de altas temperaturas en algunas variables del crecimiento y el intercambio gaseoso en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Amalia).** Cultivos Tropicales, 27(1): 45-48.
- Nelson, D.L y Cox, M.M. (2004). **Principles of Biochemistry.** Fourth Edition. 1119 pp.
- Omae, H; Kumar, A. y Shono, M. (2012). **Adaptation to High Temperature and Water Deficit in the Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during the Reproductive Period.** Journal of Botany Article ID 803413, 6 pages doi:10.1155/2012/803413
- Pastenes, C. y Horton, P. (1996). **Effect of High Temperature on Photosynthesis in Beans (II. CO<sub>2</sub> Assimilation and Metabolite Contents)** *Plant Physiology*, 112 :1253-1260. doi:10.1104/pp.112.3.1253
- Pérez, J.M., Peña, E..J. y Torres, C. (2007). **Efecto del nitrógeno y la irradiación en la eficiencia fotosintética del anamú *petiveria alliacea* (*phytolaccaceae*).** Rev. Academ. Colombiana XXXI(118). 49-55.
- Ramírez-Mata, A., Fernández-Domínguez, I.J., Nuñez-Reza, K.J., Xiqui-Vázquez, M.L y Baca, B.E. (2014). **Redes de señalización en la producción de biopelículas en bacterias: quorum sensing, di-GMPc y óxido nítrico.** Revista Argentina de Microbiología. 46 (3): 242-255.
- Schopfer, M. (1995). **Plant Physiology.** Ed. Springer. Berlín. 629 pp.
- Socorro, A. (2009). **Simulación del efecto del embolismo xilemático sobre la conductancia hidráulica en las plantas.** Revista Cubana de Física 26(2A): 120-126.
- Socorro, A., Vega, M. y Calderón, S. (2010). **Seed Equilibrium Moisture Curves, Water Binding and its Relationship with Thermodynamic Magnitudes.** International Agrophysics, 24(3): 313-320.
- Soto, M., Sanjuán, J y Olivares, J. (2006). **Rhizobia and plant-pathogenic bacteria: common infection weapons.** Microbiology. 152: 3167–3174. DOI 10.1099/mic.0.29112-0.
- Sperry, J.S. y Hacke, U.G. (2004). **Analysis of Circular Bordered pit function I. Angiosperm vessels with homogeneous pit membranes.** *American Journal of Botany* 91(3) :369–385.
- Toh, S.; Imamura, A.; Watanabe, A.; Nakabayashi, K.; Okamoto, M.; Jikumaru, Y.; Hanada, A.; Aso, Y.; Ishiyama, K.; Tamura, N.; Iuchi, S.; Kobayashi, M.; Yamaguchi, S.; Kamiya, Y.; Nambara, E. y Kawakami, N. (2008). **High Temperature-Induced Abscisic Acid Biosynthesis and Its Role in the Inhibition of Gibberellin Action in Arabidopsis Seeds** *Plant Physiology* 146:1368-1385.
- Vidal, J.L. (2006). **Efectos del factor térmico en el desarrollo y crecimiento inicial de pimiento (*Capsicum annuum* L.) cultivado en campo.** Maestría en Ciencias Agrarias. Orientación: Producción sostenible. Facultad de Agronomía y Zootecnia. Universidad Nacional de Tucuman, Argentina. 94 pp.
- Virgen, J.; Vargas y J.M, Ramírez (2001). **Velocidad de emergencia un parámetro importante para la selección por vigor de semillas de líneas e híbridos de maíz.** Chapingo IV: 49-53

- Voysest, O. 2000. **Mejoramiento Genético del Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.): Legado de variedades de América Latina 1930-1999**, Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 195 p.
- White, J. W. (1985). **Conceptos Básicos de Fisiología del Frijol**. p 43-60. En Frijol: Investigación y Producción. CIAT 417 p
- Yamakawa, H.; Hirose, T.; Kuroda, M. y Yamaguchi, T. (2007). **Comprehensive Expression Profiling of Rice Grain Filling-Related Genes under High Temperature Using DNA Microarray**. *Plant Physiology* 144: 258-277
- Yamane T., (1967). **Statistics. An Introductory Analysis**. Instituto del Libro, La Habana, Cuba.
- Yen, Y., Woolley, D.J. y Nichols, M.A. (1993). **Heat Shock Proteins and heat Tolerance in Asparagus**: En "Proceeding of an International Symposium", ISBN: 92-9058-081-X, Ed: Kuo, C. George, Taiwan, 31-37.
- Yoldas, F.yEsiyok, D. (2009). **The Influence of Temperature onGrowth and Yield of Green Beans for Processing**. *International Journal of Agricultural Research*, 4: 124-130.
- Zakhia, F y Lajudie, P (2001): **Taxonomy of rhizobia agronomie** 21:569-576.

**ANEXO I. Tabla con los valores diarios de temperatura máxima, mínima y media, evaluados en la estación meteorológica de Santiago de las Vegas durante los meses de julio y agosto.**

Mes	2013			2014			2015		
Julio	T aire (oC)			T aire (oC)			T aire (oC)		
fecha	Max.	Min.	Media	Max.	Min.	Media	Max.	Min.	Media
01-jul	27.7	21.1	24.3	31.8	23.5	27.3	33.1	24.8	27.7
02-jul	26.9	22.2	24.7	32.8	22.0	27.7	33.1	24.8	27.7
03-jul	30.5	22.9	26.0	28.6	23.0	25.9	33.3	23.6	28.3
04-jul	32.4	21.1	26.8	32.7	23.1	27.6	33.4	24.6	28.7
05-jul	31.8	21.8	25.8	34.0	22.6	27.2	33.7	24.1	28.4
06-jul	30.3	22.7	25.1	33.3	19.5	26.5	33.4	24.3	28.3
07-jul	32.0	21.6	26.5	32.5	21.5	25.8	34.1	23.4	28.5
08-jul	32.5	22.6	26.4	32.5	22.3	27.4	33.0	23.7	27.6
09-jul	32.1	22.1	26.8	33.3	21.8	27.9	32.1	23.5	26.6
10-jul	32.0	21.5	24.9	32.7	24.2	26.7	33.2	22.7	27.0
11-jul	33.0	21.9	27.0	32.9	22.8	27.4	32.4	22.6	27.5
12-jul	32.0	22.4	25.5	33.9	20.1	25.5	32.0	22.2	27.5
13-jul	28.2	22.3	24.6	32.8	21.6	25.5	31.6	21.5	27.1
14-jul	31.0	21.9	25.7	33.1	22.3	27.8	31.5	23.2	26.8
15-jul	30.9	22.6	26.5	32.8	22.7	28.0	33.0	21.8	25.9
16-jul	32.4	22.6	26.1	33.9	23.0	27.1	32.6	20.8	25.4
17-jul	31.2	21.1	25.0	32.9	21.2	27.8	32.7	21.5	25.8
18-jul	31.8	22.7	26.0	32.6	24.1	27.7	33.1	20.3	26.2
19-jul	32.7	23.1	26.5	33.7	22.2	28.1	32.4	21.5	26.7
20-jul	32.2	23.3	26.6	31.1	23.2	27.7	32.3	22.1	27.2
21-jul	33.0	23.0	27.9	32.8	22.0	25.3	32.8	22.5	27.6
22-jul	32.9	22.9	27.5	31.7	22.2	25.4	33.2	23.3	28.2
23-jul	33.1	23.3	26.9	32.9	21.6	25.6	33.4	23.3	28.5
24-jul	33.4	22.2	27.5	32.4	21.8	26.4	33.5	23.0	28.5
25-jul	33.0	22.6	27.2	33.2	23.8	28.2	32.3	22.7	26.9
26-jul	31.7	21.3	26.3	33.5	24.7	28.1	33.6	22.5	26.6
27-jul	32.8	21.5	26.7	33.1	21.4	27.7	33.4	22.9	28.3
28-jul	34.0	23.6	28.1	32.6	23.7	28.2	33.9	24.2	28.0
29-jul	33.0	23.1	27.2	32.8	23.5	27.6	32.8	23.6	28.2
30-jul	33.1	24.0	27.6	31.5	22.3	27.5	33.9	23.6	28.6
31-jul	32.0	24.3	27.4	33.2	23.0	28.3	34.1	25.0	28.2
<b>Media</b>	<b>31.8</b>	<b>22.4</b>	<b>26.4</b>	<b>32.7</b>	<b>22.5</b>	<b>27.1</b>	<b>33.0</b>	<b>23.0</b>	<b>27.5</b>

Mes	2013			2014			2015		
Agosto	T aire (oC)			T aire (oC)			T aire (oC)		
fecha	Max.	Min.	Media	Max.	Min.	Media	Max.	Min.	Media
01-ago	33.1	22.1	26.9	32.8	22.2	27.8	33.2	22.8	28.4
02-ago	31.4	24.6	27.1	33.1	22.2	25.9	34.2	21.5	26.3
03-ago	33.3	22.0	27.6	30.1	21.7	25.4	32.6	20.9	24.8
04-ago	34.1	23.4	28.1	31.0	22.6	26.3	33.4	21.2	26.4
05-ago	33.7	24.7	28.2	32.0	23.0	26.7	33.7	22.5	28.3
06-ago	31.5	22.2	26.7	31.2	21.5	27.1	33.9	24.4	28.5
07-ago	31.3	23.6	25.9	33.0	22.0	28.0	34.0	22.7	28.1
08-ago	33.1	21.6	26.9	31.6	23.4	26.6	34.1	23.1	28.5
09-ago	29.6	22.6	25.0	33.0	20.3	26.2	35.0	22.2	28.1
10-ago	33.9	23.3	27.9	32.1	22.0	27.4	32.5	22.7	27.2
11-ago	34.3	23.5	28.1	33.5	21.3	25.4	33.5	23.8	27.2
12-ago	31.9	23.9	27.0	32.5	22.7	26.0	33.6	23.3	28.4
13-ago	34.2	22.7	26.9	32.0	21.5	26.1	33.8	23.1	28.4
14-ago	30.1	22.9	25.9	33.1	22.3	27.6	33.7	20.7	26.4
15-ago	32.3	23.2	26.1	33.8	22.4	27.1	33.3	21.9	25.8
16-ago	34.2	23.9	27.9	33.7	23.6	28.3	33.8	23.3	28.4
17-ago	34.1	24.6	27.5	33.5	24.0	28.0	33.7	23.7	27.8
18-ago	33.5	23.2	27.0	33.6	22.4	26.8	32.6	24.0	27.8
19-ago	32.7	22.9	25.9	32.7	21.9	27.4	33.2	24.9	28.2
20-ago	32.8	21.6	25.6	33.5	23.4	28.5	33.0	24.3	28.0
21-ago	32.7	22.9	27.0	33.3	21.5	27.1	33.2	24.2	27.2
22-ago	33.3	22.7	26.8	32.5	21.6	27.3	33.3	23.8	27.4
23-ago	32.8	22.9	25.9	32.0	22.5	27.5	32.3	23.5	27.6
24-ago	32.8	22.4	26.0	32.1	22.9	27.8	32.0	23.3	27.5
25-ago	32.3	22.1	26.2	31.9	22.7	28.0	32.4	24.4	26.9
26-ago	31.3	23.1	25.9	29.3	24.3	26.2	32.0	23.5	26.9
27-ago	31.3	20.5	25.9	33.2	22.9	27.1	34.0	23.7	27.7
28-ago	32.5	22.2	27.0	31.9	23.5	27.6	33.3	22.3	27.3
29-ago	32.4	21.9	26.9	33.5	22.9	28.1	33.0	23.6	28.1
30-ago	33.1	22.9	27.1	33.0	23.5	28.1	27.9	22.6	24.9
31-ago	33.1	22.4	25.5	32.4	23.1	27.2	32.5	23.3	27.3
<b>Media</b>	<b>32.7</b>	<b>22.9</b>	<b>26.7</b>	<b>32.5</b>	<b>22.5</b>	<b>27.1</b>	<b>33.1</b>	<b>23.1</b>	<b>27.4</b>