



**Centro de Investigación en Alimentación y  
Desarrollo, A.C.**

**RESPUESTAS FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS A LA  
APLICACIÓN FOLIAR DE BIOESTIMULANTES EN PLANTAS  
DE FRIJOL EJOTERO SOMETIDAS A ESTRÉS HÍDRICO**

---

Por:

**Karla Ivonne Hernández Figueroa**

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS HORTOFRUTÍCOLAS Y  
LÁCTEOS

Como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRA EN CIENCIAS**

## APROBACIÓN

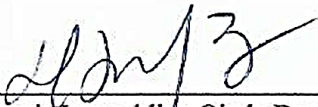
Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Karla Ivonne Hemández Figueroa, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias.



---

Dr. Esteban Sánchez Chávez


Director de tesis



---

Dra. Damaris Leopoldina Ojeda Barrios

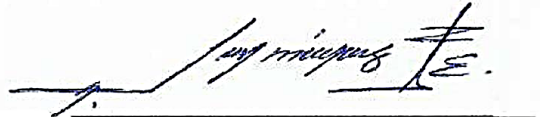
Co-Directora de tesis



---

Dra. Celia Chávez Mendoza

Integrante del comité de tesis



---

M.C. Ezequiel Muñoz Márquez

Integrante del comité de tesis

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Respuestas Fisiológicas y Bioquímicas a la Aplicación Foliar de Bioestimulantes en Plantas de Frijol Ejotero Sometidas a Estrés Hídrico” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial de la autora Karla Ivonne Hernández Figueroa, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del director(a) de tesis.



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN  
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.  
Coordinación de Programas Académicos

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Pablo Wong González", written over a horizontal line.

Dr. Pablo Wong González  
Director General

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, (Conacyt) por el apoyo económico otorgado en el programa nacional de becas de posgrado con la clave CVU No. 919210.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD, A.C.) por brindarme la oportunidad de desarrollar mis estudios de posgrado, por facilitar las instalaciones para el mismo y por el apoyo a través de sus docentes para formarme como estudiante.

Al Dr. Esteban Sánchez Chávez, mi director de tesis, por ser pilar en esta investigación, aportar los fundamentos y ser un apoyo importante en mi vida profesional, por su paciencia, enseñanzas y su confianza todo el tiempo que me ha permitido trabajar en su equipo.

A mi comité de tesis integrado por la Dra. Damaris Leopoldina Ojeda Barrios, la Dra. Celia Chávez Mendoza y el M.C. Ezequiel Muñoz Márquez, por estar al pendiente de mi formación, de mis necesidades como alumna y por brindarme la ayuda necesaria en cada etapa de la maestría.

A cada uno de los docentes que formó parte de mi educación de posgrado; por compartir sus conocimientos específicos en áreas especializadas para enriquecer mi proyecto de tesis. Así mismo a todo el personal de CIAD Unidad Delicias que de alguna forma contribuyeron a mi formación como profesional y sobre todo como persona.

Al equipo de trabajo del laboratorio de Fisiología y Nutrición vegetal, mis compañeros de posgrado, a cada uno de los que directa o indirectamente se vieron involucrados en mi estudio, su ayuda y colaboración fueron parte importante para poder presentar este trabajo. A Lilibeth Andujo, por ser mi compañera en este camino, por brindarme toda la ayuda posible y sobre todo por no dejarme sola.

A mis amigas y próximas colegas M.C. Nayely J. Gutiérrez Ruelas y M.C. E. Sireni Rodríguez Martínez, por todo el apoyo invaluable que siempre me han brindado, incluso al animarme a entrar

al posgrado, sé que sin su ayuda, sus consejos y su paciencia no lo hubiera logrado.

A mis padres y hermana por creer en mí, por estar en cada parte del proceso, por su apoyo incondicional y su amor, por mostrarme lo buena que es la vida cuando hacemos lo que amamos, por el gran amor demostrado durante toda mi vida. A mis tías, primos y sobrinos por ser parte de la motivación que hubo durante estos dos años. También agradezco a todos esos amigos que son regalos del cielo, por alentarme en cada decisión de mi vida.

Y sobre todo, a Dios, a quien le debo todo, porque mi vida no es mía sino de Él.

## **DEDICATORIA**

*A Dios.*

*A mis padres, Daniela Verónica y José Dolores, por ser el mejor ejemplo de perseverancia que pueda tener.*

*A mi hermana, Mayra Ivonne, por hacer amena mi vida.*

## CONTENIDO

<b>APROBACIÓN</b> .....	2
<b>DECLARACIÓN INSTITUCIONAL</b> .....	3
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	4
<b>DEDICATORIA</b> .....	6
<b>CONTENIDO</b> .....	7
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	9
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	10
<b>RESUMEN</b> .....	11
<b>ABSTRACT</b> .....	12
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	13
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	15
2.1. La Sequía .....	15
2.1.1. La Sequía en México .....	15
2.2. Estrés Hídrico en las Plantas .....	16
2.2.1. Mecanismos Fisiológicos de las Plantas Frente al Estrés Hídrico.....	16
2.2.2. Mecanismos Bioquímicos de las Plantas Frente al Estrés Hídrico.....	20
2.3. Bioestimulantes en Plantas .....	22
2.3.1. Bioestimulantes.....	22
2.3.2. Aminoácidos Frente al Estrés Hídrico .....	23
2.3.3. Silicio Frente al Estrés Hídrico .....	24
2.3.4. Algas Frente al Estrés Hídrico .....	25
2.3.5. Nanotecnología Frente al Estrés Hídrico .....	27
2.3.6. Óxido de Zinc Frente al Estrés Hídrico .....	27
2.3.7. Quitosano Frente al Estrés Hídrico.....	29
2.3.8. Ácido Salicílico Frente al Estrés Hídrico .....	29
<b>3. HIPÓTESIS</b> .....	31
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	32
4.1. Objetivo General .....	32
4.2. Objetivos Específicos .....	32
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	33
5.1. Manejo Del Cultivo .....	33
5.2. Diseño Experimental y Tratamientos .....	33
5.2.1. Caracterización De Bioestimulantes.....	34
5.3. Muestreo Vegetal.....	35
5.4. Análisis Vegetal.....	36
5.4.1. Biomasa .....	36

## CONTENIDO (continuación)

5.4.2. Rendimiento.....	36
5.4.3. Contenido De Agua .....	36
5.4.4. Eficiencia del Uso del Agua .....	36
5.4.5. Actividad Nitrato Reductasa “ <i>in vivo</i> ” .....	37
5.4.6. Aminoácidos Solubles .....	37
5.4.7. Proteína Soluble.....	38
5.4.8. Prolina y Carbohidratos no Estructurales .....	38
5.4.9. Pigmentos Fotosintéticos .....	39
5.4.10. Índice de Clorofila .....	40
5.4.11. Actividad Fotosintética, Conductancia Estomática, Fluorescencia Máxima de la Clorofila con Iluminación, Eficiencia del Fotosistema II, Tasa de Transporte de Electrones, Transpiración, Déficit de Presión de Vapor de Agua y Humedad Relativa.....	40
5.4.12. Determinación de Elementos Orgánicos.....	41
5.4.13. Densidad Estomática.....	41
5.5. Análisis Estadístico .....	41
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>43</b>
6.1. Biomasa .....	43
6.1.1. Biomasa Aérea.....	43
6.1.2. Biomasa Foliar.....	44
6.1.3. Biomasa Radicular.....	45
6.2. Rendimiento .....	46
6.3. Contenido de Agua .....	47
6.3.1. Contenido de Agua en Órganos Aéreos.....	47
6.3.2. Contenido de Agua en Raíces .....	49
6.4. Eficiencia del Uso del Agua .....	50
6.5. Actividad Nitrato Reductasa “ <i>in vivo</i> ” .....	51
6.6. Aminoácidos Solubles .....	53
6.7. Proteína Solubles .....	54
6.8. Contenido de Prolina .....	55
6.9. Contenido de Carbohidratos no Estructurales .....	57
6.10. Contenido de Pigmentos Fotosintéticos .....	58
6.11. Índice de Clorofila.....	60
6.12. Actividad Fotosintética, Conductancia Estomática, Fluorescencia Máxima de la Clorofila con Iluminación, Eficiencia del Fotosistema II, Tasa de Transporte de Electrones, Transpiración, Déficit de Presión de Vapor de Agua y Humedad Relativa...	61
6.13. Concentraciones de Nitrógeno y Carbono.....	65
6.14. Densidad Estomática .....	67
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>70</b>
<b>8. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>71</b>
<b>9. REFERENCIAS .....</b>	<b>72</b>



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la producción de biomasa aérea en plantas de frijol ejotero cv Strike bajo condiciones de estrés hídrico .....	44
2. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la producción de biomasa foliar en plantas de frijol ejotero cv Strike bajo condiciones de estrés hídrico .....	45
3. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la producción de biomasa radicular en plantas de frijol ejotero cv Strike bajo estrés hídrico .....	46
4. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre el rendimiento en plantas de frijol ejotero cv Strike bajo estrés hídrico .....	47
5. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre el contenido de agua en órganos aéreos en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo estrés hídrico .....	48
6. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre el contenido de agua radicular en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo estrés hídrico .....	49
7. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la eficiencia del uso del agua en los órganos aéreos en plantas de frijol ejotero cv Strike bajo estrés hídrico.....	51
8. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la concentración de aminoácidos solubles en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico .....	54
9. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre el contenido de proteína soluble en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico .....	55
10. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre el contenido de prolina en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico .....	56
11. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la clorofila total en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico .....	59
12. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre el contenido de carotenos en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico .....	60
13. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre los valores de clorofila en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico .....	61
14. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la concentración de nitrógeno en plantas de frijol ejotero cv Strike bajo condiciones de estrés hídrico .....	66
15. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la concentración de carbono en plantas de frijol ejotero cv Strike bajo condiciones de estrés hídrico .....	67
16. Densidad estomática de los tratamientos de control .....	68
17. Densidad estomática de los tratamientos con riego al 75% .....	68
18. Densidad estomática de los tratamientos con riego al 50% .....	69

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Página</b>
1. Descripción de tratamientos utilizados en las plantas de frijol ejotero cv Strike.....	34
2. Composición química de los bioestimulantes y dosis aplicadas en las plantas de frijol ejotero bajo estrés hídrico .....	35
3. Total de agua con solución nutritiva aplicada (L) durante los 60 días de cultivo a los distintos tratamientos .....	50
4. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la actividad Nitrato Reductasa “ <i>in vivo</i> ” en plantas de frijol ejotero cv Strike bajo condiciones de estrés hídrico.....	52
5. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre el contenido de carbohidratos no estructurales en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico ..	57
6. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la actividad fotosintética, conductancia estomática, fluorescencia máxima de la clorofila con iluminación y eficiencia del fotosistema II en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico.....	64
7. Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la tasa de transporte de electrones, transpiración, déficit de presión de vapor de agua y humedad relativa en plantas de frijol ejotero cv Strike bajo condiciones de estrés hídrico .....	65

## RESUMEN

El estrés hídrico es uno de los principales factores que afectan tanto el crecimiento como la productividad de los cultivos agrícolas. Una alternativa para mejorar la resistencia al estrés hídrico es la aplicación de bioestimulantes. Ante este panorama, el presente trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar la efectividad de diferentes bioestimulantes sobre variables agronómicas, fisiológicas, y bioquímicas ante distintos niveles de estrés hídrico en la planta de frijol ejotero variedad “Strike”. El experimento se llevó a cabo bajo condiciones de invernadero en Cd. Delicias, Chihuahua, México durante el periodo agosto-septiembre del 2021. Los tratamientos consistieron en tres tipos de riego: al 100% de capacidad de campo (CC), sin estrés hídrico, y a 75 y 50% de CC, en estos tratamientos con déficit hídrico se aplicaron de forma foliar los bioestimulantes: nanopartículas de óxido de zinc más quitosano (NPOZn+Q), Codasil®, Osmoplant®, Stimplex® y ácido salicílico (AS), obteniendo trece tratamientos. Los resultados obtenidos indican que el uso de bioestimulantes en frijol ejotero cv Strike ayudan a mitigar los efectos nocivos del estrés hídrico, tanto en una dosis de estrés del 25% como de 50%. El tratamiento CC75 + NPOZn + Q fue el que presentó los mejores resultados en la dosis de riego de 75%, y el tratamiento CC50 + Osmoplant fue el que obtuvo mejores valores entre los tratamientos con la dosis de riego de 50%. Se concluye que las nanopartículas de óxido de zinc más quitosano es el bioestimulante más eficiente para mitigar el estrés hídrico moderado (disminución del 25% de riego) y el producto Osmoplant® para situaciones de estrés hídrico severo (disminución del 50% de riego), por lo que se consideran una alternativa para mantener y mejorar el crecimiento y la producción del cultivo frente a problemas de estrés hídrico. Finalmente, resaltar que son necesarios estudios moleculares sobre el impacto de los bioestimulantes en plantas bajo estrés hídrico.

**Palabras clave:** *bioestimulantes, frijol ejotero, estrés hídrico.*

## ABSTRACT

Water stress is one of the main factors affecting both the growth and productivity of agricultural crops. An alternative to improve resistance to water stress is the application of biostimulants. Faced with this panorama, this research project aims to evaluate the effectiveness of different biostimulants on agronomic, physiological, and biochemical variables at different levels of water stress in the green bean plant variety “Strike”. The experiment was carried out under greenhouse conditions in Cd. Delicias, Chihuahua, Mexico during the period August-September 2021. The treatments consisted of three types of irrigation: 100% field capacity (CC), without water stress, and 75% and 50% CC, in these water-deficient treatments, biostimulants were applied in a foliar manner: nanoparticles of zinc oxide plus chitosan (NPOZn+Q), Codasil ®, Osmoplant ®, Stimplex ® and salicylic acid (AS), obtaining thirteen treatments. The results obtained indicate that the use of biostimulants in green beans cv Strike help to mitigate the harmful effects of water stress, both at a stress dose of 25% and 50%. Treatment CC75 + NPOZn + Q had the best results at the 75% irrigation dose, and treatment CC50 + Osmoplant had the best results among treatments at the 50% irrigation dose. It is concluded that zinc oxide plus chitosan nanoparticles are the most efficient biostimulant to mitigate moderate water stress (decrease of 25% of irrigation) and the Osmoplant ® product for situations of severe water stress (decrease of 50% of irrigation), so they are considered an alternative to maintain and improve growth and production. cultivation in the face of water stress problems. Finally, we should highlight the need for molecular studies on the impact of biostimulants on plants under water stress.

**Keywords:** *Biostimulants, green beans, water stress.*

## 1. INTRODUCCIÓN

La frecuencia e intensidad de la sequía ha aumentado en todo el mundo, y se prevé que se agravará debido al cambio climático global (Bechtold *et al.*, 2018). Las plantas deben hacer frente a diversos tipos de estrés bióticos y abióticos en su ciclo de vida, como sequía, frío, calor y estrés por metales pesados. Entre estas tensiones, la sequía es el principal factor que reduce el rendimiento de los cultivos y representa una amenaza para la seguridad alimentaria (Bechtold *et al.*, 2018; Sytar *et al.*, 2019).

Según el reporte de monitoreo de sequía en México del 19 de marzo del 2021 de la Comisión Nacional del Agua (2021), la región Centro Sur del estado de Chihuahua se identifica con sequías moderadas a severas lo cual indica la situación a la que se enfrentan los cultivos respecto al estrés hídrico en esta zona. El estrés hídrico se podría regular por medio de riegos oportunos y completos, sin embargo, se encuentran en riesgo por el bajo nivel de agua que presentan las presas que abastecen la región, ya que su almacenamiento está por debajo de los niveles promedio respecto a los últimos cinco años Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER, 2021).

El estrés por sequía disminuye el contenido relativo de agua en los tejidos vegetales e interrumpe las relaciones entre planta y el agua (Zhu *et al.*, 2012). Además, altera el metabolismo del carbono y el nitrógeno e inhibe el crecimiento de las plantas y su rendimiento (Farooq *et al.*, 2019). Las plantas pueden evitar los efectos nocivos de la sequía de varias formas, entre ellas, el cierre de estomas, enrollamiento de hojas, ajustes osmóticos, reducciones en la expansión celular, y alteraciones de varios procesos fisiológicos y bioquímicos esenciales que afectan su desarrollo (Hefny *et al.*, 2011; Farouk y Amany, 2012).

Bittelli *et al.* (2001) informaron que el daño de las sequías se puede compensar mediante el uso de antitranspirantes, que son compuestos que se aplican al follaje para limitar la pérdida de agua, y pueden aumentar la resistencia de las hojas a la conservación de esta, lo que lleva a un mejor uso del vital líquido y a un incremento en la biomasa y el rendimiento (Tambussi y Bort, 2007). Trabajos previos sugieren el uso de bioestimulantes para mitigar el estrés hídrico, estos consideran a los bioestimulantes como compuestos de moléculas orgánicas o inorgánicas y/o microorganismos aplicados de forma externa a la planta, usualmente en bajas concentraciones, para lograr la estimulación del crecimiento y desarrollo, la defensa contra patógenos y principalmente la tolerancia

al estrés (Balestrini *et al.*, 2018; Bulgari *et al.*, 2019; Dalal *et al.*, 2019).

El uso de distintos bioestimulantes y antitranspirantes han demostrado beneficios en distintos cultivos; Semida *et al.* (2021) utilizaron nanopartículas de óxido de zinc como bioestimulante en distintas dosis en berenjena bajo estrés hídrico al nivel del 60% y observaron que la dosis de 100 ppm aumentó el crecimiento y rendimiento de frutos. Por su parte, Santaniello *et al.* (2017) usaron las algas *Ascophyllum nodosum* como bioestimulante en *Arabidopsis sp.* para evaluar su rendimiento fotosintético y la expresión de genes bajo efectos de estrés hídrico, los datos obtenidos mostraron un mejor rendimiento fotosintético, control estomático y valores altos en la eficiencia del uso de agua en la planta. Así mismo, Hidalgo *et al.* (2021) utilizaron como bioestimulante el producto Codasil®, que está compuesto a base de Silicio, en plantas de lechuga bajo estrés hídrico, y sus resultados fueron el mejoramiento del crecimiento, reducción de la peroxidación lipídica, y protección en el rendimiento de la actividad fotosintética. Por último, Patel *et al.* (2020) trabajaron con nanofórmulas de óxido de zinc como bioestimulante y como antitranspirante el quitosano en plantas de tabaco para modular el estrés oxidativo, ellos obtuvieron un aumento en la biomasa, el contenido de clorofila y carotenoides, también observaron una reducción del peróxido de hidrógeno y aumento en los niveles de taninos y nicotina. El uso de distintos bioestimulantes han demostrado su eficiencia frente al estrés hídrico, distintos parámetros han sido analizados y en ellos se han obtenido resultados de interés común para la mitigación del estrés hídrico en las plantas (Da Silva *et al.*, 2020).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta de la aplicación de bioestimulantes respecto a los parámetros agronómicos, fisiológicos y bioquímicos, en el cultivo de frijol ejotero variedad Strike sometido a estrés hídrico. El resultado de este estudio aportara herramientas a los agricultores para enfrentar el estrés hídrico en cultivos mediante el manejo de bioestimulantes, tomando como referencia el comportamiento del frijol ejotero cv. Strike.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. La Sequía

La sequía es un fenómeno climático recurrente caracterizado por una reducción en la precipitación pluvial con respecto a la considerada como normal, tiende a comportarse de manera irregular a través del tiempo, y provoca que el agua disponible sea insuficiente para satisfacer las distintas necesidades humanas y de los ecosistemas (Ortega *et al.*, 2013). Comúnmente se presenta en todas las regiones del mundo, pero afecta principalmente a las zonas áridas y semiáridas (Esparza, 2014). La sequía es uno de los peligros naturales más devastadores que paraliza la producción de alimentos, agota pastizales, perturba los mercados y, en los casos más extremos, causa la muerte generalizada de personas y animales, las sequías pueden también dar lugar a un aumento de la migración de las zonas rurales a las urbanas, lo que supone una presión adicional para la producción decreciente de alimentos (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2016).

#### 2.1.1. La Sequía en México

México tiene gran parte de su territorio en la franja de alta presión de latitud Norte, por lo que tiene zonas áridas y semiáridas que coinciden en latitud con las regiones de los grandes desiertos africanos, asiáticos y australianos, las zonas áridas son lugares donde la humedad disponible es insuficiente para mantener el potencial vegetativo, estas áreas también están sujetas a la presencia de sequías, y por sus condiciones son más vulnerables, lo que contribuye a agravar la disponibilidad hídrica (Ortega *et al.*, 2013). Según la CONAGUA (2021), la región Centro Sur del estado de Chihuahua se identifica con sequías clasificadas de moderadas a severas, lo que indica la situación a la que se enfrentan los cultivos respecto al estrés hídrico en esta zona. El estrés hídrico se podría regular por medio de riegos adecuados en tiempo y forma, sin embargo, se encuentran en riesgo por el bajo nivel que presentan las presas que abastecen la región, ya que su almacenamiento está por debajo de los niveles promedio respecto a los últimos cinco años (SADER, 2021).

## **2.2. Estrés Hídrico en las Plantas**

A lo largo del tiempo, las plantas han desarrollado diferentes respuestas y adaptaciones que les permiten sobrevivir en condiciones de déficit hídrico, estas adaptaciones están relacionadas con una mayor capacidad de absorber agua o con un uso más eficiente de esta (Pereyra *et al.*, 2014). El estrés por sequía disminuye el contenido relativo de agua en los tejidos vegetales e interrumpe las relaciones entre la planta y el agua (Zhu *et al.*, 2012). Además, la sequía altera el metabolismo del carbono y el nitrógeno e inhibe el crecimiento de las plantas y el rendimiento de grano (Farooq *et al.*, 2009). Las plantas sometidas a estrés hídrico pueden evitar los efectos nocivos de varias formas, entre ellas el cierre de estomas, enrollamiento de hojas, ajustes osmóticos, reducciones y consecuentemente disminuciones en la expansión celular, y alteraciones de varios procesos fisiológicos y bioquímicos esenciales que pueden afectar el crecimiento, la productividad y la calidad del rendimiento (Hefny *et al.*, 2011; Farouk y Amany, 2012).

### **2.2.1. Mecanismos Fisiológicos de las Plantas Frente al Estrés Hídrico**

Los procesos fisiológicos tienen distintas respuestas ante el estrés hídrico, el crecimiento celular es más sensible frente al estrés, la eliminación de agua de la membrana altera la estructura normal de bicapa y da como resultado la porosidad de la membrana, también las proteínas citosólicas y de orgánulos pueden mostrar una actividad reducida o pueden presentar una desnaturalización completa cuando llegan al punto de deshidratación (Liu *et al.*, 1998).

El contenido relativo de agua (RWC), el potencial hídrico de la hoja, la resistencia estomática, la tasa de transpiración, la temperatura de la hoja y la temperatura del dosel son características importantes que influyen en las relaciones hídricas de la planta; el RWC se considera una medida del estado hídrico de la planta, refleja la actividad metabólica en los tejidos y se utiliza como un índice de la deshidratación, este contenido es más alto en las hojas en sus etapas iniciales y disminuye a medida que se acumula materia seca y la hoja va madurando, este parámetro está relacionado con la absorción de agua por las raíces, así como, la pérdida de agua por transpiración,



se ha observado su disminución en respuesta al estrés por sequía en una amplia variedad de plantas (Nayyar *et al.*, 2006), el RWC también se ve afectado por la severidad y duración de la sequía, así como, la especie de la planta (Yang *et al.*, 2010). El potencial hídrico de la hoja y la transpiración también disminuyen cuando la planta se enfrenta déficit hídrico, especialmente con el aumento de temperatura de la hoja (Siddique *et al.*, 2001).

Uno de los efectos comunes del estrés hídrico en las plantas es la reducción de la producción de biomasa fresca y seca (Zhao *et al.*, 2006). El estrés hídrico es un factor limitante en la fase inicial de crecimiento y establecimiento de las plantas, afecta la elongación y la expansión celular debido a la baja presión de turgencia (Kusaka *et al.*, 2005; Shao *et al.*, 2008). Uno de los efectos más importantes es la germinación deficiente (Harris *et al.*, 2002). El crecimiento es el resultado de la producción de células hijas por divisiones de células meristemáticas y la subsiguiente expansión masiva de las células jóvenes, cuando la sequía es severa afecta el alargamiento de las células de las plantas superiores lo cual puede ser inhibido por la interrupción del flujo de agua desde el xilema hacia las células circundantes en el alargamientos (Nonami, 1998), esta sequía provoca una mitosis deteriorada, elongación y expansión celular, dando como resultado características de crecimiento y rendimiento reducidas (Hussain *et al.*, 2008), cuando la sequía es moderada se reducen el crecimiento de los brotes, la expansión de las hojas, el desarrollo del dosel y reduce el crecimiento vegetativo necesario para la producción de frutos, en la etapa de floración y desarrollo de la fruta puede ser severamente perjudicial porque los niveles puede reducirse considerablemente, también puede causar la muerte regresiva de los órganos y consecuentemente provocar la muerte (Gaur *et al.*, 2013). En condiciones de déficit hídrico la actividad de la quinasa se reduce, lo que ocasiona una división celular lenta y una inhibición del crecimiento en general de la planta (Schuppler *et al.* 1998). Este déficit ocasiona la reducción de hojas por planta, el tamaño y la longevidad de estas al disminuir el potencial hídrico del suelo, como la expansión del área foliar depende de la turgencia de la hoja, la temperatura y el suministro de asimilación para el crecimiento, la sequía ocasiona una supresión de la expansión foliar a través de la reducción de la fotosíntesis (Anjum *et al.*, 2011). El déficit hídrico permanente o temporal dificulta severamente el crecimiento y desarrollo de las plantas más que cualquier otro factor ambiental (Gaur *et al.*, 2013).

El crecimiento de las hojas es más sensible que el crecimiento de las raíces, el cambio diurno en la pérdida y la absorción de agua da como resultado pequeños cambios en los diámetros del tronco, las ramas y los frutos, sin embargo, un mayor estrés conduce a una disminución de la respiración y

un aumento de la prolina, la masa de aire seco da como resultado un aumento dramático en el gradiente de presión de vapor entre la hoja y el aire ambiental, esto provoca un aumento de la tasa de transpiración, por lo tanto el cierre de estomas, junto con la inhibición del crecimiento de las hojas, es una de las primeras respuestas a la sequía, protegiendo a las plantas de una gran pérdida de agua, lo que podría resultar en deshidratación celular, cavitación descontrolada del xilema y muerte (Chaves *et al.* 2003). La apertura y el cierre de los estomas se regulan por cambios en la presión de turgencia de las células protectoras en relación con las células epidérmicas, y por cambios en la energía metabólica y la permeabilidad de la membrana (Gaur *et al.*, 2013).

Otras hormonas además del ácido abscísico (ABA) están implicadas en la regulación de las aberturas de los estomas, ya sea de forma aislada o junto con ABA. El aumento de la concentración de citoquinina en el xilema disminuye la sensibilidad estomática al ABA y promueve la apertura estomática (Lake *et al.* 2002). Esto implica tanto el transporte a larga distancia como la modulación de la concentración de ABA en las células protectoras (Wilkinson *et al.*, 2002). Los factores involucrados en esta modulación son la savia del xilema, el pH del tejido de la hoja, que puede aumentar con un alto déficit de presión de vapor, la intensidad de la luz y la temperatura de la hoja (Hartung *et al.* 2002). Los cambios en la presión de turgencia en la hoja actúan como una señal que conduce a cambios en la presión osmótica de las células protectoras y, en consecuencia, en la apertura de los estomas. Hay pocos informes disponibles sobre la participación de los ritmos circadianos en la regulación diurna de la apertura de los estomas por la humedad del aire y el estado del agua de la hoja (Franks *et al.* 1997; Mencuccini *et al.* 2000) y la radiación solar excesiva, que regula a la baja la fotosíntesis y desencadena directamente el ciclo de la xantofila en celdas de guardia (Zeiger, 2000). La apertura estomática también juega un papel importante en el enfriamiento de las hojas a través del intercambio de calor latente. La conductancia estomática puede utilizarse como un rasgo de altos rendimientos en cultivos de regadío cultivados a altas temperaturas (Gaur *et al.*, 2013).

Las condiciones de sequía severa ocasionan una fotosíntesis limitada debido a la disminución de la actividad de rubisco (Bota *et al.*, 2004). La disminución de la tasa fotosintética en el estrés por sequía se debe a la deficiencia de CO<sub>2</sub> ya que es reversible en un ambiente enriquecido en CO<sub>2</sub> (Meyer *et al.*, 2004). Sin embargo, el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> actúa como una señal para el cierre de estomas en la hoja, la adaptación de la hoja a la alta irradiación y la inducción de proteínas de choque térmico (Karpinska *et al.*, 2000). El estrés dificulta los parámetros de intercambio de gases de las plantas de

cultivo y esto puede deberse a la disminución de la expansión de las hojas, la maquinaria fotosintética dañada, la senescencia prematura de las hojas, la oxidación de los lípidos del cloroplasto y los cambios en la estructura de los pigmentos y las proteínas (Menconi *et al.*, 1995). El estrés hídrico tiene un impacto directo en el sistema fotosintético, esencialmente al interrumpir todos los componentes principales de la fotosíntesis, incluido el transporte de electrones tilacoides, el ciclo de reducción de carbono y el control estomático del suministro de CO<sub>2</sub> junto con una mayor acumulación de carbohidratos, destrucción peroxidativa de lípidos y alteración de balance hídrico (Allen *et al.*, 2001; Anjum *et al.*, 2003; Farooq *et al.*, 2009). La clorofila es uno de los componentes del cloroplasto para la fotosíntesis, y el contenido relativo de esta tiene una relación positiva con la tasa fotosintética, su disminución por el estrés hídrico se considera un efecto típico del estrés oxidativo y puede ser el resultado de la fotooxidación de los pigmentos y la degradación de la clorofila. A mayor déficit hídrico, el contenido de clorofila disminuye a un nivel significativo (Gaur, *et al.*, 2013).

Los pigmentos fotosintéticos tienen la función de recolectar luz y producir poderes reductores, la clorofila a y b son sensibles a la deshidratación del suelo, estos niveles, junto con el contenido total de clorofila, pueden reducirse ante la presencia de sequía esto dependiendo de la especie de la planta, y la duración y gravedad de la sequía (Farooq *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 1996; Manivannan *et al.*, 2007).

Los carotenoides también se ven afectados por el estrés hídrico que puedan presentar las plantas, estos son moléculas isoprenoides que son sintetizadas por todos los organismos fotosintéticos y varios organismos no fotosintéticos (Andrew *et al.*, 2008). Se dividen en hidrocarburos carotenos, como el licopeno y el  $\beta$ -caroteno o las xantofilias, tipificados por la luteína (Jaleel *et al.*, 2007) los carotenos forman una parte del sistema de defensa antioxidante de las plantas, pero son sensibles a la destrucción oxidativa, el  $\beta$ -caroteno se une a los complejos centrales del fotosistema I y fotosistema II (Havaux *et al.*, 1998) y tiene la función protectora en el tejido fotosintético en la extinción directa de la clorofila triplete, lo que evita la generación de oxígeno singlete y protege del daño oxidativo (Farooq *et al.*, 2009).

El estrés por sequía reduce la conductancia hidráulica de las raíces. Los largos períodos de sequía o largos intervalos entre lluvias o riego reducen el crecimiento y presionan a las plantas para aumentar la absorción de agua de las capas más profundas del suelo. Un sistema de raíces con crecimiento puede ofrecer la ventaja de apoyar el crecimiento acelerado de las plantas durante la etapa temprana

de crecimiento del cultivo y extraer agua de las capas superficiales del suelo que, de lo contrario, se perdería por evaporación. Generalmente, cuando la disponibilidad de agua es limitada, la relación entre raíz y los brotes de las plantas aumenta porque las raíces son menos sensibles que los brotes a la inhibición del crecimiento por bajos potenciales hídricos (Wu *et al.*, 2000).

Muchos procesos que determinan el rendimiento en las plantas responden ante el estrés hídrico, incluyendo más procesos que se realizan para lograr el ajuste osmótico. Por lo tanto, es difícil interpretar cómo las plantas acumulan, combinan y muestran los procesos cambiantes e indefinidos durante todo el ciclo de vida. El rendimiento de grano es el resultado de la expresión y asociación de varios componentes del crecimiento vegetal. La deficiencia de agua conduce a una disminución severa en las características de rendimiento de las plantas de cultivo, ya sea al alterar las propiedades de intercambio de gases de las hojas, lo que limita el tamaño de los tejidos fuente y sumidero, o al afectar la carga del floema, la translocación de asimilación y la distribución de la materia seca (Farooq *et al.*, 2009). El estrés por sequía inhibe la producción de materia seca en gran medida a través de sus efectos inhibidores sobre la expansión y el desarrollo de las hojas y, en consecuencia, reduce la interceptación de la luz (Nam *et al.*, 1998). La sequía en la etapa de floración comúnmente resulta en esterilidad. Una de las principales causas de esto es la reducción en la partición de materia seca por debajo del nivel de umbral que es necesario para mantener un crecimiento óptimo del grano (Yadav *et al.*, 2004). Se produce una reducción en el llenado de granos debido a una reducción en la partición de asimilados y las actividades de las enzimas de síntesis de sacarosa y almidón. Brevemente, la sequía prevaleciente reduce el crecimiento y desarrollo de las plantas, lo que conduce a la producción de flores y el llenado de granos obstaculizados y, por lo tanto, a un menor número de granos (Gaur *et al.*, 2013).

### **2.2.2 Mecanismos Bioquímicos de las Plantas Frente al Estrés Hídrico**

Las plantas al entrar en estrés hídrico realizan un ajuste osmótico donde disminuyen su potencial osmótico celular por la acumulación de solutos (Djibril *et al.*, 2005; Farooq *et al.*, 2008), las plantas sintetizan y acumulan solutos orgánicos e inorgánicos en el citosol que desempeñan un papel clave en el mantenimiento del equilibrio osmótico, logrando mantener la turgencia celular (Rhodes *et al.*,

1994), estos compuestos incluyen a prolina, glutamato, glicinabetaína, carnitina, manitol, sorbitol, fructanos, polioles, trehalosa, sacarosa, oligosacáridos e iones inorgánicos como K<sup>+</sup>, estos compuestos ayudan a las células a mantener hidratación y por lo tanto funcionan para crear resistencia contra el estrés y la deshidratación celular (Ramanjulu *et al.*, 2002; Mahajan *et al.*, 2005). El grupo hidroxilo de los alcoholes de azúcar sustituye al grupo OH del agua para mantener las interacciones hidrofílicas con los lípidos y las proteínas de la membrana, estas moléculas ayudan a mantener la estructura de las membranas, por lo tanto, la acumulación de estos solutos bajo estrés hídrico se conoce como ajuste osmótico y depende de la tasa de estrés de la planta (Nayyar *et al.*, 2003).

Los osmolitos en baja concentración funcionan protegiendo las macromoléculas ya sea estabilizando la estructura terciaria de la proteína o eliminando las especies reactivas al oxígeno (EROs) producidas en respuestas al estrés (Zhu *et al.*, 2001). El nivel de carbohidratos en una hoja se altera en respuesta al estrés y esto sirve como una señal metabólica que indica la actividad que se está realizando para mitigar los efectos del estrés (Chaves *et al.*, 2003). La síntesis de almidón normalmente se inhibe en condiciones de déficit hídrico moderado (Mahajan y Tuteja, 2005), pero la concentración de azúcares solubles aumenta en condiciones de estrés (Pinheiro *et al.*, 2001). La acumulación de prolina es una respuesta de las plantas expuestas al estrés por déficit hídrico para reducir el daño a las células, las plantas sintetizan este aminoácido a partir de glutamina en sus hojas, se ha mostrado que mientras avanza y se vuelve más severo el estrés la prolina aumenta hasta alcanzar un pico y luego disminuye (Anjum *et al.*, 2011), esta puede actuar como una molécula de señalización para modular las funciones mitocondriales, influir en la proliferación o muerte celular y desencadenar la expresión de genes específicos, lo que puede ser de ayuda para la recuperación de las plantas del estrés (Szabados *et al.*, 2009) ya que presenta actividad en la preservación de proteínas y de la estructura cuaternaria de proteínas complejas, mantiene la integridad de la membrana y reduce la oxidación de las membranas lipídicas o la fotoinhibición (Demiral *et al.*, 2004), también contribuye en eliminar radicales libres, estabilizar las estructuras subcelulares y retener el potencial redox celular en condiciones de estrés (Ashraf *et al.*, 2007).

Hay un sistema defensivo catalizado por enzimas protectoras internas en las plantas, que es lo suficientemente fino como para evitar lesiones del oxígeno activo, lo que permite una función celular normal (Horváth *et al.*, 2007). El equilibrio entre la producción de EROs y las actividades de la enzima antioxidante determina si se producirá señalización y/o daño oxidativo (Moller *et al.*,

2007). Para minimizar el efecto del estrés oxidativo, las plantas han desarrollado un sistema antioxidante enzimático y no enzimático, es decir, antioxidantes de baja masa molecular (glutación, ascorbato, carotenoides) y enzimas secuestrantes de EROs [superóxido dismutasa (SOD), peroxidasa (POD), catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APX)] (Apel *et al.*, 2004). Los antioxidantes no enzimáticos cooperan para mantener la integridad de las membranas fotosintéticas bajo estrés oxidativo. Los componentes enzimáticos eliminan directamente las EROs o pueden actuar produciendo un antioxidante no enzimático (Gaur *et al.*, 2013). La destrucción eficiente de  $O_2^-$  y  $H_2O_2$  en las células vegetales requiere la acción concertada de los antioxidantes. El  $O_2^-$  puede dismutarse en  $H_2O_2$  mediante SOD en el cloroplasto, la mitocondria, el citoplasma y el peroxisoma. POD juega un papel clave en la eliminación de  $H_2O_2$  que se produjo a través de la dismutación de  $O_2$  catalizada por SOD. CAT es una enzima principal para eliminar  $H_2O_2$  en la mitocondria y el microcuerpo (Shigeoka *et al.*, 2002) y, por lo tanto, ayuda a mejorar los efectos perjudiciales del estrés oxidativo. Se encuentra en los peroxisomas, pero se considera indispensable para descomponer el  $H_2O_2$  durante el estrés. Se ha encontrado que mantener un nivel más alto de actividades enzimáticas antioxidantes y la capacidad de las enzimas antioxidantes para eliminar EROs está correlacionado con la tolerancia a la sequía en las plantas (Sharma *et al.*, 2005).

## **2.3. Bioestimulantes en Plantas**

### **2.3.1. Bioestimulantes**

Una manera de mitigar los efectos nocivos del estrés hídrico en las plantas es mediante el uso de bioestimulantes, (Balestrini *et al.*, 2018; Bulgari *et al.*, 2019) que se consideran como el uso de moléculas orgánicas o inorgánicas, y/o microorganismos aplicados externamente a la planta en bajas concentraciones, para estimular el crecimiento y desarrollo de la planta, la defensa contra patógenos y principalmente la tolerancia al estrés (Dalal *et al.*, 2019). Los bioestimulantes se pueden clasificar en diferentes grupos, ácidos húmicos y fúlvicos, aminoácidos y mezclas de péptidos, extractos de algas y de plantas, y otros biopolímeros, compuestos inorgánicos y microorganismos beneficiosos

(hongos y/o bacterias) (Calvo *et al.*, 2014), su aplicación puede trabajarse de manera foliar, en soluciones hidropónicas o en el suelo. El uso de estos promueve una mayor resiliencia en el déficit hídrico, así como, importantes incrementos fisiológicos y de productividad en los cultivos, además de brindar una mayor protección a la planta, evidenciando la eficiencia del uso de bioestimulantes (Da Silva *et al.*, 2020).

### 2.3.2. Aminoácidos Frente al Estrés Hídrico

Los aminoácidos han demostrado que al ser utilizados como bioestimulantes provocan un incremento en la biosíntesis de varios compuestos nitrogenados como enzimas, vitaminas, pigmentos y bases pirimidínicas provocando un crecimiento general de la planta (Francesca *et al.*, 2020). También han mostrado que pueden ayudar a aumentar la tolerancia al estrés térmico (Battacharyya *et al.*, 2015). En plantas de lechuga tratadas con una mezcla derivada de la hidrólisis enzimática de proteínas y mostraron mayores pesos frescos y mejor conductancia estomática en comparación con las plantas no tratadas (Van Oosten *et al.*, 2017). Botta *et al.* (2013) en su trabajo bajo con *Lolium perenne* L. sometido a distintas temperaturas reportaron que las plantas tratadas con aminoácidos hidrolizados mejoraron la eficiencia fotosintética en comparación con las plantas no tratadas a altas temperaturas. Hammad *et al.* (2014) en su trabajo con trigo reportan que la aplicación de aminoácidos podrían influir directamente en la actividad fisiológica en el crecimiento y rendimiento de las plantas también bajo estrés abiótico. Francesca *et al.* (2020) en su trabajo con distintos genotipos con tomate sometidos a temperaturas elevadas reporta que el uso de bioestimulante a base de aminoácidos mejoró el rendimiento de la plantas, la calidad de la fruta y la eficiencia fotoquímica máxima del fotosistema II principalmente en los genotipos E107 y PDVIT, en este último, el producto ocasionó una mayor altura de planta, mayor número de frutos, mayor vitalidad del polen, mayor eficiencia fotoquímica, una mayor acumulación de ácido ascórbico reducido y una mayor actividad antioxidante.

La prolina es un aminoácido proteinogénico, con una conformación rígida, y es esencial para el metabolismo primario, numerosos estudios han mostrado que el contenido de prolina aumenta bajo diferentes condiciones de estrés y su acumulación en plantas estresadas tiene una función de

protección, por mucho tiempo se consideró a la prolina como un osmolito. También le han atribuido una característica antioxidante pues disminuye las especies reactivas de oxígeno (EROs), activa las enzimas involucradas en la detoxificación de EROs, tales como catalasas, peroxidasas y superóxido dismutasa, también posee ciertas funciones regulatorias y actúa como molécula señal (Szabados *et al.*, 2009). La función de la prolina es: como osmolito, estabilización de macromoléculas, un destino para el exceso de reductantes y almacenamiento de carbono y nitrógeno para usar luego de transcurrido el déficit hídrico, puede ser considerada un antioxidante enzimático que animales, vegetales y microorganismos requieren para mitigar los efectos adversos de EROs (Gill y Tuteja, 2010). Para contrarrestar el estrés hídrico, muchas plantas aumentan el potencial osmótico de las células mediante la síntesis y acumulación de solutos compatibles tales como prolina, y por esto la principal enzima reguladora es la prolina oxidasa (PROX). Una importante reducción en la oxidación de la prolina fue observada bajo condiciones de estrés. La prolina oxidasa transforma la prolina en glutamato. Esta enzima afecta el nivel de prolina libre (Shao *et al.*, 2008).

Por lo tanto, se puede considerar el uso de bioestimulantes con aminoácidos para reducir de forma efectiva los efectos causados por la sequía, por lo que podría aplicarse en áreas con escasez de agua para contribuir a mantener los rendimientos de los cultivos (Hidalgo-Santiago *et al.*, 2021).

### **2.3.3. Silicio Frente al Estrés Hídrico**

Un elemento relevante en el tratamiento de mitigación del estrés en las plantas es el silicio (Si) que se considera un bioestimulante por su efecto positivo en el crecimiento y desarrollo de distintas especies vegetales, aumentando su tolerancia al estrés biótico y abiótico (Daoud *et al.*, 2018; Szulc *et al.*, 2019). Este elemento no se considera un elemento esencial para las plantas, sin embargo, es beneficioso para ellas, especialmente cuando se enfrentan a tensiones ambientales (Shi *et al.*, 2016). El Si mejora el metabolismo primario al aumentar la fotosíntesis y la absorción de nutrientes, y el metabolismo secundario al promover la producción de compuestos fenólicos que también favorece los sistemas de defensa antioxidante (Maghsoudi *et al.*, 2016; Vega *et al.*, 2019). Se han sugerido diferentes mecanismos para la tolerancia al estrés hídrico mediado por el silicio, incluida la prevención de la pérdida de agua a través de la transpiración (Rafi *et al.*, 2020), el mantenimiento



del equilibrio mineral, el aumento de la absorción de agua por las raíces, la estimulación de la acumulación de osmolitos y el aumento de la actividad de la enzima fotosintética (Zhang *et al.*, 2016). En distintos estudios fueron evaluados los efectos del bioestimulante Codasil®, el cual está compuesto principalmente por silicio, oligo/polipéptidos, aminoácidos, y potasio, sobre el crecimiento, fisiología y tolerancia al estrés hídrico de la lechuga, las plantas se cultivaron bajo déficit hídrico (75% de la capacidad de campo) más la aplicación del producto Codasil®, se analizaron los parámetros relacionados con el crecimiento, el estrés oxidativo, la fotosíntesis, la concentración de pigmentos y el metabolismo de la prolina, los resultados mostraron que el bioestimulante mejoró considerablemente el crecimiento de las plantas bajo estrés hídrico, el producto redujo la peroxidación lipídica y los niveles de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y protegió el rendimiento de la fotosíntesis. Además, las plantas con aplicación del bioestimulante acumularon más silicio y presentaron una menor acumulación de prolina y una menor inducción del metabolismo de la misma (Hidalgo-Santiago *et al.*, 2021).

#### **2.3.4. Algas Frente al Estrés Hídrico**

En el mercado se encuentran disponibles distintos productos comerciales a base de extractos de algas o de subproductos de su metabolismo, siendo el más común el uso de *Ascophyllum nodosum* (Du Jardin *et al.*, 2015), se ha demostrado que estos organismos generan efectos beneficiosos para la planta, en su aplicación en el suelo han demostrado contribuir a la retención de agua y aeración del mismo, fijación e intercambio de cationes y metales, y beneficios a la microflora, además, en algunos casos proveen de macro y micronutrientes, dentro de los múltiples efectos, los extractos de algas han logrado mejorar la respuesta a la tolerancia al estrés hídrico, salino y de temperatura, se les atribuyen estas propiedades ya que las algas y sus extractos pueden contener betaínas y citoquininas, gracias a las cuales tienen la capacidad de incrementar las concentraciones endógenas de citoquininas, antioxidantes y prolina en los individuos tratados (Calvo *et al.*, 2014). En el trabajo de Santianello *et al.* (2017), estudiaron las respuestas de plantas de *Arabidopsis* tratadas con un extracto del alga parda *Ascophyllum nodosum* (ANE), en condiciones de estrés por sequía, demostrando que ANE influye positivamente en la supervivencia de *Arabidopsis*, el pretratamiento

con ANE indujo un cierre estomático parcial, asociado con cambios en los niveles de expresión de genes implicados en las vías del sistema antioxidante, la preactivación de estas vías da como resultado una mayor capacidad de las plantas tratadas con ANE para mantener un mejor rendimiento fotosintético en comparación con las plantas no tratadas durante todo el período de deshidratación, combinado con una mayor capacidad para disipar el exceso de energía en forma de calor en los centros de reacción de fotosistema II, los resultados sugieren que las plantas estresadas tratadas con ANE son capaces de mantener un fuerte control estomático y valores relativamente altos de eficiencia en el uso del agua y conductancia del mesófilo durante la última fase de deshidratación, simultáneamente, la activación de un sistema de defensa antioxidante preinducido, en combinación con un mecanismo de disipación de energía más eficiente, previene daños irreversibles al aparato fotosintético, en conclusión, el pretratamiento con ANE es efectivo para la adaptación de las plantas al estrés, promoviendo una mayor eficiencia del uso del agua y tolerancia a la pérdida de agua. En el estudio que realizaron do Rosario *et al.* (2021) se utilizaron ácidos fúlvicos y extractos de *Ascophyllum nodosum* como bioestimulantes con efecto antiestrés en el cultivo de soja, para aumentar el rendimiento de este, formularon distintas dosis para poder analizar cuál era la más eficiente para promover la recuperación de las plantas después del estrés por déficit hídrico, el experimento se realizó en un invernadero, en un diseño de bloques aleatorios de doble factorial con dos factores adicionales, cuatro repeticiones y once tratamientos, que consta de tres formulaciones de bioestimulantes distintas, las plantas con déficit hídrico se mantuvieron a un 50% en su capacidad de campo, los resultados mostraron que el bioestimulante proporcionó tasas de fotosíntesis más altas, mecanismos más eficientes para disipar el excesos de energía y mayor actividad de las enzimas antioxidantes, así mismo, fueron más eficientes en la recuperación de las actividades metabólicas, lo que se muestra una mayor tolerancia de la soja al déficit de agua y una reducción de pérdida de rendimiento.

### **2.3.5. Nanotecnología Frente al Estrés Hídrico**

En los últimos años el uso de la nanotecnología ha sido de gran importancia, especialmente las nanopartículas ya que son materiales muy pequeños que tienen un tamaño nanométrico menor a los

100 nm (Srilatha, 2011). En el caso agrícola, se utilizan nanomateriales para la detección y el tratamiento de algunas enfermedades (Krishnaraj *et al.*, 2016) y para la mejora de la asimilación de nutrientes esenciales, entre más usos (Martínez-Fernández *et al.*, 2016), de las aplicaciones viables de las nanotecnologías el desarrollo de nanofertilizantes es de relevancia ya que su potencial va dirigido en mejorar el uso de insumos agrícolas al ser utilizados en menor cantidad y brindando mejoras en la calidad (Razzaq *et al.*, 2016), su uso se destaca por el tamaño nanométrico de las nanopartículas, que les da mayor facilidad de penetración a través de las membranas biológicas y un mayor aprovechamiento en comparación a los fertilizantes convencionales (Eichert *et al.*, 2008). En estudios se ha logrado encontrar resultados positivos en la aplicación de nanopartículas en diversos cultivos, Panwar *et al.* (2012) observaron que la aplicación favorece el crecimiento de las plántulas de tomate a dosis de 20 mg L<sup>-1</sup> de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, así mismo, Mahdiah *et al.* (2018) reportaron que el tratamiento de semillas de frijol pinto con nanopartículas de zinc presentó un incremento significativo en la longitud del brote, la longitud del entrenudo, el peso de los brotes y la raíz de las plantas.

Los usos actuales de la nanotecnología en el sector agrícola son pocos, pero el potencial que tienen es amplio (Prasad *et al.*, 2014). Por lo tanto, es de suma importancia realizar estudios que comparen los efectos positivos de nanofertilizantes frente a los fertilizantes convencionales, para hacer visible las ventajas en la eficiencia del uso de recursos (Liu y Lal, 2015).

### **2.3.6. Óxido de Zinc Frente al Estrés Hídrico**

Otro bioestimulante es el Óxido de Zinc que desempeña un papel clave en los ecosistemas agrícolas (Rico *et al.*, 2011), especialmente en la regulación de crecimiento y desarrollo de las plantas a diferentes niveles y la mejora a la tolerancia de reacciones bióticas y abióticas (Aslani *et al.* 2014; Ma *et al.* 2015). Las plantas tratadas con ZnO tienen una mayor eficiencia de fotosíntesis junto con la expresión regulada positivamente de los genes de la estructura del fotosistema (Singh *et al.* 2018; Kataria *et al.*, 2019), el ZnO ha sido de ayuda para mejorar la tolerancia al estrés a través de la regulación osmótica, aumentando los niveles de prolina, azúcar soluble y proteína soluble total (Soliman *et al.* 2015). Entre los estudios realizados con este bioestimulante se realizaron dos ensayos

de campo durante 2018 y 2019 para examinar la influencia de tres concentraciones de Nanopartículas de óxido de zinc (0, 50 y 100 ppm) en berenjenas cultivadas bajo riego completo (100 de evapotranspiración del cultivo; ETc) y estrés por sequía. (60% de ETc), el estrés por sequía disminuyó significativamente el índice de estabilidad de la membrana, el contenido relativo de agua y la eficiencia fotosintética, lo que obstaculizó el crecimiento y el rendimiento de la berenjena, en contraste, las berenjenas tratadas con nanopartículas de óxido de zinc con estrés hídrico resultaron con un aumento en el contenido relativo del agua y mayor estabilidad de la membrana, asociado con estructuras anatómicas mejoradas del tallo y las hojas y una mayor eficiencia fotosintética. Bajo estrés hídrico, la aplicación de 50 y 100 ppm de Nanopartículas de óxido de zinc mejoró las características de crecimiento y aumentó el rendimiento de frutos en un 12,2% y 22,6%, respectivamente, en comparación con las plantas completamente irrigadas sin aplicación de bioestimulante, la productividad de agua más alta se obtuvo cuando la berenjena se regó con un 60% de ETc y se trató por vía foliar con 50 o 100 ppm de nanopartículas de óxido de zinc, lo que condujo a aumentos de 50,8 a 66,1% en la productividad de agua en comparación con plantas irrigadas sin tratar, en conjunto, estos hallazgos demostraron que la aspersión foliar de Nanopartículas de óxido de zinc brinda la utilidad para aliviar los efectos del estrés por sequía en las berenjenas cultivadas en suelo salino (Semida *et al.*, 2021 y Semida *et al.*, 2021). Así mismo, Luying *et al.* (2021) investigaron los efectos de las nanopartículas de óxido de zinc sobre la morfología estomática, el intercambio de gases y las actividades enzimáticas clave del metabolismo del carbono en el cultivo de maíz sometido a estrés hídrico, el estrés por sequía limitó el crecimiento de la planta, provocó el cierre de los estomas, disminuyó la tasa fotosintética neta y aumentó las concentraciones de osmolitos, en comparación con las plantas tratadas con el bioestimulante se observó la disminución de la degradación del pigmento fotosintético y benefició el movimiento estomático, mantuvo una tasa fotosintética neta más alta y mejoró la eficiencia del uso del agua, promoviendo la tolerancia a la sequía.

### **2.3.7. Quitosano Frente al Estrés Hídrico**

Un bioestimulante comúnmente utilizado en el área agronómica es el quitosano, que es un

compuesto que ha demostrado ser eficaz en distintos cultivos (Khan *et al.*, 2002) y se usa para proteger las plantas del estrés oxidativo (Guan *et al.*, 2009), así mismo, para estimular el crecimiento de estas (Farouk *et al.*, 2008, 2011). El quitosano es un compuesto natural, poco tóxico, biodegradable y ecológico con diversas aplicaciones en la agricultura. Se encontró que las aplicaciones foliares con dicho compuesto dieron como resultado un mayor crecimiento vegetativo y una mejora en la calidad del fruto (Farouk *et al.*, 2008; Ghoname *et al.*, 2010). En el trabajo de Patel *et al.* (2020) exploraron el impacto de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO-NP) y la nanobioformulación de quitosano-óxido de zinc (CH-ZnO) en los callos de *Nicotiana benthamiana* en cultivo de tejidos, sus resultados mostraron una mayor biomasa en los callos tratados con CH-ZnO, mientras que en comparación se observó una biomasa reducida en los callos tratados con ZnO-NP, se registró un mayor contenido de clorofila y carotenoides en los callos tratados con 800 ppm de CH-ZnO, también se observó una mayor acumulación de prolina en los callos tratados con CH-ZnO, que fue significativamente mayor con el tratamiento con 50, 200 y 400 ppm de CH-ZnO, al igual se registró una reducción máxima en el contenido de malondialdehído (MDA) a 800 ppm, para ambas nano-formulaciones probadas, así mismo, se encontró una reducción significativa en los niveles de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en todos los tratamientos, mientras que el callo tratado con 400 ppm de ZnO-NP y 800 ppm de CH-ZnO registró la mayor reducción, también presentó un aumento en el nivel de tanino y nicotina en el callo suplementado con 50, 200 y 400 ppm de CH-ZnO, los hallazgos de este estudio sugieren que se podría utilizar una dosis optimizada de estas nanobioformulaciones para regular el contenido de nicotina y el nivel de tolerancia al estrés (Patel *et al.*, 2020).

### **2.3.8. Ácido Salicílico Frente al Estrés Hídrico**

El ácido salicílico (AS) se puede considerar como un biorregulador del crecimiento de la plantas ya que han mostrado efectos en el desarrollo de vegetales inhibiendo la germinación o el crecimiento de raíz, la inducción de la floración e inhibición de la misma, provoca cierre de estomas y los puede mantener turgente y tiene efectos en la reducción de la transpiración (Larqué-Saavedra *et al.*, 1978; Saxena *et al.*, 1980; Saeedi *et al.*, 1984; Raskin, 1992; Larqué-Saavedra *et al.*, 2007). En distintos trabajos ha demostrado tener beneficios en la producción de biomasa, al respecto Sánchez *et al.*

(2011), trabajaron en distintas dosis en el cultivo de chile jalapeño cv. Chichimeca, reportando un aumento de la biomasa foliar, radicular y en frutos, y un incremento en la actividad fotosintética principalmente en dosis de 0.1 y 0.2 mM. En otro estudio realizado por Villa-Castorena *et al.* (2021) en frijol “pinto saltillo” utilizaron cuatro distintos osmoprotectores (ácido salicílico, glicina betaina, nitrato de potasio y nitrato de calcio) para contrarrestar los efectos del estrés hídrico, estos autores reportaron que la aplicación foliar de los cuatro osmoprotectores influyeron de manera positiva en el crecimiento, rendimiento y eficiencia del uso de agua en las plantas de frijol bajo estrés hídrico, las respuestas variaron según las dosis, señalando que el ácido salicílico a dosis de 0.05 mM junto con glicina betaina a 25 y 50 mM, el nitrato de potasio a 5, 10 y 15 mM, y el nitrato de calcio a 2.1 mM incrementaron el rendimiento de grano y eficiencia de uso de agua. Singh *et al.* (2003), por su parte trabajaron con trigo bajo estrés hídrico aplicando ácido salicílico en distintas dosis, ellos reportaron que independientemente de la concentración del AS y el estrés hídrico las plantas tratadas con este bioestimulante mostraron un mayor contenido de humedad, masa seca, actividad carboxilasa de Rubisco, actividad superóxido dismutasa (SOD) y clorofila total en comparación con las plantas no tratadas con AS, encontrando que el tratamiento con AS bajo estrés hídrico protegió la actividad de la Nitrato Reductasa y mantuvo el contenido de proteína y nitrógeno de las hojas en comparación con las plantas control.

### **3. HIPÓTESIS**

La aplicación foliar de bioestimulantes mitigará los efectos negativos del estrés hídrico en el cultivo de frijol ejotero cv. Strike.

## **4. OBJETIVOS**

### 4.1. Objetivos General

Evaluar la respuesta de la aplicación de bioestimulantes respecto a los parámetros agronómicos, fisiológicos y bioquímicos, en el cultivo de frijol ejotero cv. Strike sometido a estrés hídrico.

### 4.2. Objetivos Específicos

Determinar los parámetros agronómicos respecto a la aplicación de cinco tipos de bioestimulantes para el cultivo de frijol ejotero cv. Strike sometido bajo dos niveles de estrés hídrico.

Analizar las respuestas fisiológicas de la aplicación de cinco tipos de bioestimulantes para el cultivo de frijol ejotero cv. Strike sometido bajo dos niveles de estrés hídrico.

Evaluar las respuestas bioquímicas de la aplicación de cinco tipos de bioestimulantes para el cultivo de frijol ejotero cv. Strike sometido bajo dos niveles de estrés hídrico.



## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Manejo del Cultivo

El experimento se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo en Cd. Delicias, Chihuahua, durante el mes de agosto y septiembre del 2021. El experimento se estableció bajo condiciones de invernadero de malla sombra a una temperatura media ambiente de  $30.7 \pm 4.6$  °C. Se utilizaron semillas de frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Strike, las cuales se cultivaron en macetas de plástico de 13.4 L (dos plantas por maceta) en una mezcla de sustrato compuesta por vermiculita y perlita en una proporción de 2:1. Las plantas se regaron con una solución nutritiva completa compuesta por 6 mM  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 1.6 mM  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0.3 mM  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , 4 mM  $\text{CaCl}_2$ , 1.4 mM  $\text{MgSO}_4$ , 5  $\mu\text{M}$  Fe-EDDHA, 2  $\mu\text{M}$   $\text{MnSO}_4$ , 0.25  $\mu\text{M}$   $\text{CuSO}_4$  y 0.5  $\mu\text{M}$   $\text{H}_3\text{BO}_3$ , preparada con agua purificada con un pH de 6.0-6.1. La solución se aplicó dependiendo de la cantidad de riego (100 %, 75 % y 50%). Los tratamientos de bioestimulantes fueron aplicados a las unidades experimentales a partir de los 20 días después de la germinación y de la aparición de las primeras hojas verdaderas, se realizó de manera foliar, cada siete días, en horario vespertino, por un periodo de dos meses.

### 5.2. Diseño Experimental y Tratamientos

En el experimento se utilizó un diseño completamente al azar, con 13 tratamientos (Cuadro 1) y seis repeticiones, con 78 unidades experimentales (se constituyeron de dos plantas por cada maceta).

**Cuadro 1.** Descripción de tratamientos utilizados en las plantas de frijol ejotero cv. Strike

<b>Tratamiento</b>	<b>Dosis de riego</b> (porcentaje a capacidad de campo)	<b>Bioestimulante</b>
CC100	100	Control
CC75	75	Control de riego al 75%
CC75+NPOZn+Q	75	Nanopartículas de óxido de zinc con Quitosano
CC75+Codasil	75	Codasil ®
CC75+Osmoplant	75	Osmoplant ®
CC 75+Stimplex	75	Stimplex ®
CC75+AS	75	Ácido Salicílico
CC50	50	Control de riego al 50%
CC50+NPOZn+Q	50	Nanopartículas de óxido de zinc con Quitosano
CC50+Codasil	50	Codasil ®
CC50+Osmoplant	50	Osmoplant ®
CC50+Stimplex	50	Stimplex ®
CC50+AS	50	Ácido Salicílico

El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \xi_{ij}$$

$y_{ij}$ = observación j-esima tomada bajo el nivel del factor o tratamiento i.

$\mu$ = media global del nivel del factor o tratamiento i-esimo

$\tau_i$ = efecto del tratamiento i-esimo

$\xi_{ij}$ = Componente del error aleatorio asociado al tratamiento i y la repetición j

### 5.2.1 Caracterización de Bioestimulantes

En este estudio se utilizaron cinco bioestimulantes los cuales se describen en el Cuadro 2.

**Cuadro 2.** Composición química de los bioestimulantes y dosis aplicadas en las plantas de frijol ejotero cv-Strike bajo estrés hídrico.

Bioestimulante	Composición química	Dosis
Codasil ®	Solución líquida de alta concentración en silicio soluble compuesto por 20% de Silicio, 4% de aminoácidos libres y 11.20% de potasio.	2 mL por L de H <sub>2</sub> O (Recomendada por el fabricante).
Osmoplant ®	Solución líquida compuesta por 6% de aminoácidos libres, 2.4% de nitrógeno, y un 3.35% de potasio.	2 mL por L de H <sub>2</sub> O (Recomendada por el fabricante).
Stimplex ®	Solución líquida, compuesta por extracto de alga <i>Ascophyllum nodosum</i> como su ingrediente activo al 0.34%, con una formulación de nitrógeno total 0,1% y potasio soluble (K <sub>2</sub> O) 4,0%	2 mL por L de H <sub>2</sub> O (Recomendada por el fabricante).
Nanopartículas de Óxido de Zinc	<50 nm, 99.9%	0.1246 g por L de H <sub>2</sub> O (100 ppm) (Palacio-Márquez <i>et al.</i> , 2021)
Quitosano (Poli-D-glucosamina)		2 mL por 1 L de H <sub>2</sub> O (Mondal <i>et al.</i> , 2013).
Ácido salicílico	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	0.0138 g por L de H <sub>2</sub> O. (0.1 mM) (Sánchez <i>et al.</i> , 2011).

### 5.3. Muestreo Vegetal

Sesenta días después de la germinación y cuando las plantas alcanzaron su madurez fisiológica, se tomaron muestras de las plantas completas. El material vegetal se dividió en dos partes: Material fresco, se utilizaron las hojas frescas para los análisis de la actividad enzimática Nitrato Reductasa (NR) “*in vivo*” (EC 1.6.6.1), cuantificación de pigmentos fotosintéticos, aminoácidos, prolina, azúcares y proteína. Material seco, se utilizaron las plantas completas (raíz, tallo, hojas y frutos) las cuales fueron pesadas en el momento del muestreo, luego se lavaron, primero con agua corriente y posteriormente dos veces en agua destilada, se colocaron a secar sobre papel estraza durante 24 h, para después ser clasificadas e introducidas a un horno secador a 70 ° C durante 48 h, esta parte de muestra se utilizó para la cuantificación de biomasa, rendimiento, cantidad de agua, eficiencia del uso del agua y para la cuantificación de elementos orgánicos.

## 5.4. Análisis Vegetal

### 5.4.1. Biomasa

Para determinar la biomasa se analizaron los diferentes órganos de la planta por separado (hojas, tallo, raíz y frutos) se tomó el peso en seco de cada parte. Los resultados se expresaron en gramos por planta con base en el peso seco.

### 5.4.2. Rendimiento

Los frutos de cada planta por tratamiento fueron recolectados y pesados en fresco. Se tomaron cuatro repeticiones para el análisis de esta variable. El rendimiento se expresó en gramos por planta.

### 5.4.3. Contenido de Agua

El contenido de agua se obtuvo calculando el peso fresco (p.f.) menos el peso seco (Kochhar y Gujral, 2020).

### 5.4.4. Eficiencia del Uso de Agua

La eficiencia del uso del agua (EUA) se obtuvo dividiendo el peso de materia seca cosechada ( $\text{g ha}^{-1}$ ) entre el volumen total de agua aplicado en cada tratamiento (Trejo, 2006), los resultados se expresaron como gramos por litro ( $\text{g L}^{-1}$ ).

#### 5.4.5. Actividad Nitrato Reductasa “*in vivo*”

La actividad de Nitrato Reductasa (NR) “*in vivo*” (EC 1.6.6.1) se determinó utilizando una adaptación de la metodología propuesta por Jaworski (1971) y Maurino (1986). Se tomó el material fresco y se obtuvieron taleolas del limbo foliar de diámetro de 7 mm. Se pesaron entre 0.125-0.150 g y se colocaron en 10 mL de medio de infiltración (Buffer de fosfato potásico 100 mM, pH 7,5 y propanol al 1% (v/v)). Posteriormente las muestras se sometieron a un proceso de vacío (aproximadamente 0.8 bar) durante 10 minutos y en la oscuridad. Después de 10 min, se liberó el vacío y las muestras se incubaron a 30° C en la oscuridad durante 1 h. Posteriormente, los tubos se introdujeron en un baño de agua a 100 ° C durante 15 min para detener la actividad NR. Para la determinación de la actividad se tomó 1 mL de alícuota, 2 mL de sulfanilamida al 1% disuelta en HCl 1.5 M (1 g de sulfanilamida + 20 mL de HCl al 35% todo disuelto en 100 mL de agua) y 2 mL de NNEDA (N-1-naftil-etilendiamida) al 0.02%, disuelta en HCl 0.2 N (20 g NNEDA disueltos en 100 mL de HCl 0.2 N). Después de 20 minutos, se procedió a la lectura de la absorbancia a 540 nm frente a una curva patrón de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> entre 0.025-2 µg mL<sup>-1</sup>, siguiendo el método propuesto por Hageman y Hucklesby (1971). La actividad NR fue expresada como µmol de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> formados \* g p.f.<sup>-1</sup> \* h<sup>-1</sup>.

#### 5.4.6. Aminoácidos Solubles

Para la determinación de aminoácidos se utilizó el método propuesto por Yemm y Cocking (1995) con el reactivo de ninhidrina con adaptaciones a nuestro experimento. Se pesó aproximadamente 0.5 g de material vegetal y se homogenizó con 5 mL de tampón fosfato 50 mM pH 7.0. El homogenizado se filtró con una malla y posteriormente se centrifugó a 12360 g durante 15 min. El sobrenadante fue utilizado para la cuantificación de los aminoácidos y proteínas solubles. Posteriormente, en un tubo de ensayo se pusieron 100 µL de sobrenadante y se le agregó 1.5 mL del reactivo de ninhidrina. La mezcla se introdujo en un baño maría a 100°C durante 20 min. Se preparó una curva de glicina (de la misma manera que la muestra). Transcurridos los 20 minutos, se pasaron

las muestras y la curva de glicina a un recipiente con hielo. A continuación, se le añadieron 8 mL de propanol al 50% a cada uno de los tubos con muestra y a los tubos de la curva y se dejaron reposando por 30 minutos. Posteriormente, se procedió a su lectura a una longitud de onda de 570 nm, frente a la curva patrón de glicina. La concentración de aminoácidos y proteínas solubles se expresaron como  $\text{mg g}^{-1}$  de peso fresco.

#### **5.4.7. Proteína Soluble**

La proteína soluble se determinó después del homogenizado de 0.5 g de muestra fresca en tampón  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  frío 50 mM a pH 7 y centrifugación de 12360 g, a 4°C durante 15 min. El sobrenadante también se utilizó para la determinación de aminoácidos. El método que se utilizó fue el propuesto por Bradford (1976). Se tomó 1 mL de reactivo de Bradford en un tubo de ensayo y se agregaron 20  $\mu\text{L}$  de albumina de bovino (BSA) de cada uno de los tubos con concentración conocida, correspondientes a cada punto de la curva. Posteriormente, se leyó a una absorbancia de 595 nm frente a la curva patrón. La proteína soluble se expresó como  $\text{mg g}^{-1}$  de peso fresco.

#### **5.4.8. Prolina y Carbohidratos No Estructurales**

Para la determinación de esta variable se siguió el método de acuerdo a Irigpyen *et al.* (1992) con ligeras modificaciones. Se pesó una cantidad aproximada de 0.5 g de material vegetal fresco, el cual fue homogenizado primeramente con 5 mL de etanol al 96% y posteriormente dos veces con 5 mL de etanol al 70%, el homogenizado fue centrifugado a 3740 g durante 10 min y el sobrenadante resultante se utilizó para las distintas determinaciones. Para los carbohidratos no estructurales se tomó un volumen de 0.1 mL y fue agregado en un tubo de ensayo, seguido se agregaron 3 mL de Antrona. Posteriormente, los tubos se introdujeron en un baño térmico con agua a 100°C durante 10 min, pasado el tiempo y una vez enfriados en temperatura ambiente se procedió a la lectura ( $\lambda = 650$  nm), frente a las respectivas curvas patrones de sacarosa, glucosa y fructuosa, las concentraciones

se expresaron como  $\text{mg g}^{-1}$  de peso fresco. Para la cuantificación de la prolina del extracto se tomó un volumen de 2 mL y se colocó en un tubo de ensayo, seguido se adicionaron 2.5 mL de reactivo de ninhidrina, 2.5 mL de ácido acético glacial del 99% y 4 mL de agua desionizada posteriormente se agitó en un vortex, la mezcla obtenida se introdujo en un baño térmico de agua a  $100^{\circ}\text{C}$  durante 45 min, pasado el tiempo indicado se añadieron 5 mL de benceno al 99%, después los tubos se metieron a un baño frío con hielo hasta que la temperatura descendió lo suficiente y separó la muestra en dos secciones, para las lecturas se utilizó el material que quedó en la parte superior, las lecturas se hicieron a  $\lambda = 515 \text{ nm}$  frente a una curva patrón de prolina. Las concentraciones se expresaron como  $\mu\text{g g}^{-1}$  de peso fresco.

#### 5.4.9. Pigmentos Fotosintéticos

La metodología utilizada para la extracción y cuantificación de pigmentos de la hoja fue el método descrito por Wellburn (1994) el cual se basa en un método colorimétrico, utilizando un agente químico para extraer los pigmentos del material vegetal. Del material fresco (hojas), específicamente del limbo foliar, se obtuvieron taleolas de 7 mm hasta reunir un peso aproximado de 0.125 g registrando el peso y número de taleolas. Se añadió 10 mL de metanol puro (99%) ( $\text{CH}_3\text{COH}$ ) a cada tubo y se sellaron con cinta parafilm de laboratorio. Se dejaron reposar en oscuridad durante 24 h. una vez transcurrido ese tiempo, se agitaron las muestras en un vortex y se procedió a la lectura en un espectrofotómetro Genesis 10S UV-VIS (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) a tres longitudes de onda: 666, 653 y 470 nm. Se utilizó metanol puro como blanco. Las concentraciones de pigmentos fotosintéticos se expresaron como  $\text{mg g}^{-1}$  de peso fresco y se calcularon siguiendo las siguientes fórmulas:

$$\text{Chl } a = [15.65(A_{666}) - 7.34 (a_{653})] \dots(1)$$

$$\text{Chl } b = [27.05 (A_{653}) - 11.21(A_{666})] \dots(2)$$

$$\text{Carotenos} = [(1000 * A_{470}) - 2.86 (\text{Chl } a) - 129.2 (\text{Chl } b)] / 221 \dots (3)$$

#### 5.4.10. Índice de Clorofila

Para la cuantificación del índice de clorofila se utilizó un método no destructivo, en el cual se captura usando un lector de clorofila Minolta SPAD 502 (Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japón), que mide “*in situ*” sin provocar daño en la hoja. La lectura se consigue proyectando luz a través de una hoja. Se realizaron 5 mediciones por planta para un total de 30 lecturas por tratamiento. La medición se efectuó en partes libres de nervaduras. Los resultados se expresaron como unidades SPAD (Shrestha *et al.*, 2012).

#### 5.4.11. Actividad Fotosintética, Conductancia Estomática, Fluorescencia Máxima de la Clorofila con Iluminación, Eficiencia del Fotosistema II, Tasa de Transporte de Electrones, Transpiración, Déficit de Presión de Vapor de Agua y Humedad Relativa.

Las variables indicadas se midieron en las hojas cuando la planta alcanzó su madurez fisiológica (Kocal *et al.*, 2008). Las lecturas se tomaron con un equipo portátil LI-COR 6400 (Lincoln, Nebraska, EE. UU.), en cada planta se seleccionó una hoja sana, de color homogéneo y libre de daños, en la celda de referencia se usó una concentración de 400  $\mu\text{mol}$  por mol de  $\text{CO}_2$ , y en la celda de muestra se mantuvo a aproximadamente 380  $\mu\text{mol}$  por mL de  $\text{CO}_2$ , el déficit de presión de vapor del aire en la cámara de muestra fue inferior a 1.5 y la temperatura del bloque donde se encontraba la hoja era alrededor de los 30°C. Los resultados se expresaron de la siguiente manera; la actividad fotosintética se expresó como  $\mu\text{mol}$  de  $\text{CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ , la conductancia estomática como mol de  $\text{CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ , la fluorescencia máxima de la clorofila con iluminación en  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , la eficiencia del fotosistema II en Fv/Fm, la tasa de transporte de electrones como  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , la transpiración en  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , el déficit de presión de vapor de agua como kPa, y la humedad relativa en %.



#### **5.4.12. Determinación de Elementos Orgánicos**

La determinación de nitrógeno y carbono se realizó con el equipo FLASH 2000 (Thermo Scientific), el cual trabaja bajo el método Dumas (Calvo, 2008). Se tomaron en un cápsula de níquel 3 µg de muestra en sólido y se adicionó 9 µg de pentaóxido de vanadio (V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), posteriormente se introdujeron en el equipo. Las concentraciones se expresaron en porcentaje (%).

#### **5.4.13. Densidad Estomática**

Para el análisis de la densidad estomática se tomaron impresiones vegetales de cada tratamiento, con seis repeticiones respectivamente. En un porta objeto de vidrio se colocó kola loka ® (presentación líquida de brocha) posteriormente se presionó con la parte del envés de la hoja hasta que el líquido quedara sólido (seco) y se logrará impregnar en el porta objeto el envés y a su vez los estomas presentes. Seguido se analizaron en un microscopio donde se tomó una fotografía por muestra, esta imagen se procesó en el programa ZEN 3.5 donde se visualizaron los estomas para su análisis de densidad.

### **5.5. Análisis Estadístico**

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza para evaluar el efecto de los tratamientos sobre las variables de biomasa, rendimiento, actividad Nitrato Reductasa “*in vivo*”, pigmentos fotosintéticos, carotenos, índice de clorofila, proteína soluble, aminoácidos solubles, prolina, carbohidratos no estructurales, actividad fotosintética, conductancia estomática, fluorescencia máxima de la clorofila con iluminación, eficiencia del fotosistema II, tasa de transporte de electrones, transpiración, déficit de presión de vapor de agua, humedad relativa, contenido de agua, eficiencia del uso del agua y elementos orgánicos utilizando un nivel de

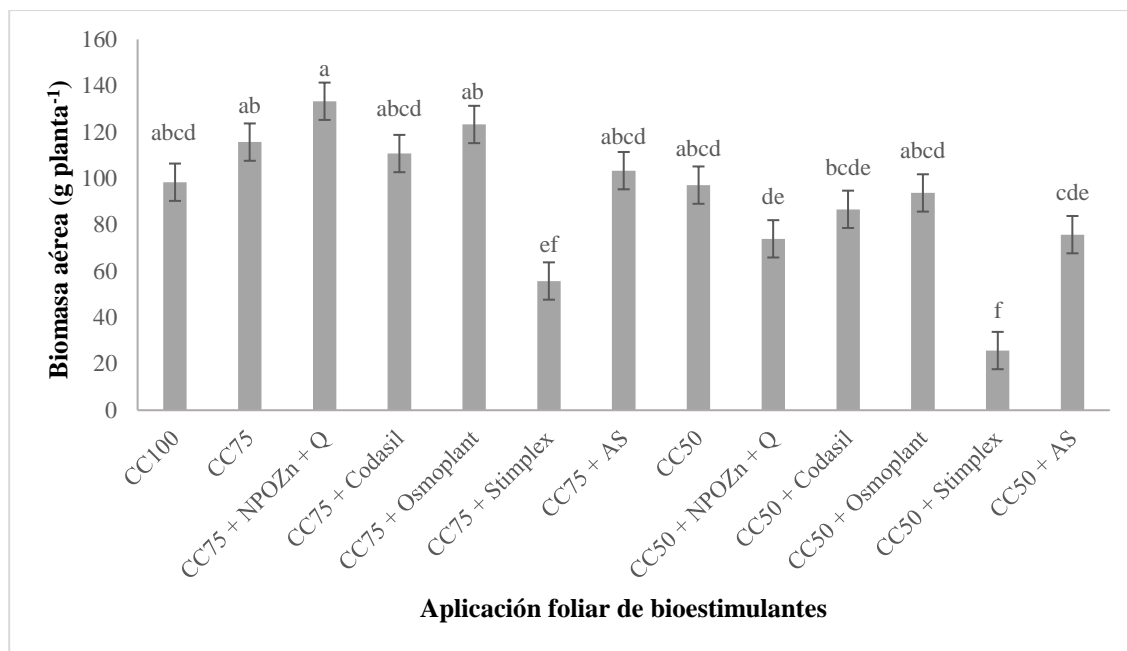
significancia de  $\alpha=0.05$ . Cuando se observaron diferencias significativas o efecto de tratamientos se hizo una comparación de medias utilizando la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) ( $p \leq 0.05$ ). Los análisis se hicieron mediante el Software estadístico SAS 9 (SAS Inst. Inc. Cary, NC).

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Biomasa

#### 6.1.1 Biomasa Aérea

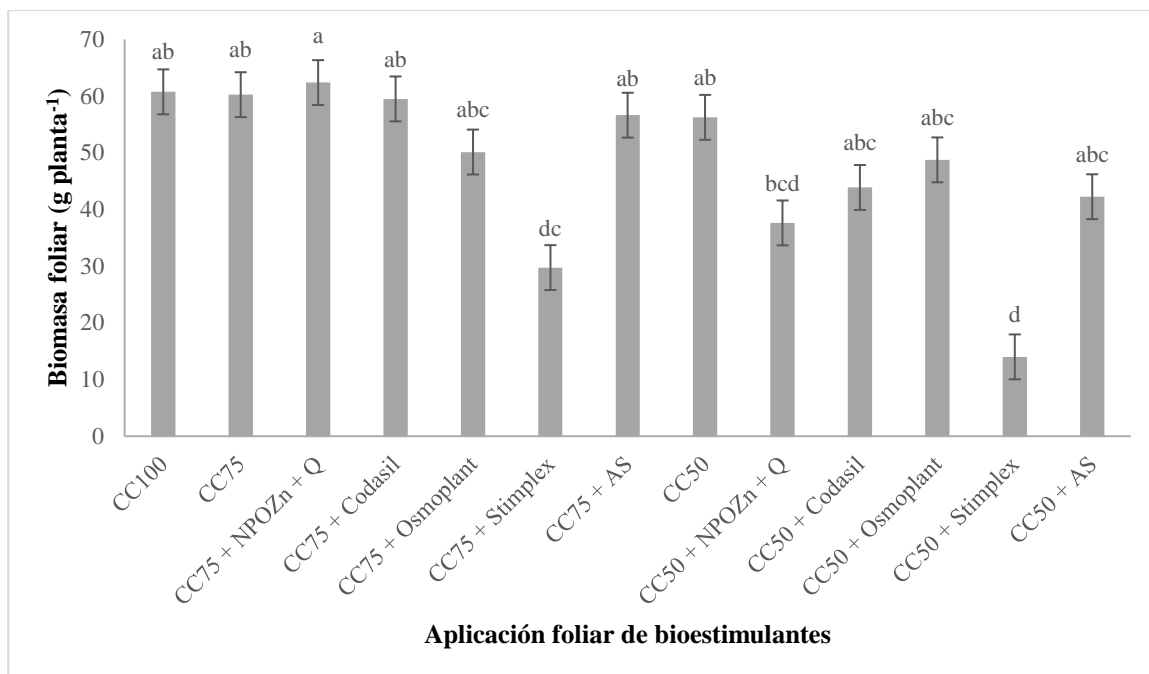
El contenido de biomasa acumulada es una de las variables más importantes para indicar el funcionamiento correcto de la planta (Sánchez *et al.*, 2016). En el presente estudio, se observó la mayor acumulación de biomasa aérea en los tratamientos CC75 + NPOZn + Q, seguido de CC75 + Osmoplant lo cuales tuvieron un incremento de 26% y 20% respecto al control (CC100) (Figura 1). Estos resultados coinciden con lo reportado por Burman *et al.* (2013) quienes obtuvieron un aumento de biomasa del 22.8% con respecto a su control con la aplicación de nanopartículas de óxido de zinc en el cultivo de garbanzo. La producción de biomasa aérea se vio afectada por la dosis de riego, siendo el nivel de CC50% quienes presentaron valores menores en su producción comparado con los tratamientos a dosis de riego del CC75%. En estudios anteriores se ha mostrado que la aplicación de nanopartículas puede modificar la absorción de nutrientes y producir distintas actividades biológicas, causando variaciones en el crecimiento de diferentes especies de plantas (Kanwar *et al.*, 2019). Respecto a las dosis de riego del 50% el tratamiento con las concentraciones máximas de biomasa aérea fue el CC50 + Osmoplant, bioestimulante compuesto principalmente por aminoácidos.



**Figura 1.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la producción de biomasa aérea en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico.

### 6.1.2 Biomasa Foliar

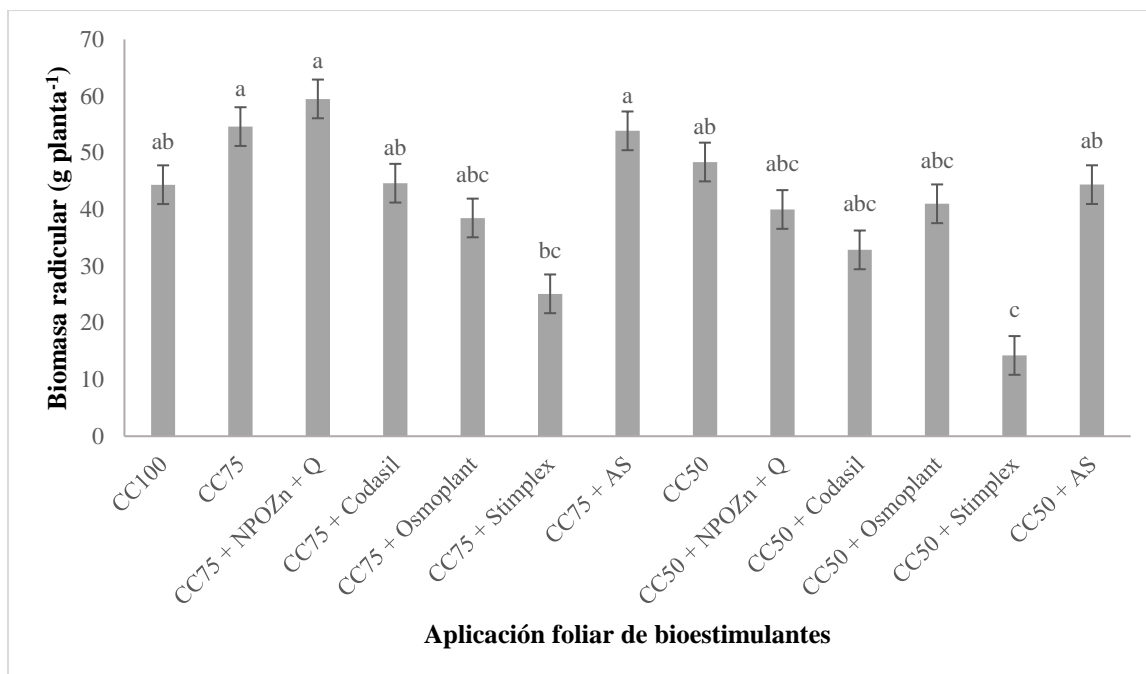
En las plantas bajo condiciones adversas, como lo es el estrés, uno de los indicadores más usados para conocer su estado es la biomasa (Blasco *et al.*, 2008). En el presente trabajo, la biomasa foliar presentó diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Figura 2), los resultados indican que el tratamiento CC75 + NPOZn + Q es el que contiene mayor acumulación de biomasa foliar el cual obtuvo un incremento del 2% en relación al control, así mismo, mostró un incremento del 3% respecto al tratamiento con nivel de riego de CC75% sin aplicación de bioestimulante y un 52% respecto al tratamiento con la misma dosis de riego con los valores menores (CC75 + Stimplex). Liu y Lal (2015), señalan que las nanopartículas de óxido de zinc mejoran el crecimiento de las plantas, lo cual coincide con los resultados presentes en la Figura 2. Los resultados obtenidos en esta variable tienen un comportamiento similar a los encontrados en biomasa aérea (Figura 1), de igual manera en la dosis de riego del 50% el bioestimulante Osmoplant nuevamente es que presenta mayores concentraciones de biomasa foliar.



**Figura 2.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la producción de biomasa foliar en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico.

### 6.1.3 Biomasa Radicular

Los resultados respecto a esta variable mostraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos. Encontrando que el tratamiento CC75 + NPOZn + Q es el que presentó mayores concentraciones de biomasa radicular (Figura 3), teniendo un incremento del 25% respecto al control, seguido el tratamiento CC75 presentando un incremento del 18% y el tratamiento CC75 + AS con un incremento del 17% respecto al control. Estos resultados coinciden con lo reportado por Ojeda *et al.* (2015), quienes reportan que el crecimiento de raíces es una respuesta de adaptación al estrés que le permite a las plantas explorar una mayor área del suelo en busca de agua, coincidiendo con el presente trabajo en donde se encuentra mayor producción de biomasa radicular en los tratamientos con estrés hídrico. En estos datos se muestra que el comportamiento del tratamiento CC50 + Stimplex es similar en los datos de biomasa aérea, foliar y radicular, ya que en las tres variables fue el que presentó menor producción. Respecto a la dosis de riego de 50% en esta variable es el ácido salicílico el bioestimulante que presentó las mayores concentraciones de biomasa radicular.

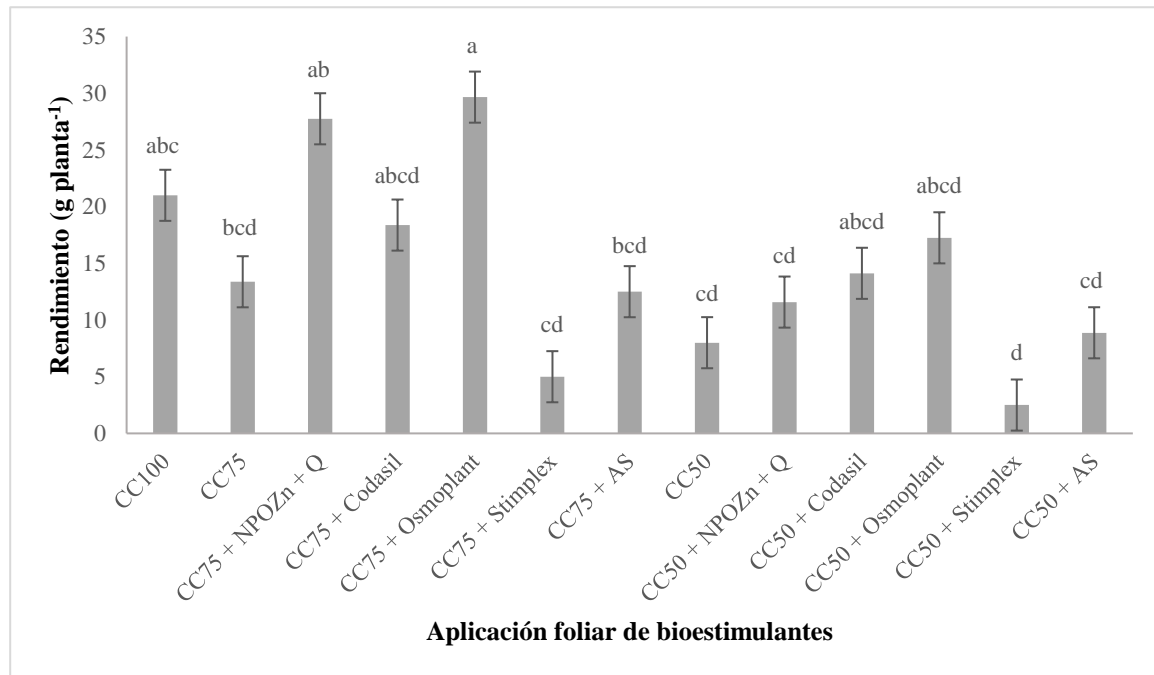


**Figura 3.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la producción de biomasa radicular en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo estrés hídrico.

## 6.2 Rendimiento

Uno de los parámetros agronómicos más importantes es el rendimiento, ya que es donde se puede observar el rendimiento biológico de los cultivos (Rawat *et al.*, 2017). En el presente estudio, el tratamiento CC75 + Osmoplant favoreció la máxima producción de frutos, seguido del tratamiento CC75 + NPOZn + Q estos fueron los que presentaron un mayor incremento (29% y 24%) respectivamente en relación al control (Figura 4). Estudios previos reportados por Francesca *et al.* (2020) obtuvieron mayor rendimiento y calidad en distintos genotipos de plantas de tomate sometidas a temperaturas elevadas con el uso de bioestimulantes a base aminoácidos. Así mismo, Hammad *et al.* (2014) reportaron que la aplicación de aminoácidos libres en trigo bajo estrés hídrico mejoró los niveles de rendimiento y sus características fisiológicas. En el trabajo de Céspedes *et al.* (2020) con papa criolla reporta que la aplicación de bioestimulantes a base de levadura y aminoácidos aumentó el rendimiento y los componentes de rendimiento estudiados. Estos trabajos previos reportan resultados similares a los reportados en el presente trabajo, donde el bioestimulantes a base de aminoácidos (Osmoplant ®) es el que presenta mayor rendimiento. En la

dosis de riego al 50% el producto Osmoplant fue el que presentó las mayores concentraciones de rendimiento.



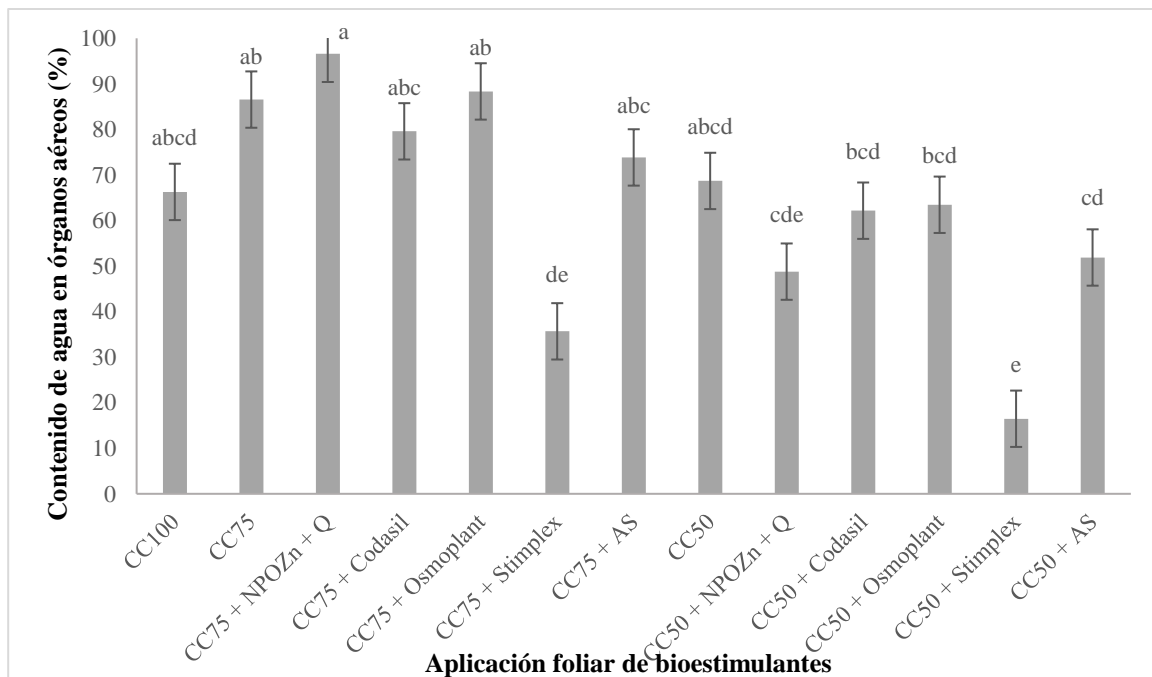
**Figura 4.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre el rendimiento en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico.

### 6.3 Contenido de Agua

#### 6.3.1 Contenido de Agua en Órganos Aéreos

Diversos autores reportan que el contenido de agua en la planta tiene una relación con el óptimo rendimiento de esta, ya que influye como una correlación positiva, mientras más agua se encuentre disponible, a pesar de los recursos ambientales la planta presenta mayor tamaño y rendimiento, ellos hacen mención que para un óptimo contenido agua en la planta influyen factores externos como la temperatura, las horas luz, la disponibilidad de nutrientes, sin embargo, hacen la connotación que teniendo una óptima disponibilidad de agua la planta supera obstáculos como los anteriores y logra

la captación idónea para su desarrollo (Medrano *et al.* 2007). En el presente estudio, el tratamiento CC75 + NPOZn + Q favoreció el máximo contenido de agua en órganos aéreos con un incremento del 31% en relación con el control (CC100), el tratamiento seguido con mayor contenido es el CC75 + Osmoplant con un incremento del 24% respecto al control. En estudios realizados por Ojeda *et al.* (2015) reportan que el uso de bioestimulante pueden aumentar el contenido relativo del agua en las plantas en estrés hídrico, ya que interfieren con los mecanismo fisiológicos de la planta ante el estrés, ellos atribuyen sus resultados a las características gelificantes del bioestimulante aplicado ya que inciden positivamente en la absorción de agua, aún y cuando está en menor disponibilidad. Estos resultados, junto con la revisión de Medrano *et al.* (2007), son comparables con los presentados en el presente trabajo, ya que el tratamiento con la máxima producción de biomasa aérea es el mismo con los valores mayores en el contenido de agua de órganos aéreos (CC75 + NPOZn + Q) (Figura 5). Respecto a los tratamientos bajo dosis de riego del 50% el bioestimulante con mejores resultados en su contenido de agua es el Osmoplant ®.

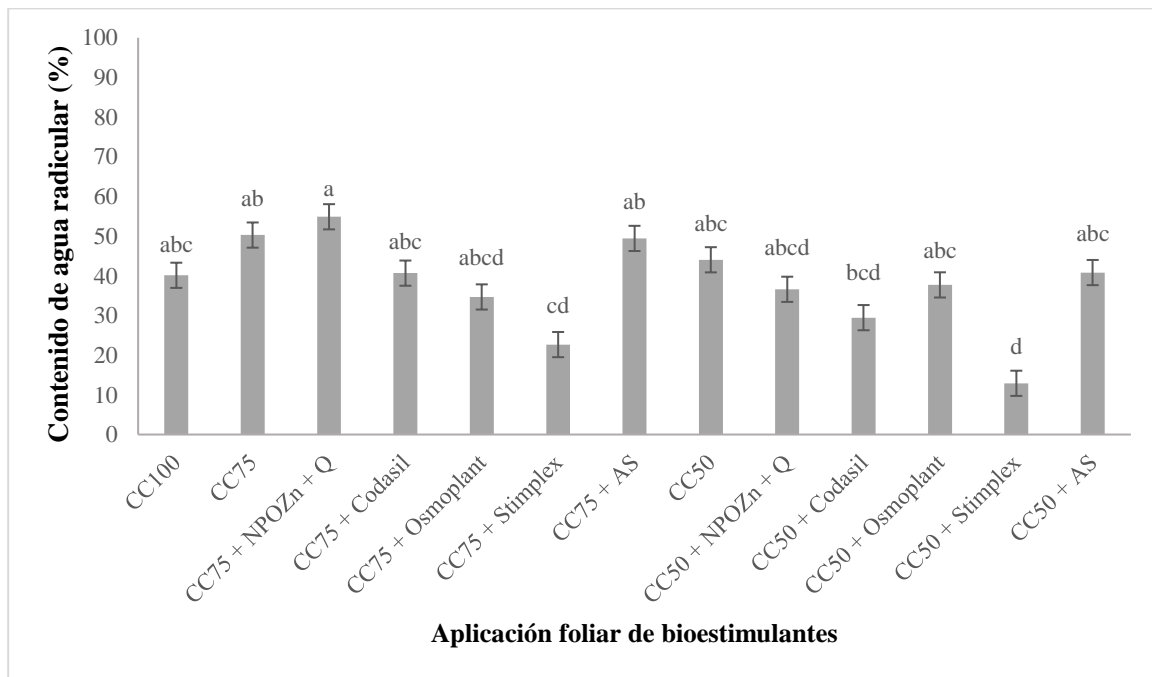


**Figura 5.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre el contenido de agua en órganos aéreos en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo estrés hídrico.



### 6.3.2 Contenido de Agua en Raíces

Diversos autores reportan que el contenido de agua en raíces se relaciona con el tamaño de las mismas, ya que el crecimiento del sistema radical permite una mayor zona de exploración en el suelo logrando mayor absorción de agua (Ramírez *et al.*, 2003). En la Figura 6 se muestra que el tratamiento CC75+NPOZn+Q es el que presentó mayor contenido de agua radicular con un incremento del 26% con respecto al control (CC100) y del 8% con respecto al tratamiento CC75 (misma dosis de riego pero sin aplicación de bioestimulante). Con referencia a lo reportado por Ramírez *et al.* (2003) el tratamiento CC75 + NPOZn + Q es el que presenta la concentración máxima de contenido de agua en raíces y a la vez es el que tiene mayor producción de biomasa foliar y radicular, siendo las nanopartículas con óxido de zinc más el quitosano el tratamiento que mejor estimuló el crecimiento de la planta y por lo tanto su contenido de agua. En las dosis de riego de 50% el ácido salicílico fue el tratamiento que obtuvo mejores resultados en su contenido de agua en raíces.



**Figura 6.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre el contenido de agua radicular en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo estrés hídrico.

## 6.4 Eficiencia del Uso del Agua

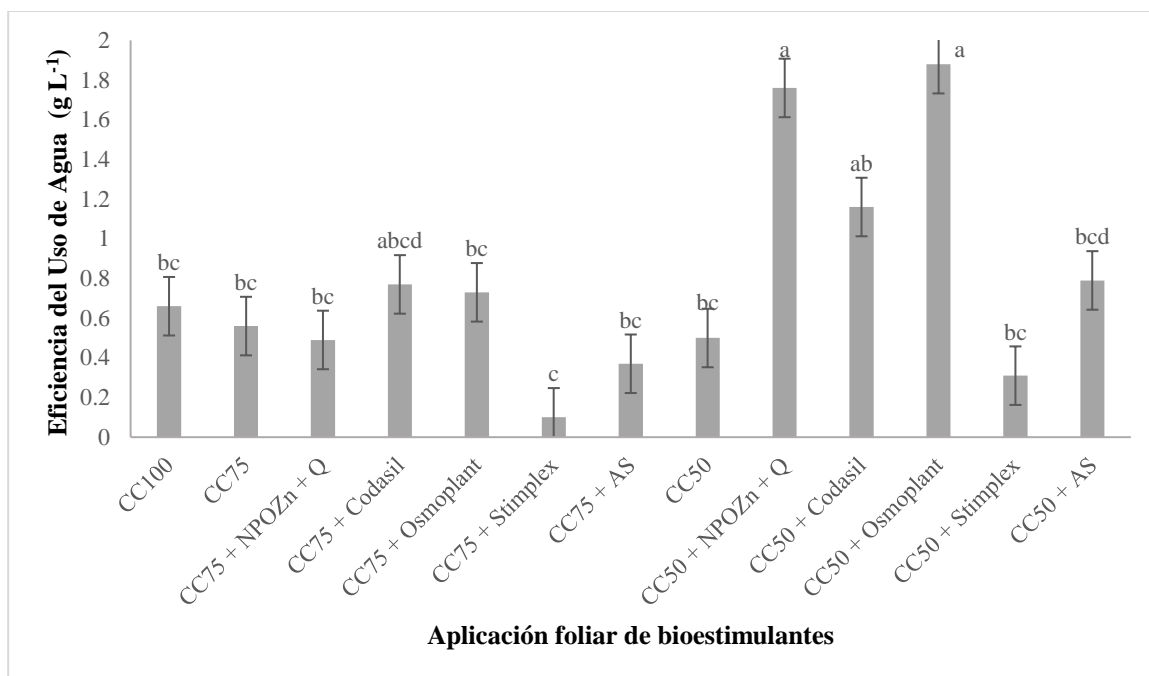
La eficiencia del uso del agua (EUA) constituye una prioridad fundamental dada su fuerte repercusión en el monto de agua utilizada, ya que este es cada vez es menor por la baja disponibilidad de agua en las regiones agrícolas (Medrano *et al.*, 2007). Esta variable se expresó en g de producción de frutos entre los L de agua aplicada, al tratamiento con capacidad de campo del 100% se le aplicó 31.5 L en total durante los 60 días del cultivo, a los tratamientos con dosis de riego del 75% en total se les aplicaron 23.63 L y a los tratamientos sometidos a un riego de 50% se les aplicó 15.75 L (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Total de agua con solución nutritiva aplicada (L) durante los 60 días de cultivo a los distintos tratamientos.

<b>Tratamiento</b>	<b>Total de agua aplicada durante los 60 días de cultivo (L)</b>
CC100	31.5
CC75	23.63
CC75+NPOZn+Quitosano	23.63
CC75+Codasil ®	23.63
CC75+Osmoplant ®	23.63
CC75+Stimplex ®	23.63
CC75+AS	23.63
CC50	15.75
CC50+NPOZn+Quitosano	15.75
CC50+Codasil ®	15.75
CC50+Osmoplant ®	15.75
CC50+Stimplex ®	15.75
CC50+AS	15.75

En el presente estudio los tratamientos con la mayor eficiencia del uso del agua son los que tienen dosis de riego al 50% de capacidad de campo, estos tratamientos son los en los que se aplicaron los bioestimulantes de Osmoplant ® (CC50 + Osmoplant) y Nanopartículas de óxido de zinc más quitosano (CC50 + NPOZn + Q), el primero presenta un incremento del 64% y el segundo un 62% respecto a control (CC100) y respecto al CC50 (misma dosis de riego sin aplicación de bioestimulante) presentan 73% y 71% de incremento respectivamente (Figura 7). En la EUA se involucran distintos procesos tanto fisiológicos como bioquímicos, y bajo estrés hídrico estos

mecanismos se modifican para lograr su ciclo de vida (Medrano *et al.*, 2007). Se puede considerar que las plantas con mayor estrés hídrico (el riego más bajo) emplean sus mecanismos de forma más rigurosa para poder lograr el ciclo de la planta (en este caso un ciclo de 60 días). Por lo tanto, se puede considerar que tienen mayores niveles de EUA pero no de producción de biomasa ni de producción de frutos, ya que se puede decir que emplean sus procesos fisiológicos y metabólicos para sobrevivir como medida básica para la resistencia ante el estrés que presentan. Respecto a las dosis de riego del 75% el tratamiento con mejor eficiencia fue el que se aplicó el producto Codasil®, producto compuesto a base de Silicio.



**Figura 7.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la eficiencia del uso del agua en los órganos aéreos en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo estrés hídrico.

### 6.5 Actividad Nitrato Reductasa “*in vivo*”

La enzima Nitrato Reductasa cataliza la reducción de nitrato a nitrito, la existencia de nitrógeno de forma abundante colabora en la formación de clorofila, que aumenta la actividad fotosintética y por lo tanto, el desarrollo vegetal (Raigón *et al.*, 2006), por lo que su presencia en las plantas bajo estrés

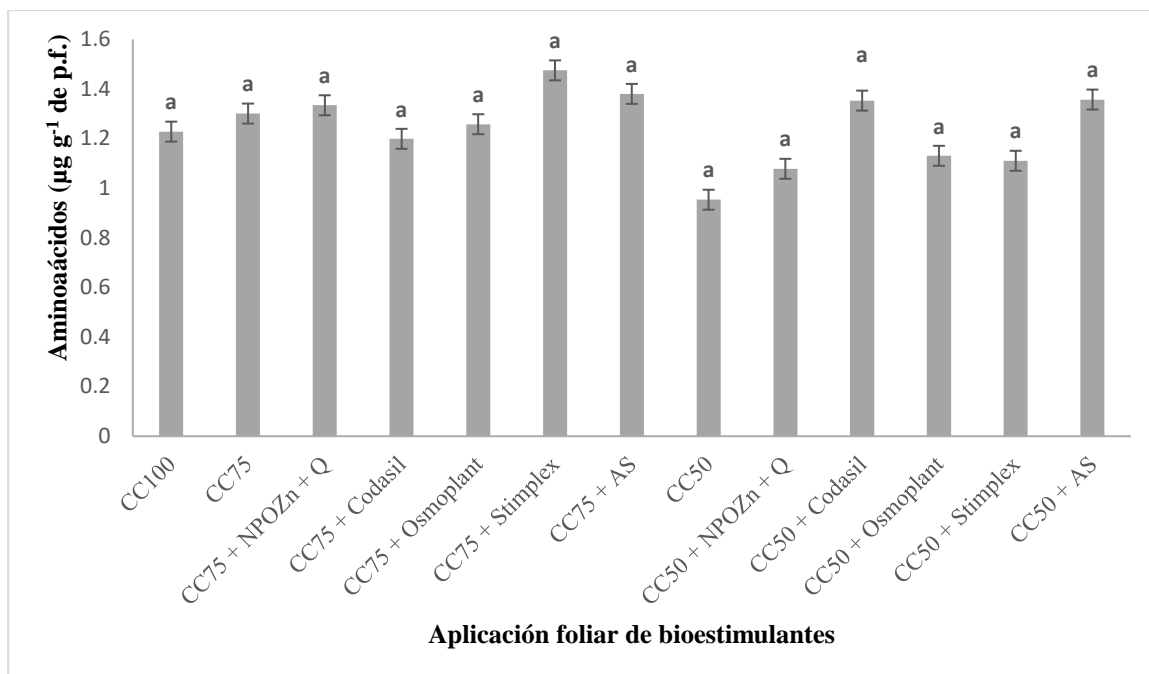
hídrico es clave en el mantenimiento de la misma (Gaur *et al.*, 2013). En el presente trabajo, la actividad NR se vio estimulada con el tratamiento CC75 + NPOZn + Q, quien presentó incrementos respecto al control de 83, 19, 90 y 45% en cada una de las variables medidas respectivamente (Cuadro 3). Una alta actividad de la NR en el material vegetal indica mayor eficiencia en la reducción del nitrógeno hacia formas amónicas en el material vegetal para su crecimiento y desarrollo, ya que se considera a este elemento como esencial para llevar a cabo multitud de procesos y el principal constituyente de aminoácidos y proteínas (Gutiérrez *et al.*, 2021). En base a los resultados presentados en el Cuadro 3, se puede considerar que el tratamiento a base de Nanopartículas de óxido de zinc más quitosano estimuló la actividad del nitrógeno a pesar de presentarse un estrés hídrico, incluso presentó mayor actividad que el control. Esto concuerda con los resultados del presente trabajo, ya que el tratamiento CC75 + NPOZn + Q presenta las mayores concentraciones en biomasa y es uno de los tratamientos con mejor rendimiento, de acuerdo a lo reportado por Sánchez *et al.* (2006) concluyen que la adecuada asimilación de nitrógeno se ve reflejada en la producción de biomasa.

**Cuadro 4.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la actividad Nitrato Reductasa “*in vivo*” en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico.

Tratamiento	Actividad Nitrato Reductasa “ <i>in vivo</i> ” ( $\mu\text{mol de NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ p.f. h}^{-1}$ )			
	Endógena	Inducida con NO <sub>3</sub>	Inducida con Mo	Inducida con NO <sub>3</sub> + Mo
CC100	9.26 cd	131.23 ab	8.6 c	44.11 bc
CC75	11.33 bcd	92.111 c	12.63 c	56.33 abc
CC75 + NPOZn + Q	58.78 a	162.35 a	87.14 a	81.02 a
CC75 + Codasil	34.57 ab	87.39 c	48.34 b	63.89 abc
CC75 + Osmoplant	29.28 bc	101.36 bc	26.83 bc	66.4 ab
CC 75 + Stimplex	9.73 bcd	79.31 c	6.32 c	56.48 abc
CC75 + AS	12.22 bcd	82.43 c	29.24 bc	59.18 abc
CC50	3.08 d	101.53 bc	2.25 c	37.74 c
CC50 + NPOZn + Q	19.98 bcd	106.9 bc	14.88 c	53.14 abc
CC50 + Codasil	4.02 d	72.7 c	4.68 c	50.19 bc
CC50 + Osmoplant	24.46 bcd	98.77 bc	16.68 bc	55.26 abc
CC50 + Stimplex	13.21 bcd	94.27 bc	5.93 c	64.9 abc
CC50 + AS	23.05 bcd	108.93 bc	11.95 c	54.2 abc

## 6.6. Aminoácidos Solubles

Los aminoácidos han demostrado que al ser utilizados como bioestimulantes provocan un incremento en la biosíntesis de varios compuestos nitrogenados como enzimas, vitaminas, pigmentos y bases pirimidínicas provocando un crecimiento general de la planta, a la vez demostrando que pueden ayudar a aumentar la tolerancia al estrés hídrico (Battacharyya *et al.*, 2015; Francesca *et al.*, 2020). Los análisis estadísticos realizados de aminoácidos solubles mostraron que no presentan diferencias significativas entre tratamientos. Considerando los valores mayores, el tratamiento CC75 + Stimplex fue el que obtuvo mayor concentración de aminoácidos, siendo resultados similares a los mostrados en la Figura 9, ya que los aminoácidos son el marco básico que constituye la proteína (Wang *et al.*, 2019). Haciendo referencia a los resultados presentados por Gutiérrez *et al.* (2021), quienes aplicaron de forma foliar sulfato férrico, nanopartículas de óxido de hierro y quelato de hierro, las concentraciones en el presente trabajo se encuentran por debajo de los reportados en el mencionado trabajo, y comparándose con lo reportado por Ramírez *et al.* (2021), quienes aplicaron de forma edáfica nitrógeno y foliar nanofertilizante de ZnMo, las concentraciones máximas de aminoácidos de este trabajo se encuentran dentro de las concentraciones de fertilizaciones menores del trabajo mencionado. Por lo tanto, los resultados presentados en la Figura 8 se encuentran dentro de los rangos que anteriormente se reportan, sin embargo, el bioestimulante compuesto por aminoácidos no presentó diferencias significativas en ninguno de los dos niveles de riego.

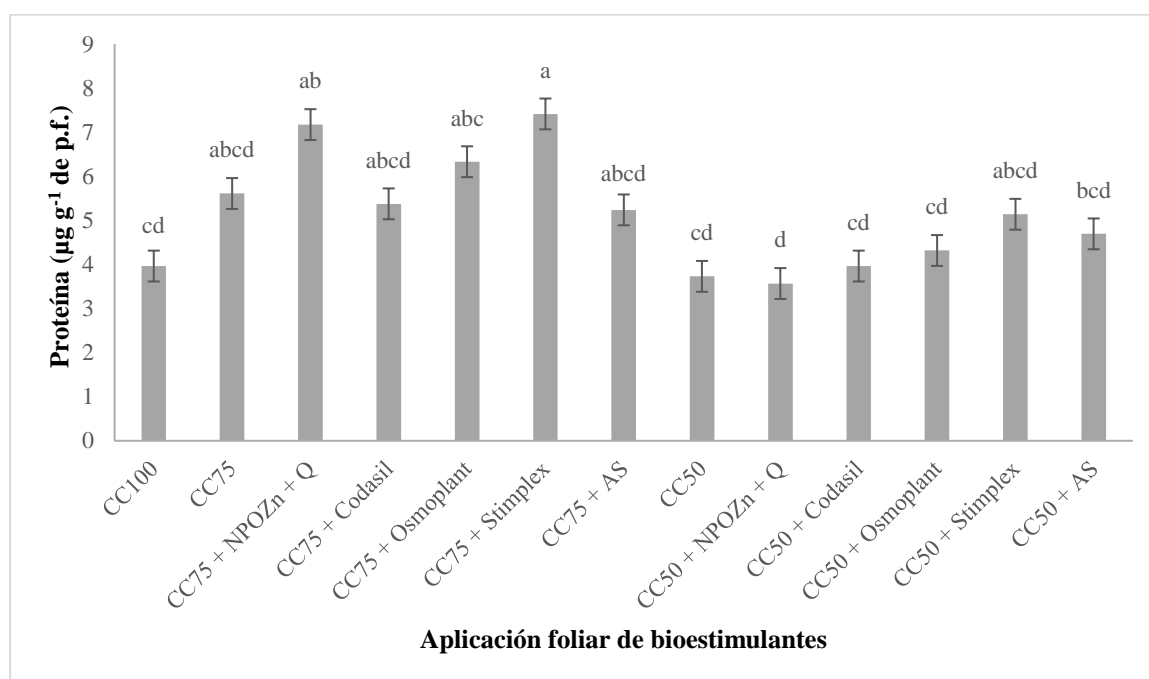


**Figura 8.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la concentración de aminoácidos solubles en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico.

### 6.7. Proteínas Solubles

Las proteínas ayudan a mantener la estructura de las membranas, por lo tanto la acumulación de estas bajo estrés hídrico muestran la actividad que realiza la planta para poder mantener el ajuste osmótico (Nayyar *et al.*, 2003; Gaur *et al.*, 2013). En la Figura 9 se muestran los resultados del contenido de proteína soluble, donde muestran que el tratamiento con mayor concentración de proteína soluble es el CC75 + Stimplex, con respecto al control muestra un incremento del 46% y un 24% respecto al CC75 (misma dosis de riego), así mismo, en dosis de riego de CC50 es el mismo producto quien presenta los mayores contenidos de proteína. El producto Stimplex ® está compuesto por extracto de alga *Ascophyllum nodosum*, se ha reportado que la composición de este extracto consta de betaínas, manitol, polifenoles, laminarias y fucanos (Khan *et al.*, 2009), se ha demostrado que la laminaria participa en la inducción de genes que codifican diversas proteínas (Friting *et al.*, 1998; van Loon y van Strien, 1999). Por otro lado, Kloareg y Quatrano (1998) reportan que las algas también presentan una variedad de polisacáridos que incluyen elicitores, estos

son moléculas señalizadoras que incluyen una amplia variedad de péptidos, proteínas y lípidos (Khan *et al.*, 2009). Los resultados en el presente estudio indican que el extracto de alga *Ascophyllum nodosum* aplicado repercute en la concentración de proteínas soluble y según los autores anteriores puede deberse a la composición del producto Stimplex®.

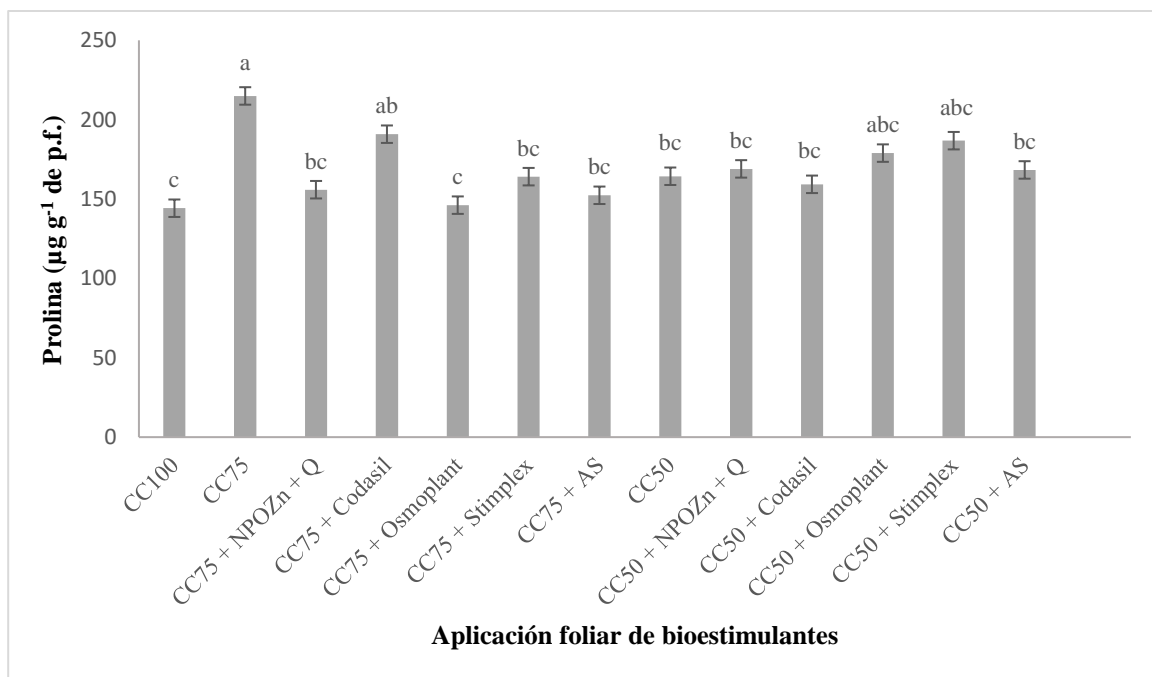


**Figura 9.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre el contenido de proteínas solubles en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico.

### 6.8 Contenido de Prolina

Las plantas sintetizan y acumulan solutos orgánicos e inorgánicos en el citosol que desempeñan un papel clave en el mantenimiento del equilibrio osmótico, logrando mantener la turgencia celular, en estos compuestos se incluye la prolina, donde se puede atribuir su participación en mantener la hidratación de la planta y crear resistencia contra el estrés y la deshidratación celular (Ramanjulu *et al.*, 2002; Rhodes *et al.*, 1994; Mahajan *et al.*, 2005). En el presente estudio, se encontró que las concentraciones máximas de prolina se encuentran en los tratamientos CC75 y CC75 + Codasil, el primero presenta un incremento del 32% respecto al control, y el segundo un 24% (Figura 10).

Estudios previos señalan que la acumulación de prolina es un síntoma del estrés que presentan las plantas en su ciclo de vida (Ibarra *et al.*, 1988). Por otro lado, Joyce *et al.* (1992) señalan que la acumulación de prolina también puede ser una reacción a la exposición de la luz, como producto de la fotosíntesis realizada bajo factores de estrés. Ain-Lhoul *et al.* (2001) reportan que la prolina más que un agente osmótico está relacionado con una acción protectora. Así mismo, Handa *et al.* (1986) en su trabajo con tomate observan que la acumulación de prolina aumenta con el crecimiento de la planta, mientras más trabajo realice en el desarrollo la prolina estará en mayores niveles, estos resultados concuerdan con los obtenidos en el presente estudio donde el tratamiento con mayor acumulación de prolina es uno donde no hubo aplicación de bioestimulante (CC75), solo se aplicó estrés hídrico, en comparación con el CC50 (sin aplicación de bioestimulante y dosis de riego a 50%) fue mayor la acumulación ya que el tamaño fue mayor, se presentó mayor producción de prolina para mitigar el estrés mientras completaba su desarrollo ideal, que en el caso del CC50 no se presentó de la misma manera, ya que la producción de biomasa fue menor.



**Figura 10.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre el contenido de prolina en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico.



## 6.9. Contenido de Carbohidratos No Estructurales

Parte de los compuestos que ayudan en el ajuste osmótico de la planta y contribuyen a contrarrestar los efectos negativos del estrés hídrico son los azúcares, ya que ayudan en la conservación de la hidratación de la misma (Ramanjulu *et al.*, 2002; Mahajan *et al.*, 2005; Gaur *et al.*, 2013). En los resultados mostrados en el Cuadro 4, se pueden observar que los niveles de máximos de concentración de sacarosa, glucosa y fructuosa los mostró el tratamiento CC50 + NPOZn + Q presentando un incremento del 75% respecto al control en las tres variables, el tratamiento con menor concentración de carbohidratos no estructurales es el CC100 (Control). Resultados similares se reportaron en un estudio realizado por Montenegro *et al.* (2012) en donde el contenido de azúcares en briófitos se vio en aumento con la presencia de estrés hídrico, estos niveles de azúcares se regulaban cuando la planta volvía a niveles óptimos de hidratación. En este estudio el tratamiento sin estrés hídrico fue el que presentó las menores concentraciones de carbohidratos no estructurales, indicando que no presentaba algún ajuste osmótico ya que no se presentaba el requerimiento puesto que su riego fue completo, lo que a su vez indica que el tratamiento con mayores concentraciones fue el que se encontraba con mayor actividad reguladora osmótica (CC50 + NPOZn + Q), este tratamiento también presentó los valores más altos en la variable de eficiencia del uso del agua, se puede decir que la actividad destacada de carbohidratos no estructurales puede ser un factor para el mejor aprovechamiento del agua disponible. Respecto al nivel de riego al 75% el tratamiento con mayores concentraciones de carbohidratos no estructurales fue el CC75 + Osmoplant.

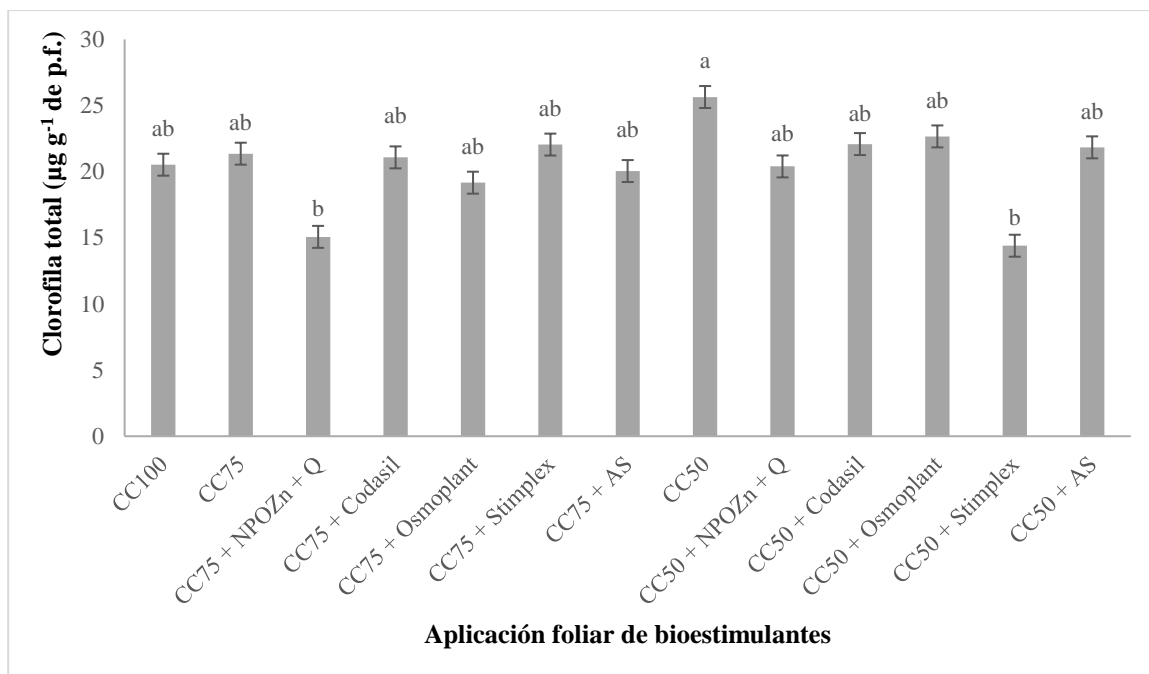
**Cuadro 5.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre el contenido de carbohidratos no estructurales en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico.

Tratamiento	Carbohidratos no estructurales ( $\mu\text{g g}^{-1}$ de p.f.)		
	Sacarosa	Glucosa	Fructuosa
CC100	6219 d	5718 d	6252 d
CC75	7441 cd	6842 cd	7481 cd
CC75 + NPOZn + Q	7648 cd	7032 cd	7688 cd
CC75 + Codasil	6980 cd	6418 cd	7017 cd
CC75 + Osmoplant	22170 ab	20385 ab	22288 ab
CC 75 + Stimplex	9661 bcd	8883 bcd	9712 bcd
CC75 + AS	7275 cd	6689 cd	7314 cd
CC50	8465 cd	7783 cd	8510 cd

CC50 + NPOZn + Q	25892 a	23807 a	26029 a
CC50 + Codasil	8154 cd	7498 cd	8198 cd
CC50 + Osmoplant	19347 abc	17789 abc	19450 abc
CC50 + Stimplex	9014 cd	8288 cd	9061 cd
CC50 + AS	7163 cd	6586 cd	7201 cd

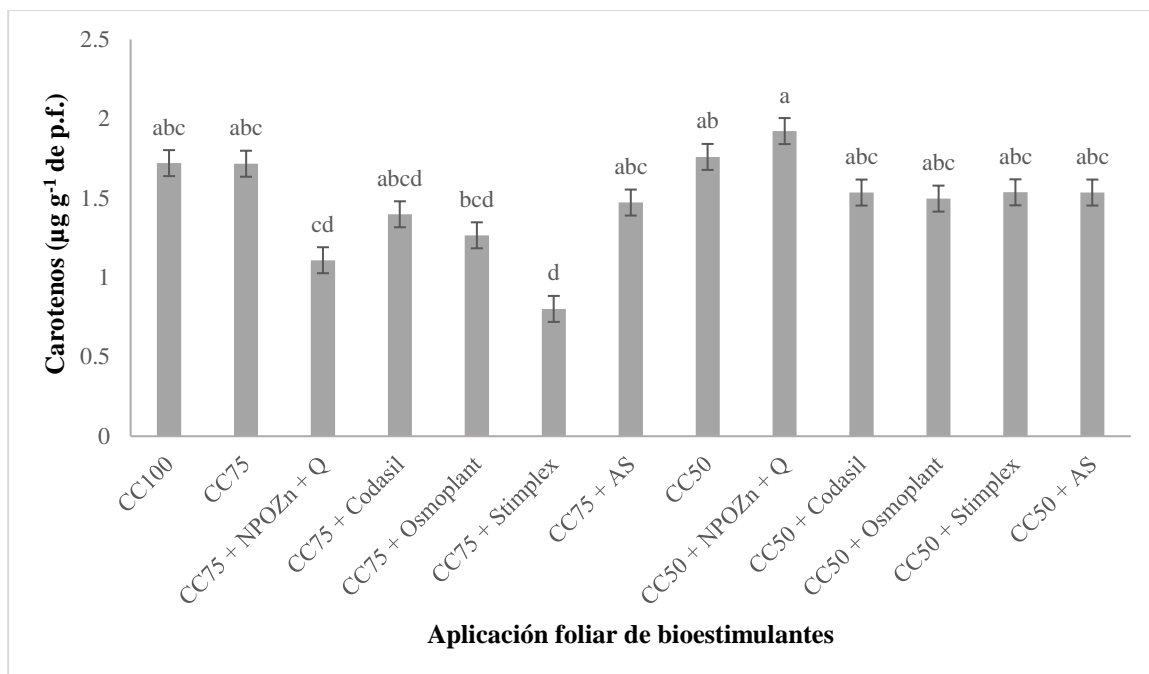
#### 6.10. Contenido de Pigmentos Fotosintéticos

Para el análisis de pigmentos fotosintéticos se consideraron dos mediciones, la clorofila total y el contenido de carotenos. La clorofila total es uno de los componentes del cloroplasto para la fotosíntesis, y el contenido relativo de esta tiene una relación positiva con la tasa fotosintética, su disminución por el estrés hídrico se considera un efecto típico del estrés oxidativo y puede ser el resultado de la fotooxidación de los pigmentos y la degradación de la clorofila (Gaur *et al.*, 2013). En el presente trabajo, se encontró que el contenido de clorofila total fue similar en la mayoría de los tratamientos, teniendo la mayor concentración el tratamiento CC50, presentando un incremento respecto al control de 19%. Estos resultados son equiparables con los del trabajo de Rodríguez *et al.* (2015) con tres variedades de papa bajo condiciones de estrés hídrico, donde reportan que el aumento de la concentración de clorofila total se presentó en las plantas con estrés hídrico y se presentaba un ajuste regulador cuando nuevamente era irrigadas. Los resultados presentes son similares a los encontrados por el autor anterior, el tratamiento con mayor estrés hídrico sin aplicación de algún bioestimulante fue el que presentó las concentraciones máximas de la clorofila total, ya que sería el tratamiento con mayor presencia de estrés. Respecto al nivel de riego de 75% el producto Stimplex ® fue quien presentó los niveles más altos de clorofila total.



**Figura 11.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la clorofila total en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico.

El otro parámetro evaluado para pigmentos fotosintéticos fue el contenido de carotenos, los cuales forman una parte del sistema de defensa antioxidante de las plantas (Havaux *et al.*, 1998) y además tienen la función protectora en el tejido fotosintético en la extinción directa de la clorofila triplete, lo que evita la generación de oxígeno singlete y protege del daño oxidativo (Farooq *et al.*, 2009). En el presente estudio, el tratamiento con la concentración máxima es el CC50 + NPOZn + Q mostrando un incremento del 10% respecto al CC100, el segundo tratamiento con las concentraciones máximas fue el CC50, teniendo una diferencia con el tratamiento CC50 + NPOZn + Q del 8% (Figura 12). Esta tendencia fue igualmente reportada por Rahman *et al.* (2014) donde el estrés hídrico en maíz propició al aumento de la concentración de los carotenos, estos han mostrado tener reacciones para evitar la formación del oxígeno singlete (Demmig-Adams *et al.*, 1990). En el nivel de riego del 75% el tratamiento con mayor concentración de carotenos es el que tiene el bioestimulante de ácido salicílico.

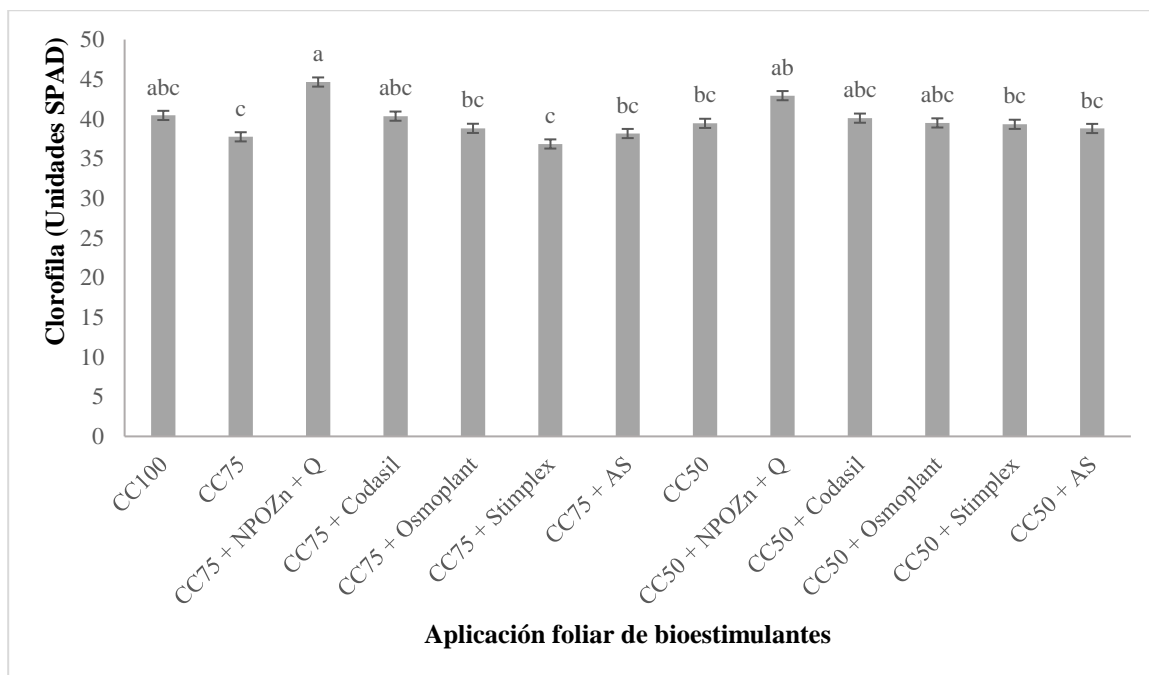


**Figura 12.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre el contenido de carotenos en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico.

### 6.11. Índice de Clorofila

La fotosíntesis es un proceso muy importante en el cual las plantas convierten la energía de la luz solar en energía química para su crecimiento y desarrollo, para este proceso es indispensable la clorofila, por lo tanto la pigmentación de las hojas es un indicador importante de la actividad que se está llevando en la planta (Callejas *et al.*, 2013; Askary *et al.*, 2017; Kanwar *et al.*, 2019). En el presente estudio la máxima actividad de clorofila registrada durante el cultivo fue en el tratamiento CC75 + NPOZn + Q presentando un incremento del 9% respecto al control y un 15% respecto al tratamiento CC75 que se encuentra en la misma dosis de riego y es uno de los tratamientos con los valores menores junto con CC75 + Stimplex (Figura 13), así mismo, en el nivel de riego al 50% es el tratamiento con nanopartículas de óxido de zinc más quitosano el que presenta mayores concentraciones. Méndez-Argüello *et al.* (2016) en su trabajo con Nanopartículas de óxido de zinc aplicadas en *Capsicum annuum* reportaron que la aplicación de estas aumentó un 8% en comparación con las que no recibieron aplicación, resultados similares a los encontrados en el presente trabajo, estos autores atribuyen el incremento de la actividad de la clorofila al efecto

promotor de crecimiento de las nanopartículas en la actividad del zinc con la influencia en la reactividad de ácido indolacético, el cual actúa como fitoestimulante hormonal, así mismo, atribuyen que las nanopartículas pueden estar involucradas en la biosíntesis de citoquinina y giberelinas; así como, en la inducción de mayor actividad de enzimas antioxidantes.



**Figura 13.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre los valores de clorofila en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico.

6.12. Actividad Fotosintética, Conductancia Estomática, Fluorescencia Máxima de la Clorofila con Iluminación, Eficiencia del Fotosistema II, Tasa de Transporte de Electrones, Transpiración, Déficit de Presión de Vapor de Agua y Humedad Relativa.

La actividad fotosintética se considera un indicador de la actividad de la fotosíntesis en la planta, los cambios que puede presentar indican condiciones anormales, por el ejemplo el estrés (Gaur *et al.*, 2013). En el Cuadro 5 se muestra la actividad fotosintética registrada en el presente trabajo, presentándose el tratamiento CC50 + Osmoplant como el de mayor actividad fotosintética con un incremento del 11% respecto al Control, lo cual indica que el mencionado tratamiento presenta una

actividad anormal por el nivel de riego y el bioestimulante aplicado. Castañeda *et al.* (2006) reporta que la actividad fotosintética disminuyó al someter el frijol a un estrés hídrico, reportando que en comparación con su control disminuyó en más del 39%, lo que nos indica que el bioestimulante Osmoplant ® estimuló la actividad en la planta. Respecto al nivel de riego de 75% el tratamiento con mayor actividad fue el CC75 + AS.

La conductancia estomática puede utilizarse como un rasgo de rendimiento, ya que se ha mostrado que los cultivos sometidos a un estrés provocan un descenso en sus índices (Bota *et al.* 2007). En el presente trabajo el tratamiento CC75 + AS fue quien presentó los valores mayores en conductancia estomática, teniendo un incremento del 19% respecto al control (Cuadro 5), cuando se presentan condiciones de estrés la planta emplea ajustes para sobrevivir, lo que ocasiona una menor conductancia para poder evitar la pérdida de agua, esto a su vez ocasiona menor producción de biomasa (Donoso *et al.*, 2011), lo que indica que el ácido salicílico estimula la conductancia estomática a pesar de presentarse estrés y es una señal favorecedora ya que no pone en riesgo la producción de biomasa. Para los tratamientos en nivel de riego del 50% el bioestimulante con valores mayor fue el Osmoplant ®.

La fluorescencia máxima de la clorofila con iluminación, la eficiencia del fotosistema II y la tasa de transporte de electrones son variables que expresan la actividad de transformación de energía que realiza la planta. Por lo tanto, las variaciones en estas indican el trabajo de ajuste de la misma planta (Gaur *et al.*, 2013; Francesca *et al.*, 2020). En el Cuadro 5 se muestran los resultados de la fluorescencia máxima de la clorofila con iluminación, la cual presenta su mayor actividad en el tratamiento CC75 + AS teniendo un incremento del 5% respecto al control (CC100), así mismo, bajo nivel de riego del 50% es el mismo bioestimulante quien presenta la mayor actividad. Navarro-Cerrillo *et al.* (2004) reportan en su trabajo con *Pinus halepensis* bajo estrés hídrico que los índices de la fluorescencia de la clorofila van disminuyendo mientras va en aumento la aplicación de estrés, lo cual identifican este parámetro como una señal para medir el estrés hídrico presente en la planta. Por lo tanto, se puede señalar que el ácido salicílico estimula la fluorescencia máxima de la clorofila con iluminación dando como indicador que la planta está ajustándose para mitigar los daños por el estrés hídrico.

Así mismo, en el Cuadro 5 se muestran los resultados del análisis de la eficiencia del fotosistema II donde el tratamiento CC75 + AS se presenta con los mayores valores en esta variable, presentando un incremento respecto al control del 7%, este mismo bioestimulante en dosis de riego del 50% fue

quien también mostró los valores mayores. González *et al.* (2001) reportan que el PSII (fotosistema II) disminuyó su actividad al presentarse altas temperaturas y estrés hídrico en las plantas de cuatro variedades de *Phaseolus vulgaris* L., señalando que mientras menos centros del PSII estuvieran presentes los niveles de estrés serían más altos, por lo tanto, se puede señalar que la aplicación del ácido salicílico mitigó el estrés hídrico expresándolo en la eficiencia del fotosistema II.

Los resultados de la Tasa de transporte de electrones (Cuadro 6) muestran que el tratamiento CC75 + AS presentó la mayor actividad con un incremento del 7% respecto al control (CC100). Rodríguez *et al.* (2015) reportan que las distintas variedades de *Solanum tuberosum* L. presentaron reducciones significativas cuando se aplicó estrés hídrico, lo que se puede señalar que el ácido salicílico mitiga el estrés expresándolo en los niveles de la tasa de transporte de electrones. Respecto al nivel de riego al 50% el bioestimulante que presentó mayor actividad fue el Stimplex ®.

La transpiración es una de las características importantes que influyen en las relaciones hídricas de la planta, por lo tanto, su disminución se relaciona con el contenido de agua, pues se pierde con la transpiración, al presentarse situaciones de estrés la transpiración tiende a disminuir para lograr el mantenimiento de agua en la planta (Nayyar *et al.*, 2006). En el presente trabajo, los datos obtenidos para la variable de Transpiración presentan el tratamiento CC75 + AS como el de mayor actividad obteniendo un incremento del 19% respecto al control (Cuadro 6). Rodríguez *et al.* (2015) reportan que la tasa de transpiración está íntimamente ligada a la conductancia estomática, por lo cual sus índices tienen cierta relación, estas conclusiones son comparables con las del presente estudio donde el tratamiento con mayor conductancia estomática es el mismo que el de mayor tasa de transpiración, el CC75 + AS, el tratamiento con valores menores de transpiración es el CC75 + NPOZn + Q lo cual nos indica que las nanopartículas de óxido de zinc más el quitosano estimulan a la planta bajo dosis de riego del 75% a evitar la transpiración y poder mantener los niveles de agua, respecto a los valores menores pero en dosis de riego de 50% es el tratamiento CC50 + Stimplex quien presenta menor transpiración.

El déficit de presión de vapor de agua se puede considerar como la presión de saturación a una temperatura de aire menos la presión actual de vapor (Tarqui *et al.*, 2017). En el presente estudio, se reportó que el tratamiento CC50 + NPOZn + Q fue el que presentó índices de déficit de presión de vapor de agua más altos, mostrando un incremento del 22% con respecto al control (CC100), y respecto al CC50 presenta el mismo incremento (Cuadro 6), en el trabajo reportado por Galván-Tovar *et al.* (2006) muestran las fluctuaciones reportadas de la presión de vapor en las hojas de las

plantas de frijol común bajo estrés hídrico edáfico donde reportan que la presión aumenta mientras aumenta el estrés hídrico, lo que ocasiona que la presión sea mayor por el trabajo que se está realizando para lograr un ajuste osmótico, lo que puede indicar que el tratamiento con el mayor valor reportado se encuentra en un nivel de estrés por encima de los demás tratamientos, trabajando para lograr el ajuste, el tratamiento con menores valores fue el CC75 + AS con valores muy similares al control (CC100), de acuerdo a lo reportado por Galván-Tovar *et al.* (2006) indica que este tratamiento se encontraba fuera de una situación de estrés por su similitud con el control, lo cual indica que el ácido salicílico estimula el mecanismo de la planta para no presentar altos niveles de presión de vapor de agua.

En los resultados de humedad relativa mostrados en el Cuadro 6 presentan a los tratamientos sin aplicación de bioestimulantes con los mayores valores de humedad relativa, no mostrando diferencias significativas entre ellos.

**Cuadro 6.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la actividad fotosintética, conductancia estomática, fluorescencia máxima de la clorofila con iluminación y eficiencia del fotosistema II en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico.

Tratamientos	Actividad fotosintética ( $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	Conductancia estomática ( $\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	Fluorescencia máxima de la clorofila con iluminación ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	Eficiencia del fotosistema II (Fv/Fm)
CC100	22.7 ab	0.319333 abc	1148.37 ab	0.37333 abc
CC75	22.35 ab	0.28517 bc	1178.12 ab	0.3975 ab
CC75 + NPOZn + Q	22.617 ab	0.34833 ab	1099.87 abc	0.36833 abc
CC75 + Codasil	20.2 b	0.28483 bc	1081.3 abc	0.33883 c
CC75 + Osmoplant	22.017 ab	0.33433 abc	1155.3 ab	0.381 abc
CC 75 + Stimplex	22.55 ab	0.358 ab	1135.15 a	0.37417 abc
CC75 + AS	25.4 ab	0.39583 a	1218.28 a	0.40467 a
CC50	21.2 ab	0.27983 bc	1134.18 ab	0.35567 abc
CC50 + NPOZn + Q	22.417 ab	0.2315 c	961.17 c	0.34433 bc
CC50 + Codasil	24.85 ab	0.31633 abc	1037.32 bc	0.353 abc
CC50 + Osmoplant	25.7 a	0.3815 ab	1018.12 bc	0.35683 abc
CC50 + Stimplex	21.2 ab	0.29683 abc	966.28 c	0.35817 abc
CC50 + AS	24.333 ab	0.35783 ab	1070.02 abc	0.37867 abc



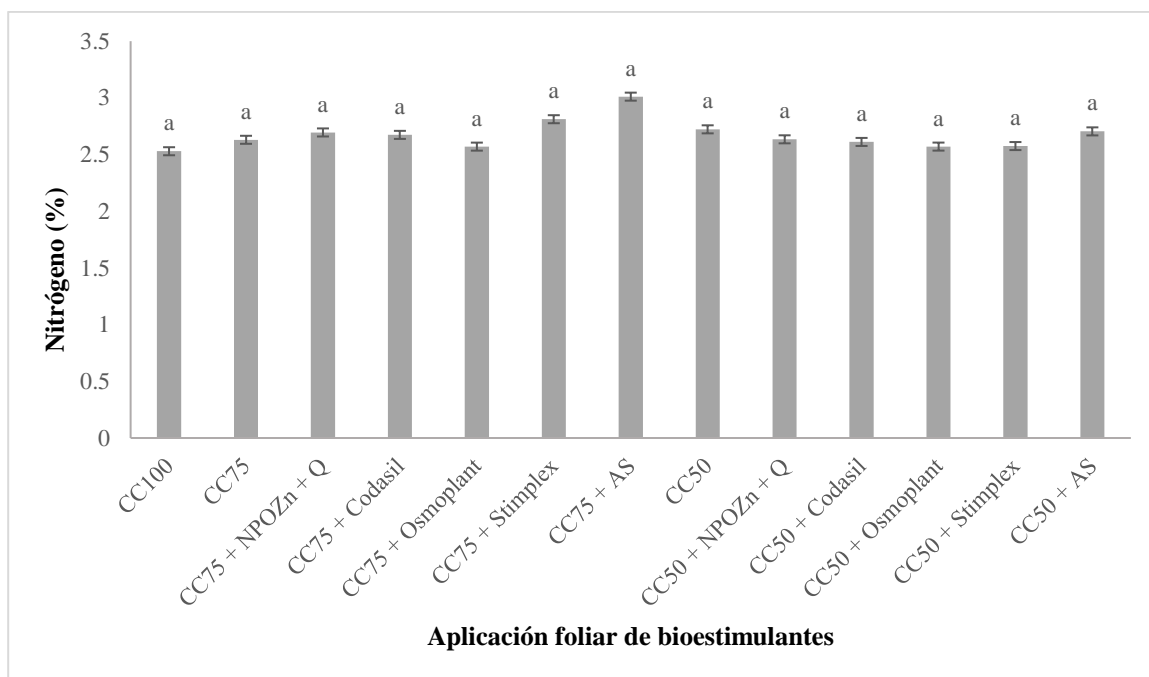
**Cuadro 7.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la tasa de transporte de electrones, transpiración, déficit de presión de vapor de agua y humedad relativa en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico.

Tratamientos	Tasa de transporte de electrones ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	Transpiración ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	Déficit de presión de vapor de agua (kPa)	Humedad relativa (%)
CC100	158.61 abc	6.5883 abc	1.8483 b	47.835 a
CC75	169.02 ab	6.0033 bc	1.9117 b	47.772 a
CC75 + NPOZn + Q	156.67 abc	5.8333 c	2.0217 ab	41.858 b
CC75 + Codasil	144.1 c	6.9167 abc	2.1817 ab	41.958 b
CC75 + Osmoplant	161.77 abc	7.4233 abc	2.0267 ab	42.032 b
CC 75 + Stimplex	159.02 abc	7.7483 ab	2.0117 b	42.16 b
CC75 + AS	171.98 a	8.1717 a	1.835 b	42.128 b
CC50	151.19 abc	5.9067 c	1.8617 b	47.9 a
CC50 + NPOZn + Q	146.39 bc	7.7967 a	2.3917 a	42.132 b
CC50 + Codasil	150.19 abc	7.1717 abc	2.085 ab	41.865 b
CC50 + Osmoplant	151.61 abc	7.9117 a	1.9333 b	43.123 b
CC50 + Stimplex	163.11 abc	6.0367 bc	2.0917 ab	44.29 ab
CC50 + AS	160.92 abc	7.1083 abc	1.965 b	43.968 ab

### 6.13. Concentraciones de Nitrógeno y Carbono

Después del agua, el nitrógeno es el nutriente más importante para el desarrollo de la planta, en las especies que presenta deficiencia muestra menor crecimiento y un menor contenido proteico (Azcón-Bieto *et al.*, 2013). En el presente estudio, las concentraciones de nitrógeno no mostraron diferencias significativas entre tratamientos (Figura 14), considerando los valores mayores el tratamiento CC75 + AS fue quien mostró la mayor concentración de nitrógeno presentando un incremento del 15% respecto al control, este último fue el que presentó las concentraciones menores, en la dosis de riego al 50% el tratamiento CC50 + AS fue quien presentó los valores mayores. En el trabajo reportado por Reynaldo *et al.* (2002) con tomate bajo distintos niveles de riego, incluyendo déficit hídrico, muestran que el nivel de nitratos disminuyó mientras se presentó la ausencia de riego,

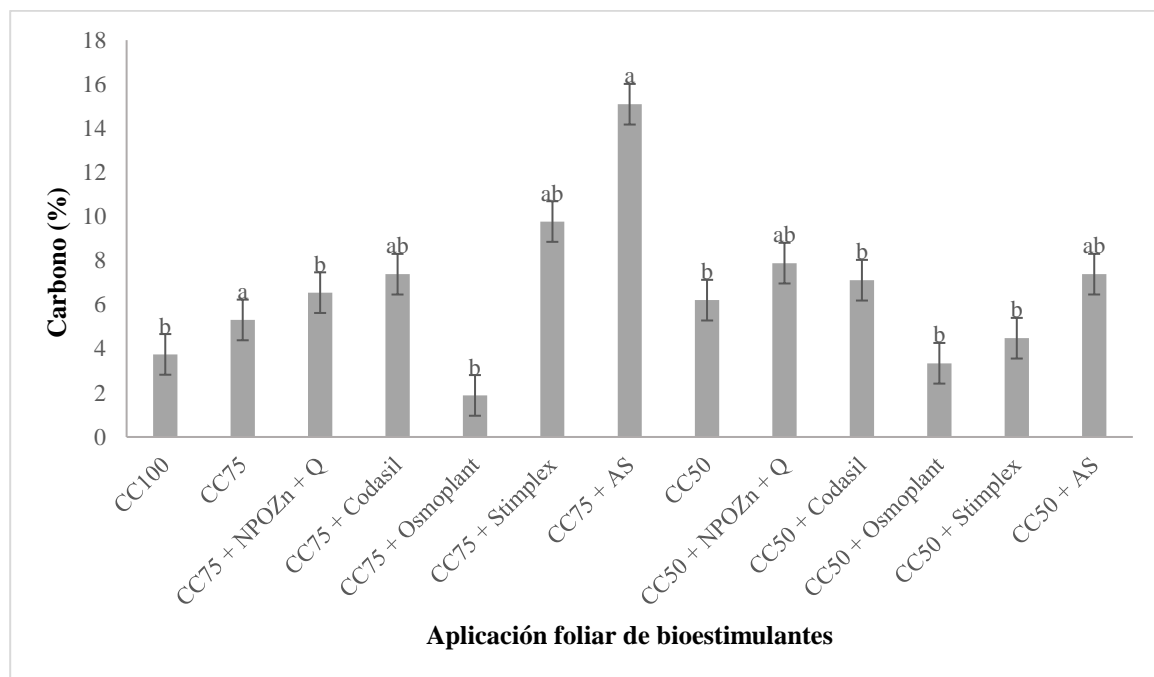
el presente trabajo reporta resultados distintos a los de Reynaldo *et al.* (2002), donde la menor concentración de nitrógeno la presentó el tratamiento del control (sin estrés hídrico).



**Figura 14.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la concentración de nitrógeno en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico.

El carbono es un elemento fundamental de los compuestos orgánicos, en los que se combina con nitrógeno, fósforo, azufre, oxígeno e hidrógeno para constituir las moléculas más importantes para la vida, dentro de estas funciones vitales se encuentra la actividad fotosintética en las plantas, donde es necesaria la fijación del CO<sub>2</sub> para la producción de energía que su vez aumenta el crecimiento y por lo tanto la biomasa (Jaramillo *et al.*, 2004). En el presente trabajo se muestran diferencias significativas entre tratamientos (Figura 15), la aplicación de ácido salicílico a nivel de riego de CC75% fue el tratamiento que mostró las concentraciones mayores de carbono, reportando un incremento del 75% sobre el control (CC100), y un 64% respecto al CC75, a nivel de riego de CC50% es el tratamiento CC50 + NPOZn + Q quien mostró las mayores concentraciones de este elemento. En el trabajo reportado por Salazar *et al.* (2014) se muestra que las plantas de banano bajo estrés hídrico disminuye notablemente su metabolismo del carbono, en comparación con las plantas tratadas (yemas irradiadas como tratamiento para mitigar los efectos del estrés), también reportan

que la actividad del carbono está ligada con parámetros como conductancia estomática, eficiencia del fotosistema II y la actividad fotosintética, mientras mayor presencia hay de carbono estas variables se mantienen lo más similar posible a una planta sin estrés, siendo así, los resultados coinciden con los de la presente investigación, donde el ácido salicílico con riego del CC75% es el tratamiento con mayores valores de carbono, conductancia estomática, eficiencia del fotosistema II, tasa de transporte de electrones, déficit de presión de vapor de agua, clorofila total, actividad fotosintética y fluorescencia (Cuadro 6 y 7).

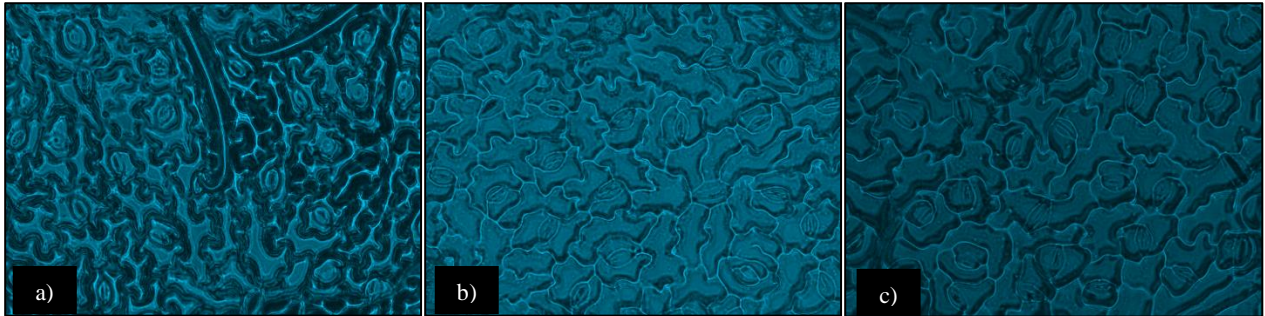


**Figura 15.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la concentración de carbono en plantas de frijol ejotero cv. Strike bajo condiciones de estrés hídrico.

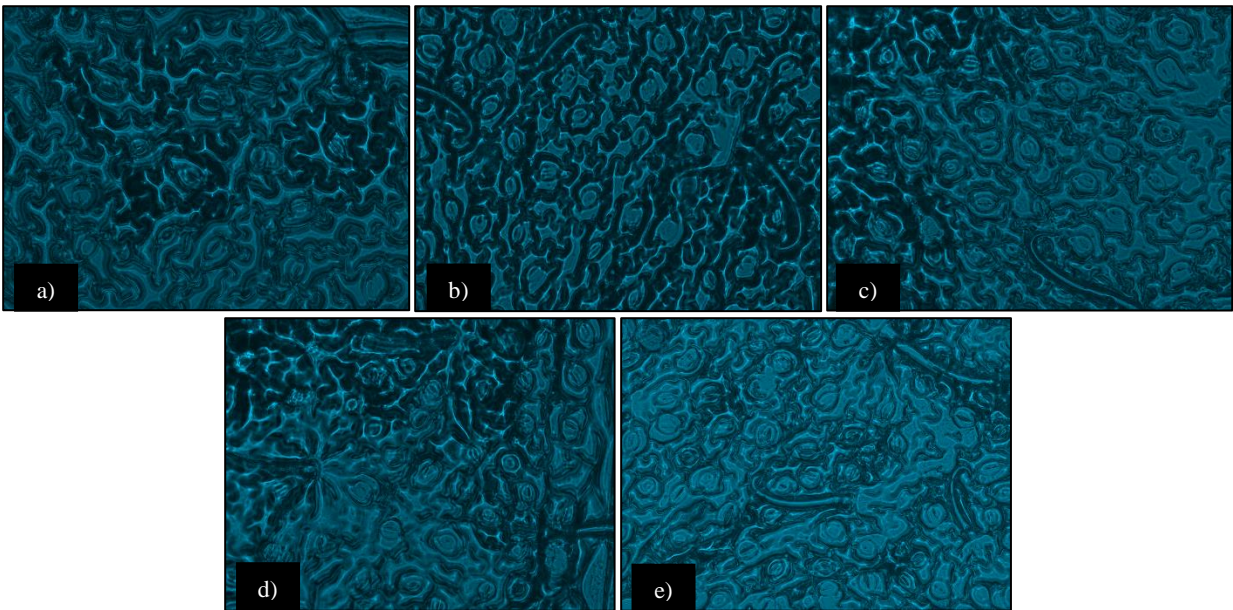
#### 6.14 Densidad Estomática

En el análisis estomático se obtuvieron las imágenes mostradas en las Figuras 16, 17 y 18, donde se puede observar la disminución de la densidad de estomas en el nivel de riego al 50% (Figura 16c y Figura 18). En el trabajo realizado por Morales *et al.* (2016) con genes de plantas heterólogas (arabidopsis y tomate) reportan que existen genes que al presentarse estrés hídrico en la planta

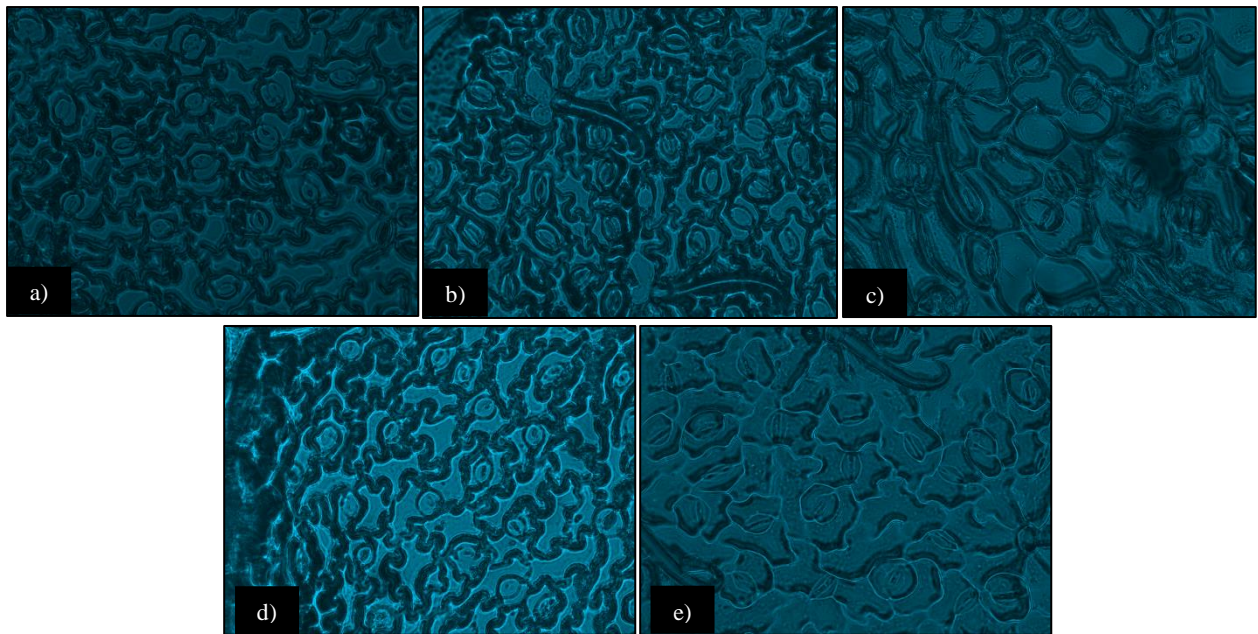
reaccionan disminuyendo la densidad estomática, resultados que concuerdan con los del presente trabajo donde los tratamientos con estrés hídrico severo (al 50%) son quienes presentan menos estomas en las hojas, siendo así se considera que la presencia estomas se ven disminuidos mientras aumenta el nivel de estrés hídrico.



**Figura 16.** Densidad estomática de los tratamientos del Control. a) Tratamiento CC100 b) Tratamiento CC75 c) Tratamiento CC50.



**Figura 17.** Densidad estomática de los tratamientos con riego al 75%. a) CC75 + Stimplex b) CC75 + ASA c) CC75 + Codasil d) CC75 + NPOZn + Q e) CC75 + Osmoplant.



**Figura 18.** Densidad estomática de los tratamientos con riego al 50%. a) CC50 + Stimplex b) CC50 + ASA c) CC50 + Codasil d) CC50 + CC75 + NPOZn + Q e) CC50 + Osmoplant.

En resumen, el tratamiento de nanopátículas de óxido de zinc más quitosano es el que a nivel de riego de 75% presenta los mejores resultados, teniendo entre ellos la mayor producción de biomasa y la mayor asimilación de nitrógeno, este mismo tratamiento pero en dosis de riego de 50% fue el que presentó los mejores resultados respecto a carbohidratos no estructurales y contenido de carotenos. Bajo condiciones de estrés al 50% el tratamiento de Osmoplant® fue el tratamiento con mejores resultados, ya que presentó la mayor producción de biomasa, el mejor rendimiento, el mayor contenido de clorofila, la mejor actividad fotosintética, y al mejor eficiencia del uso del agua, este mismo tratamiento bajo riego del 75% presentó los mejores resultados respecto a rendimiento, y producción de carbohidratos no estructurales. Lo cual se puede destacar que ambos tratamientos son quienes presentaron mejores respuestas antes el estrés hídrico.

## 7. CONCLUSIONES

El bioestimulante con mejor respuesta en las variables agronómicas fue el de nanopartículas de óxido de zinc más quitosano en dosis de riego de CC75%, y en dosis de riego de CC50% es el producto Osmoplant ® quien tuvo las mejores respuestas a las variables agronómicas, incluyendo el mejor rendimiento en las dosis de riego al CC75%. Lo que nos muestra que ambos productos son viables para su aplicación con el fin de mejorar las variables agronómicas analizadas.

Desde el aspecto fisiológico el ácido salicílico con dosis de riego al CC75% muestra los valores más favorables para la mitigación del estrés hídrico, y bajo dosis de riego al CC50% el producto Osmoplant ® es quien presenta los mejores resultados, entre ellos mayor clorofila total y mayor actividad fotosintética.

Con respecto a las variables bioquímicas el bioestimulante que presentó mayor actividad bajo condiciones de riego al CC75% fue el producto Simplex ® donde su aplicación propició una mayor producción de proteínas, aminoácidos, y prolina, seguido de las nanopartículas de óxido de zinc más quitosano quien presentó la mayor asimilación de nitrógeno. Respecto a las variables bioquímicas con dosis de riego al CC50% nuevamente el producto Simplex ® es quien presenta mejores respuestas, seguido igualmente de las nanopartículas de óxido de zinc más quitosano.

Considerando los resultados obtenidos se puede considerar que el bioestimulante de nanopartículas de óxido de zinc más quitosano aplicado con dosis de riego al CC75% es el más adecuado para mitigar los efectos negativos del estrés hídrico en plantas de frijol ejotero cv. Strike, y en dosis de riego al CC50% el producto más viable es el Osmoplant ®, el producto más apropiado dependerá del nivel de riego aplicado.

## **8. RECOMENDACIONES**

El uso de bioestimulantes para mitigar los efectos nocivos del estrés hídrico a pesar de comprobarse su eficiencia, sigue presentándose la posibilidad de probar los productos en campo, con la opción de trabajarse a distintas dosis de riego (diferentes niveles de estrés), así como, variar la dosis de la aplicación del producto, ya que pueden unirse otros componentes en el medio ambiente que pudiera mostrar resultados valiosos para enfrentar el problema de la sequía, así mismo, existe la opción de probar los bioestimulantes con distintos cultivos. Se recomienda un estudio vegetal molecular y genético más profundo para lograr visualizar de forma más clara el mecanismo de acción de cada bioestimulante y la respuesta de la especie que se esté tratando, para lograr identificar de forma más específica qué tipo de bioestimulante es el ideal para determinados cultivos.

## 9. REFERENCIAS

- Allen D.J., Ort D.R. (2001). Impact of chilling temperatures on photosynthesis in warm climate plants. *Trends Plant Sci.*, 6: 36–42.
- Andrew J.S., Moreau H., Kuntz M., Pagny G., Lin C., Tanksley S., McCarthy J. (2008). An investigation of carotenoid biosynthesis in *Coffea canephora* and *Coffea arabica*. *J. Plant Physiol.*, 165: 1087–1106.
- Anjum F., Yaseen M., Rasul E., Wahid A., Anjum S. (2003). Water stress in barley (*Hordeum vulgare* L.), Effect on chemical composition and chlorophyll contents. *Pak. J. Agric. Sci.*, 40: 45–49.
- Anjum S.A., Wang L.C., Farooq M., Hussain M., Xue L.L., Zou C.M. (2011). Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchange. *J. Agron. Crop Sci.*, 197: 177–185.
- Apel K., Hirt H. (2004). Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55: 373–399.
- Ashraf M., Foolad M.R. (2007). Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.*, 59: 206–216.
- Askary M., Amirjani M.R., Saberi, T. (2017). Comparison of the effects of nano iron fertilizer with iron-chelate on growth parameters and some biochemical properties of *Catharanthus roseus*. *J. Plant Nutr.* 40(7): 974-982.
- Aslani, F., Bagheri, S., Muhd Julkapli, N., Juraimi, A. S., Hashemi, F. S. G., Baghdadi, A. (2014). Effects of engineered nanomaterials on plants growth: an overview. *Sci. World J.* 641759.
- Azcón-Bieto, J., Talón, M. (2013). *Fundamentos de fisiología vegetal*, Segunda edición. Edicions Universitat de Barcelona. Barcelona, España.
- Babgohari, M.Z., Rathor, P., Prithiviraj, B. (2015). Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Sci. Hortic.*, 30, 39–48.
- Balestrini, R., Chitarra, W., Antoniou, C., Ruocco, M., Fotopoulos, V. (2018). Improvement of plant performance under water deficit with the employment of biological and chemical priming agents. *J. Agric. Sci.* 156, 680–688.
- Bechtold, U., Field, B., (2018). Molecular mechanisms controlling plant growth during abiotic stress. *J. Exp. Bot.* 69, 2753–2758.
- Bittelli M., Flury M., Campbell GS., Nichols EJ. (2001). Reduction of transpiration through foliar application of chitosan. *Agricultural and Forest Meteorology* 107(3): 167-175.
- Blasco, B., Rios, J. J., Cervilla, L. M., Sánchez-Rodríguez, E., Ruiz, J. M., Romero, L. (2008). Iodine biofortification and antioxidant capacity of lettuce: potential benefits for cultivation and human health. *Ann. Appl. Biol.*, 152(3), 289-299.
- Bota J., Flexas J., Medrano H. (2004). Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? *New Phytol.*, 162: 671–681.



- Botta, A. (2013). Enhancing plant tolerance to temperature stress with amino acids: An approach to their mode of action. *Acta Hort.* 2013, 1009, 29–35.
- Bradford MM. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248–254
- Bulgari, R., Franzoni, G., Ferrante, A. (2019). Biostimulants application in horticultural crops under abiotic stress conditions. *Agronomy* 9.
- Burman, U., Saini, M., Kumar, P. (2013). Effect of zinc oxide nanoparticles on growth and antioxidant system of chickpea seedling. *Environ. Toxicol. Chem*, 95: 605-612.
- Callejas, R., Kania, E., Contreras, A., Peppi, C., Morales, L. (2013). Evaluación de un método no destructivo para estimar las concentraciones de clorofila en hojas de variedades de uva de mesa. *Idesia (Arica)*, 31(4), 19-26.
- Calvo, P., Nelson, L., Kloepper, J.W., (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil* 383, 3–41.
- Calvo NIR., Echeverría HE., Rozas HS. (2008). Comparación de métodos de determinación de nitrógeno y azufre en planta: implicancia en el diagnóstico de azufre en trigo. *Ciencia del Suelo* 26(2): 161-167.
- Céspedes J. S. (2020). Respuesta de la papa criolla (*Solanum phureja*) a la aplicación de un bioestimulante en condiciones de estrés hídrico (Tesis de pregrado). Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, Bogotá, Colombia.
- Castañeda S. M.C., Córdova T. L., González H.VA., Delgado A. A. Santacruz V. A., García de los Santos, G. (2006). Respuestas fisiológicas, rendimiento y calidad de semilla en frijol sometido a estrés hídrico. *Interciencia*, 31(6), 461-466.
- Chaves M. M., Maroco Joao P., Pereira Joao S. (2003). Understanding plant responses to drought from genes to the whole plant. *Funct. Plant Biol.*, 30, 239-264.
- Comisión Nacional del Agua, CONAGUA, (2021). Monitor de sequía de México del 15 de marzo de 2021 publicado el 19 de marzo del 2021, Medio Ambiente, Servicio Meteorológico Nacional.
- Da Silva Cavalcante, W.S., Furtado Da Silva, N., Batista Teixeira, M., Rodrigues Cabral, F., Rezende Nascimento, P.E., Rezende Correa, E.F. (2020). Eficiencia dos bioestimulantes no manejo do déficit hídrico na cultura da soja. *Irriga, Inovagri, Notas Técnicas, Botucatu*, v.25, n.4, p. 754-763.
- Dalal, A., Bourstein, R., Haish, N., Shenhar, I., Wallach, R., Moshelion, M. (2019). Dynamic physiological phenotyping of drought-stressed pepper plants treated with “Productivity-enhancing” and “Survivability-enhancing” biostimulants. *Front. Plant Sci.* 10, 905.
- Daoud, A. M., Hemada, M. M., Saber, N., El-Araby, A. A., Moussa, L. (2018). Effect of silicon on the tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) to salt stress at different growth stages: case study for the management of irrigation water. *Plants* 7, 29.
- Demiral T., Turkan I. (2004). Does exogenous glycinebetaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment? *J. Plant Physiol.*, 161: 1089–1110.
- Demmig-Adams, B. (1990). Carotenoids and photoprotection in plants: A role for the xanthophyll

zeaxanthin. BBA, 1020, 1-24.

- Djibril S., Mohamed O.K., Diaga D., Diégane D., Abaye B.F., Maurice S., Alain B. (2005). Growth and development of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seedlings under drought and salinity stresses. *Af. J. Biotech.*, 4: 968–972.
- do Rosário Rosa, V., Dos Santos, A. L. F., da Silva, A. A., Sab, M. P. V., Germino, G. H., Cardoso, F. B., de Almeida Silva, M. (2021). Increased soybean tolerance to water deficiency through biostimulant based on fulvic acids and *Ascophyllum nodosum* (L.) seaweed extract. *PPB*, 158, 228-243.
- Donoso, S., Peña, K., Pacheco, C., Luna, G., Aguirre, A. (2011). Respuesta fisiológica y de crecimiento en plantas de Quillaja saponaria y *Cryptocarya alba* sometidas a restricción hídrica. *Bosque (Valdivia)*, 32(2), 187-195.
- Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Sci. Hort.* 196, 3–14.
- Eichert T., Kurtz A., Steiner U., Goldbach, H.E. (2008). Size exclusion limits and lateral heterogeneity of the stomatal foliar uptake pathway for aqueous solutes and water-suspended nanoparticles. *Physiol. Plant.* 134(1): 151-160.
- Esparza, M. (2014). Drought and water shortages in Mexico: current status and future prospects. *Secuencia*, (89), 193-219.
- Farooq M., Basra S.M.A., Wahid A., Cheema Z.A., Cheema M.A., Khaliq A. (2008). Physiological role of exogenously applied glycinebetaine in improving drought tolerance of fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.). *J. Agron. Crop Sci.*, 194: 325–333.
- Farooq M., Wahid A., Kobayashi N., Fujita D., Basra S. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron Sustain Dev.* 29:185–212. doi:10.1051/agro:2008021.
- Farouk, S., Ghoneem, K. M., Ali Abeer, A. (2008). Induction and expression of systematic resistance to downy mildew disease in cucumber plant by elicitors. *Egyptian J. Phytopathol.* 1-2:95-111.
- Farouk, S., Mosa, A. A., Taha, A. A., Ibrahim Heba, M., EL-Gahmery, A. M. (2011). Protective effect of humic acid and chitosan on radish (*Raphanus sativus* L. var. *Sativus*) plants subjected to cadmium stress. *J. Stress Physiol. Biochem.* 7(2):99-116.
- Farouk S., AR Amany (2012). Improving growth and yield of cowpea by foliar application of chitosan under water stress. *Egypt. Acad. J. Biol. Sci.*, 14: 14-26.
- Francesca, S., Arena, C., Hay Mele, B., Schettini, C., Ambrosino, P., Barone, A., Rigano, M. M. (2020). The use of a plant-based biostimulant improves plant performances and fruit quality in tomato plants grown at elevated temperatures. *Agronomy*, 10(3), 363.
- Franks P.J., Cowan I.R., Farquhar G.D. (1997). The apparent feed forward response of stomata to air vapour pressure deficit: information revealed by different experimental procedures with two rainforest trees. *Plant Cell Environ.* 20: 142–145.
- Fritig B., Heitz T., Legrand M (1998). Antimicrobial proteins in induced plant defense. *Curr Opin Immunol* 10:16–22
- Galván-Tovar, M., Kohashi-Shibata, J., López-Castañeda, C., Acosta-Gallegos, J. A., Martínez-

- Garza, Á., García-Esteva, A. (2006). Equilibrio en el potencial hídrico previo al amanecer entre hojas de frijol común bajo déficit hídrico edáfico. *Tecnol. Cienc. Agua.*, 21(2), 69-81.
- Gaur, R. K., Sharma, P. (Eds.). (2013). *Molecular approaches in plant abiotic stress*. CRC Press.
- Ghonaime, A. A., El-Nemr, M. A., Abdel-Mawgoud, A. M. R., El-Tohamy, W. A. (2010). Enhancement of sweet pepper crop growth and production by application of biological, organic, and nutritional solutions. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 6(3):349-355.
- Gill S.S., N. Tuteja. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48: 909-930.
- González, J., Pastenes C., Horton, P. (2001). Efecto de la temperatura, e estrés hídrico y luminoso sobre la heterogeneidad del fotosistema II en cuatro variedades de proto (*Phaseolus vulgaris* L.). *Rev. Chil. de Hist. Nat.* 74:779-791.
- Guan, Y. J., Hu, J., Wang, X. J., Shao, C. X. (2009). Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.*, 10(6), 427-433.
- Gutiérrez-Ruelas, N. J., Palacio-Márquez, A., Sánchez, E., Muñoz-Márquez, E., Chávez-Mendoza, C., Ojeda-Barrios, D. L., Flores-Córdova, M. A. (2021). Impact of the foliar application of nanoparticles, sulfate and iron chelate on the growth, yield and nitrogen assimilation in green beans. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca*, 49(3), 12437.
- Hageman R.H., Hucklesby D.P. (1971). Nitrate reductase from higher plants. In *Methods in enzymology*. 23: 497-503.
- Hammad, S.A.R., Ali, A.M.O. (2014) Physiological and biochemical studies on drought tolerance of wheat plants by application of amino acids and yeast extract. *Ann. Agric. Sci.* 59, 133–145.
- Handa, S., Handa, A. K., Hasegawa, P. M., Bressan, R. A. (1986). Proline accumulation and the adaptation of cultured plant cells to water stress. *Plant Physiol.*, 80(4), 938-945.
- Harris D., Tripathi R.S., Joshi A. (2002). On-farm seed priming to improve crop establishment and yield in dry direct-seeded rice. In: Pandey S., Mortimer M., Wade L., Tuong T.P., Lopes K. and Hardy B. (eds.). *Direct seeding: Research Strategies and Opportunities*, International Research Institute, Manila, Philippines.
- Hartung W., Sauter A., Hose E. (2002). Abscisic acid in the xylem: Where does it come from, where does it go to? *J. Exp. Bot.*, 53: 27–37.
- Havaux M. (1998). Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. *Trends Plant Sci.*, 3: 147–151.
- Hefny MM. (2011). Agronomical and biochemical responses of white lupin *Lupinus albus* L. genotypes to contrasting water regimes and inoculation treatments. *Am. J. Sci.* 7(3):187-198.
- Hidalgo Santiago, L., Navarro León, E., López Moreno, F.J., Arjó, G., González, L.M., Ruiz, J.M., Blasco, B. (2021). The application of the silicon-based biostimulant Codasil offset water deficit of lettuce plants. *Sci. Hortic.* 285 (2021) 110177.
- Horváth E., Pál M., Szalai G., Páldi E., Janda T. (2007). Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short term drought and freezing stress on wheat plants. *Biol. Plant*, 51: 480–487.

- Hussain M., Malik M.A., Farooq M., Ashraf M.Y., Cheema M.A. (2008). Improving drought tolerance by exogenous application of glycinebetaine and salicylic acid in sunflower. *J. Agron. Crop Sci.*, 194: 193–199.
- Ibarra-caballero, J., Villanueva-verduzco, C., Molina-galán, J., Sánchez-de-Jiménez, E. (1988). Proline accumulation as a symptom of drought stress in maize: A tissue differentiation requirement. *J. Exp. Bot.*, 39(7), 889-897.
- Irigoyen JJ., Emerich EW., Sánchez-Díaz M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiol. Plant.* 84: 55-60.
- Jaleel C.A., Manivannan P., Kishorekumar A., Sankar B., Gopi R., Somasundaram R., Panneerselvam R. (2007). Alterations in osmoregulation, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 59: 150–157.
- Jaramillo, V. J. (2004). El ciclo global del carbono. Cambio climático: una visión desde México, 77.
- Jaworski E.G. (1971). Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 43(6): 1274-1279.
- Joyce, P. A., Aspinall, D., Paley, L. G. (1992). Photosynthesis and the accumulation of proline in response to water deficit. *Funct. Plant Biol.*, 19(3), 249-261.
- Kanwar, M. K., Sun, S., Chu, X., Zhou, J. (2019). Impacts of metal and metal oxide nanoparticles on plant growth and productivity. In *Nanomaterials and Plant Potential* (pp. 379-392). Springer, Cham.
- Karpinska B., Wingsle G., Karpinski S. (2000). Antagonistic effects of hydrogen peroxide and glutathione on acclimation to excess excitation energy in *Arabidopsis*. *IUBMB Life*, 50: 21–26.
- Kataria, S., Jain, M., Rastogi, A., Živčák, M., Brestic, M., Liu, S., Tripathi, D. K. (2019). Role of nanoparticles on photosynthesis: avenues and applications. In *Nanomaterials in plants, algae and microorganisms* (pp. 103-127). Academic Press.
- Khan, W.M., Prithiviraj, B., Smith, D.L., (2002). Effect of foliar application of chitin and chitosan oligosaccharides on photosynthesis of maize and soybean. *Photosynthetica*, vol. 40, no. 4, pp. 621-624.
- Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M., Prithiviraj, B. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J. Plant Growth Regul.*, 28(4), 386-399.
- Kloareg B., Quatrano RS. (1988). Structure of the cell walls of marine algae and ecophysiological functions of the matrix polysaccharides. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 26:259–315
- Kocal, N., Sonnewald, U., Sonnewald, S. (2008). Cell wall-bound invertase limits sucrose export and is involved in symptom development and inhibition of photosynthesis during compatible interaction between tomato and *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria*. *Plant Physiol.*, 148(3), 1523-1536.
- Kochhar, S.L., Gujral, S.K. (2020). *Plant Physiol -Theory and Applications*. 2<sup>nd</sup> Edition. Cambridge

University Press. Cambridge, United Kingdom.

- Krishnaraj, C., Harper, S. L., Yun, S. I. (2016). In Vivo toxicological assessment of biologically synthesized silver nanoparticles in adult Zebrafish (*Danio rerio*). *J. Hazard. Mater.*, 301, 480-491.
- Kusaka M., Ohta M., Fujimura T. (2005). Contribution of inorganic components to osmotic adjustment and leaf folding for drought tolerance in pearl millet. *Physiol. Plant*, 125: 474–489.
- Lake J.A., Woodward F.I., Quick W.P. (2002). Long-distance CO<sub>2</sub> signalling in plants. *J. Exp. Bot.*, 53: 183–193.
- Larqué-Saavedra, A. (1978). The antitranspirant effect of acetylsalicylic acid on *Phaseolus vulgaris*. *Physiol. Plant*. 43:126-128.
- Larqué-Saavedra, A., Martin-Mex, R. (2007). Effects of salicylic acid on the bioproductivity of plants. pp: 15-23. In: *Salicylic Acid: A Plant Hormone*. Hayet, S. and Ahmad, A. (eds). Springer Netherlands.
- Liu Q., Kasuga M., Sakuma Y., Abe H; Miura S., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. (1998). Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low-temperature-responsive gene expression, in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 10, 1391-1406.
- Liu R., Lal R. (2015). Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. *Sci. Total Environ*. 514: 131-139.
- Ma, Y., Zhang, P., Zhang, Z., He, X., Li, Y., Zhang, J., Zhao, Y. (2015). Origin of the different phytotoxicity and biotransformation of cerium and lanthanumoxide nanoparticles in cucumber. *Nanotoxicology*. 9:262–270.
- Maghsoudi, K., Emam, Y., Pessarakli, M. (2016). Effect of silicon on photosynthetic gas exchange, photosynthetic pigments, cell membrane stability and relative water content of different wheat cultivars under drought stress conditions. *J. Plant Nutr*. 7:1001–1015.
- Mahajan S., Tuteja N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Arch. Biochem. Biophys.*, 444: 139–158.
- Mahdieh M., Sangi M.R., Bamdad F., Ghanem A. (2018). Effect of seed and foliar application of nano-zinc oxide, zinc chelate, and zinc sulphate rates on yield and growth of pinto bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars. *J. Plant Nutr*. 41(18): 2401-2412.
- Manivannan P., Jaleel C.A., Sankar B., Kishorekumar A., Somasundaram R., Alagu-Lakshmananand G.M., Panneerselvam R. (2007). Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. *Colloids Surf. B: Biointerf.*, 59: 141–149.
- Martínez-Fernández D., Barroso D., Komárek M. (2016). Root water transport of *Helianthus annuus* L. under iron oxide nanoparticle exposure. *ESPR*. 23(2): 1732-1741.
- Maurino S.G., Echevarria C., Mejias J.A., Vargas M.A., Maldonado J.M. (1986). Properties of the in vivo nitrate reductase assay in maize, soybean, and spinach leaves. *J. Plant Physiol*. 124(1-2): 123-130.

- Medrano, H., Bota, J., Cifre, J., Flexas, J., Ribas-Carbó, M., Gulías, Javier. (2007). Eficiencia en el uso del agua por las plantas Investigaciones Geográficas (Esp), núm. 43, 2007, pp. 63-84 Universidad de Alicante Alicante, España.
- Menconi M., Sgherri C.L.M., Pinzino C., Navari-Izzo F. (1995). Activated oxygen production and detoxification in wheat plants subjected to a water deficit programme. *J. Exp. Bot.*, 46: 1123–1130.
- Mencuccini M., Mambelli S., Comstock J. (2000). Stomatal responsiveness to leaf water status in common bean (*Phaseolus vulgaris*) is a function of time of day. *Plant Cell Environ.*, 23: 1109–1118.
- Méndez-Argüello, B., Vera-Reyes, I., Mendoza-Mendoza, E., García-Cerda, L. A., Puente-Urbina, B. A., Lira-Saldívar, R. H. (2016). Promoción del crecimiento en plantas de *Capsicum annuum* por nanopartículas de óxido de zinc. *Nova scientia*, 8(17), 140-156.
- Moller I.M., Jensen P.E., Hansson A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 58: 459–481.
- Mondal, M. M. A., Puteh, A. B., Dafader, N. C., Rafii, M. Y., Malek, M. A. (2013). Foliar application of chitosan improves growth and yield in maize. *J. Food Agric. Environ*, 11(2), 520-3.
- Montenegro R. L. C., Melgarejo M. L. (2012). Variación del contenido de azúcares totales y azúcares reductores en el musgo *Pleurozium schreberi* (HYLOCOMIACEAE) bajo condiciones de déficit hídrico. *Acta Biolo Colomb.*, 17(3), 599-610.
- Morales N., S. M. (2016) “Evaluación de la expresión constitutiva del gen *SchSDD1-like* sobre la densidad estomática y su efecto en la respuesta frente a déficit hídrico en plantas heterólogas”, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Talca, Chile.
- Nam N.H., Subbaroa G.V., Chauhan Y.S., Johansen C. (1998). Importance of canopy attributes in determining dry matter accumulation of pigeon pea under contrasting moisture regimes. *Crop Sci.* 38: 955–961.
- Nayyar H., Walia D.P. (2003). Water stress induced proline accumulation in contrasting wheat genotypes as affected by calcium and abscisic acid. *Biol. Plant*, 46: 275–279.
- Nayyar, H., Gupta, D. (2006). Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: association with oxidative stress and antioxidants. *EEB*, 58(1-3), 106-113.
- Navarro-Cerrillo, R. M., Rodríguez-Vallejo, C., Silveiro, E., Hortal, A., Palacios-Rodríguez, G., Duque-Lazo, J., Camarero, J. J. (2018). Cumulative drought stress leads to a loss of growth resilience and explains higher mortality in planted than in naturally regenerated *Pinus pinaster* stands. *Forests*, 9(6), 358.
- Nonami H. (1998). Plant water relations and control of cell elongation at low water potentials. *J. Plant Res.*, 111: 373–382.
- Ojeda Silvera, C.M. (2015). Efecto de un producto bioactivo compuesto por oligosacáridos como mitigador del estrés hídrico en variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.). Centro de investigaciones biológicas del noroeste, S.C. Marzo, 2015.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: FAO. (2016). <http://www.fao.org/emergencias/emergencias/sequia/es/>

- Ortega Gaucin, D. (2013). Sequía: causas y efectos de un fenómeno global. Ciencia UANL, año 16, No. 61.
- Palacio-Márquez, A., Ramírez-Estrada, C. A., Gutiérrez-Ruelas, N. J., Sánchez, E., Ojeda-Barrios, D. L., Chávez-Mendoza, C., Sida-Arreola, J. P. (2021). Efficiency of foliar application of zinc oxide nanoparticles versus zinc nitrate complexed with chitosan on nitrogen assimilation, photosynthetic activity, and production of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Sci. Hortic*, 288, 110297.
- Patel, K.V., Manoj, N., Bhatt, M.D., Dobriyal, A.K., Bhatt, D. (2020). Nanofomulation of zinc oxide and chitosan zinc sustain oxidative stress and alter secondary metabolite profile in tobacco. *3 Biotech* 10:477.
- Panwar J., Jain N., Bhargaya A., Akhtar M., Yun, Y. (2012). Positive Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Tomato Plants: A Step towards Developing Nano-Fertilizers. In: International Conference on Environmental Research and Technology (ICERT), Malaysia.
- Pereyra C. M., A. Quiriban. (2014). Las proteínas en la tolerancia al estrés hídrico en plantas. *Semiárida Revista de la Facultad de Agronomía UNLPam* Vol. 24(1):55-67.
- Pinheiro C., Chaves M.M., Ricardo C.P. (2001). Alterations in carbon and nitrogen metabolism induced by water deWcit in the stems and leaves of *Lupinus albus* L. *J. Exp. Bot.*, 52: 1063–1070.
- Prasad R., Kumar V., Prasad K.S. (2014). Nanotechnology in sustainable agriculture: present concerns and future aspects. *Afr. J. Biotechnol.* 13(6): 705-713.
- Rafi, Q., Imtiaz, A., Safdar, M. E., Javeed, H. M. R., Abdul, R., Yasir, R. (2020). Mitigating water stress on wheat through foliar application of silicon. *AJAB*, 8(1), 1-10.
- Rahman, N. A., Rosli, W. I. W. (2014). Nutritional compositions and antioxidative capacity of the silk obtained from immature and mature corn. *J. King Saud Univ. Sci.*, 26(2), 119-127.
- Raigón, M. D., García-Martínez, M. D., Guerrero, C., Esteve, P. (2006). Actividad de la nitrato reductasa y su relación con los factores productivos en lechuga. VII Congreso SEAE. Zaragoza, España: Sociedad Española de Agricultura Ecológica.
- Ramanjulu S., Bartels D. (2002). Drought- and desiccation-induced modulation of gene expression in plants. *Plant Cell Environ.* 25: 141–151.
- Ramírez-Estrada, C.A. (2021) Eficiencia del uso de nitrógeno en frijol ejotero mediante la aplicación de nanofertilizantes de molibdeno y zinc. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Delicias, México.
- Ramírez, A., Cruz, N., Frnachialfaro, O. (2003). Uso de bioestimulantes en la reproducción de guayaba (*Psidium guajava* L.) mediante el enraizamiento de esquejes. *Cultivos Tropicales.* 24:59-63.
- Raskin, I. (1992). Role of salicylic acid in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43: 439-463.
- Rawat, M., Nayan, R., Negi, B., Zaidi, M. G. H., Arora, S. (2017). Physio-biochemical basis of iron-sulfide nanoparticle induced growth and seed yield enhancement in *B. juncea*. *PPB.* 118, 274-284.

- Razzaq A., Ammara R., Jhanzab H.M., Mahmood T., Hafeez, A., Hussain, S. (2016). A novel nanomaterial to enhance growth and yield of wheat. *J Nanosci Technol.* 2(1): 55-58.
- Reynaldo, I. M., Pérez, I., Jerez, E., Dell'Amico, J. M. (2002). Efectos del estrés hídrico en la asimilación del nitrógeno en plantas de tomate cv inca 9-1 *Cultivos Tropicales*, vol. 23, núm. 2, 2002, pp. 47-50. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba.
- Rhodes D., Samaras Y. (1994). Genetic control of osmoregulation in plants. In: *Cellular and molecular physiology of cell volume regulation*. Strange, K. Boca Raton, CRC Press, Florida.
- Rico, C. M., Majumdar, S., Duarte-Gardea, M., Peralta-Videa, J. R., Gardea-Torresdey, J. L. (2011). Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain. *J. Agric. Food Chem.*, 59(8), 3485-3498.
- Rodriguez P.L. (2015). Caracterización de la respuesta fisiológica de tres variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) bajo condiciones de estrés por déficit hídrico. Universidad Nacional de Colombia.
- SaeedI, S., Gaillochet, J., Bonmort, J., Roblin, G. (1984). Effect of salicylic and acetyl salicylic acids on the scotonomic and photonastic leaflet movements of *Cassia fasciculata*. *Plant Physiol.* 76: 851-853.
- Sánchez-Chávez, E., Barrera-Tovar, R., Muñoz-Márquez, E., Ojeda-Barrios, D. L., Anchondo-Nájera, Á. (2011). Efecto del ácido salicílico sobre biomasa, actividad fotosintética, contenido nutricional y productividad del chile jalapeño. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 17(SPE1), 63-68.
- Sánchez E., Soto J., Ruiz J., Romero L., (2006). Asimilación de Nitrogeno en raíces y hojas de frijol ejotero: Deficiencias Vs Toxicidad de nitrógeno. *Rev. Fitotec.* 29(3):187-195.
- Sánchez E., Ruiz J.M., Romero L. (2016). Compuestos nitrogenados indicadores de estrés en respuesta a las dosis t+oxicas y deficientes de Nitrógeno en firjol ejotero. *Nova scientia.* 8(16): 228-244.
- Santaniello A., Scartazza A., Gresta F., Loreti E., Biasone A., Di Tommaso D., Piaggese A., Perata P (2017). *Ascophyllum nodosum* Seaweed Extract Alleviates Drought Stress in Arabidopsis by Affecting Photosynthetic Performance and Related Gene Expression. *Front. Plant Sci.* 8:1362. doi: 10.3389/fpls.2017.01362
- Saxena, P. K., Rashid, A. (1980). Differentiation of budcells on the protonema of the moss *Anoectanquium fhomsonii*. Effect of aspirin and salicylic acid. *Z. Pflanzenphysiologie* 99: 187-189.
- Schuppler U., He P.H., John P.C.L., Munns R. (1998). Effects of water stress on cell division and cell-division-cycle-2-like cell-cycle kinase activity in wheat leaves, *Plant Physiol.* 117: 667-678.
- Semida, W. M., Abdelkhalik, A., Mohamed, G. F., Abd El-Mageed, T. A., Abd El-Mageed, S. A., Rady, M. M., Ali, E. F. (2021). Foliar application of zinc oxide nanoparticles promotes drought stress tolerance in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Plants.* 10,421.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) (2021). Almacenamiento en presas de uso agrícola, Boletín informativo del servicio de información Agroalimentaria y Pesquera 28 de



febrero 2021, emitido por la Dirección de Soluciones Geoespaciales, SIAP.

- Semida, W.M., Abdelkhalik, A., Mohamed, G.F., Abd El-Mageed, T.A., Abd El-Mageed, S.A., Rady, M.M., Ali, E.F. (2021). Foliar Application of Zinc Oxide Nanoparticles Promotes Drought Stress Tolerance in Eggplant (*Solanum melongena* L.). *Plants* 2021, 10, 421.
- Shao H.B., Chu L.Y., Shao M.A., Abdul-Jaleel C., Hong-Mei M. (2008). Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. *Comp. Rend. Biol.*, 331: 433–441.
- Sharma P., Dubey R.S. (2005). Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzyme in growing rice seedling. *Plant Growth Regul.* 46: 209–221.
- Shi, Y., Zhang, Y., Han, W., Feng, R., Hu, Y., Guo, J., Gong, H. (2016). Silicon enhances water stress tolerance by improving root hydraulic conductance in *Solanum lycopersicum* L. *Front. Plant Sci.* 7, 196.
- Shigeoka S., Ishikawa T., Tamoi M., Miyagawa Y., Takeda T., Yabuta Y., Yoshimura K. (2002). Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J. Exp. Bot.*, 53: 1305–1319.
- Shrestha, S., Brueck, H., Asch, F. (2012). Chlorophyll index, photochemical reflectance index and chlorophyll fluorescence measurements of rice leaves supplied with different N levels. *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*, 113, 7-13.
- Singh, B., Usha, K. (2003). Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regul.*, 39(2), 137-141.
- Siddique M.R.B., Hamid A., Islam M.S. (2001). Drought stress effects on water relations of wheat. *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 41: 35–39.
- Singh, A., Singh, N. Á., Afzal, S., Singh, T., Hussain, I. (2018). Zinc oxide nanoparticles: a review of their biological synthesis, antimicrobial activity, uptake, translocation and biotransformation in plants. *J. Mater. Sci.*, 53(1), 185-201.
- Soliman, A. S., El-Feky, S. A., Darwish, E. (2015). Alleviation of salt stress on *Moringa peregrina* using foliar application of nanofertilizers. *J. Hortic. For.* 7:36–47.
- Srilatha, B. (2011). Nanotechnology in Agriculture. *J Nanomedic. Nanotechnol.* 2: 123-128.
- Sun, L., Song, F., Zhu, X., Liu, S., Liu, F., Wang, Y., Li, X. (2021). Nano-ZnO alleviates drought stress via modulating the plant water use and carbohydrate metabolism in maize. *Arch. Acker Pflanzenbau Bodenkd.* 67(2), 245-259.
- Sytar O., Kumari P., Yadav S., Brestic M., Rastogi A. (2019). Phytohormone priming: regulator for heavy metal stress in plants. *J Plant Growth Regul.* 38:739–752.
- Szabados L., Savouré A. (2009). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends Plant Sci.*, 15: 89–97.
- Szulc, W., Rutkowska, B., Hoch, M., Ptasinski, D., Kazberuk, W. (2019). Plant available silicon in differentiated fertilizing conditions. *Plant, Soil Environ.* 65, 233–237.
- Tambussi EA., Bort J (2007). Water use efficiency in C3 cereals under Mediterranean conditions: a review of physiological aspects. *Ann. Appl. Biol.* 150:307–321.
- Trejo, J. A. M., Monsivais, Á. O. G., Ramírez, J. O., González, A. Z., Cerda, E. R., Hernández, M. F., Nuncio, R. A. (2006). Efecto de tres profundidades de cinta de riego por goteo en la

eficiencia de uso de agua y en el rendimiento de maíz forrajero. *Rev Mex Cienc Pecu*, 44(3), 359-364.

- Tarqui D.M., Mena H. F. C., Quino L. J. J., Gutiérrez V. S., Coela P. R.R. (2017). Temperatura foliar de la lechuga (*Lactuca sativa*) y aire influenciada por el déficit de presión de vapor. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, La Paz, vol.4, n°1, pág. 60-66.
- van Loon LC., van Strien EA (1999). The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR- 1 type proteins. *Physiol Mol Plant Pathol* 55:85–97
- Van Oosten, M.J., Pepe, O., De Pascale, S., Silletti, S., Maggio, A. (2017). The role of biostimulants and bio effectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 2017, 4, 5.
- Vega, I., Nikolic, M., Pontigo, S., Godoy, K., Mora, M., Cartes, P. (2019). Silicon improves the production of high antioxidant or structural phenolic compounds in barley cultivars under aluminum stress. *Agronomy* 9, 388.
- Wang, Y., Jiang, F., Ma, C., Rui, Y., Tsang, D. C. W., Xing, B. (2019). Efecto de nanopartículas de óxido metálico sobre aminoácidos en granos de trigo (*Triticum aestivum*) en un estudio de ciclo de vida. *J. Environ. Manage.* 241:319-327. 10.1016.
- Wellburn A.R. (1994). The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol.* 144(3): 307-313.
- Wilkinson S., Davies W.J. (2002). ABA-based chemical signalling: The coordination of responses to stress in plants. *Plant Cell Environ.*, 25: 195–210.
- Wu Y., Cosgrove D.J. (2000). Adaptation of roots to low water potentials by changes in cell wall extensibility and cell wall proteins. *J. Exp. Bot.*, 51: 1543–1553.
- Yadav R.S., Hash C.T., Bidinger F.R., Devos K.M., Howarth C.J. (2004). Genomic regions associated with grain yield and aspects of post flowering drought tolerance in pearl millet across environments and tester background. *Euphytica*, 136: 265–277.
- Yang F., Miao L.F. (2010). Adaptive responses to progressive drought stress in two poplar species originating from different altitudes. *Silva Fennica*, 44: 23–37.
- Yemm E.W., Cocking E.C., Ricketts R.E. (1955). The determination of amino-acids with ninhydrin. *Analyst*. 80(948): 209-214.
- Zeiger E. (2000). Sensory transduction of blue light in guard cells. *Trends Plant Sci.*, 5: 183–185.
- Zhang J., Kirkham M.B. (1996). Antioxidant response to drought in sunflower and sorghum seedlings. *New Phytol.*, 132: 361–373.
- Zhang, X., Li, K., Liu, S., Xing, R., Yu, H., Chen, X., Li, P. (2016). Size effects of chitoooligomers on the growth and photosynthetic characteristics of wheat seedlings. *Carbohydrate Polymers*, vol. 138, pp. 27-33.
- Zhao T.J., Sun S., Liu Y., Liu J.M., Liu Q., Yan Y.B., Zhou H.M. (2006). Regulating the drought-responsive element (DRE)-mediated signaling pathway by synergic functions of trans-active and transinactive DRE binding factors in *Brassica napus*. *J. Biol. Chem.*, 281: 10752–10759.

Zhu J.K. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu. Rev. Plants Biol.*, 53: 247–273.

Zhu X., Song F., Liu S., Liu T., Zhou X. (2012). Arbuscular mycorrhizae improves photosynthesis and water status of *Zea mays* L. under drought stress. *Plant Soil Environ.* 58:186–191.