



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS PUEBLA

POSTGRADO EN ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

**IDENTIFICACIÓN DE LAS ETAPAS FENOLÓGICAS DEL FRIJOL Y
HABA TOLERANTES A LAS HELADAS Y SU MITIGACIÓN MEDIANTE
PRODUCTOS CON POTENCIAL ANTICONGELANTE**

CELENE CALDERÓN TOMÁS

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PUEBLA, PUEBLA

2016



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS
CAMPECHE-CÓRDOBA-MONTECILLO-PUEBLA-SAN LUIS POTOSÍ-TABASCO-VERACRUZ

SUBDIRECCIÓN DE EDUCACIÓN
CAMPUS PUEBLA

CAMPUE- 43-2-03

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, la que suscribe **Celene Calderón Tomás**, alumna de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta Institución, bajo la dirección del Profesor **Dr. Ramón Díaz Ruiz**, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **Identificación de las etapas fenológicas del frijol y haba tolerantes a las heladas y su mitigación mediante productos con potencial anticongelante**, y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, el Consejero o Director de Tesis y la que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Puebla, Puebla, 1 de diciembre del 2016.

Celene Calderón Tomás

Vo. Bo. Dr. Ramón Díaz Ruiz
Profesor Consejero o Director de Tesis

La presente tesis, titulada: **Identificación de las etapas fenológicas del frijol y haba tolerantes a las heladas y su mitigación mediante productos con potencial anticongelante**, realizada por la alumna: **Celene Calderón Tomás**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS

ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



DR. RAMÓN DÍAZ RUIZ

ASESOR:



DR. JUAN CONTRERAS RAMOS

ASESOR:



DR. EFRAÍN PÉREZ RAMÍREZ

ASESORA:



DRA. BEATRIZ PÉREZ ARMENDÁRIZ

ASESOR:



DR. FELIPE ÁLVAREZ GAXIOLA

Puebla, Puebla, México, 1 de diciembre del 2016

IDENTIFICACIÓN DE LAS ETAPAS FENOLÓGICAS DEL FRIJOL Y HABA
TOLERANTES A LAS HELADAS Y SU MITIGACIÓN MEDIANTE PRODUCTOS CON
POTENCIAL ANTICONGELANTE

Celene Calderón Tomás, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2016

Los objetivos de la investigación fueron los siguientes: i) comparar el daño producido en el vástago y raíz de variedades de frijol negro criollo (provenientes de clima cálido y templado) por una helada en las etapas V2, V3 y V4 ; ii) determinar las etapas fenológicas más tolerantes a las heladas en frijol y haba bajo condiciones controladas; iii) evaluar el efecto protector de sustancias anticongelantes [antincongelaente (An), aminoácidos (Am), giberelinas (Gib) y la combinación de ellas con lombricomposta (Lom)] en el vástago y raíz del frijol al ser aplicadas en las etapas más sensibles y tolerantes de la especie y iv) determinar en campo el efecto de estas sustancias en los componentes del rendimiento de haba. La helada fue simulada en una cámara de crecimiento, introduciendo las plantas en distintas etapas fenológicas a una temperatura de 0°C por 90 min; 48 h después del fenómeno, se evaluaron los daños mediante una escala porcentual entre 0 = planta sana y 100 = planta muerta. En raíz se realizó una tinción con sal de tetrazolio para determinar nódulos activos e inactivos. En las etapas más tolerantes y sensibles a la helada, en las plantas se realizaron dos aplicaciones de sustancias con efecto anticongelante; a las 96 h de la primera aplicación se simuló la helada, 48 h después se evaluó el daño en el vástago y raíz. En campo, los productos fueron aplicados en haba amarilla en las etapas V13, R50 y R70. Las variedades de frijol de clima cálido presentaron mayor daño por la helada, la etapa V2 fue la más tolerante en todas las variedades; el haba presentó daño en la etapa R63; en frijol, las etapas V1 y V2 fueron las más tolerantes y V4 la más sensible, en las etapas R6 y R7 hubo daños irreversibles en las flores y vainas. Los tratamientos Lom+An, Am y Lom brindaron mayor protección en la etapa V2, en la etapa V3, con Lom+An no se presentó daño en el vástago; con Gib el daño fue el más alto, en la etapa R6 con Lom se presentó el menor daño y en R7 fue con An. En los nódulos no fue evidente el daño por la helada debido a que la temperatura promedio en los sustratos fue mayor a 12°C. En campo, el mayor peso de grano/planta de haba se detectó con la aplicación de Am y el menor peso se obtuvo con el testigo y An.

Palabras clave: Fenología, heladas, *Phaseolus vulgaris*, productos anticongelantes, *Vicia faba*.

IDENTIFICATION OF PHENOLOGICAL STAGES OF BEAN AND FABA BEAN
TOLERANT TO FROSTS AND ITS MITIGATION BY MEANS OF PRODUCTS WITH
ANTIFREEZING POTENTIAL

Celene Calderón Tomás, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2016

The objectives of this research were the following: i) to compare the damage caused on the shoot and root of native black bean varieties (from warm and cold climates) by a frost in the stages V2, V3 and V4; ii) to determine the phenological stages more tolerant to frosts in bean and faba bean under controlled conditions; iii) to evaluate the protective effect of antifreeze substances [antifreeze (An), amino acids (Am), gibberellins (Gib) and their combination with vermicompost (Lom)] on the shoot and root of bean when applied in the most sensitive and tolerant stages of the species, and iv) to determine, under field conditions, the effect of these substances on the yield components of faba bean. The frost was simulated in a growth chamber by introducing the plants in different phenological stages at a temperature of 0°C for 90 minutes; 48 hours after the phenomenon, the damages were evaluated using a percentage scale between 0 = healthy plant and 100 = dead plant. The root was stained with tetrazolium salt to determine active and inactive nodules. At the most frost -tolerant and -sensitive stages, two applications of antifreeze substances were made to the plants; 96 hours after the first application, the frost was simulated; 48 hours later, shoot and root damage was evaluated. In the field, the products were applied in yellow faba bean at stages V13, R50 and R70. The bean varieties from warm climates were more affected by the frost, the V2 stage was the most tolerant in all varieties, the faba bean showed damages in R63 stage; in bean, the stages V1 and V2 were the most tolerant, and V4 was the most sensitive; in stages R6 and R7 there was an irreversible damage in flowers and pods. The treatments Lom+An, Am and Lom provided more protection in the V2 stage. In the V3 stage, no damage to the shoot occurred when Lom+An was used; with Gib the damage was the highest; the lowest damage in the R6 stage was obtained with Lom, and in R7 with An. In the nodules the frost damage was not evident because the average temperature in the substrates was higher than 12°C. In the field, the highest weight of grain/plant in faba bean was obtained with application of Am; the lowest weight was obtained with the control and An.

Key words: Antifreeze products, frost, *Phaseolus vulgaris*, phenology, *Vicia faba*.

Dedico esta tesis a mí querida familia, a mi padre y madre por sus consejos, su apoyo y el amor que siempre me brindan, a mi hermana Cecy por su paciencia, consejos y ternura. A mis hermanos José y Silverio por su apoyo, alegría y bondad que hacen que los días a su lado sean de felicidad.

A Héctor que con su cariño, bondad, sencillez y amor, por acompañarme en los buenos y malos momentos y hacer que mi camino tenga sentido. A Ignacio mi hermano del alma que siempre tiene las palabras para hacerme superar los peores momentos, a Lulú y su esposo Dr. Ramón por ser el mejor apoyo y mis consejeros en la vida.

Todos ustedes que hicieron que la maestría fuera placentera y productiva, que con su ejemplo y tenacidad me contagiaron de entusiasmo para seguir adelante, sus palabras fueron siempre de inspiración y sus sonrisas la luz que iluminó mi camino.

Este trabajo es gracias a ustedes porque con su cariño lograron guiarme y brindarme la fuerza necesaria para no rendirme, me demostraron que el éxito es la suma de pequeños esfuerzos, repetidos día tras día y que el logro de los metas más grandes y complicadas... son lo que nos dejan las más grandes satisfacciones.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Colegio de Postgraduados y al cuerpo académico y administrativo del Programa en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional (EDAR) Campus Puebla, por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca que me otorgó, la cual hizo posible desarrollar mi aprendizaje y concluir el posgrado.

A los miembros del Consejo Particular de la presente investigación, quienes me orientaron durante el desarrollo de la tesis del proyecto y en la escritura de la tesis.

Al Dr. Ramón Díaz Ruiz por todo el aprendizaje que me ha brindado, por su apoyo y paciencia y sobre todo por el tiempo que ha dedicado a éste proyecto, por sus consejos, correcciones y recomendaciones que me han ayudado a mejorar mi trabajo, sobre todo por compartir sus experiencias y conocimiento que me ayudan a tener una mejor visión de las cosas.

Al Dr. Juan Contreras Ramos a quien le agradezco el tiempo que siempre me brinda para expresar sus experiencias y conocimiento, por dar un enfoque realista al trabajo y por todo su apoyo dedicado las observaciones y correcciones de la tesis.

A la Dr. Beatriz Pérez Armendáris por sus palabras de apoyo y sugerencias indispensables para el desarrollo de la tesis.

Dr. Felipe Álvarez Gaxiola y al Dr. Efraín Pérez Ramírez por el tiempo que le brindaron a leer y proporcionar correcciones y comentarios al escrito de la tesis, agradezco su paciencia y su apoyo que me brindaron.

Al Dr. Javier Cruz Hernández por el interés brindado a esta tesis, por el tiempo dedicado a leerla y realizar las correcciones oportunas a la misma, por sus comentarios y consejos.

A mis amigos Liss, Karen I. y Daniel que con su solo compañía me han brindado momentos alegres y de aventura, permitiendo que la estancia en la maestría se hiciera placentera.

CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE CUADROS.....	xiii
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1. Planteamiento del problema.....	3
2. Objetivos.....	4
3. Hipótesis	5
4. Revisión de literatura	5
5. Literatura citada	15
CAPÍTULO I	20
EFFECTO DE HELADA SIMULADA EN VARIEDADES DE FRIJOL DE CLIMA CÁLIDO Y FRÍO EN DIFERENTES ETAPAS VEGETATIVAS	20
1.1 INTRODUCCIÓN	20
1.2 MATERIALES Y MÉTODOS	21
1.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
1.4 CONCLUSIONES	31
1.5 LITERATURA CITADA	31
CAPÍTULO II.....	34
EFFECTO DE LAS HELADAS EN ETAPAS FENOLÓGICAS DEL FRIJOL Y HABA.....	34
2.1 INTRODUCCIÓN	34
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS	35
2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
2.4 CONCLUSIONES	49
2.5 LITERATURA CITADA	49
CAPÍTULO III.....	53
EFFECTO DE PRODUCTOS CON ACCIÓN ANTICONGELANTE EN LA PREVENCIÓN DEL DAÑO POR HELADA EN LAS ETAPAS V2, V3, R6 Y R7 DEL FRIJOL	53
3.1 INTRODUCCIÓN	53

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS	54
3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	58
3.4 CONCLUSIONES	74
3.5. LITERATURA CITADA	74
CAPÍTULO IV.....	77
EFFECTO DE PRODUCTOS CON ACCIÓN ANTICONGELANTE EN COMPONENTES DEL RENDIMIENTO DE HABA EN TEPEYAHUALCO DE CUAUHTÉMOC, PUEBLA.....	77
4.1 INTRODUCCIÓN	77
4.2 MATERIALES Y MÉTODOS	78
4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	82
4.4 CONCLUSIONES	86
4.5 LITERATURA CITADA	86
CONCLUSIONES GENERALES.....	89

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Fases y etapas fenológicas del frijol.....	6
Figura 2. Variación en los días de desarrollo según el hábito de crecimiento.....	8
Figura 3. Ejemplos de las etapas fenológicas del haba.....	8
CAPÍTULO I.	
Figura 1.1. Tinción de nódulos de raíz con sal cloruro 2, 3, 5-Trifeniltetrazolio.....	23
Figura 1.2. Porcentaje de daño por la helada en el vástago de las plantas en las variedades de frijol, 48 h después de la helada en las diferentes etapas vegetativas.....	25
Figura 1.3. Incidencia de la helada en la etapa V3 del frijol en las variedades de Izúcar de Matamoros y Valle de Serdán.....	26
Figura 1.4. Distribución del peso seco de variedades provenientes de Izúcar de Matamoros y Valle de Serdán en las etapas V2 y V3.....	27
Figura 1.5. Distribución del peso seco de variedades provenientes de Izúcar de Matamoros y Valle de Serdán en la etapa V4.....	28
Figura 1.6. Temperatura del suelo antes y después de la helada y número de nódulos totales para cada variedad en las etapas vegetativas V2, V3 y V4.....	30
CAPÍTULO II.	
Figura 2.1. Fases fenológicas con la característica propia de cada etapa del frijol, consideradas para evaluar el grado de daño provocado por una helada simulada.	36
Figura 2.2. Fases fenológicas con la característica propia de cada etapa del haba, consideradas para evaluar el grado de daño provocado por una helada simulada.	36
Figura 2.3. Evaluación en porcentaje de daño en las plantas 48 horas después de la helada.	39
Figura 2.4. Temperatura del suelo antes y después de la helada en las diferentes etapas de desarrollo del frijol.....	40
Figura 2.5. Porcentaje de daño en el vástago del frijol 48 h después de la helada simulada en las diferentes etapas vegetativas.....	41
Figura 2.6. Plantas en etapa V1 (emergencia), después de la helada simulada.	42
Figura 2.7. Daño por la helada en las hojas y tallo más jóvenes en etapa R7, botones, inflorescencia y formación de vaina dañados por la helada.	43

Figura 2.8. Temperatura del suelo antes y después de la helada en las diferentes etapas de desarrollo del haba	44
Figura 2.9. Porcentaje de daño en el vástago del haba 48 h después de la helada simulada en las diferentes etapas vegetativas.....	45
Figura 2.10. Porcentaje de daño por helada en el vástago del haba, con diferente porcentaje de humedad en el suelo	46
Figura 2.11. Daño en plantas de haba 48 h después de la helada con 20% de humedad en el suelo, 5.1% y 3.2% inmediatamente después de la helada simulada y a las 48 h	47
Figura 2.12. Raíz de haba en etapa R50 antes de la helada y después de la helada.	48
CAPÍTULO III.	
Figura 3.1. Diámetro del hipocótilo y altura de la planta con cada tratamiento en las etapas V2, V3, R6 y R7 del frijol.	59
Figura 3.2. Daño por la helada en el vástago de las plantas en etapa V2, V3, R6 y R7 del frijol. 61	
Figura 3.3. Daño por la helada en el vástago de las plantas con la aplicación de los tratamientos en las etapas V2, V3, R6 y R7 del frijol.	62
Figura 3.4. Magnitud del daño por helada en los diferentes órganos de la planta de frijol.	63
Figura 3.5. Distribución de la materia seca con respecto al peso total del vástago de la planta con cada tratamiento en las etapas V2, V3, R6 y R7.....	64
Figura 3.6. Acumulación de materia seca en las plantas y en sus diferentes órganos sin daño y con daño por la helada en las etapas vegetativas V3 y V4 del frijol en los distintos tratamientos.	66
Figura 3.7. Acumulación de materia seca en las plantas y en sus diferentes órganos sin daño y con daño por la helada en las etapas reproductivas R6 y R7 del frijol en los distintos tratamientos... 68	
Figura 3.8. Temperatura del suelo antes y después de la helada por etapas.	70
Figura 3.9. Temperatura del suelo antes y después de la helada en las etapas V2, V3, R6 y R7 del frijol con la aplicación de productos con efecto anticongelante.	71
Figura 3.10. Cantidad de nódulos buenos y malos en cada etapa.	72
Figura 3.11. Cantidad de nódulos en la raíz mediante la aplicación de productos con acción anticongelante.	73
CAPÍTULO IV.	
Figura 4. 1. Ubicación geográfica de la zona de estudio Tepeyahualco de Cuauhtémoc, Pue.....	78

Figura 4. 2. Temperatura máxima, mínima y precipitación durante el desarrollo del haba en el periodo del 9 de enero al 23 de julio del 2015 en la comunidad de Tepeyahualco de Cuauhtémoc.

..... 82

ÍNDICE DE CUADROS

Página

CAPÍTULO III.

Cuadro 3.1. Contenido mínimos en principios activos y nutrientes de la lombricomposta elaborada a base de estiércol de vacuno	55
Cuadro 3.2. Productos con efecto anticongelante utilizados y la dosis empleada	56
Cuadro 3.3. Análisis de varianza para las dimensiones del tallo y raíz después de la helada	58
Cuadro 3.4. Volumen de raíz con cada tratamiento aplicado en las diferentes etapas del frijol. .	60
Cuadro 3.5. Análisis de varianza para el porcentaje de daño en el vástago y la distribución y acumulación del peso seco de las plantas	60
Cuadro 3.6. Análisis de varianza para la distribución del peso seco dañado y sin daño en el vástago de las plantas entre etapas y tratamientos	65
Cuadro 3.7. Análisis de varianza de la temperatura del suelo antes y después de la helada, peso seco y cantidad de nódulos de la raíz.....	70

CAPÍTULO IV.

Cuadro 4.1. Tratamientos para amortiguar el daño por la helada y las dosis utilizadas.....	80
Cuadro 4.2. Número de ramas y vainas por planta en la aplicación de los productos con efecto anticongelante en haba sembrada en Tepeyahualco de Cuauhtémoc. Invierno-primavera 2015 .	83
Cuadro 4.3. Peso y dimensiones de las vainas por planta en la aplicación de los productos con efecto anticongelante en haba sembrada en Tepeyahualco de Cuauhtémoc, Puebla. Invierno-primavera 2015	84
Cuadro 4.4. Número y peso de granos por planta en la aplicación de los productos con efecto anticongelante en haba sembrada en Tepeyahualco de Cuauhtémoc, Puebla. Invierno-primavera 2015.....	85
Cuadro 4.5. Dimensiones de la semilla de haba con la aplicación de cada tratamiento.....	85

INTRODUCCIÓN GENERAL

Las leguminosas, junto a los cereales, fueron las primeras plantas cultivadas e impulsadas por las primeras grandes civilizaciones, de modo que frijoles, habas, garbanzos y otras leguminosas de grano, han formado parte fundamental en la dieta humana y animal de todos los tiempos y están muy arraigadas en nuestra cultura agronómica y culinaria (Romero *et al.*, 2015).

En México las dos principales leguminosas de grano cultivadas son el frijol y haba de la subfamilia papilionoidea que destacan por tener gran superficie sembrada en el estado de Puebla, el frijol ocupa la segunda posición con 49 892 hectáreas solo después del maíz, y el haba el quinto lugar con 15 000 hectáreas (SIAP, 2014), representando el 84.14% y el 9.96% del total de su producción sembrada bajo condiciones de temporal, debido a ello su producción depende de las características dadas por el ambiente, las cuales no siempre son favorables para su producción y calidad del producto final.

Las plantas pueden responder en forma diferente al mismo factor ambiental en las distintas etapas de desarrollo (Confalone *et al.*, 2011) y en diferentes especies, el óptimo térmico para el crecimiento y el desarrollo de la planta resulta de la integración de las diferentes respuestas térmicas de procesos fisiológicos concurrentes (Baruch y Fisher, 1991), la temperatura es uno de los factores abióticos que influye sobre el funcionamiento interno de un organismo sobre su desarrollo y reproducción (Hale y Orcutt, 1987), por lo que el frijol, una planta domesticada en lugares cálidos y adaptados por lo tanto a ellos (Nadal *et al.*, 2004), también es cultivado junto con el haba en las partes altas del estado de Puebla, sobre la región que limita con el Sistema Volcánico Transversal, donde pueden presentarse hasta 120 días con temperaturas cercanas a los cero grados, por lo que es una zona con un índice medio a alto de días con heladas (CENAPRED, 2016).

Dentro de la zona de riesgo por helada se encuentran localizados los municipios Tlachichuca, Tepeyahualco, Chalchicomula de Sesma y San Nicolás Buenos Aires, la cual coincide con los municipios de mayor producción de frijol y haba en el estado (SIAP, 2014), pudiendo coincidir con el ciclo de desarrollo del frijol y del haba, siendo las etapas reproductivas donde se presenta la mayor sensibilidad por las bajas temperaturas, las cuales afectan el rendimiento final de las plantas (Cervantes *et al.*, 2009). Por lo tanto, el amortiguamiento o tolerancia a la ocurrencia de las heladas, dependerá de varios factores, de los cuales la especie, el estado fenológico, madurez

de los tejidos, fertilización, rapidez de enfriamiento, temperatura mínima y duración de la helada son sólo algunos (Elías, 2001).

Las regiones frías del país, donde el estrés producido por heladas afectan la producción de éstos cultivos, debido a que la temperatura ambiente disminuye a las 0°C o inferior provocando que el agua dentro de las plantas se congele o no durante este evento (Snyder y Melo-Abreu, 2010), pudiendo producirse a cualquier hora durante el día o en noches en calma, en ausencia de viento, favoreciendo la pérdida elevada de radiación emitida en onda larga (máxima apertura de la ventana atmosférica) (Elías, 2001; Campos, 2005), originando un enfriamiento en las capas en contacto con el suelo, hasta una altura de unos 5 a 15 m, por encima de este nivel el aire está más caliente (inversión térmica) y debido a la ausencia de viento ambas capas no se mezclan; produciendo heladas que para algunos cultivos significa la muerte si ocurren en la etapa de crecimiento (Campos, 2005; Ayllón, 2013).

Cuando este proceso se realiza sobre órganos delicados de la planta, como yemas, flores o pequeños frutos, puede originarse un enfriamiento suficiente para que tales órganos sean dañados, en la mayoría de los casos los daños son irreversibles, los cuales pueden ser ocasionados en pocas horas. Debido a las características que se presentan en cada tipo de helada, se inducen pérdidas significativas que repercuten en la disminución de la producción de grano, como consecuencia impacta en la economía de los productores de las dos especies.

Es necesario buscar alternativas de prevención para evitar el daño por heladas durante el desarrollo del cultivo. Entre ellas, el uso de sustancias como el anticongelante (protector térmico), el cual evita la deshidratación de las plantas (Ibarquim, 2012), el uso de lombricomposta; materia orgánica la cual actúa globalmente sobre los procesos fisiológicos y bioquímicos unidos al desarrollo vegetal, debido a que se encuentran estimulantes naturales del desarrollo como auxinas, giberelinas y distintos ácidos orgánicos (Labrador, 2001). Por lo que las características destacadas de la materia orgánica en los suelos cultivados, son el aumento de la capacidad calorífica, mantiene el régimen térmico más estable, participa en la agregación y cohesión de partículas elementales, aumentando y manteniendo la estabilidad de la estructura, la permeabilidad y capacidad de retención hídrica, mejora la nutrición de los cultivos y favorece la respiración radicular (Labrador, 2001; Fuentes, 2002).

La identificación del daño en diferentes variedades de frijol y en etapas específicas de su desarrollo, permitirá a los productores proteger al cultivo y evitar pérdidas significativas del grano, mediante productos que proporcionen protección en las diferentes etapas fenológicas del frijol y del haba, para poder combatir o atenuar el efecto negativo de las heladas.

1. Planteamiento del problema

La temperatura es uno de los factores físicos de mayor importancia en el medio ambiente, debido a que ésta no solo determina la producción a obtener, sino también la época de cosecha de una determinada variedad, por lo que la temperatura óptima es fundamental para el desarrollo de las plantas. Sin embargo las condiciones ambientales no siempre son las ideales, puesto que las altas y bajas temperaturas afectan en gran medida el nivel de producción debido a que se afecta el vigor general de la planta, regulando también su tasa de desarrollo, afectando el balance del crecimiento de una parte de la planta con relación a otra (White, 1988; Machado *et al.*, 2006).

El frijol es una planta domesticada en lugares cálidos y adaptados por lo tanto a ellos. Su temperatura óptima de crecimiento está en torno a los 16-21°C, dándose el máximo a los 27°C y el mínimo a los 10°C (Nadal *et al.*, 2004), otros autores como Barrios-Gómez y López-Castañeda (2009), sugieren que la temperatura base o temperatura más baja (T_b) a la que las hojas dejan de crecer es de 8.3°C para las variedades de frijol en México, mientras que en haba la T_b reportada por Ruiz-Ramos y Minguez (2006) fue de 0°C para todas las etapas fenológicas, mientras que Canfalone *et al.* (2011) reportaron que el cultivo de haba en etapa de floración murió por efecto de las heladas, mencionando que la T_b varía entre 2.09 y 4.47°C, dependiendo de la etapa fenológica.

La temperatura fuera del rango óptimo para el desarrollo de las plantas cultivadas, es una limitante que podría influir sobre el funcionamiento interno de un organismo, sobre su desarrollo fenológico (Hale y Orcutt, 1987) y por lo tanto afectar la producción. En lugares con problemas de heladas, el daño a los cultivos, estará influenciado por la intensidad de la helada, donde la tolerancia de las plantas a las bajas temperaturas dependerá de factores como el tipo de especie y su variedad, el estado fenológico, madurez de los tejidos, fertilización, rapidez de enfriamiento, temperatura mínima, duración de la helada, entre otras (Elías, 2001).

En Tepeyahualco de Cuauhtémoc del estado de Puebla, los climas que predominan son templado subhúmedo, semiseco templado y semiseco muy cálido, con un rango de 40 a 80 días con heladas (INEGI, 2000). Por lo que las heladas se presentan con frecuencia afectando las etapas fenológicas más sensibles del frijol, como son la floración y fructificación, lo cual se convierte en uno de los principales factores que merman la producción de estos cultivos, este hecho, repercute en pérdidas económicas de los productores de las leguminosas mencionada, por lo que en éste municipio la producción ha disminuido en los último años.

Por naturaleza, el frijol es una de las especies sensibles a bajas temperaturas pudiendo ser afectado de manera parcial o total durante su desarrollo, mientras que el haba aunque es tolerante a las bajas temperaturas, la ocurrencia de heladas sobre la etapa de floración puede producir la pérdida total de la producción. Para poder combatir o atenuar el efecto de las heladas se debe identificar los periodos críticos de las especies para sí poder mitigar su efecto. Conocer si las variedades de frijol negro de ambientes climáticos diferentes ¿son dañadas por la helada a 0°C con la misma intensidad? ¿Cuáles son las etapas fenológicas del frijol y haba más tolerantes a las heladas? ¿Qué estructuras de la planta son las más dañadas por las heladas? ¿Qué sustancia o sustancias protegen mejor al frijol de las heladas y en que etapas de desarrollo? y si el utilizar productos con efecto anticongelante ¿provocan un efecto sobre el rendimiento de grano en las plantas?

2. Objetivos

Comparar el daño producido por una helada simulada en cámara de crecimiento, sobre el vástago y raíz de las plantas de dos variedades de frijol negro provenientes de clima cálido y dos de clima templado, en las etapas vegetativas V2, V3 y V4.

Evaluar y determinar las etapas fenológicas más tolerantes a la helada simulada producida en una cámara de crecimiento, en cada una de las fases de desarrollo del frijol y haba cultivadas bajo condiciones controladas.

Evaluar el grado de protección contra la helada simulada que tienen los productos anticongelante, aminoácidos, giberelinas y la combinación de estas con lombricomposta en el vástago y nódulos de la raíz, en las etapas fenológicas del frijol más sensibles y las más tolerantes durante su desarrollo.

Determinar el efecto de productos con acción anticongelante como el anticongelante, aminoácidos, giberelinas y la combinación de estos con lombricomposta en los componentes del rendimiento de haba cultivada bajo riego en el municipio de Tepeyahualco de Cuauhtémoc, Puebla.

3. Hipótesis

Al someter a plantas de frijol negro criollo de dos regiones climáticas diferentes a estrés producido por una helada, las plantas manifestarán un daño en diferente magnitud, presentando mayor resistencia las plantas provenientes de una región con clima frío.

El daño por helada en frijol y haba será mayor en la etapa de formación de botón y floración, ya que son etapas donde la planta demanda mayor energía pudiendo ser vulnerables al estrés producido por el ambiente.

Al menos una sustancia con efecto anticongelante como anticongelante, aminoácidos, giberelinas o la combinación de estos con lombricomposta proporcionará mayor protección al frijol del daño por la helada aplicados en cualquier etapa de desarrollo.

Debido a que los productos con acción anticongelante les proporcionarán protección ante el evento de heladas, podrá obtenerse buen rendimiento de semillas de haba sembrada en campo.

4. Revisión de literatura

Especialistas de las leguminosas consideran que a nivel mundial existen 727 géneros y cerca de 19 000 especies (Lewis *et al.*, 2005), en México actualmente se registran alrededor de 139 géneros y 1 850 especies (Sousa *et al.*, 2004). De la gran diversidad de leguminosas, el frijol representa el 40% del volumen cosechado, le siguen el garbanzo (18%), los chícharos secos o arvejón (15%) y habas (6% cada uno) (Gaucín, 2016), siendo una alternativa para la población indígena que sufre tanto desnutrición proteínica y la deficiencia crónica de energía, debido a que la mayoría de los productos alimenticios de origen animal son demasiado caros.

Sin embargo, el frijol y el haba son productos sensibles a las bajas temperaturas en sus diferentes etapas, donde las heladas impactando en la agricultura de Puebla, Chihuahua, México y Tlaxcala, estados en los que se registran más de 100 días al año con heladas (Reséndiz *et al.*, 2011).

4.1. Características fenológicas del frijol y haba

Las observaciones fenológicas en la agricultura son de suma importancia, ya que el conocimiento de las necesidades climáticas de una especie vegetal permite una mejor elección del tipo de producción a implementar en una zona o región (Hernández *et al.*, 2010).

El ciclo biológico de la planta de frijol se divide en dos fases sucesivas: la fase vegetativa y la fase reproductiva (Figura 1). La fase vegetativa se inicia cuando se le brindan a la semilla las condiciones para iniciar la germinación, y termina cuando aparecen los primeros botones florales o los primeros racimos (Fernández y Marcelino, 1986). En esta fase se desarrolla la estructura vegetativa necesaria para iniciar la actividad reproductiva de la planta. La fase reproductiva, está comprendida entre la aparición de los primeros botones florales o racimos y la madurez de cosecha. En el desarrollo de la planta de frijol se han identificado 10 etapas, las cuales están delimitadas por eventos fisiológicos importantes. La identificación de cada etapa se hace con base en un código que consta de una letra y un número. La letra corresponde a la inicial de la fase a la cual pertenece la etapa, mientras que el número indica la posición de la etapa en la escala (Fernández y Marcelino, 1986; Solórzano, 2007).

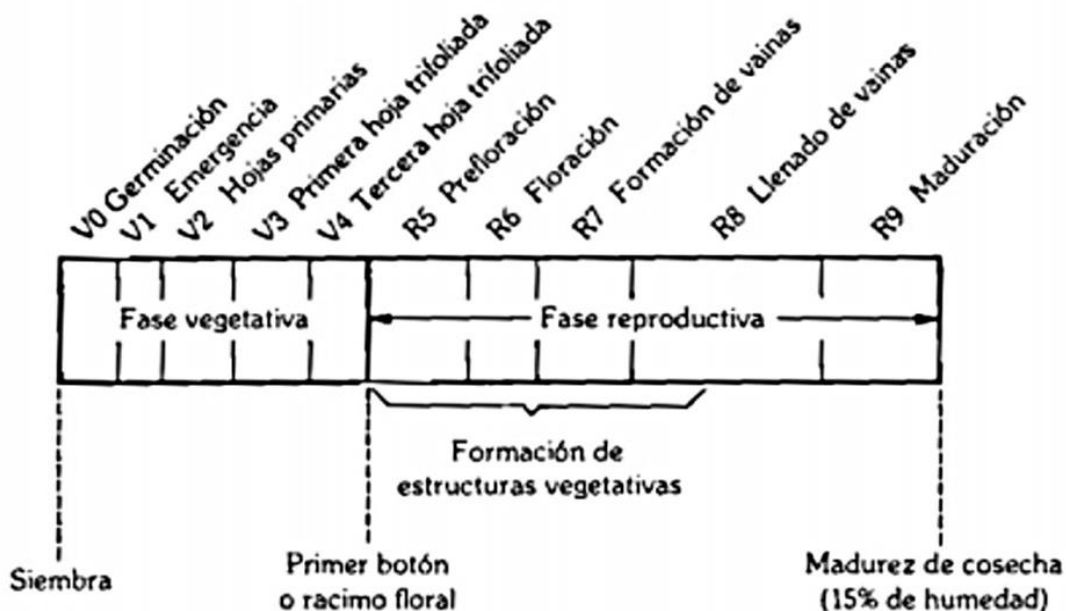


Figura 1. Fases y etapas fenológicas del frijol (Fernández y Marcelino, 1986).

4.1.1. Etapas fenológicas del frijol

Etapa V0 (Germinación). La semilla absorbe agua y ocurren en ella los fenómenos de división celular y las reacciones bioquímicas que liberan los nutrientes de los cotiledones. Emerge luego la radícula, que posteriormente se convierte en raíz primaria al aparecer sobre ella las raíces secundarias; el hipocótilo también crece, y quedan los cotiledones al nivel del suelo (Fernández y Marcelino, 1986).

Etapa V1 (Emergencia). Se inicia cuando los cotiledones del 50% de las plántulas del cultivo aparecen a nivel del suelo. El hipocótilo se endurece y sigue creciendo, los cotiledones comienzan a separarse y luego se despliegan las hojas primarias (Fernández y Marcelino, 1986).

Etapa V2 (Hojas primarias). Comienza cuando las hojas primarias de la planta están desplegadas. En un cultivo se considera que esta etapa inicia cuando el 50% de las plantas presentan tal característica. En esta etapa empieza el desarrollo vegetativo rápido de la planta, durante el cual se formarán el tallo, las ramas y las hojas trifoliadas. Los cotiledones pierden su forma arrugándose y arqueándose (Fernández y Marcelino, 1986).

Etapa V3 (Primera hoja trifoliada). Se inicia cuando la planta presenta la primera hoja trifoliada completamente abierta y plana. En un cultivo esta etapa se inicia cuando el 50% de las plantas han desplegado la primera hoja trifoliada (Fernández y Marcelino, 1986).

Etapa V4 (Tercera hoja trifoliada). Esta etapa comienza cuando la tercera hoja trifoliada se encuentra desplegada. En un cultivo comienza esta etapa cuando el 50% de las plantas presenta dicha característica (Fernández y Marcelino, 1986). A partir de esta etapa se hacen claramente diferenciables algunas estructuras vegetativas como el tallo, las ramas y las hojas trifoliadas que se desarrollan a partir de las tríadas de yemas. La primera rama generalmente inicia su desarrollo cuando la planta comienza la etapa V3 (Arias *et al.*, 2007).

La fase reproductiva del frijol se inicia con la aparición de los primeros botones florales y termina cuando el grano alcanza el grado de madurez necesario para la cosecha. A pesar de que esta fase es eminentemente reproductiva, durante ella las variedades de hábito de crecimiento indeterminado (tipo II, III y IV) continúan, aunque con menor intensidad, produciendo estructuras

vegetativas (Rodríguez *et al.*, 2010), en la figura 2 se observan las variaciones del tipo de crecimiento en días después de la siembra.

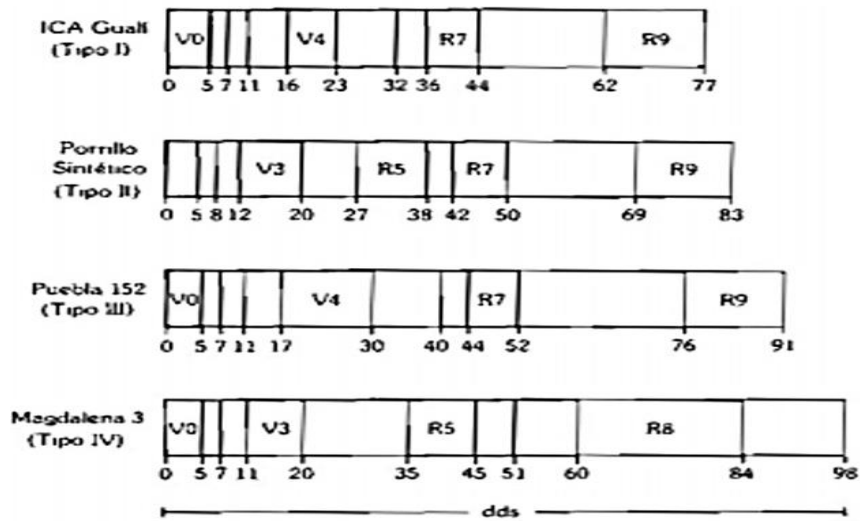


Figura 2. Variación en los días de desarrollo según el hábito de crecimiento (Fernández y Marcelino, 1986).

4.1.2 Etapas fenológicas del haba

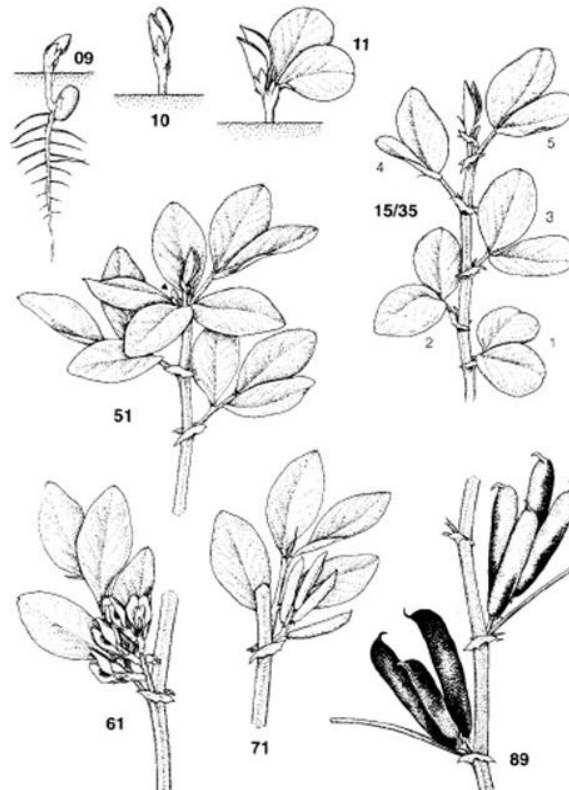


Figura 3. Ejemplos de las etapas fenológicas del haba (Meier, 2001).

La descripción de la BBCH (Basch-Bayer-Ciba-Hoerchst) para las etapas fenológicas del haba considera estadios principales de crecimiento, numerados del 0 al 9 los cuales describen tiempos amplios en el curso del desarrollo de la planta por lo cual se usa un segundo dígito para especificar los estadios secundarios de crecimiento y describir con precisión fases cortas del desarrollo de plantas (Figura 3), ocurriendo durante un determinado estadio principal de desarrollo (Meier, 2001).

Fase vegetativa del haba (Meier, 2001)

Etapa 0. Germinación desde la semilla seca, el comienzo de la imbibición de la semilla, la radícula fuera de la semilla, brote fuera de la semilla finalizando con la emergencia en la cual el gancho plumular sale hacia la superficie del suelo

Etapa 1. Desarrollo de las hojas en el tallo principal: Par de hojas escama visibles

Etapa 2. Formación de brotes laterales: Comienzo del desarrollo de los brotes laterales hasta el fin del desarrollo de los mismos (9 o más brotes)

Etapa 3. Crecimiento longitudinal del tallo principal: Comienzo del crecimiento longitudinal del tallo

Fase reproductiva del haba

Etapa 5. Aparición del órgano floral en el tallo principal: Botones florales

Etapa 6. Floración en el tallo principal: Primeras flores abiertas

Etapa 7. Formación del fruto: Primeras vainas que han alcanzado su tamaño final

Etapa 8. Maduración de frutos y semillas: Comienzo de la maduración de semillas verdes, rellenando la cavidad de la vaina.

Etapa 9. Senescencia: Cuando los tallos comienzan a oscurecer y el 50% de los tallos marrones o negros.

4.2. Efecto del estrés térmico en las plantas

En el mundo en general, el calentamiento, el carácter de los cambios de temperatura en algunas regiones existe el riesgo de falsa primavera, un mayor riesgo si se produce durante las etapas vulnerables de crecimiento de las plantas. Marino *et al.* (2011) ilustran los hallazgos sobre la complejidad del clima, el cual se observa ha cambiado a lo largo del siglo pasado. En su trabajo destacan la importancia sobre la investigación del cambio climático para examinar aún más la sensibilidad de ecosistemas a pequeños cambios en el clima de primavera y para comprender mejor los modos de circulación atmosférica a gran escala que puede conducir las anomalías de temperatura regionales y la variabilidad climática. El cambio climático es probable que no sólo puede aumentar la temperatura media mundial, sino también puede aumentar la variación de la temperatura.

La mayoría de las reacciones químicas de las plantas tienen un óptimo térmico característico y se desaceleran tanto a las temperaturas superiores al óptimo como a las inferiores a él. Esto se debe, en primera instancia, a que la actividad enzimática y la integridad de las membranas celulares son afectadas por temperaturas extremas, el óptimo térmico para el crecimiento y el desarrollo de la planta resulta de la integración de las diferentes respuestas térmicas de procesos fisiológicos concurrentes. Por su parte, la temperatura de la planta, en un momento dado, es el resultado del equilibrio entre la radiación neta absorbida y la disipada por transpiración y convección (Baruch y Fisher, 1991).

Es por ello que la temperatura es el principal factor que determina la adaptación de las especies a diferentes localidades dado que altera diversas funciones vitales. Entre las actividades afectadas están la velocidad de las reacciones químicas; los cambios de estado del agua (hielo - líquido - vapor), cambios en la estructura y actividad de las macro moléculas, las funciones asociadas a la membrana y la actividad enzimática (Fernández y Johnston, 2006). Pudiendo modificar activamente su temperatura, dentro de ciertos límites, por medio de respuestas morfológicas y fisiológicas que afectan su balance energético (Gates, 1980; Nobel, 1983), lo cual depende de su estado de desarrollo y del ambiente térmico anteriormente experimentado, puesto que cada especie posee sus temperaturas cardinales (mínimo, óptimo y máximo) (McWilliam, 1978; Baruch y Fisher, 1991).

Los mecanismos responsables de la resistencia a heladas pueden dividirse en dos tipos: evitación y tolerancia. La evitación o escape es la capacidad de la planta para evitar la formación de hielo en los tejidos; por ejemplo, mediante sobre-enfriamiento. El sobre-enfriamiento consiste en la permanencia del agua en estado líquido a medida que la temperatura disminuye a valores bajo cero (Chaar, 2013). Para que ocurra la evitación, se requiere la ausencia de sustancias de nucleación responsables de generar hielo en el tejido, o una discontinuidad en la fase líquida entre las células sobre-enfriadas y el tejido adyacente que contiene hielo (Burke *et al.*, 1976; Cary, 1985). La tolerancia es la capacidad de la planta de sobrevivir a la formación de hielo extracelular y la consecuente deshidratación celular sin daño irreversible (Cary, 1985).

Según Szalay *et al.* (2010) reportan que el nivel de resistencia a heladas puede ser determinado de manera más precisa mediante pruebas artificiales de enfriamiento, lo cual requiere la utilización de cámaras climáticas controladas, donde los procesos pueden ser modelados, siendo importantes la temperatura de nucleación, la tasa de enfriamiento, la duración de la congelación y la tolerancia a la congelación de las plantas (Gusta *et al.*, 2003).

McWilliam (1978) menciona que en las especies forrajeras sensibles a la temperatura baja, los efectos negativos en el crecimiento ocurren entre 0 y 15°C, y en algunas especies tropicales pueden observarse aun a 20°C, los efectos de las bajas temperaturas se traducen en marchitamiento, reducción del crecimiento, fallas en la germinación de la semilla, en la reproducción y en la muerte de los tejidos, los daños dependen de cuan baja sea la temperatura y del tiempo de exposición a ella. Además de la reducción directa de la tasa fotosintética y del crecimiento, el frío interviene en el control estomático y reduce la conductividad hidráulica de las raíces, efectos que ocasionan severo estrés hídrico (Jones, 1985).

La acumulación de almidón en los cloroplastos es otro efecto del frío, y es una consecuencia del retardo en la translocación de metabolitos y de la disminución de la actividad amilolítica. Esta acumulación limita el crecimiento y produce daños físicos en los cloroplastos (Humphreys, 1981). La síntesis y el transporte de hormonas, principalmente de giberelinas, también resulta afectados por las bajas temperaturas, lo que causa retardos en el crecimiento (Jones, 1985).

Las heladas producen en primer lugar, formación de cristales de hielo en los vasos conductores de las plantas, que van alcanzando a gran velocidad todas las partes del brote; posteriormente, el hielo

pasa a los espacios intercelulares que ocasiona diferencias de presión osmótica entre el interior y el exterior de la célula por lo que, tiene lugar una salida de agua del interior de la célula, provocando una concentración de los compuestos celulares hasta alcanzar niveles tóxicos, precipitación de proteínas, alteraciones en la permeabilidad de la membrana, reducción del volumen celular y cambios en el pH (Levitt, 1980).

Badaruddin y Meyer (2001) reportan que la variabilidad en la muerte de las plántulas de las leguminosas debido a las heladas de primavera en los EE.UU. y Canadá se asocia con varios factores, sin embargo el endurecimiento de la planta es quien aumenta su supervivencia hasta un 40%, también menciona que las leguminosas forrajeras fueron más tolerantes a las heladas que la soya (*Glycine max* L.) y el chícharo (*Pisum sativum* L.) y que el aumento de la duración de la temperatura de congelación disminuye la tolerancia a las heladas de todas las especies cuando la temperatura de congelación estaba cerca de la LT50 (temperatura que mata al 50% de las plántulas).

La deshidratación se considera el mayor estrés que sufren las células heladas (Wisniewski *et al.*, 2003), por eso los genotipos resistentes a heladas son igualmente resistentes a sequía (Chen y Grebowsky, 1978). Las plantas tolerantes a la sequía generalmente realizan una disminución progresiva del potencial osmótico foliar por aumento en la concentración de solutos o por cambios estructurales a medida que aumenta el estrés hídrico, este mecanismo permite el mantenimiento parcial de la turgencia celular a potenciales hídricos bajos y cierto grado de actividad en la planta ya que se mantiene parcialmente la capacidad de absorción de agua y la apertura estomática, reportado para leguminosas forrajeras tropicales (Ludlow, 1978; Fisher y Ludlow, 1984).

Arbaoui *et al.* (2008) mencionan que en regiones frías-templado, el haba se cultiva principalmente como un cultivo de primavera a pesar de que el mayor potencial de rendimiento es del tipo de invierno, evaluaron la resistencia al invierno y tolerancia a las heladas de diferentes genotipos de haba, para cuantificar el efecto de endurecimiento en los rasgos fisiológicos y para identificar rasgos auxiliares para el invierno-resistencia, analizando la composición total de ácidos grasos, contenido de prolina y las fugas de electrolito de las hojas, con lo que revelaron la alta tolerancia a las heladas de varias líneas experimentales resistentes al invierno. Los cambios de ácidos grasos debido al endurecimiento, contenido de prolina y la fuga de electrolitos destacan como los más

fuertemente correlacionados con la tolerancia a las heladas. Se sabe que el cierre de los estomas por cambios externos, como la humedad de aire o del suelo, está controlado por la acción de la hormona ácido abscísico según lo reportado por Cowan (1982), aunque todavía no se ha hallado un método para aprovechar estos efectos con fines agrícolas.

Wisniewski *et al.* (2003), reportan que las especies vegetales herbáceas y leñosas difieren en la forma de expansión del hielo; por lo tanto, las prácticas de manejo tendientes a disminuir el daño por congelamiento también son distintas, en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), la aplicación de caolín hidrofóbico inhibió la congelación inducida externamente; en contraste, las plantas leñosas poseen agentes internos de nucleación, existiendo barreras naturales que inhiben el crecimiento de hielo desde tallos más viejos hacia apéndices laterales, como yemas, flores y brotes en elongación.

4.3. Métodos de prevención del daño por heladas

Uno de los mecanismo de la planta para evitar daños por las heladas es el transporte de sustancias de reserva hacia órganos perennes, la disminución en el contenido de humedad de los tejidos, la transformación de almidón en azúcares solubles y las modificaciones en la composición lipídica de las membranas celulares son algunos de ellos (Gallino *et al.*, 2007). Las reservas nutricionales de los tejidos vegetales pueden ejercer una gran influencia en la capacidad de sobre-enfriamiento, y por lo tanto, de evitación a la congelación, esto debido a la degradación del almidón en compuestos osmóticamente activos, que aumentan la capacidad de sobre-enfriamiento del tejido vegetal, puesto que la congelación intracelular mata a las células instantáneamente debido a los efectos combinados de daño en membranas, deshidratación del simplasto y desnaturalización de proteínas (Keller, 2010). La elección del sitio de cultivo, los cultivares más resistentes a heladas y la implementación de prácticas de manejo, permitirían la disminución en la aplicación del control activo contra heladas, volviendo eficiente el uso de los recursos y disminuyendo el daño ambiental (Chaar, 2013).

Zucconi y Bukovac (1978) mencionan que luego de la ocurrencia de una helada tardía en duraznero, con frutos de 26 mm, la aplicación de ácido giberelico (GA_3) aumento marcadamente el tamaño a madurez de los frutos sin semilla.

Los iones de calcio (Ca⁺) son importantes mensajeros secundarios de las acciones de las hormonas y de factores ambientales, en los que se incluyen el estrés biótico y abiótico en las plantas (Reyes *et al.*, 2013).

La supervivencia de plántulas tanto de alfalfa como de soya fue mayor en el suelo de textura ligera que en el suelo de textura pesada con agua en el suelo a capacidad de campo (Badaruddin y Meyer, 2001). Iqbal *et al.* (2012) menciona que esto es debido a la aplicación de compost, la cual mantiene una alta población bacteriana en la rizósfera mejorando la eficiencia de estos organismos, los cuales mantienen su crecimiento y actividad.

Mehboob *et al.* (2013) menciona que alrededor del 60% de nitrógeno disponible de la tierra se fija a través de la fijación biológica de nitrógeno (FBN), por lo que la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa puede proporcionar más de la mitad de la fuente biológica de nitrógeno fijado. Donde la nodulación y la fijación de nitrógeno es un proceso complejo y depende de la compatibilidad y el potencial de ambos socios de simbiosis *Rhizobium*-leguminosa bajo suelo variable y las condiciones ambientales. Por lo tanto, el uso de medios capaces de mejorar tanto el crecimiento de las leguminosas y el crecimiento de los rizobios la función simbiótica es esencial.

Rodríguez *et al.* (2010) en sus tratamientos establecidos con lombricomposta promovieron un mayor crecimiento de las plantas de cebollita cambray en relación al tratamiento con fertilizante sintético en las variables de peso seco y altura de planta. El resto de las variables de crecimiento y calidad fueron similares.

Escaich *et al.* (1989) le atribuyen a los aminoácidos propiedades protectoras derivadas de su comportamiento en la planta, como es el caso de prolina que ha sido objeto de numerosas investigaciones. En varias especies vegetales se ha visto que la adición exógena de L-prolina en forma libre, confiere al polen una mayor resistencia tanto a elevadas como a bajas temperaturas, elevándose la tasa de germinación de los granos de polen respecto al polen sin adición de prolina. Una aplicación exógena de prolina antes de antesis, ayudó a equilibrar el déficit de prolina provocado por el estrés, elevándose su concentración en el grano de polen y su resistencia frente a factores adversos de temperatura.

5. Literatura citada

- Arbaoui, M., Balko, C., and Link, W. 2008. Study of faba bean (*Vicia faba* L.) winter-hardiness and development of screening methods. *Field Crops Research*, 106(1): 60-67.
- Arias J., H. Jaramillo M., y Rengifo T. 2007. Manual: Buenas Prácticas Agrícolas, en la Producción de Fríjol Voluble. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación), MANA (Gerencia de Seguridad Alimentaria y Nutricional de Antioquia) y CORPOICA (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria). pp: 19-70.
- Ayllón T. 2013. Temperatura del aire. Elementos de meteorología y climatología. 3era edición. Trillas. pp: 53
- Badaruddin, M., and Meyer, D. W. 2001. Factors modifying frost tolerance of legume species. *Crop science*, 41(6):1911-1916.
- Barrios-Gómez, E. J., y López-Castañeda, C. 2009. Temperatura base y tasa de extensión foliar en frijol. *Agrociencia*, 43(1):29-35.
- Baruch, Z., y Fisher, M. 1991. Factores climáticos y de competencia que afectan el desarrollo de la planta en el establecimiento de una pastura. Establecimiento y renovación de pasturas. E. Lascano C. y M. Spain J. (eds). CIAT. Cali. Colombia. pp. 103-142.
- Burke, M. J.; Gusta, L. V.; Quamme, H. A.; Weiser, C. J. y Li, P. H. 1976. Freezing and injury in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol*, 27:507-528.
- Campos A., D., F. 2005. Agroclimatología cuantitativa de cultivos. Trillas. México. pp: 255-266.
- Cary, J. W. 1985. Freeze survival in peach and prune flowers. *Plant Science. Letters*, 37:265-271.
- CENAPRED (Centro Nacional de prevención de desastres). 2016. Heladas y nevadas. <http://132.248.68.83/portal/index.php/riesgos-hidrometeorologicos/heladas-y-nevadas>. Consultada en abril de 2016.
- Cervantes, F. S., Ruiz, R. D., Hernández, C. J., Álvarez, L. A., de la Peña, A. H. 2009. Prácticas agrícolas, descripción morfológica, proteínica y culinaria del grano de cultivares de frijol sembrados en la región de Tlatzala, Guerrero. *Ra Ximhai*, 5(2):187-199.
- Chaar, J. 2013. Resistencia a heladas en plantas frutales. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 17(3):109-121.
- Chen, A. J., and Grebowsky, J. M. 1978. Dynamical interpretation of observed plasmasphere deformations. *Planetary and Space Science*, 26(7):661-672.

- Confalone, A., Ruíz, B., Lizaso, J., y Sau, F. 2011. Modelización de la fenología del haba cv. Alameda. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 43(1):75-84.
- Cowan, I. R. 1982. Regulation of water use in relation to carbon gain in higher plants. In: *Physiological plant ecology; 2: Enciclopedia of plant physiology*. Lange, O. L.; Nobel, P. S.; Osmond, C. B. y Ziegler, H. (eds.). Springer-Verlag, Berlín. pp: 589-613.
- Elías C. F. 2001. *Agrometeorología*. Mundi-Prensa. España. pp: 221-238.
- Escaich, J., Gomis, P., Juncosa, R., y Soler, F. 1989. Estudio de la influencia de los aminoácidos durante la polinización y fecundación. *Horticultura: Revista de industria, distribución y socioeconomía hortícola: frutas, hortalizas, flores, plantas, árboles ornamentales y viveros*, (51):95-103.
- Fernández de C. F. y Marcelino L. G. P. 1986. Etapas de desarrollo de la planta de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). Cali. Colombia. 34 p.
- Fernández, G., y Johnston, M. 2006. Crecimiento y Temperatura. *Fisiología Vegetal*. Squeo, FA y Cardemil, L. (eds.). Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile. 28 p.
- Fisher y Ludlow, M. M. 1984. Adaptation to water deficits in *Stylosanthes*. *The biology and agronomy of Stylosanthes*. Stace, H. M. y Edye, L. A. (eds.). Academic Press, Sydney, Australia. pp: 163-179.
- Fuentes Y. J. L. 2002. *Manual práctico sobre utilización de suelo y fertilizantes*. 2da edición. Mundi-Prensa. Madrid, España. pp: 51-53.
- Gaucín D. 2016. Producción y consumo de legumbres en México. Disponible en http://www.primeaction.com/sp/noticia_sectorial/_produccion_y_consumo_de_legumbres_en_mexico. Consultada el 20 de noviembre de 2016.
- Gallino, J. P.; Fernández, M.; Tapias, R.; Alcuña, M. M. y Cañas, I. 2007. Aclimatación al frío en diferentes clones de *Eucalyptus globulus* Labill durante el régimen natural de endurecimiento. *Boletín Informativo CIDEU*, (4):77-83.
- Gates, D. M. 1980. *Biophysical ecology*. Springer-Verlag, Nueva York. 611 p.
- Gusta, L. V.; Wisniewski, M.; Nesbitt, N. T. and Tanino, K. T. 2003. Factors to consider in artificial freeze tests. *Acta Hort*. 618:493-507.
- Hale G. M., and D. M. Orcutt. 1987. *The Physiology of Plants under Stress*. A Wiley-Interscience Publications. USA. 206 p.

- Hernández, L., Hernández, N., Soto, F., y Pino, M. D. L. A. 2010. Estudio fenológico preliminar de seis cultivares de habichuela de la especie *Phaseolus vulgaris* L. *Cultivos Tropicales*, 31(1): 00-00.
- Humphreys, L. R. 1981. *Environmental adaptation of tropical pasture plants*. MacMillan, Londres. 261 p.
- Ibarquim. 2012. www.Ibarquim.com.mx. Consultada en noviembre 2013.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2000. *Síntesis Geográfica del estado de Puebla*. www.inegi.org.mx. Consultada en enero 2015.
- Iqbal, M. A., Khalid, M., Shahzad, S. M., Ahmad, M., Soleman, N., and Akhtar, N. 2012. Integrated use of *Rhizobium leguminosarum*, plant growth promoting rhizobacteria and enriched compost for improving growth, nodulation and yield of lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72(1):104.
- Jones, C. A. 1985. *C4 grasses and cereals: Growth, development and stress response*. Wiley and Sons, Nueva York. 419 p.
- Keller, M. 2010. *The science of grapevines: anatomy and physiology*. Elsevier. EE.UU. 376 p.
- Labrador M., J. 2001. *La materia orgánica en los agroecosistemas*. 2da. Edición. Mundi-Prensa. Madrid España. 293 p.
- Levitt, J. 1980. *Responses of plants to environmental stresses*. Volume I. 2da Edición. Academic New York. 497 p.
- Lewis, G.P., B. Schrire, B. Mackinder and M. Lock. 2005. Leguminosae or Fabaceae? In: G.P. Lewis, B. Schrire, B. Mackinder and M. Lock. (eds.). *Legumes of the World*. Royal Botanic Gardens, Kew. pp. 1-12.
- Ludlow, M. M. 1978. Stress physiology of tropical pasture plants. *Trop. Grassl*, 14:136-145.
- Machado N., N. B., M., Regina P., A., B., Gatti, V., J., Mendes C. 2006. Temperature effects on seed germination in races of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Acta Sci. Agron*, (28):155-164.
- Mehboob, I., Naveed, M., Zahir, Z. A., and Sessitsch, A. 2013. Potential of rhizosphere bacteria for improving *Rhizobium*-legume symbiosis. In *Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances*, Springer India. pp. 305-349.
- Meier, U. 2001. *Estadios de las plantas mono y dicotiledóneas*. 2da edición. Centro Federal de Investigaciones Biológicas para Agricultura y Silvicultura, Alemania. pp. 33-35

- McWilliam, J. R. 1978. Response of pasture plants to temperatura. En: Wilson. J. R. (ed.). Plant relations in pastures. CSIRO, Melbourne. pp. 17-34.
- Nadal S., M., Moreno T., Cubero J., I. 2004. Las leguminosas de grano en la agricultura moderna. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa. 397 p.
- Nobel P. S. 1983. Biophysical plant physiology and ecology. Freeman, Salt Lake City, Utah. 608 p.
- Reséndiz, M., Aguilar, J., y Luévano, A. 2011. Características de la agricultura protegida y su entorno en México. Revista Mexicana de Agronegocios, 15(29):763-774.
- Reyes, A. J., Álvarez-Herrera, J. G., y Fernández, J. P. 2013. Papel del calcio en la apertura y el cierre estomático y sus interacciones con solutos compatibles. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas, 7(1):111-122.
- Rodríguez O. J.C., O. C. Loreto., J. J. A. Alcalá., S. L. Beltrán., G. J. J. Tapia., M. C. Villar., H. L. García. 2010. Efecto de dosis y momento de aplicación de lombricomposta en la producción de cebollita cambray (*Allium cepa*). Agricultura orgánica-Agrofaz, 10(2):99-106.
- Romero, A. M. T., Moreno, J. R., Valenzuela, T. M., Ruiz, E. E., Martel, I. S. 2015. El papel de las leguminosas en la PAC: realidad y perspectivas. Ambienta: La revista del Ministerio de Medio Ambiente, (112):94-109.
- Ruiz-Ramos, and M. Minguez M. I. 2006. A structural-functional model for phaba-bean crops: morphological parametrisation and verification. Annals of Botany, (97):377-388.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2014. Disponible en <http://www.siap.gob.mx>. Consultada el 20 de mayo de 2016.
- Snyder, R. L., Melo-Abreu J. P. 2010. Protección contra las heladas: fundamentos, práctica y economía. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma. 241 p.
- Solórzano V., E. 2007. Guías fenológicas para cultivos básicos. México. Trillas. pp. 94-96.
- Sousa S., M., R. Medina L., G. Andrade M. y M.L. Rico. 2004. Leguminosas. In: A. García-Mendoza, M.J. Ordóñez y M. Briones-Salas (eds.). Biodiversidad de Oaxaca. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza-World Wildlife Fund. México, D.F. pp. 249-269.

- Szalay, L.; Timon, B.; Nemeth, S.; Papp, J. and Toth, M. 2010. Hardening and dehardening of peach flower buds. *HortSci*, 45(5):761-765.
- White W. J. 1988. Conceptos básicos de la fisiología del frijol. CIAT. Colombia. pp. 25-37.
- Wisniewski, M.; Glenn, D. M.; Gusta, L. V.; Fuller, M.; Duman, J. y Griffith, M. 2003. Using infrared thermography to study ice nucleation and propagation in plants. *Acta Hort*, 618:485-492.
- Zucconi, F. y Bukovac, M. J. 1978. Stimulation of growth of frost-injured peach fruit by gibberellin A3. *Acta Hort*, 80:159-162.

CAPÍTULO I

EFECTO DE HELADA SIMULADA EN VARIEDADES DE FRIJOL DE CLIMA CÁLIDO Y FRÍO EN DIFERENTES ETAPAS VEGETATIVAS

1.1 INTRODUCCIÓN

La región Mesoamericana, es considerada el centro principal de diversidad de las especies cultivadas del frijol y de sus parientes silvestres con cerca de 80 especies del género *Phaseolus* (López *et al.*, 2005), a nivel mundial la cosecha de las distintas variedades de frijol común es alrededor de 29.5 millones de hectáreas por año (Lemus *et al.*, 2015), sin embargo su producción se ve afectada debido a la sensibilidad del cultivo a factores como la temperatura y la disponibilidad de agua dadas por el ambiente (Treviño y Rosas, 2013) y de cuánto se modifique ésta en la región, sobre todo por el cambio climático, la temperatura puede convertirse en un factor que determine su viabilidad física y económica y con ello, las fuentes de ingreso y trabajo que genera (Gay *et al.*, 2004) por lo que las condiciones extremas como las heladas y las sequías pueden causar la pérdida parcial o total del cultivo, lo cual puede ocurrir en condiciones de temporal o de riego, tales condiciones son sensibles a los cambios climáticos regionales e incluso a escala interanual (Ojeda *et al.*, 2014).

En el estado de Puebla, la mayor parte del frijol es sembrado bajo condiciones de temporal (84%) del cual sólo el 9.9% se encuentra protegida contra siniestros (SIAP, 2014). El frijol se siembra bajo los diferentes climas que presenta el estado, que van desde el templado subhúmedo, seco y semiseco, cálido subhúmedo, cálido húmedo y templado húmedo (INEGI, 2016), presentando una adaptación amplia a los diferentes tipos de climas, sin embargo el *P. vulgaris* no tolera temperaturas extremas, por lo que los climas templado húmedos frío y trópico árido muy cálido son desfavorables para su desarrollo (López *et al.*, 2005). Las heladas son un fenómeno meteorológico peligroso en la agricultura debido al alcance que puede tener sobre los cultivos, por lo que los productores deciden arriesgar su producción debido a que este cultivo les aporta un ingreso económico y sobre todo forma parte de su dieta alimentaria.

Los mecanismos y la tipología del daño varían considerablemente de acuerdo a las características fisiológicas de la planta, por lo que los daños por heladas pueden tener un efecto drástico para la

planta entera o únicamente en una pequeña parte del tejido, lo cual depende tanto de la especie como de sus variedades cultivadas, exhibiendo distintos daños por una helada a la misma temperatura y en el mismo estado fenológico, lo cual se refleja en el rendimiento y la calidad del producto (Snyder y Melo-Abreu, 2010).

Levit (1980) menciona que el daño producido por una helada es debido al resultado de la formación de hielo extracelular, el agua se evapora desde la fase líquida dentro de las células y pasa a través de sus membranas semipermeables. Conforme el agua sale de las células, la concentración de solutos aumenta y reduce el riesgo de congelación, sin embargo a medida que el hielo continúa creciendo las células se desecan más y mueren.

En consecuencia la principal causa en la naturaleza del daño por heladas a las plantas es la formación de hielo extracelular, que produce un estrés de agua secundario a las células adyacentes. Por lo que hay una estrecha relación entre las plantas tolerantes a la sequía y las tolerantes a la congelación (Choque *et al.*, 2007), debido a que en las plantas tolerantes a la sequía hacen generalmente un ajuste osmótico, mediante una disminución progresiva del potencial osmótico foliar por aumento en la concentración de solutos o por cambios estructurales a medida que aumenta el estrés hídrico (Baruch y Fisher, 1991), permitiendo el potencial hídrico bajo debido al mantenimiento parcial del turgor, con cierto grado de actividad en la planta, ya que se mantiene parcialmente la capacidad de absorción de agua y la apertura estomática (Ludlow, 1978; Fisher y Ludlow, 1984).

Debido a este fenómeno el objetivo de éste trabajo fue comparar el daño producido por una helada en el vástago y la raíz de las plantas de dos variedades de frijol negro provenientes de clima cálido y dos de clima templado, así como, conocer el grado de tolerancia en sus etapas vegetativas V2, V3 y V4.

1.2 MATERIALES Y MÉTODOS

1.2.1. Variedades utilizadas

El trabajo fue realizado bajo condiciones de invernadero utilizando variedades de frijol provenientes de climas contrastantes del estado de Puebla.

Fueron utilizadas dos variedades criollas de frijol negro provenientes de la región del Valle de Serdán correspondientes a un clima templado C (w''₂) (w) b (i') g (García, 1973), las cuales han sido denominadas VSCP y VS13.

Se utilizaron dos variedades de frijol negro de la comunidad de Izúcar de Matamoros con clima cálido Aw'' o (w) (i') g (García, 1973), nombradas IM17 e IM42.

1.2.1.1. Siembra de las variedades de frijol en invernadero

La siembra de las cuatro variedades de frijol se realizó en bolsas negras con 12 cm de diámetro, las cuales fueron llenadas con suelo agrícola y la semilla depositada a una profundidad de 2 cm, considerando cuatro repeticiones para cada etapa vegetativa, las cuales fueron fertilizadas el mismo día de la siembra con la fórmula 40-40-00 utilizando como fuentes nitrato de amonio y súper fosfato de calcio triple para aportar nitrógeno y fósforo respectivamente.

1.2.1.2. Etapas vegetativas consideradas

La identificación de cada una de las etapas de frijol se basó en las características mencionadas por Escalante y Kohashi (1993). Las etapas evaluadas fueron: V2 (formación de hojas simples), V3 (primera hoja trifoliada) y V4 (tercera hoja trifoliada), considerando el inicio de cada etapa a partir de que las hojas estaban totalmente desplegadas y en posición horizontal.

1.2.2. Helada simulada

A cada planta se le realizó una preparación previa a la helada, que consistió en registrar su temperatura del suelo y posteriormente nebulizar con agua purificada utilizando un aspersor manual, permitiendo que la humedad estuviera distribuida por toda la planta con la finalidad de simular las condiciones que se presentan en campo. Para la simulación de la helada a 0°C se utilizó un Congelador de la marca Thor Rey modelo CV 32, en el cual se colocaron las cuatro repeticiones por cada variedad de frijol, las cuales fueron distribuidas bajo un diseño completamente al azar por 90 min, considerados a partir de que la temperatura interna del congelador marcara los 0°C., al pasar los 90 min de la helada se sacaron las plantas de la cámara de crecimiento y se tomó nuevamente la temperatura del suelo. Realizando este proceso en cada una de las etapas vegetativas.

1.2.3. Evaluación del daño en el vástago

A las 48 h de la helada simulada, las plantas fueron extraídas de la bolsa en la que se encontraban, retirando la tierra de la raíz, posteriormente fue lavada cuidadosamente evitando la pérdida de los nódulos. Se obtuvo la altura de las plantas medida a partir del cuello de la raíz hasta el ápice del epicótilo. El daño producido en el vástago de las plantas se determinó asignando un porcentaje de acuerdo a la cantidad de área dañada por la helada, mediante una escala ascendente del 0 el cual corresponde a ningún daño a 100, correspondiente al daño total del órgano.

Las estructuras de la planta: lámina foliar, peciolo, hipocótilo, epicótilo y raíz fueron separadas, las partes dañadas y no dañadas de cada órgano fue colocado en bolsas de papel por separado, se metieron a un horno de convección gravitacional de la marca Thermo forma, modelo 3478 por un periodo de 48 horas a una temperatura constante de 80°C (Díaz-Ruiz *et al.*, 2008). El peso seco de cada una de las partes se obtuvo con una balanza analítica de la marca ADAM modelo PW254.

1.2.4. Tinción de los nódulos de la raíz

La raíz fue colocada en una caja Petri para realizar una tinción de los nódulos con cloruro 2, 3, 5-Trifeniltetrazolio (para microbiología) preparando una solución al 0.1% (Moreno, 1984) la cual fue incorporada sobre la caja Petri hasta cubrir en su totalidad la raíz durante 1 h (Figura 1.1), posteriormente se contaron los nódulos teñidos que corresponde a la cantidad de nódulos activos, y los no teñidos a nódulos inactivos. La raíz fue colocada en una bolsa de papel, la cual se introdujo en el horno de convección gravitacional para obtener el peso seco.

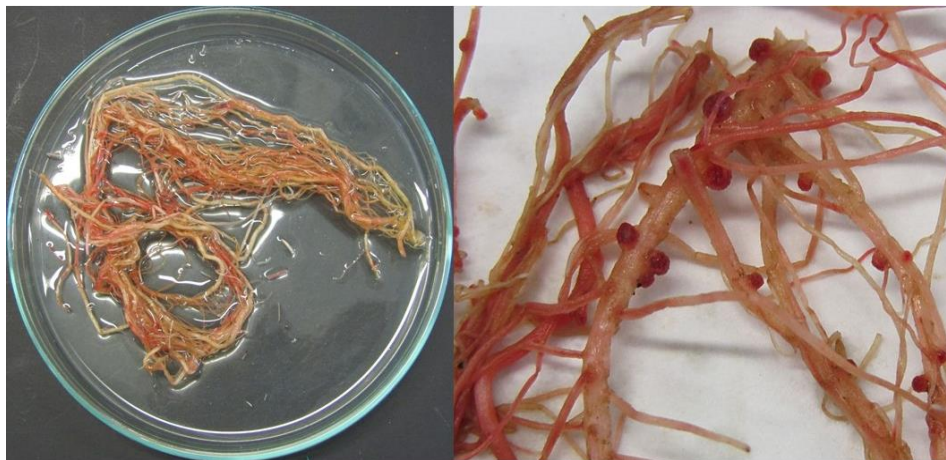


Figura 1. 1. Tinción de nódulos de raíz con sal cloruro 2, 3, 5-Trifeniltetrazolio, del lado derecho se muestran los nódulos activos en color rojo.

1.2.5. Análisis de los datos

Se utilizó el programa SAS 9.0 para obtener el análisis de varianza y detectar las diferencias estadísticas entre las variedades de frijol ($\alpha=0.05$), la prueba de separación de medias Tukey con objeto de identificar las variedades de frijol negro más tolerantes a la helada.

1.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.3.1. Daño por la helada en el vástago

El daño producido por la helada simulada sobre las diferentes variedades, presentó la misma tendencia en el vástago, el cual se refleja en el incremento de sensibilidad al daño por la helada conforme se desarrollan las plantas hacia la parte final de la fase vegetativa (Figura 1.2), presentando un daño menor al 21% en las variedades durante la etapa V2, mientras que el daño en la etapa V4 fue mayor al 70% con las variedades de IM42 y IM17, lo cual concuerda con lo mencionado por Elías (2001) y Salas (2002) quienes han reportado que el daño por heladas depende del estado fenológico y madurez de los tejidos. El mayor daño por la helada en la etapa V2 se registró en las variedades IM42 (20.8%) e IM17 (16.2%) que son cultivadas en un ambiente caluroso, mientras que las variedades VS13 (0.5%) y VSCP (4.44%) cultivadas en un ambiente templado, presentaron el menor daño en la misma etapa. Lo cual coincide con lo mencionado por Eguiarte *et al.* (2011) quienes evaluaron tres variedades de frijol en Jalisco, las cuales en el estado de plántula, la temperatura base y el requerimiento térmico fue similar para las tres variedades provenientes de la misma región geográfica, presentando para esa etapa temperatura base cercano a 9°C.

El daño en las plantas en la etapa V3 incrementó gradualmente en las variedades, manteniéndose IM42 (37.8%) e IM17 (32.5%) con el mayor daño en el vástago, las variedades VSCP (14.4%) y VS13 (9.4%) con menor daño (Figura 1.2). En la variedad IM17 (92.6%) aumento el daño en la etapa V4, siendo más acentuado en el vástago, seguida de la variedad IM42 (68.8%), mientras que las variedades VS13 (27.2%) y VSCP (37%) mantuvieron el menor daño en el vástago de las plantas.

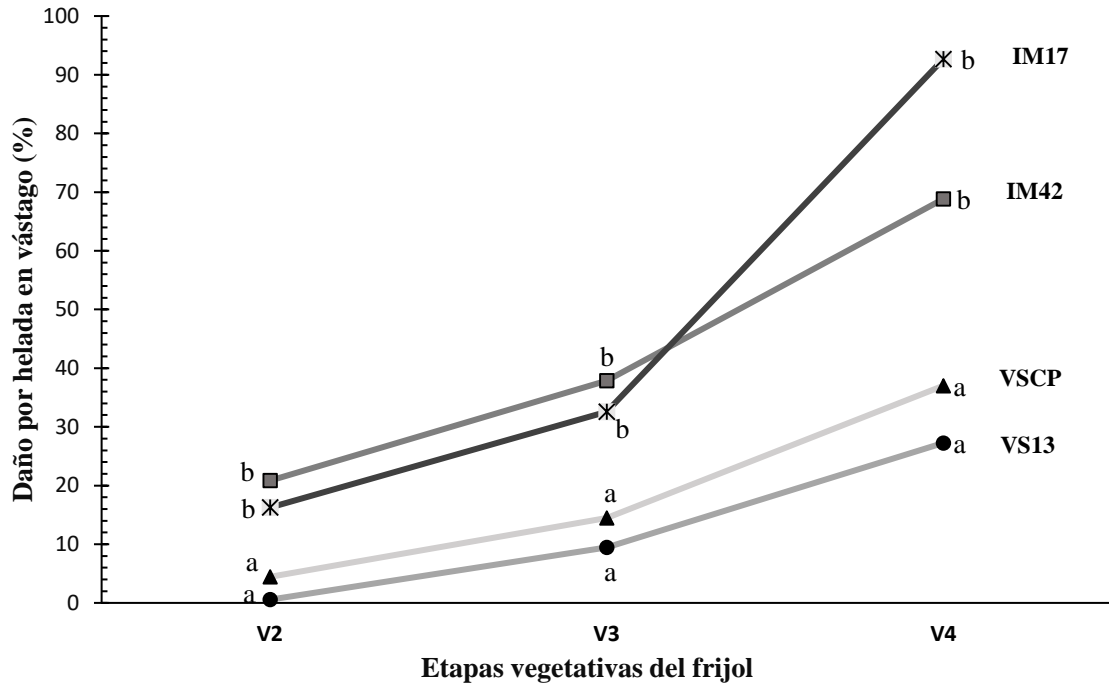


Figura 1. 2. Porcentaje de daño por la helada en el vástago de las plantas en las variedades de frijol, 48 h después de la helada en las diferentes etapas vegetativas. Letras distintas representan diferencia significativa ($p \leq 0.05$). V2: Hojas primarias, V3: Primera hoja trifoliada, V4: Tercera hoja trifoliada.

La respuesta de las plantas a las bajas temperaturas dependió de la etapa vegetativa y del tipo de clima del cual era procedente, hecho relacionado con que cada especie posee sus temperaturas mínima, óptima y máxima definidas que pueden ser parcialmente modificadas por la aclimatación (Baruch y Fisher, 1991), por lo que es posible establecer grupos con base en sus áreas de adaptación climáticas (Avenidaño *et al.*, 2004) asociada con los cambios en el patrón de expresión de genes y sus productos proteicos, donde las proteínas son los principales actores en la mayoría de los eventos celulares que participan directamente en las respuestas de las plantas ante las bajas temperaturas (Janmohammadi *et al.*, 2015).

1.3.2. Distribución del peso seco

El daño por la helada en las plantas de las variedades de Izúcar de Matamoros y del Valle de Serdán presentaron daños en sus estructuras en diferente magnitud (Figura 1.3), por lo que la distribución del peso seco dañado y sano también varió dependiendo del órgano afectado y de la región de la cual era originaria en las diferentes etapas vegetativas del frijol.

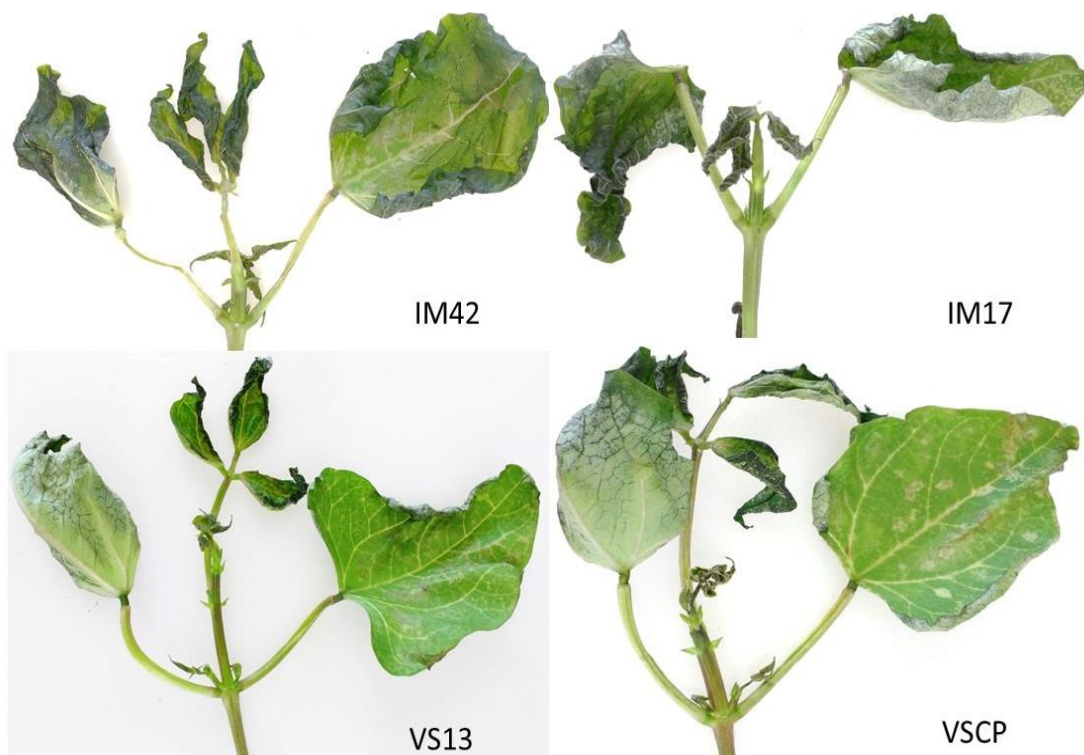


Figura 1. 3. Incidencia de la helada en la etapa V3 del frijol en las variedades de Izúcar de Matamoros y Valle de Serdán.

La prueba de medias Tukey muestra que en la etapa V2 el peso seco total de las plantas fue mayor con las variedades IM17 (0.2909 g) y VS13 (0.2902 g) (Figura 1.4). El daño por la helada se presentó solo en las láminas foliares, siendo mayor el peso seco de hojas dañadas (PSHoD) con la variedad IM17 (0.07 g) seguida de la variedad IM42 (0.07 g), mientras que el mayor peso seco de hojas sanas (PSHoS) fue con la variedad VS13 (0.126 g) debido a que fue la variedad que presentó el menor daño por la helada (Figura 1.2), esta variedad también presentó la mayor altura (18.33 cm) seguida de la variedad VSCP (13 cm).

En la etapa V3 el peso seco total de planta fue con la variedad VS13 (0.7 g) seguida de VSCP (0.6 g) (Figura 1.4), en esta etapa las hojas y los peciolo presentaron un daño significativo entre las distintas variedades, mostrando el mayor daño las plantas de frijol provenientes de la región de Izúcar de Matamoros, el PsHoD fue mayor en la variedad IM42 (0.37 g), seguido de IM17 (0.29 g), mientras que el peso seco de peciolo dañados (PsPecD) fue con IM42 (0.004 g). En esta etapa la altura de las plantas no varió con respecto a la etapa V2, la variedad VS13 presentó la mayor altura (18.5 cm) seguida de la variedad VSCP (13.2 cm).

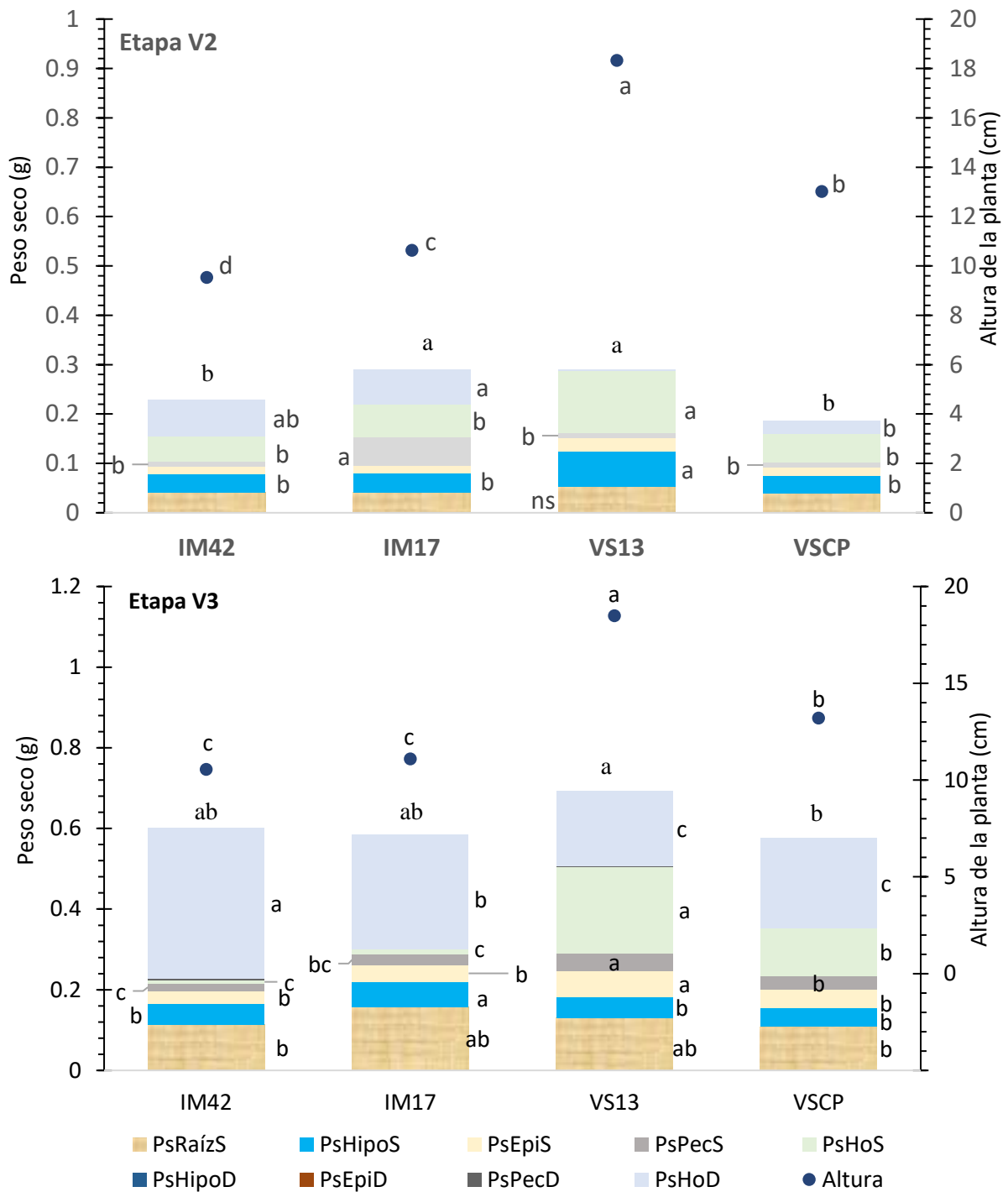


Figura 1. 4. Distribución del peso seco de variedades provenientes de Izúcar de Matamoros y Valle de Serdán en las etapas V2 y V3. Letras iguales no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$). PsHoD: Peso seco de hoja dañada, PsPecD: Peso seco de peciolo dañado, PsEpiD: Peso seco de epicótilo dañado, PsHipoD: Peso seco de hipocótilo dañado, PsHoS: Peso seco de hojas sanas, PsPecS: Peso seco de peciolo sano, PsEpiS: Peso seco de epicótilo sano, PsHipoS: Peso seco de hipocótilo sano, PsRaízS: Peso seco de raíz sana.

En la etapa V4 se tuvo diferencias significativas en el peso seco total de la planta, la variedad VS13 presento la mayor acumulación de su peso con 1.8 g (Figura 1.5) mientras que el peso seco más bajo fue con la variedad IM42 con 1.5 g. El daño por la helada afectó los diferentes órganos de la planta, sobre todo en las variedades provenientes de Izúcar de Matamoros. El mayor PsHoD fue con la variedad IM17 (0.84 g), mientras que el menor PsHoD con VS13 (0.4 g). El PsPecD, PsHipoD y PsEpiD no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos. La mayor altura de las plantas fue con la variedad VSCP (31.8 cm) y VS13 (29 cm).

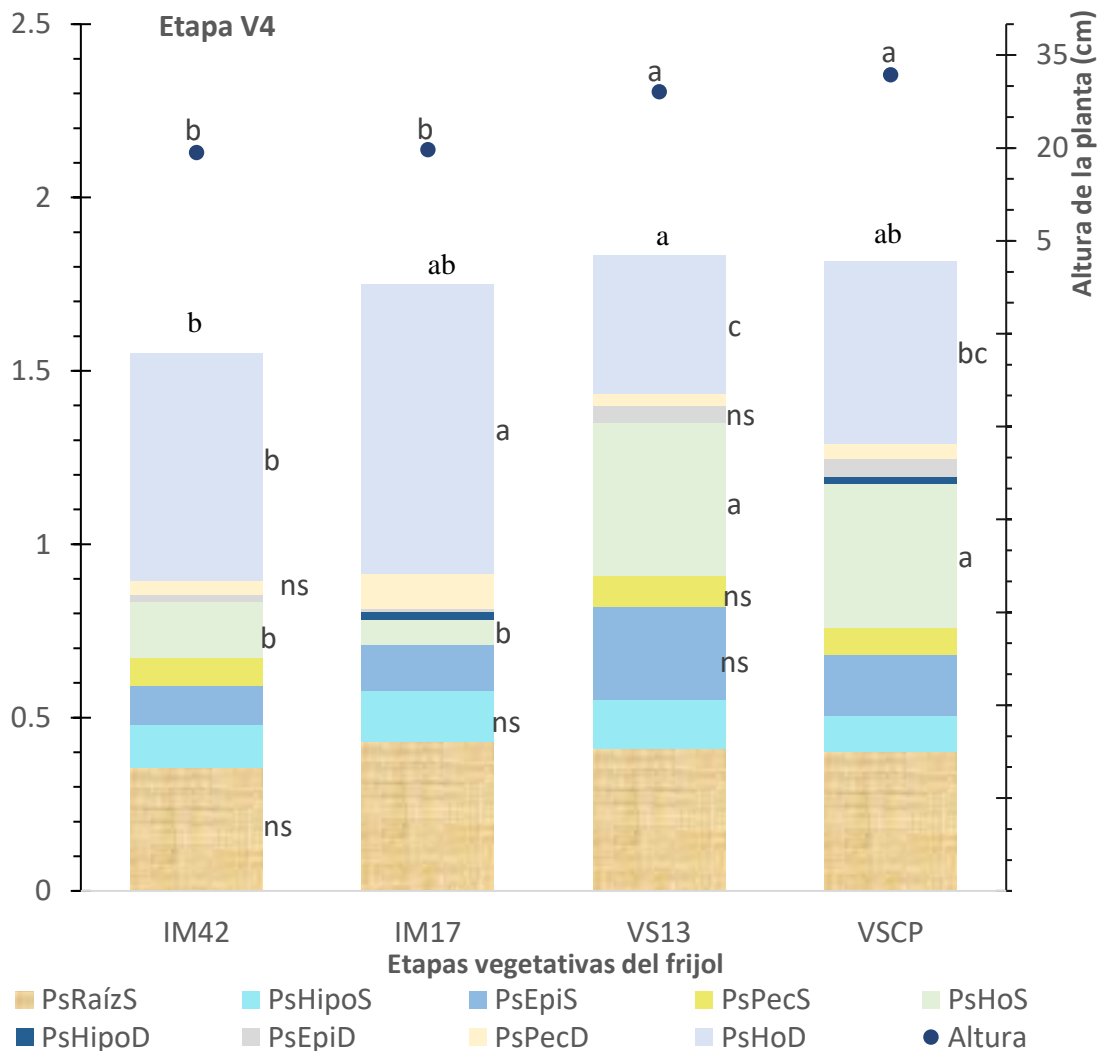


Figura 1. 5. Distribución del peso seco de variedades provenientes de Izúcar de Matamoros y Valle de Serdán en la etapa V4. Letras iguales no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$). PsHoD: Peso seco de hoja dañada, PsPecD: Peso seco de peciolo dañado, PsEpiD: Peso seco de epicótilo dañado, PsHipoD: Peso seco de hipocótilo dañado, PsHoS: Peso seco de hojas sanas, PsPecS: Peso seco de peciolo sano, PsEpiS: Peso seco de epicótilo sano, PsHipoS: Peso seco de hipocótilo sano, PsRaízS: Peso seco de raíz sana.

En las diferentes etapas la lámina foliar fue el órgano que exhibió el mayor daño, por lo que se reflejó en el peso seco dañado de las plantas, sobre todo en la etapa V4 donde la magnitud del daño por la helada fue mayor que en las etapas V2 y V3. Las hojas se encontraron expuesta directamente al estrés provocado por la helada, las cuales brindaron cierto grado de protección a peciolos y parte del tallo. Barrales *et al.* (2002) en su reporte durante el fenómeno de helada, observó que el follaje de genotipos de maíz fue más sensible muriendo con heladas ligeras, suceso que coincide con lo reportado por García *et al.* (2004) durante la evaluación de 10 variedades de olivo, quienes detectaron que las hojas fueron más sensibles a la helada y que los tallos mueren únicamente con heladas más intensas.

Las variedades VS13 y VSCP presentaron la menor acumulación de materia seca dañada por la helada, por lo que la adaptación de las variedades de frijol a un clima templado explica la mayor resistencia de las plantas a la helada en las etapas V2, V3 y V4, puesto que son variedades que han sido sembradas y por lo tanto adaptadas a las condiciones climáticas de la región del Valle de Serdán, mientras que las variedades de Izúcar de Matamoros han sido cultivadas en lugares cálidos y adaptados por lo tanto a ellos, pudiendo presentar una temperatura óptima de crecimiento que está en torno a los 16-21°C, dándose el mínimo a los 10°C según Nadal *et al.* (2004), mientras que Barrios-Gómez y López-Castañeda (2009) sugieren que la temperatura más baja a la que las hojas dejan de crecer es de 8.3°C para las variedades de frijol en México.

En cualquiera de los casos la temperatura base más baja a la cual puede desarrollarse el frijol es muy alta, comparada a la temperatura de la helada a la cual fueron expuestas las plantas (0°C), por lo que los efectos fueron muy marcados en las diferentes etapas vegetativas del frijol, sobre todo en las plantas que no presentaban adaptación a tal condición ambiental, esto se puede atribuir a que la temperatura es el factor principal que determina la adaptación de las especies a diferentes localidades, lo cual ha desfavorecido a las variedades IM42 y IM17, dado que la temperatura altera diversas funciones vitales, como la velocidad de las reacciones químicas; los cambios de estado del agua (hielo-líquido-vapor), cambios en la estructura y actividad de las macro moléculas, las funciones asociadas a la membrana y la actividad enzimática (Fernández y Johnston, 2006).

Aunque durante el suceso de una helada se favorece la formación de hielo extracelular que produce un estrés de agua a las células adyacentes, sugiriendo una relación entre las plantas tolerantes a la

sequía y las tolerantes a la congelación, resulta difícil generalizar un patrón común sobre la respuesta de las plantas al déficit hídrico, Medrano *et al.* (2007) exponen que es debido a la duración e intensidad variable de déficit hídrico y a la variedad de modificaciones fisiológicas, morfológicas y de ciclo de vida que existen como caracteres constitutivos (adaptaciones) y como respuestas a largo (aclimatación) y a corto plazo (regulación) de la especie.

1.3.3. Daño por la helada en la raíz

En la raíz no se detectó daño por la helada, debido probablemente a que el sustrato en la cual se encontraba le dio protección ante la temperatura ambiental de 0°C, permitiendo que se mantuviera arriba de los 8°C (Figura 1.6), debido a ello los nódulos no presentaron daño significativo a las 48 h de la exposición a la helada, por lo que la cantidad de nódulos activos incrementó de manera normal sin que se viera afectada por las bajas temperaturas registradas en el suelo.

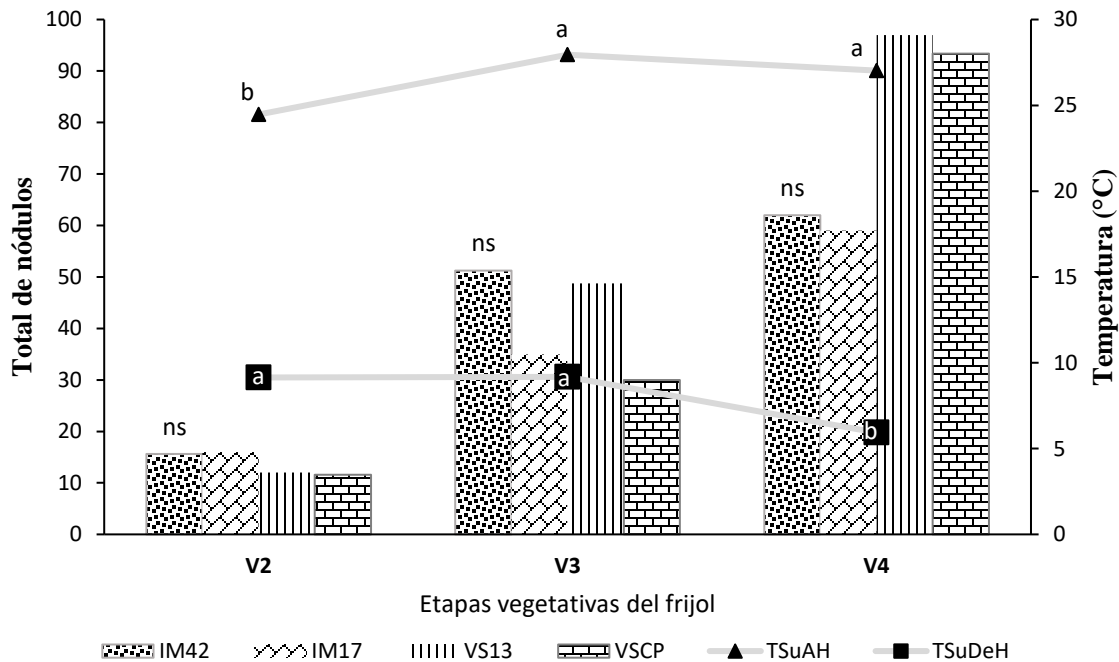


Figura 1. 6. Temperatura del suelo antes (TSuAH) y después (TSuDeH) de la helada y número de nódulos totales para cada variedad en las etapas vegetativas V2, V3 y V4 ($p \leq 0.05$).

La diferencia en el número total de los nódulos se debió a las diferencias en el patrón de colonización y abundancia rizobial en sus diferentes tejidos a través de las diversas etapas de

crecimiento de acuerdo a lo mencionado por Maití *et al.* (1992) sobre el incremento de nódulos de acuerdo al desarrollo fenológico de la planta.

1.4 CONCLUSIONES

La comparación de variedades de climas cálidos y templado, permitió conocer su comportamiento ante el estrés producido por heladas, con lo que se detectó que existe una misma tendencia del grado de daño en las plantas, el cual incrementa conforme se desarrollan las plantas hacia la fase reproductiva, presentando el mayor daño en la etapa V4 en las cuatro variedades. Sin embargo, el daño fue mayor en las variedades de clima cálido en las etapas vegetativas evaluadas, por lo que la adaptación previa a sus climas de origen les confiere el grado de sensibilidad a las bajas temperaturas. Las hojas son el principal órgano afectado por la helada. La raíz y los nódulos no presentaron daños significativos porque la helada no afectó drásticamente el ambiente radical.

1.5 LITERATURA CITADA

- Avendaño C. H., Ramírez P., Castillo F., Chávez J. L., Rincón G. 2004. Diversidad isoenzimática en poblaciones nativas de frijol negro. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27:31-40.
- Barrales D. J. S., Livera M. M., González H. V. A., Peña V. C., Kohashi-Shibata J., Castillo G. F. 2002. Relaciones térmicas en el sistema suelo-planta-atmósfera durante la incidencia del fenómeno de enfriamiento o helada. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 25:289-297.
- Barrios-Gómez, E. J., y López-Castañeda, C. 2009. Temperatura base y tasa de extensión foliar en frijol. *Agrociencia*, 43(1):29-35.
- Baruch, Z., y Fisher, M. 1991. Factores climáticos y de competencia que afectan el desarrollo de la planta en el establecimiento de una pastura. *Establecimiento y renovación de pasturas*. E. Lascano C. y M. Spain J. (eds). CIAT. Cali. Colombia. pp. 103-142.
- Choque E., Espinoza R., Cadima X., Zeballos J., Gabriel J. 2007. Resistencia a heladas en germoplasma de papa nativa de Bolivia. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 14(1):24-32.
- Díaz-Ruiz, R., Kohashi-Shibata, J., Yañez-Jiménez, P., y Escalante-Estrada, A. 2008. Growth and allocation of dry matter in bean seedlings developed up to the senescence of the cotyledons. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 73(4):203-210.

- Eguiarte, D. R. G., Corral, J. A. R., Ildefonso, R. L., Ávila, A. G., Alcocer, E. L., Ojeda, G. R. y Puga, N. D. 2011. Expectativas de adaptación al cambio climático de tres variedades de frijol en Jalisco. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (2):337-350.
- Elías C. F. 2001. *Agrometeorología*. Mundi-Prensa. España. pp: 221-238.
- Escalante EJA, Kohashi SJ. 1993. El rendimiento y crecimiento del frijol. Manual para la toma de datos. Colegio de Postgraduados. pp:15-20.
- Fernández, G., y Johnston, M. 2006. Crecimiento y Temperatura. *Fisiología Vegetal*. Squeo, FA y Cardemil, L. (eds.). Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile. 28 p.
- Fisher M. J., y Ludlow M. M. 1984. Adaptation to water deficits in *Stylosanthes*. En: Stace, H. M. y Edey, L. A. (eds.). *The biology and agronomy of Stylosanthes*. Academic Press, Sydney, Australia. pp. 163-179.
- García A, Navero DB, Del Campo MG. 2004. Evaluación de la tolerancia a helada de diez variedades de olivo. *Agricultura: Revista agropecuaria*, 869:958-963.
- Gay C, Estrada F, Conde C, Eakin H. 2004. Impactos potenciales del Cambio Climático en la agricultura: escenarios de producción de café para el 2050 en Veracruz (México). *El Clima, entre el Mar y la Montaña*. 4:651-660.
- INEGI. 2016. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. <http://www.inegi.gob.mx>. Consultada en junio 2016.
- Janmohammadi M., Zolla L., and Rinalducci S. 2015. Low temperature tolerance in plants: Changes at the protein level. *Phytochemistry*. 117:76-89.
- Lemus, D. M., Piedra, S. D. G., y Rico, L. D. F. 2015. Análisis Sectorial y de la Dinámica de los Precios del Frijol en México. *Compendium: Cuadernos de Economía y Administración*, 2(3):1-21.
- Levitt J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Volume II. Water, radiation, salt, and other stresses (No. Ed. 2). Academic Press. 647 p.
- López S., J L; Ruiz Corral, J A; Sánchez González, J d J; Lépiz Ildefonso, R. 2005. Adaptación climática de 25 especies de frijol silvestre (*Phaseolus* spp) en la república mexicana. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 28(3):221-230.
- Ludlow, M. M. 1978. Stress physiology of tropical pasture plants. *Trop. Grassl*. 14:136-145.
- Maití RK, García MR, Wong LG, Olvera HAL. 1992. Desarrollo estructural de nódulos de diferentes genotipos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Universidad y Ciencia*. 9(18):28-36.

- Medrano, H., Bota, J., Cifre, J., Flexas, J., Ribas-Carbó, M., y Gulías, J. 2007. Eficiencia en el uso del agua por las plantas. *Investigaciones Geográficas*. España, (43):63-84.
- Moreno ME. 1984. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Universidad Nacional Autónoma de México. pp:169-77.
- Nadal S., M., Moreno T., Cubero J., I. 2004. Las leguminosas grano en la agricultura moderna. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España. 397 p.
- Ojeda G. R., Corral J. A. R., Mendoza C., García R. V., Mungía S. M., Puga N. D. 2014. Impactos del cambio climático en la distribución geográfica de *Gossypium hirsutum* L. en México. *Revista Mexicana de Ciencias agrícolas*, (10):1885-1895.
- Salas E. R. 2002. Fertilización foliar de plantas ornamentales. In: Fertilización foliar principios y aplicaciones. Meléndez G. y Molina E. (eds). Universidad de Costarica. pp: 67-76.
- SIAP. 2014. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <http://www.siap.gob.mx>. Consultada el 20 de mayo de 2016.
- Snyder, R. L., Melo-Abreu J. P. 2010. Protección contra las heladas: fundamentos, práctica y economía. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma. 241 p.
- Treviño Q. C. y Rosas Q. R. 2013. El frijol común: Factores que merman su producción. *La Ciencia y el Hombre*. 26(1). Disponible en electrónico: www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol26num1/articulos/el-frijol.htm. Consultada el 15 de noviembre de 2016.

CAPÍTULO II

EFFECTO DE LAS HELADAS EN ETAPAS FENOLÓGICAS DEL FRIJOL Y HABA

2.1 INTRODUCCIÓN

Las especies de leguminosas que destacan por ser las más importantes a nivel mundial son el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), chícharo (*Pisum sativum* L.), garbanzo (*Cicer arietinum* L.) y haba (*Vicia faba* L.) (Nadal *et al.*, 2001). En la dieta humana las leguminosas forman parte fundamental en nuestra cultura agronómica y culinaria la cual ha sido arraigada desde tiempos prehispánicos (Romero *et al.*, 2015), siendo el frijol el de mayor consumo para los mexicanos. Sin embargo el ciclo y crecimiento responden a intervalos de temperaturas críticas en función de los requerimientos de calor necesarios para su desarrollo (Barrios-Gómez *et al.*, 2011).

En los Valles Altos de México, que comprende los estados de Puebla, México, Tlaxcala, Veracruz y Michoacán, el haba ha adquirido mayor importancia para pequeños productores, donde cerca del 90% de la superficie sembrada es bajo condiciones de temporal, debido a que es una especie tolerante al frío y que se puede asociar o intercalar con otras especies como el maíz, calabaza y papa debido a la fijación biológica de nitrógeno por lo que puede crecer bajo diferentes condiciones de fertilidad y regímenes de humedad (Orozco *et al.*, 2013; Pérez *et al.*, 2014; Salazar *et al.*, 2015).

Para los productores de escasos recursos, su trascendencia se debe a que en los últimos años el precio de su grano osciló de \$20.00 a \$40.00, dependiendo de su sanidad y tamaño, y en años de escasez \$61.00 a \$76.00 por kilogramo. Además su valor proteínico (23%) es superior al del maíz (8%) y similar al porcentaje proporcionado por el frijol *Phaseolus vulgaris* L. (20%) (Pérez-López *et al.*, 2015).

El clima y la disponibilidad de agua son factores que determinan la productividad de las distintas especies cultivadas, situación que se agrava en las principales regiones productoras del país que registran períodos con bajos niveles de temperatura para el frijol y haba. Las heladas son un tipo de estrés ambiental que logra provocar daños económicos considerables, debido a la pérdida parcial o total de su cosecha, además de limitar su distribución, puesto que en regiones con índices altos por incidencia de heladas la siembra de algunas leguminosas como el frijol, puede ser afectada, por lo que la superficie sembrada se reduce en éstas zonas.

Diferentes tipos de estrés bióticos y climáticos como las heladas sobre las plantas de frijol y haba, ha provocado que algunas de ellas hayan desarrollado mecanismos de resistencia, siendo una característica de suma importancia para los cultivos, ya que pueden determinar la factibilidad de obtener cosechas aceptables (Chaar, 2013), sin embargo en muchas de las especies el proceso es lento, por lo que dentro de su ciclo de desarrollo se localizan etapas susceptibles a temperaturas desfavorables, sobre todo en su fase reproductiva (Luo, 2011), lo cual provoca que los rendimientos y la calidad de su producto se vean alterados por el estrés.

El objetivo de este capítulo fue evaluar y detectar las etapas más sensibles y las más tolerantes a las heladas de las especies de frijol y haba, bajo estrés producido por la simulación de una helada sobre el vástago de las plantas en las fases vegetativas y reproductivas de ambas especies, y determinar si la cantidad de agua en el suelo de las plantas de haba en la etapa de floración, influyen en el daño por la helada.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1. Variedades utilizadas

Se utilizó un frijol negro colectado en la comunidad de Tepeyahualco de Cuauhtémoc, Puebla., es una variedad de hábito indeterminado arbustivo puesto que el tallo presenta en su parte terminal un meristemo vegetativo que le permite eventualmente seguir creciendo, formando más nudos y entrenudos, presentando hábito de crecimiento tipo II, caracterizado por un desarrollo floral y vegetativo simultáneo (Fernández y Marcelino, 1986).

Se utilizó una variedad de haba tipo *major* color amarillo, proveniente de la región del Valle de Serdán.

2.2.1.2. Etapas fenológicas evaluadas

Las etapas consideradas para el estudio de frijol fueron V1, V2, V3, V4, R6, R7 y R8 (Figura 2.1) la identificación de cada una de las etapas fue basada en las características mencionadas por Escalante y Kohashi (1993).

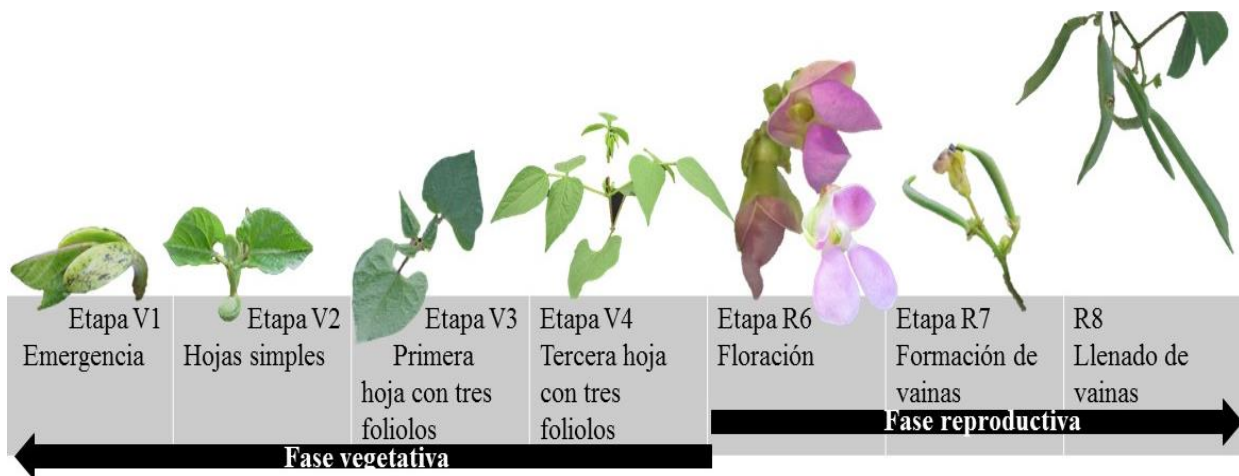


Figura 2. 1. Fases fenológicas con la característica propia de cada etapa del frijol, consideradas para evaluar el grado de daño provocado por una helada simulada.

Las etapas fenológicas del haba fueron identificadas bajo la descripción de la BBCH (Basch-Bayer-Ciba-Hoerchst) la cual considera 10 estadios principales de crecimiento, numerados del 0 al 9 los cuales describen tiempos amplios en el curso del desarrollo de la planta por lo cual se usa un segundo dígito para especificar los estadios secundarios de crecimiento y describir con precisión fases cortas del desarrollo de las plantas, ocurriendo durante un determinado estadio principal de desarrollo (Meier, 2001). Fueron consideradas tres etapas vegetativas del haba (V9, V15, V21). (Figura 2.2) y dos etapas de la fase reproductiva (R51 y R63).

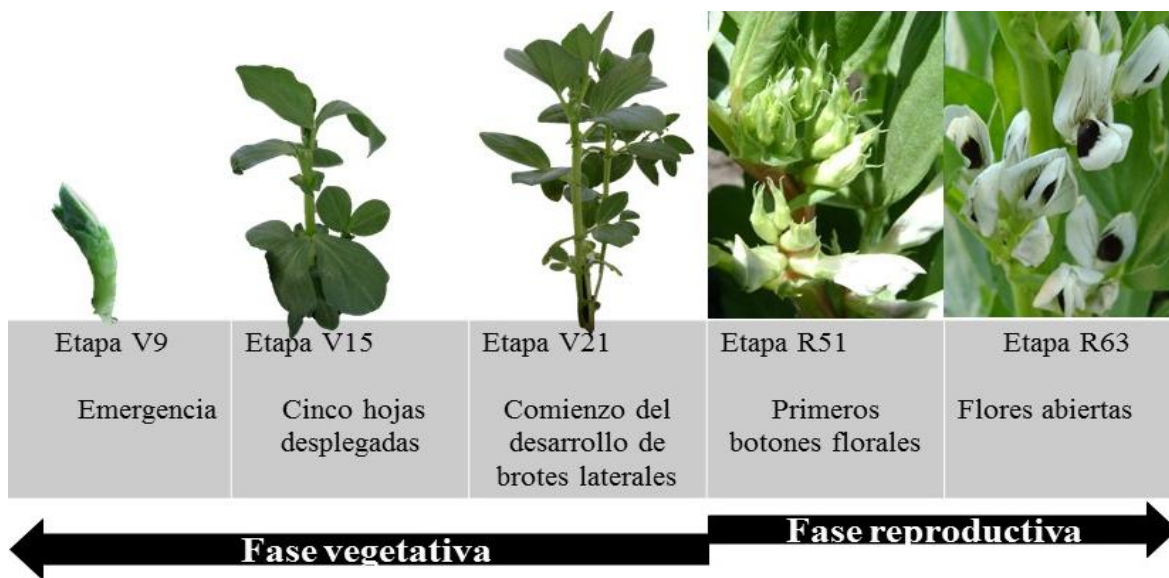


Figura 2. 2. Fases fenológicas con la característica propia de cada etapa del haba, consideradas para evaluar el grado de daño provocado por una helada simulada.

2.2.2. Siembra y desarrollo de las plantas en invernadero

Las plantas se desarrollaron en macetas de 21 cm de diámetro y 30 cm de alto, utilizando suelo agrícola. La siembra se realizó al depositar dos semillas a 2.5 cm de profundidad y fertilizando el mismo día con las fuentes nitrato de amonio y súper fosfato de calcio triple, dosis basada con la fórmula 40-40-00 para N y P respectivamente. Al momento de la emergencia de las plántulas se realizó un aclareo, permitiendo el desarrollo de una sola planta por maceta, el riego normal se realizó cada tercer día y el deshierbe manual cada vez fuera necesario.

2.2.2.1. Evaluación de humedad en el suelo en la etapa de floración del haba

En plantas durante la etapa R63 se detuvo el riego 2, 4 y 6 días antes de simular la helada, para evaluar el daño con diferente porcentaje de humedad en el suelo (HS) mediante el método termogravimétrico (Flores y Alcalá, 2010), el cual consistió en llevar las plantas a laboratorio y antes de meterlas a la cámara de crecimiento para simular la helada, se tomó una muestra de suelo de cada maceta y colocada en un envase de aluminio (de peso conocido), pesar la muestra en húmedo y posteriormente colocarla en una estufa de secado a 105°C por 48 h, posteriormente se obtuvo el peso seco de la muestra. El porcentaje de la humedad en el suelo se obtuvo mediante la siguiente fórmula.

$$HS = \frac{Pmh - Pms}{Pms} \times 100$$

Dónde: El porcentaje de la humedad en el suelo (HS) se obtiene, mediante la diferencia entre los valores obtenidos del peso de la muestra en húmedo (Pmh) y el peso de la muestra en seco (Pms) entre el peso seco de la muestra en seco y el resultado de la operación multiplicado por 100.

2.2.3. Simulación de una helada en cámara de crecimiento

Cada una de las etapas fenológicas de frijol y haba fueron evaluadas por separado, por lo que se seleccionaron cuatro plantas (repeticiones) que estuvieran al inicio de la etapa vegetativa o reproductiva a evaluar. Las cuatro repeticiones, fueron introducidas a la cámara de crecimiento bajo un diseño de bloques completamente al azar, para evitar posibles variaciones de temperatura dentro de la misma cámara de crecimiento.

Fue utilizada una Cámara Ambiental para Crecimiento de la marca *Barnstead Lab-Line* modelo 845. Previo a introducir las plantas a la cámara de crecimiento se rotularon las plantas colocando la etapa fenológica en la que se encontraba y el número de la repetición, se registró la temperatura del suelo antes de la helada (TSuAH) con un termómetro digital modelo vwr eu 609-0910 y posteriormente sobre el área foliar, se nebulizó agua con un atomizador manual, verificando que estuviera distribuida sobre la superficie de toda la planta, sin exceder su aplicación, evitando la acumulación del agua en los órganos de la planta.

2.2.3.1. Preparación de raíces en la etapa R50 para evaluar daño por helada

En las plantas de haba en la etapa R50 antes de la helada, se extrajeron de la maceta y fue lavada su raíz, para tenerla totalmente limpia, se cortó el vástago de la planta a 15 cm de la raíz, para colocar la raíz sobre una charola de 2 cm de profundidad. La raíz fue nebulizada con agua y metida a la cámara de crecimiento.

2.2.3.2. Programación de la temperatura de la cámara de crecimiento

La cámara de crecimiento se programó a 0°C, se colocó un Termómetro de precisión (división 0.1°C), marca Brannan dentro de la cámara de crecimiento para verificar que la temperatura fuera la correcta, al alcanzar la temperatura los 0°C se introdujeron las repeticiones de la etapa fenológica deseada (una etapa fenológica por helada). Las plantas se mantuvieron a temperatura constante de 0°C durante 90 minutos.

2.2.4. Evaluación del daño producido por la helada

Inmediatamente de transcurridos los 90 minutos de la helada, cada una de las plantas fueron sacadas de la cámara de crecimiento y tomada su temperatura del suelo (TSuDeH) con el termómetro digital, a las 48 horas se realizó una evaluación visual del daño producido por la helada sobre el vástago de las plantas, asignando un porcentaje dentro de la escala del 0 al 100, donde cero corresponde a ningún daño y valores ascendentes cercanos al 100 corresponden un incremento en el daño, por lo que 100% correspondió a un daño total en el vástago de las plantas (Figura 2.3).

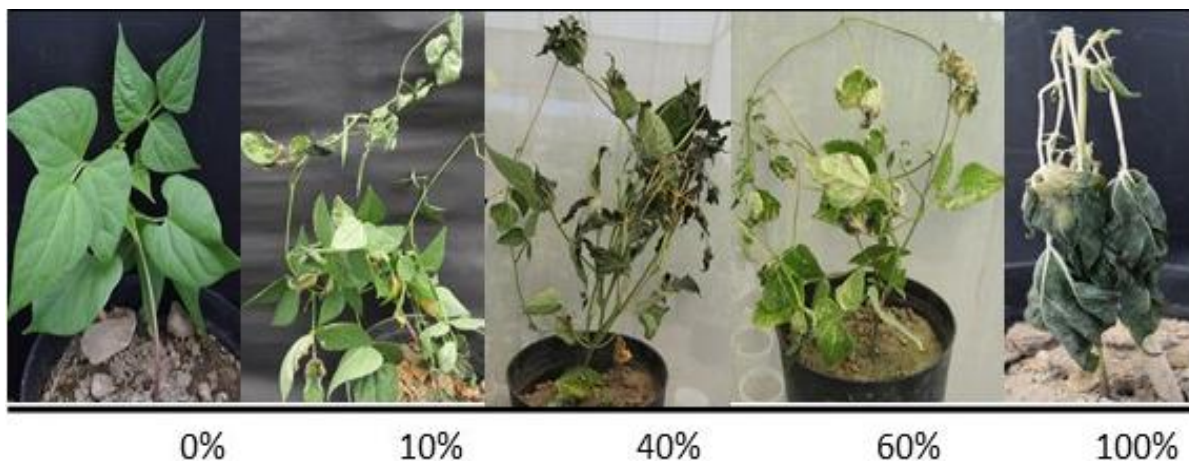


Figura 2. 3. Evaluación en porcentaje de daño en las plantas 48 horas después de la helada.

Con los datos obtenidos del registro de temperatura del suelo y del porcentaje de daño en el vástago (%DV) de las plantas, se realizó un análisis de varianza de las variables medidas ($p \leq 0.05$) y la comparación de medias se realizó al calcular la diferencia significativa con Tukey, mediante el programa SAS 9.0 para Windows.

2.2.4.1. Apreciación del daño por la helada en la raíz de plantas de haba en la etapa R50

Después de la helada, las raíces del haba fueron colocadas en vasos de precipitado con capacidad de 1000 mL, vertiendo sobre ellas una solución con sal de tetrazolio al 0.1% sumergiendo en su totalidad a la raíz por 60 minutos. Después fueron observados los cambios en la coloración de los nódulos y la raíz, determinando la diferencia de los nódulos activos e inactivos.

2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.3.1. Temperatura del suelo en las etapas fenológicas del frijol

En las diferentes etapas de frijol la temperatura del suelo fue diferente, el análisis de varianza mostró que hay una diferencia significativa en los valores de TSuAH y TSuDeH. La mayor TSuAH se presentó en la etapa V2 (26.8°C) (Figura 2.4), seguida de la etapa V4 (25.25°C) mientras que la temperatura más baja fue en la etapa R6 (21.43°C).

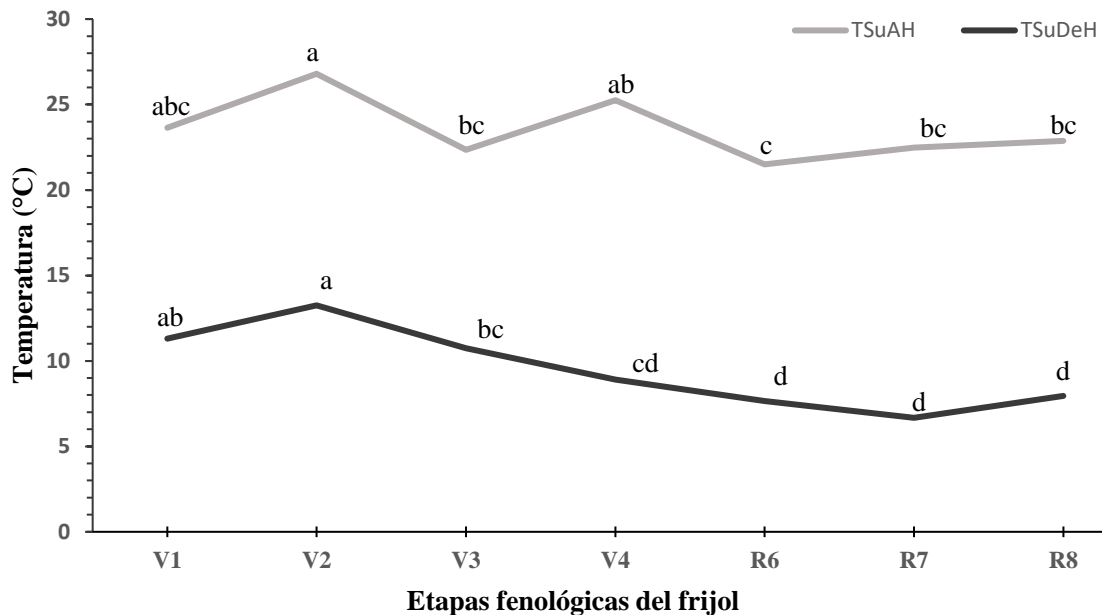


Figura 2. 4. Temperatura del suelo antes y después de la helada en las diferentes etapas de desarrollo del frijol. Letras iguales no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$). TSuAH: Temperatura antes de la helada; TSuDeH: Temperatura después de la helada.

Después de los 90 minutos de la helada simulada la TSuDeH fue mayor en la etapa V2 (13.2°C) (Figura 2.4) seguida de la etapa V1 (11.3°C), mientras que la temperatura más baja se reportó con las etapas de la fase reproductiva R6 (7.6°C), R7 (6.6°C) y R8 (7.9°C)

La temperatura del suelo después de la helada no disminuyó a los 0°C presentados en el ambiente, lo cual coincide con lo obtenido por Domínguez *et al.* (2002) quienes reportan que a la temperatura del suelo en cultivo de maíz en campo fue de 16.8°C , temperatura mayor a la atmosférica donde se reporta valores bajo cero.

2.3.1.2. Daño por la helada en el vástago de las plantas de frijol

El análisis de varianza mostró que hay diferencia significativa en los valores del porcentaje del daño en el vástago (%DV) en las diferentes etapas fenológicas, las plantas manifestaron una sensibilidad diferente con forme avanzó su desarrollo, el menor daño se observó en la etapa V2 con 2.5% (Figura 2.5), mientras que la etapa V4 presentó un daño del 100% en el vástago, las etapas R6, R7 y R8 mostraron una estabilidad en el %DV cercano al 75%.

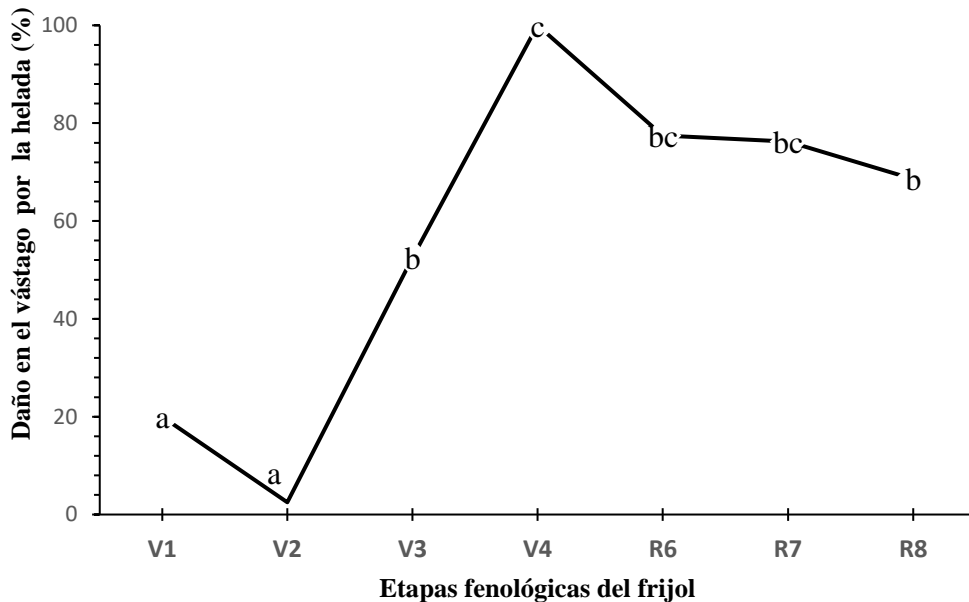


Figura 2. 5. Porcentaje de daño en el vástago del frijol 48 h después de la helada simulada en las diferentes etapas vegetativas ($p \leq 0.05$). Letras iguales no son significativamente diferentes. V1: Emergencia, V2: Hojas primarias, V3: Primera hoja trifoliada, V4: Tercera hoja trifoliada, R6: Floración, R7: Formación de vainas y R8: Llenado de vainas.

El daño provocado en la etapa V1 pudo corresponder a que el tallo mantiene mayor cantidad de agua en sus tejidos y menor área foliar que proteja al vástago (Figura 2.6 a), por lo que las bajas temperaturas pudieron favorecer la congelación de esa agua, con lo que beneficia la formación de cristales de hielo, al cual se agregan moléculas de agua adecuadamente orientadas en la estructura cristalina que hacen crecer el cristal a medida que el proceso de congelación avanza (Barreiro y Sandoval, 2006), considerada como una de las causas principales que afectan las células como resultado del crecimiento de masa de hielo extracelular, lo cual además de romper tejidos, provoca un estrés de agua secundario a las células inmediatas, por lo que tales células no pudieron rehidratarse, provocando una concentración de los compuestos celulares hasta alcanzar niveles tóxicos, precipitación de proteínas, alteraciones en la permeabilidad de la membrana, reducción del volumen celular y cambios en el pH (Levitt, 1980) (Figura 2.6 b), pudiendo efectuar cambios fisiológicos a consecuencia de la baja temperatura (Domínguez *et al.*, 2002; Peña-Valdivia *et al.*, 2002).

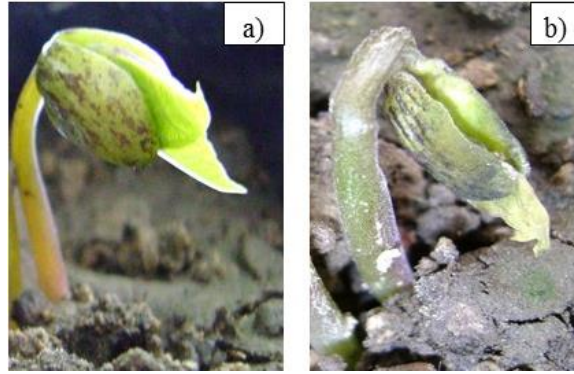


Figura 2. 6. a) Plantas en etapa V1 (emergencia), planta con las hojas aun dentro de los cotiledones, después de la helada simulada. b) Vista de las plantas a las 48 horas de la helada, observando que las plantas no han podido rehidratarse en su totalidad.

El daño en el vástago de las plantas en la etapa V2 no es mayor al 2.5% debido probablemente a que las reservas de la semilla del frijol, son destinadas al crecimiento longitudinal de la plántula y la acumulación de biomasa (Celis-Velázquez *et al.*, 2008) y a que las hojas simples se encuentran desplegadas realizando fotosíntesis, lo cual permite a la planta tener gran cantidad de nutrientes disponibles, este hecho pudo conferirle mayor resistencia al estrés provocado por la helada. Las reservas nutricionales de los tejidos vegetales pueden ejercer una gran influencia en la capacidad de sobre-enfriamiento, y por lo tanto, de evitación a la congelación, ya que el almidón de manera indirecta aumenta en sí mismo la resistencia al frío debido a que es osmóticamente inerte (Keller, 2010; Chaar, 2013).

La etapa V4 es el período que limita el término de la fase vegetativa y el comienzo de la fase reproductiva, por lo que el daño total en el vástago de las plantas de esta etapa, pueden deberse a que en ellas se presenta el mayor movimiento de asimilados ya que es una variedad de hábito indeterminado arbustivo, por lo que se debe cumplir con la demanda de nutrientes que requieran las hojas y las nuevas estructuras reproductivas.

Los órganos con mayor daño en el vástago de las etapas R6, R7 y R8 del frijol, fueron las hojas más jóvenes y el tallo cercano a la parte apical (Figura 2.7 a), mientras que el menor daño se presentó con las hojas localizadas en la parte basal de la planta, probablemente las hojas presentan mayor proporción de grasas, proteínas y carbohidratos simples, mientras que el tallo una mayor cantidad de lignina y fibras (Escalante-Estrada *et al.*, 2015), lo cual les confirió mayor resistencia a sus tejidos, además de que la epidermis de las hojas tiene la función de protección y regulación

de la pérdida de agua, por lo que ambas funciones proporcionan a la planta un mecanismo fundamental para adaptarse a un ambiente dinámico que permite el intercambio físico activo entre las partes aéreas de las plantas y la atmósfera (Medina *et al.*, 2015). Sin embargo, las estructuras reproductoras como botones, flores y vainas en desarrollo, fueron dañadas en su totalidad (Figura 2.7 b, c y d), lo que podría estar reflejado en la disminución o pérdida total de la producción de grano, provocando un efecto negativo sobre la economía de los productores, debido a que en estas etapas la temperatura alcanzada es crítica, la necesaria para producir un daño irreversible en los órganos reproductores, mientras que en las etapas V2 y V3 la tolerancia fue mayor, coincidiendo con lo reportado por Snyder y Melo-Abreu (2010) sobre la etapa de emergencia como una de las etapas más tolerantes.

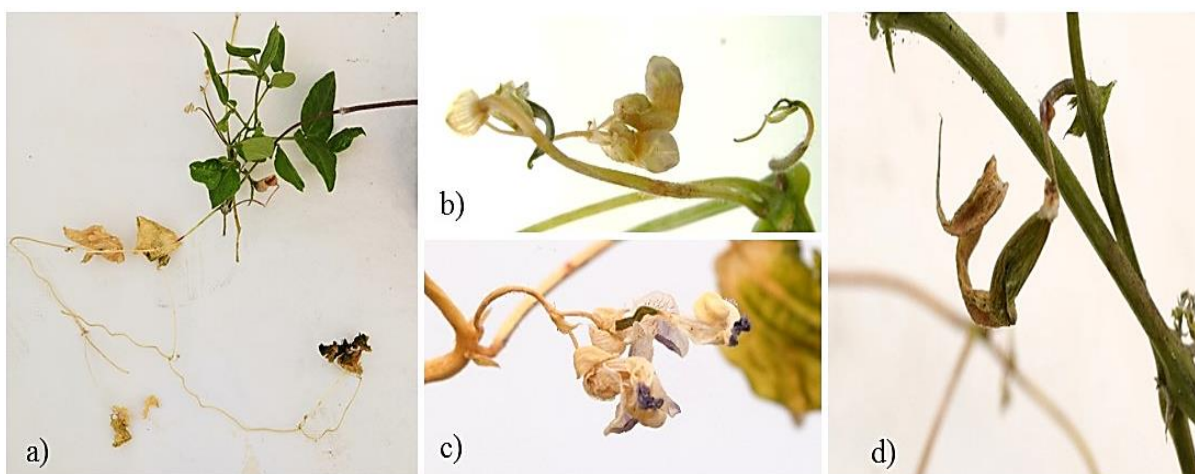


Figura 2. 7. a) Daño por la helada en las hojas y tallo más jóvenes en etapa R7, b) botones, c) inflorescencia y d) formación de vaina dañados por la helada.

2.3.2. Temperatura del suelo en las etapas fenológicas del haba

El análisis de varianza para las variables de temperatura de suelo, fueron significativas entre las etapas fenológicas de desarrollo del haba. La TSuAH en la fase vegetativa del haba se mantuvo en torno a los 25°C (Figura 2.8). Sin embargo, en la fase reproductiva fue cercana a los 17°C. La TSuDeH en las etapas 15 (7.8°C) y 21 (6.7°C) fue la más baja, mientras que la TSuDeH más alta fue en las etapas V9 (10.8°C), V51 (10.9°C) y R63 (11°C).

El haba a diferencia del frijol, presentó una mayor temperatura del suelo después de la helada simulada en la fase reproductiva, esto pudiera deberse a que el haba presenta mayor cubierta vegetal que el frijol, lo cual evitó el enfriamiento del suelo. El menor follaje del frijol, permitió

que el suelo se enfriara más rápido, cuya diferencia fue de 3 a 4°C entre ambas especies después de la helada, lo cual coincide con lo mencionado por Barrales (1997) en su trabajo sobre la asociación maíz-frijol, como alternativa para agricultura con problemas de heladas, quien menciona que la cubierta vegetal permite mayores niveles de temperatura en el suelo, pues en periodo de invierno, el suelo se enfría más rápido en suelos cubiertos por plantas pequeñas que aquellos con mayor cubierta vegetal.

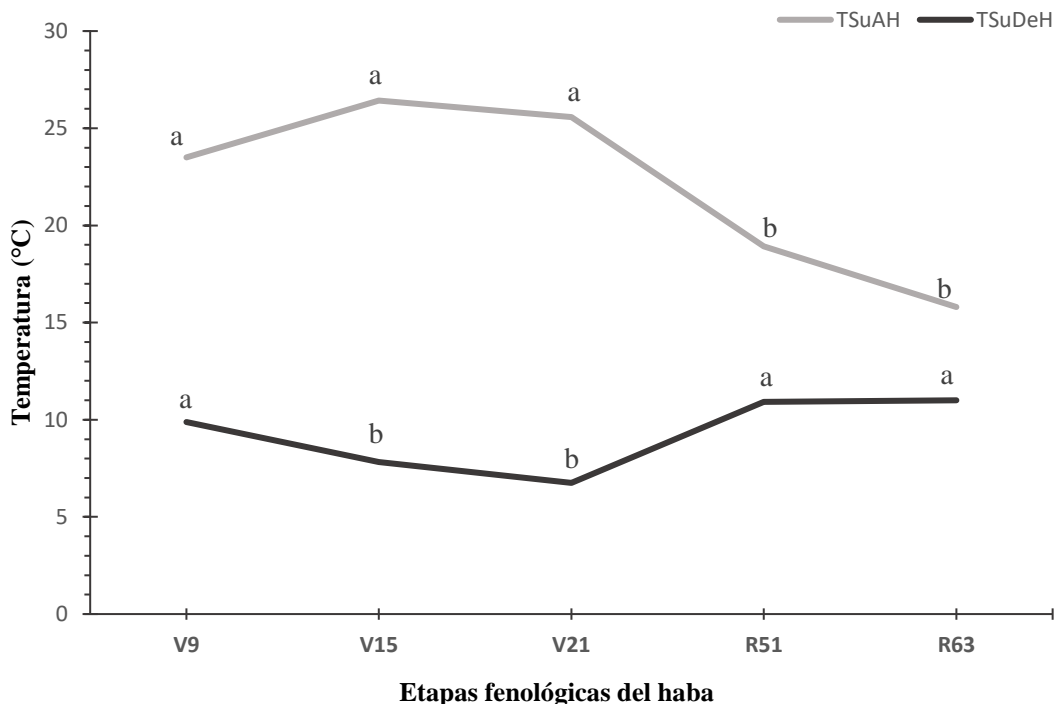


Figura 2. 8. Temperatura del suelo antes y después de la helada en las diferentes etapas de desarrollo del haba. Letras iguales no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$). TSuAH: Temperatura antes de la helada; TSuDeH: Temperatura después de la helada.

2.3.2.1. Daño por la helada en el vástago de las plantas de haba

El haba ante la presencia de la helada manifestó un daño menor al causado en el frijol, el daño causado por la helada incrementó su intensidad en forma gradual conforme avanzaba en sus etapas de desarrollo (Figura 2.9) presentando el mayor daño en la etapa de floración (17.5%) y el menor en la etapa V9 (0%). Sin embargo, la especie manifestó una alta tolerancia a las heladas (Arbaoui y Link, 2008; Bautista y Cabrera, 2004), debido a que es una especie que puede desarrollarse bajo un ambiente de clima templado-frío (Arbaoui *et al.*, 2008), por lo que el grado de daño en el vástago fue menor, sobre todo en el tallo, que en promedio fue más resistente a las heladas que las

hojas, coincidiendo con Arbaoui y Link (2008) en su trabajo realizado con genotipos conocidos y varias líneas experimentales de haba donde observaron una alta tolerancia a las heladas, debido a la correlación significativa en la composición de ácidos grasos, contenido de prolina y fuga de electrolitos con su resistencia al invierno.



Figura 2. 9. Porcentaje de daño en el vástago del haba 48 h después de la helada simulada en las diferentes etapas vegetativas ($p \leq 0.05$). Letras iguales no son significativamente diferentes.

2.3.2.2. Daño por la helada simulada en haba bajo diferentes niveles de humedad en el suelo

El daño por helada en plantas con seis días sin riego (3.2% de humedad en el suelo) fue del 98% (Figura 2.10), mientras que el menor daño por helada en el vástago (17.4%) se presentó en las plantas con 2 días sin riego (20% de HS), lo cual coincide con lo mencionado por Plies-Balzer *et al.* (1995), refiriéndose a que en la etapa de floración es extremadamente sensible al estrés hídrico, por lo que el daño de la helada fue evidente.

La helada y el estrés hídrico previo a la helada, provocó sobre el vástago mayor sensibilidad a las baja temperatura, lo cual intensificó el porcentaje de daño en el vástago con respecto a las plantas con humedad en el suelo igual al 20%, coincidiendo con lo mencionado por Covarrubias (2007) quien señala que la respuesta de las plantas antes un estrés hídrico provoca una afectación en su morfología, fisiología y metabolismo principalmente sobre el vástago de las plantas.

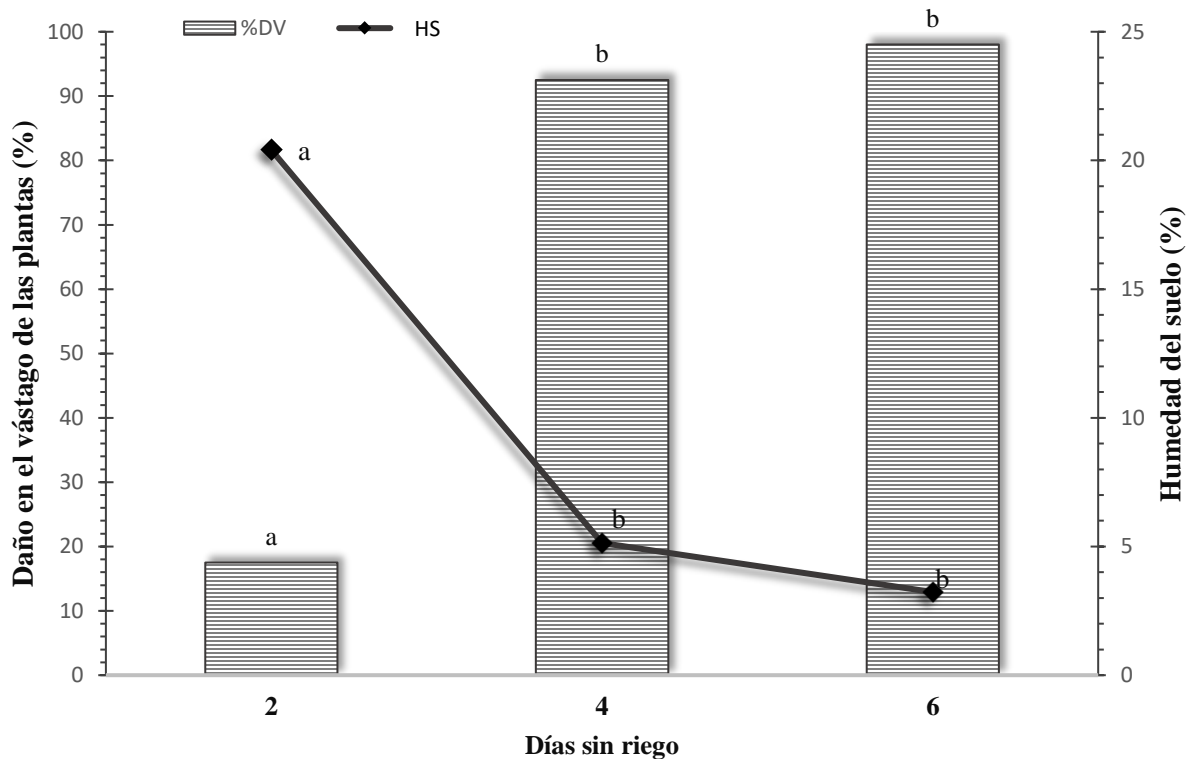


Figura 2. 10. Porcentaje de daño por helada en el vástago del haba, con diferente porcentaje de humedad en el suelo ($p \leq 0.05$). Letras iguales no son significativamente diferentes.

En las plantas, al momento de sacarlas de la cámara de crecimiento se observó marchitamiento en las hojas (Figura 2.11 a). Sin embargo, a las 48 horas de la evaluación de los efectos de la helada, las hojas y el tallo de las plantas con el 20% de humedad en el suelo no presentaron daño pero en las flores se observaron daños ligeros (Figura 2.11 b).

En las plantas con el 5.1% de humedad en el suelo, los principales órganos dañados fueron las flores y las hojas, el tallo no reflejó daño por la helada (Figura 2.11 c). Las plantas con el mayor daño en el vástago fueron las que tuvieron 3.2% de humedad en el suelo, donde las hojas y flores se dañaron en su totalidad y el tallo presentó manchas necrosas (Figura 2.11 d). Heladas por radiación son un estrés abiótico y uno de los principales factores limitantes para la producción agrícola en todo el mundo. Mera (1999) menciona que el haba se considera la leguminosa más sensible a la falta de agua, específicamente durante la floración y llenado de grano, incrementando los abortos florales y disminuye la fijación de nitrógeno.

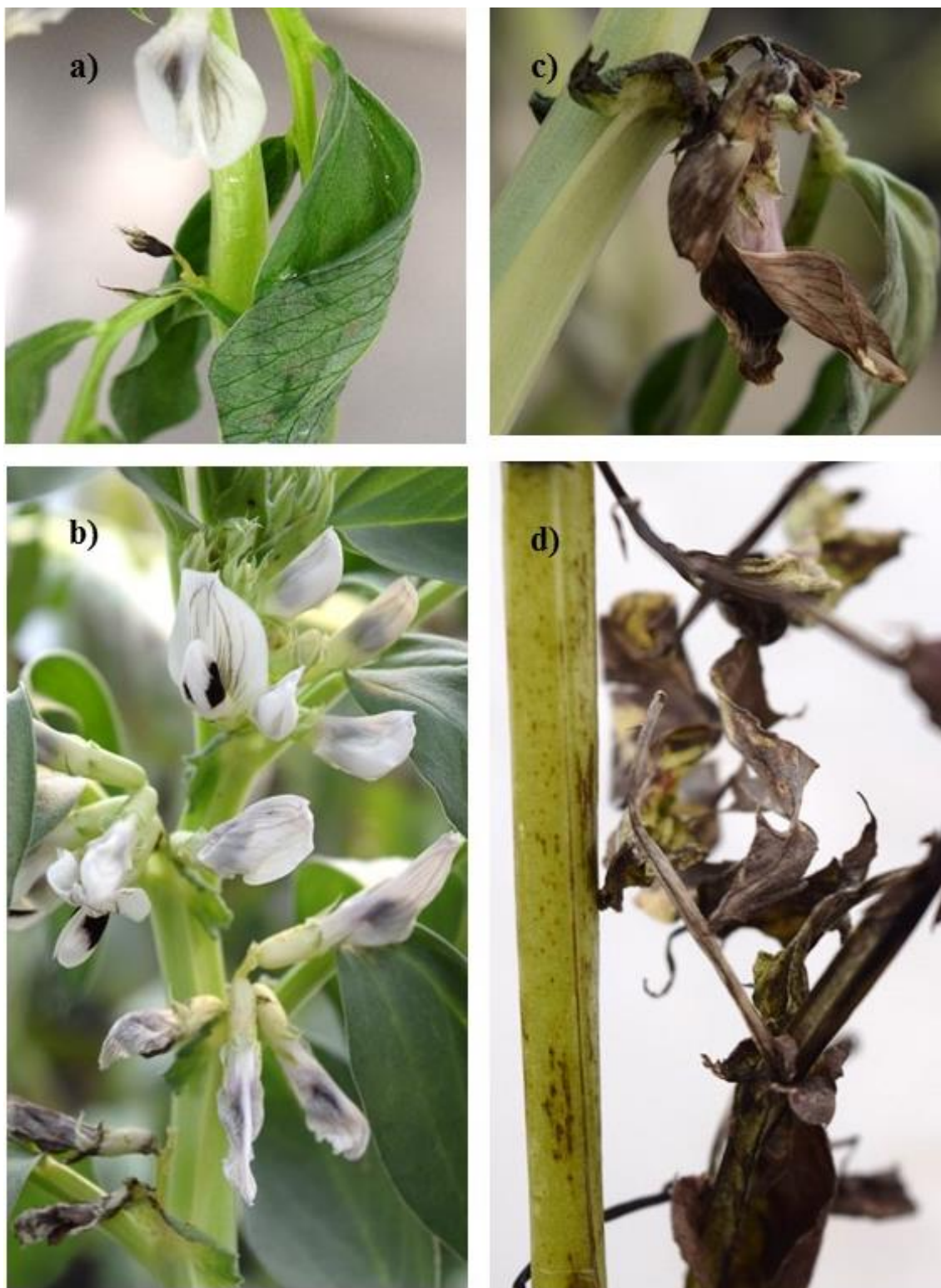


Figura 2. 11. Planta de haba inmediatamente después de la helada simulada a), daño en plantas de haba 48 h después de la helada con 20% de humedad en el suelo b), 5.1 % c) y 3.2% de humedad en el suelo 48 h después de la helada d).

2.3.2.3 Efecto de la helada simulada sobre la raíz del haba

La raíz del haba antes de la helada presentó nódulos color rosado en forma globular y de guante (Figura 2.12 a).



Figura 2. 12. Raíz de haba en etapa R50 antes de la helada a) y después de la helada b), se muestra la coloración de la raíz después de la tinción con sal de tetrazolio c), los nódulos activos se presentaron en coloración rojiza d) y los inactivos en color negro, la misma tonalidad que la raíz dañada e).

Después de la helada a 0°C por 90 minutos, la raíz fue sacada de la cámara de crecimiento, la cual presentaba rigidez debido al agua congelada sobre su superficie (Figura 2.12 b), con ligero oscurecimiento, mientras que en los nódulos se intensificó su coloración. Después de la tinción de la raíz con sal tetrazolio, los tejidos presentaron una forma necrosa (Figura 2.12 c), los nódulos activos en coloración roja (Figura 2.12 d) y los nódulos inactivos en color negro y tonalidades de verde e).

2.4 CONCLUSIONES

Las etapas más tolerantes en el frijol fueron la V2 y V3 mientras que la etapa vegetativa V4 presentó el mayor daño en el vástago (100%), no obstante, la helada en las etapas R6 y R7 provocó daños irreversibles en las flores y en la formación de vainas. Las plantas de haba fueron más tolerantes, presentándose el mayor daño en la etapa de floración (R63) con el 17% de daño en el vástago, principalmente sobre las flores con daños ligeros. Sin embargo, con el 3.2% de humedad en el suelo, el daño fue del 98%.

El daño provocado por la helada fue mayor en frijol que en haba, presentándose en diferente magnitud en el vástago de las plantas, sometidas bajo la misma temperatura y en el mismo estado fenológico. El daño en ambas especies fue detectado principalmente en las hojas. En la planta de frijol, las hojas menos desarrolladas localizadas cercanas al ápice de crecimiento, presentaron un daño total, mientras que en haba las hojas con humedad en el suelo presentaron marchitamiento después de la helada, sin embargo pudieron recuperarse a las pocas horas, lo cual no sucedió con las plantas con el 3.2% de HS.

2.5 LITERATURA CITADA

- Arbaoui, M., Balko, C., y Link, W. 2008. Study of faba bean (*Vicia faba* L.) winter-hardiness and development of screening methods. *Field Crops Research*, 106(1):60-67.
- Arbaoui, M., and Link, W. 2008. Effect of hardening on frost tolerance and fatty acid composition of leaves and stems of a set of faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes. *Euphytica*, 162(2): 211-219.
- Bautista, M. D., y Cabrera, B. E. H. 2004. Caracteres morfológicos en la selección de semilla de haba en la sierra norte de Puebla. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 27 (Es1): 49-52.

- Barrales, J. S. 1997. Nota técnica La asociación maíz-frijol, como alternativa para agricultura con problemas de heladas. *Agronomía Mesoamericana*, 8(2):121-126.
- Barreiro, J. A., y Sandoval, A. J. 2006. Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. *Equinoccio*. Venezuela. 343 p.
- Barrios-Gómez, E. J., López-Castañeda, C., Kohashi-Shibata, J., Acosta-Gallegos, J. A., Miranda-Colín, S., y Mayek-Pérez, N. 2011. Avances en el mejoramiento genético del frijol en México por tolerancia a temperatura alta ya sequía. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34(4): 247-255.
- Celis-Velázquez, R., Peña-Valdivia, C. B., Trejo-López, C., Aguirre-Rivera, J. R., Cordova-Téllez, L., y Carballo-Carballo, A. 2008. Consumo de reservas de la semilla de frijol para la emergencia y desarrollo inicial en diferentes profundidades de siembra. *Agronomía Mesoamericana*, 19(2):167-177.
- Chaar, J. E. 2013. Resistencia a heladas en plantas frutales. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 17(3):109-121.
- Domínguez, J. S. B., Muñoz, M. L., Hernández, V. A. G., Valdivia, C. P., Shibata, J. K., y González, F. C. 2002. Relaciones térmicas en el sistema suelo-planta-atmósfera durante la incidencia del fenómeno de enfriamiento o helada. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 25(3): 289-297.
- Escalante E. J. A., y S. J. Kohashi. 1993. El rendimiento y crecimiento del frijol. Manual para la toma de datos. Colegio de Postgraduados. pp. 15-20.
- Escalante-Estrada, J. A. S., Rodríguez-González, M. T., y Escalante-Estrada, Y. I. 2015. Acumulación y distribución de materia seca en cultivares de maíz asociados con frijol en clima templado. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (12):139-143.
- Fernández de C. F. y Marcelino L. G. P. 1986. Etapas de desarrollo de la planta de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). Cali. Colombia. 34 p.
- Flórez, L., y Alcalá, J. 2010. Manual de procedimientos analíticos. Laboratorio de física de suelos. Universidad Nacional Autónoma de México UNAM. Instituto de geología. Departamento de edafología. pp. 5-6.
- Keller, M. 2010. The science of grapevines: anatomy and physiology. Elsevier. EE.UU. 376 p.

- Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Volume II. Water, radiation, salt, and other stresses (No. Ed. 2). Academic Press. Stanford. 647 p.
- Luo, Q. 2011. Temperature thresholds and crop production: a review. *Clim. Change*, 109:583–598.
- Medina, J. F. A., Gallegos, J. A. A., Posadas, L. D. M. R., Shibata, J. K., y López, C. T. 2015. Diferencias morfológicas de la epidermis de la hoja del frijol común y su relación con tolerancia a sequía. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 28(1):53-64.
- Meier, U. 2001. Estadios de las plantas mono y dicotiledóneas. 2da edición. Centro Federal de Investigaciones Biológicas para Agricultura y Silvicultura, Alemania. pp. 33-35.
- Mera, M. 1999. Leguminosas de grano de las tribus Viciae y Cicereae. Facultad de ciencias agropecuarias y forestales. Universidad de la Frontera, 15(1):1-35.
- Nadal, M. S., Moreno M. T., y Cubero J. I. 2001. Las leguminosas grano en la agricultura moderna. Mundi-Prensa. Barcelona España. 318 p.
- Orozco, C. N., Pérez, L. D. J., González, H. A., Franco, M. O., Gutiérrez, R. F., Rubí, A. M. Castañeda, V. A. y Balbuena, M. A. 2013. Identificación de poblaciones sobresalientes de haba colectadas en el estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(6):921-932.
- Peña-Valdivia, C. B., García N, R., Aguirre R, J. R., y Trejo, C. 2002. The effects of high temperature on dormancy and hypocotyl-root growth of wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Seed Science and Technology*, 30(2):231-248.
- Pérez, L. D. J., González, H. A., Franco, M. O., Rubí, A. M., Ramírez, D. J. F., Castañeda, V. A. y Aquino, M. J. G. 2014. Aplicación de métodos multivariados para identificar cultivares sobresalientes de haba para el Estado de México, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(2):265-278.
- Pérez-López, D. D. J., González-Huerta, A., Rubí-Arriaga, M., Franco-Mora, O., Martínez, F., Pascual, J. R., y Padilla-Lara, A. 2015. Análisis de 35 cultivares de haba por su producción de vaina verde y otros componentes del rendimiento. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(7):1601-1613.
- Plies-Balzer, E., Kong, T., Schubert, S., y Mengel, K. 1995. Effect of water stress on plant growth, nitrogenase activity and nitrogen economy of four different cultivars of *Vicia faba* L. *European Journal of Agronomy*, 4(2):167-173.

- Covarrubias R., A. A. 2007. Sobrevivir al estrés: cómo responden las plantas a la falta de agua. *Biotecnología*. pp. 253-262.
- Romero, A. M. T., Moreno, J. R., Valenzuela, T. M., Ruiz, E. E., y Martel, I. S. 2015. El papel de las leguminosas en la PAC: realidad y perspectivas. *Ambienta: La Revista del Ministerio de Medio Ambiente*, (112):94-109.
- Salazar, L. M. E.; Pérez, L. D. J.; González, H. A.; Vázquez, G. L. M. and Valadez, M. E. 2015. Genetic variability analysis of faba bean accessions using Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Chilean J. Agric. Res*, 75(1):122-130.
- Snyder, R. L., Melo-Abreu J. P. 2010. Protección contra las heladas: fundamentos, práctica y economía. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma. 241 p.

CAPÍTULO III

EFECTO DE PRODUCTOS CON ACCIÓN ANTICONGELANTE EN LA PREVENCIÓN DEL DAÑO POR HELADA EN LAS ETAPAS V2, V3, R6 Y R7 DEL FRIJOL

3.1 INTRODUCCIÓN

Desde el punto de vista alimenticio el género *Phaseolus* tiene alta importancia en el mundo debido a su aporte de proteína, recientemente a que se encuentra involucrado en la disminución de enfermedades cardiovasculares, diabetes, obesidad y cáncer (Maldonado *et al.*, 2015). Debido a su importancia, el frijol es cultivado en distintas partes del mundo, principalmente en los trópicos húmedo y semiárido (Hernández-López *et al.*, 2013) y aun en zonas altas, donde las bajas temperaturas pueden afectar severamente la producción.

En el estado de Puebla, sobre la región que limita con el Sistema Volcánico Transversal, se presentan hasta 120 días con temperaturas cercanas a los cero grados (CENAPRED, 2016), lo cual afecta las necesidades climáticas básicas del cultivo, puesto que en el ambiente aéreo interactúa la temperatura, radiación y la humedad relativa afectando la transpiración y balance energético de las plantas, por otro lado las propiedades físicas del suelo como textura y estructura, su potencial de agua y temperatura influyen en la disponibilidad de agua y nutrientes para la planta (Lira, 2007).

Las heladas son uno de los elementos del clima más temidos dentro del ámbito agrícola, debido a la difícil predicción del fenómeno meteorológico y a lo costoso que puede ser el sistema para combatirlas, puesto que ocasionan un incremento de los costos de mano de obra. Para ello existe como alternativa los métodos de tipo pasivo para controlar las heladas en la agricultura actuando en término de prevención, normalmente para un periodo de tiempo largo y cuyas acciones son particularmente beneficiosas cuando se producen las condiciones de helada, éste método se relaciona con técnicas biológicas y ecológicas para reducir el potencial de daño (Snyder y Melo-Abreu, 2010).

El uso de materia orgánica y con el tipo de suelo adecuado, es uno de los métodos pasivos que pueden ser utilizados para prevenir daños por heladas, debido a que puede mejora en gran medida

las características del suelo, aumentando la capacidad calorífica, mantiene el régimen térmico más estable, incrementa y conserva la estabilidad de la estructura, la permeabilidad y capacidad de retención hídrica, facilita el intercambio de gases, reduciendo la erosión y mejora la nutrición de los cultivos (Labrador, 2001; Fuentes, 2002).

Una buena nutrición es otro de los mecanismos de prevención pasiva contra las heladas, por lo que la aplicación de aminoácidos, ayuda a mitigar significativamente las lesiones causadas por estrés abiótico debido a que son bioestimulantes conocidos por sus efectos positivos sobre el crecimiento y rendimiento (Abdelhamind *et al.*, 2015), actuando cuando las plantas sufren alguna alteración fisiológica, jugando un papel importante sobre el equilibrio hídrico (Manresa, 1983). El uso de aceites vegetales estabilizados, actúan como barrera física entre la superficie vegetal y los cambios de temperatura, en casos de frío extremo, evitando la formación de hielo intercelular (Ibarquim, 2016). Por ello el objetivo fue detectar el grado de protección contra las heladas que tienen las sustancias con potencial anticongelante en el vástago y nódulos de la raíz, durante las etapas fenológicas del frijol V2, V3, R6 y R7.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Variedad de frijol utilizada

Se utilizó un frijol negro colectado en la comunidad de Tepeyahualco de Cuauhtémoc Edo. de Puebla., es una variedad de hábito indeterminado arbustivo tipo II, el tallo presenta en su parte terminal un meristemo vegetativo que le permite eventualmente seguir creciendo, desarrollando nudos y entrenudos, caracterizado por un desarrollo floral y vegetativo simultáneo (Fernández y Marcelino, 1986).

3.2.1.1. Siembra del frijol

La siembra se realizó en macetas de plástico de 21 cm de diámetro y 30 cm de altura, utilizando dos sustratos, uno con suelo agrícola (SA) y otro preparado con lombricomposta (Lom) a base de estiércol de vaca, mezclada con suelo agrícola en proporción 50:50. La semilla de frijol fue colocada a una profundidad de 2.5 cm, fertilizando el mismo día de la siembra utilizando como fuentes el nitrato de amonio (0.22 g) y súper fosfato de calcio triple (0.29 g) para N y P

respectivamente, mediante la fórmula 40-40-00, dosis calculada por superficie. El riego fue aplicado cada tercer día y la limpieza de malezas cada que fuera necesario.

3.2.1.1.2. Etapas fenológicas para la evaluación del daño por heladas

El experimento fue desarrollado en las etapas vegetativas V2, V3 y las etapas reproductivas R6 y R7 del frijol, la identificación del inicio de cada una de las etapas se basó en las características mencionadas por Escalante y Kohashi (1993).

En cada etapa se seleccionaron 16 plantas del sustrato SA y 16 plantas del sustrato Lom para la aplicación de los tratamientos sobre el vástago de las plantas.

3.2.1.2. Tratamientos utilizados y su aplicación

Uno de los productos incorporados desde la siembra fue la *lombricomposta* elaborada a base de estiércol de vaca con los contenidos mínimos mostrados en el cuadro 3.1.

Cuadro 3. 1. Contenido mínimos en principios activos y nutrientes de la lombricomposta elaborada a base de estiércol de vacuno.

pH	CE dsm ⁻¹	C org g kg ⁻¹	N g kg ⁻¹	P g kg ⁻¹	K g kg ⁻¹	Fe g kg ⁻¹	Mn mg kg ⁻¹	Cu mg kg ⁻¹	Zn mg kg ⁻¹
8.1	6.6	250	15	2.2	5.7	1.9	75	4	16

Moreno y Moral (2008)

Los productos aplicados sobre el vástago de las plantas fueron *anticongelante* (An) compuesto por 95% de aceite vegetal estabilizado, de la línea del Grupo Ibarquim S.A. de C.V., el cual forma una fina capa cerosa biodegradable que actúa como barrera física, en casos de frío extremo sin bajar de los 0°C, el cual evita la formación de hielo intercelular (Ibarquim, 2016). Los *aminoácidos* (Am) obtenidos del producto comercial Aminocel 500® el cual permite formar proteínas de manera más rápida y con menor gasto de energía, favorece un mejor balance entre fotosíntesis y respiración, se compone principalmente de aminoácidos libre (50%), nitrógeno (10%), fosforo (8%) y potasio (10%) (COSMOCEL, 2016). Las *giberelinas* (Gib) se obtuvieron del producto BioGib10PS, compuesto por el 10% de ácido giberélico y 90% de diluyentes y acondicionadores. Es un estimulante de crecimiento vegetal, actúa uniformizando la floración, mejora el amarre y desarrollo de frutos (ARYSTA, 2016).

Los productos An, Am y Gib fueron aplicados, en el momento que las plantas alcanzaron la etapa vegetativa y reproductiva evaluada, seleccionando para la aplicación de cada producto cuatro plantas al azar del sustrato SA y cuatro con sustrato Lom, se realizaron dos aplicaciones con intervalos de 48 horas, la aplicación de las sustancias fue sobre el vástago de las plantas mediante atomizadores manuales con capacidad de 900 mL, la aplicación de cada solución fue bajo las dosis señaladas por el producto, generando ocho tratamientos (Cuadro 3.2.) con cuatro repeticiones, los tratamientos SA y Lom sin aplicación de productos fungieron como testigos. A las 96 horas de la primera aplicación de los productos las plantas fueron llevadas al laboratorio para simular una helada mediante un congelador.

Cuadro 3. 2. Productos con efecto anticongelante utilizados y la dosis empleada.

<i>Tratamientos</i>	Dosis	Abreviación
Suelo agrícola	--	SA
Anticongelante	10 mL L ⁻¹	An
Aminoácidos	1.5 g L ⁻¹	Am
Giberelinas	0.05 g L ⁻¹	Gib
Lombricomposta*	50%	Lom
Lombricomposta*+Anticongelante	50% +10 mL L ⁻¹	Lom+An
Lombricomposta*+Aminoácidos	50% +1.5 g L ⁻¹	Lom+Am
Lombricomposta*+Giberelinas	50% +0.05 g L ⁻¹	Lom+Gib

*La lombricomposta fue incorporada previo a la siembra.

3.2.2. Simulación de la helada

Antes de introducir las plantas se registró la temperatura del suelo con un termómetro digital modelo vwr eu 609-0910, posteriormente se roció la parte aérea de la planta con un atomizador manual, verificando que la humedad estuviera distribuida sobre el dosel. De cada tratamiento establecido se expusieron cuatro plantas distribuidas al azar dentro de un congelador de la marca Thor Rey Modelo CV32 durante 1.5 h a 0°C. Posterior a la helada fue medida la temperatura del suelo con el termómetro digital.

3.2.3. Determinación de las dimensiones del tallo y volumen de raíz

Después de 48 horas de simulada la helada, las plantas de cada tratamiento fueron extraídas de la maceta separando el vástago de la raíz, se estimó la altura de planta mediante un flexómetro, midiendo desde el cuello de la raíz hasta el punto máximo del tallo. El diámetro del tallo se obtuvo de la parte central del hipocótilo, el cual corresponde a la parte del tallo entre el cuello de la raíz y los cotiledones, con un vernier digital marca Mitutoyo Corporation modelo CD-6” CSX con precisión 0.01. La raíz fue lavada evitando desprender los nódulos, se obtuvo su volumen mediante una probeta graduada introduciendo en ella una cantidad de agua conocida y posteriormente sumergir la raíz en su totalidad, registrando la cantidad de mL desplazados por el agua, lo cual correspondió al volumen de la raíz.

3.2.3.1. Evaluación del daño por la helada en el vástago de las plantas

A las 48 horas de la helada, se evaluaron las plantas dando un porcentaje al daño producido en cada uno de los órganos de la planta mediante una escala del 0 al 100%, donde el 0 es igual a ningún daño y el 100% es planta totalmente dañada. Posteriormente fueron separadas las partes dañadas de las no dañadas mediante cortes del área afectada por la helada de cada uno de los órganos de la planta, para después colocarlos por separado en bolsas de papel y meterlas a un Horno de Convección Gravitacional marca Thermo forma, modelo 3478 a 80°C por 48 horas para obtener su peso constante (Díaz-Ruiz *et al.*, 2008).

3.2.3.2. Evaluación del daño por la helada en la raíz

Para determinar el daño en los nódulos de la raíz, se realizó una tinción con sal cloruro de 2, 3, 5 trifenil de tetrazolio, utilizando el método de prueba de viabilidad de semillas (Moreno, 1984) con la finalidad de detectar la actividad de las bacterias *Rhizobium* mediante su tinción. La raíz fue colocada en vasos de precipitado, sumergiéndola totalmente en solución al 0.1% de sal de tetrazolio por 60 minutos. Después de la tinción se contabilizó el total de nódulos teñidos en color rojo los cuales fueron considerados como nódulos sanos y el número de nódulos no teñidos como nódulos dañados. La raíz se introdujo en bolsa de papel, la cual se colocó en un horno de secado para obtener el peso seco.

3.2.3.3. Análisis de la información obtenida

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para detectar las diferencias estadísticas entre tratamientos ($\alpha=0.05$) y la prueba de separación de medias Tukey con objeto de detectar los mejores tratamientos para amortiguamiento del daño contra las heladas. Para ambos análisis se utilizó el paquete estadístico SAS ver. 9.0 para Windows.

3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza muestra que hay diferencia significativa con la aplicación de los diferentes productos sobre las plantas, en las variables de diámetro del hipocótilo (DiHip), altura de planta (AltPlan) y el volumen de raíz (VolRaíz) presentando diferencias altamente significativas entre etapas y tratamientos (Cuadro 3.3).

Cuadro 3. 3. Análisis de varianza para las dimensiones del tallo y raíz después de la helada.

	DiHip	AltPlan	VolRaíz
ETA	**	**	**
TRA	**	**	**

** Altamente significativo a $p \leq 0.01$. ETA: Etapa, TRA: Tratamientos, DiHip: Diámetro del hipocótilo, AltPlan: Altura de la planta y VolRaíz: Volumen de raíz.

3.3.1. Dimensiones del Tallo

En la figura 3.1, se puede identificar que con excepción de la etapa V2 donde no se registraron diferencias significativas, en el resto de las etapas los mejores resultados en sus efectos en la altura de planta y diámetro de hipocótilo de las plantas de frijol ocurrieron en los tratamientos con aplicación de lombricomposta al suelo, seguido de la combinación lombricomposta más aplicación de aminoácidos.

En la etapa V2 el DiHip no presentó diferencia significativa entre tratamientos (Figura 3.1), sin embargo la mayor AltPlan fue con el tratamiento Gib (26.1 cm), seguido de la Lom+Gib (18.6 cm). En la etapa V3 el mayor DiHip se presentó con el tratamiento Lom (3.2 mm) y el menor DiHip en el tallo con SA (2.4 mm). En ésta etapa la mayor AltPlan se reporta con el tratamiento Gib (44.7 cm) seguido del tratamiento Lom+Gib (35.1 cm). Lo cual coincide con el trabajo de

Martínez *et al.* (2013) en la evaluación de diferentes concentraciones de GAs, las cuales presentaron efectos significativos en la dinámica de crecimiento de las plántulas de tomate.

La etapa R6 presentó el mayor DiHip con el tratamiento Lom (5.8 mm) y la AltPlan superior con los tratamientos Lom+Gib (222.2 cm), Lom (213.4 cm) y Lom+Am (198.4 cm). En la etapa R7 con la Lom se obtuvo el mayor DiHip (6 mm), mientras que la mayor altura fue con el tratamiento Lom+Am (229 cm). El desarrollo de las plantas con la aplicación de lombricomposta se debió a que acelera el crecimiento y en general, no solo al aporte de macroelementos (N, P, K, Ca, Mg) y de microelementos (Zn, He, Cu, Mn, etc.) sino que estos se hallan balanceados adecuadamente (Schuldt, 2006).

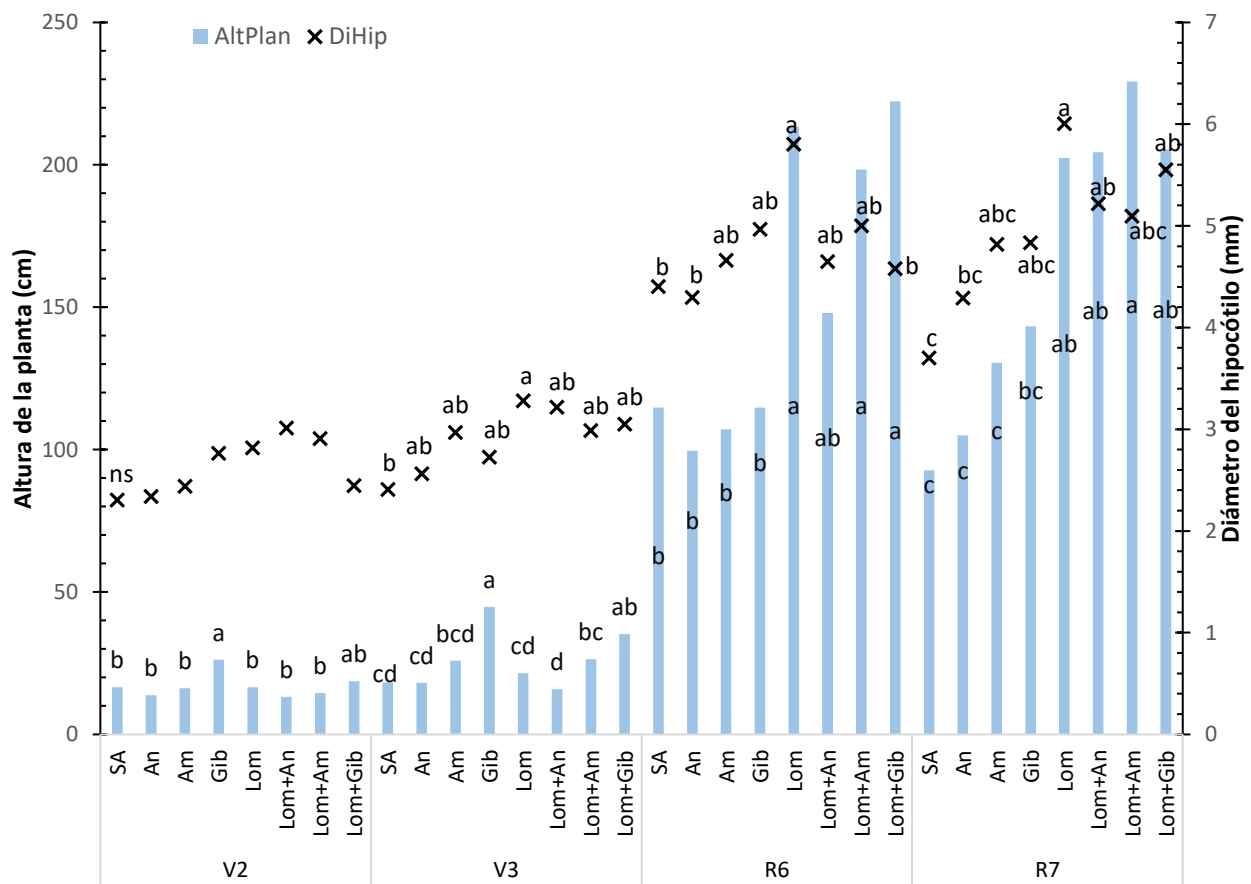


Figura 3. 1. Diámetro del hipocótilo y altura de la planta con cada tratamiento en las etapas V2, V3, R6 y R7 del frijol. Letras iguales no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$). DiHip: Diámetro del hipocótilo y AltPlan: Altura de planta. SA: Suelo agrícola, An: Anticongelante, Am: Aminoácidos, Gib: Giberelinas, Lom: Lombricomposta, Lom+An: Lombricomposta+Anticongelante, Lom+Am: Lombricomposta+Aminoácidos y Lom+Gib: Lombricomposta+Giberelinas.

3.3.2. Volumen de raíz

La prueba de medias Tukey para volumen de raíz muestra que en la etapa V2 con la aplicación de los tratamientos Gib (1.3 mL) y Lom+Gib (1.3 mL) se obtiene el mayor volumen de raíz (Cuadro 3.4), seguido del tratamiento Lom (1 mL). En la etapa V3 el mayor volumen de raíz se obtuvo con Am (3.3 mL), Lom+Am (3 mL) y Lom (2.7). En la etapa R6 y R7 el mayor volumen fue con los tratamientos Lom (107 ml) y Lom+An (125.6 mL) respectivamente.

Cuadro 3. 4. Volumen de raíz (mL) con cada tratamiento aplicado en las diferentes etapas del frijol.

Tratamientos	Etapas de desarrollo del frijol			
	V2	V3	R6	R7
SA	0.35 cd	1.10 cd	20.10 d	21.50 c
An	0.30 d	2.23 abc	28.66 d	35.70 bc
Am	0.73 bcd	3.36 a	25.66 d	41.67 bc
Gib	1.34 a	2.43 ab	29.66 d	34.33 abc
Lom	1.06 ab	2.75 a	107.00 a	78.00 abc
Lom+An	0.23 d	0.91 d	64.50 c	125.67 a
Lom+Am	0.40 cd	3.00 a	95.00 ab	99.00 ab
Lom+Gib	1.34 a	1.46 bcd	78.50 bc	76.00 abc

Letras diferentes representan diferencia significativa ($p \leq 0.05$). ETA: Etapa, TRA: Tratamiento, SA: Suelo agrícola, An: Anticongelante, Am: Aminoácidos, Gib: Giberelinas, Lom: Lombricomposta, Lom+An: Lombricomposta+Anticongelante, Lom+Am: Lombricomposta+Aminoácidos y Lom+Gib: Lombricomposta+Giberelinas.

3.3.3. Evaluación del daño por helada en el vástago

Con el análisis de varianza se detectaron diferencias significativas en el porcentaje de daño en el vástago de las plantas (%DVas), en la distribución del peso seco (DisPsVas) y en el peso seco total de las plantas (PsTotal) entre las etapas y entre los tratamientos (Cuadro 3.5).

Cuadro 3. 5. Análisis de varianza para el porcentaje de daño en el vástago y la distribución y acumulación del peso seco de las plantas.

	%DVas	DisPsVas	PsToVas
ETA	**	**	**
TRA	**	**	**

%DVas: porcentaje de daño en vástago, DisPsVas: Distribución del peso seco en el vástago de las plantas y PsToVas: Peso seco total en el vástago.

El análisis de Tukey muestra que la etapa V3 (7.5%) (Figura 3.2) presentó el menor daño por la helada, mientras que las etapas V2, R6 y R7 presentaron en promedio un daño en el vástago del 22 al 31%. Lo cual confirma que la etapa V3 del frijol es una de las etapas más tolerantes a las bajas temperaturas, mientras que el daño alcanzado en la etapa V2, pudo deberse a que en esta etapa no todos los tratamientos son favorables para evitar daños por helada en el vástago del frijol y a que cada etapa tiene susceptibilidad diferente.

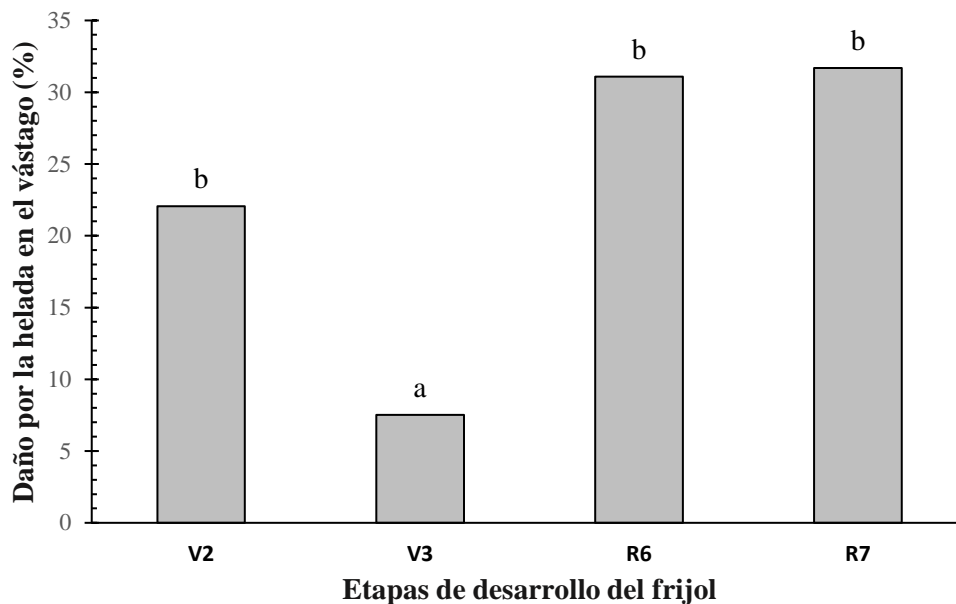


Figura 3. 2. Daño por la helada en el vástago de las plantas en las etapas V2, V3, R6 y R7 del frijol.

Los tratamientos aplicados en las etapas V2, V3, R6 y R7 presentaron un grado de protección distinta en cada etapa. En la etapa V2 no se presentó daño con los tratamientos Lom+An, Lom+Am, Am y An (Figura 3.3), mientras que con Gib (71%) y Lom+Gib (83%) el daño por la helada en el vástago fue el más alto. Pudiera deberse a que en la aplicación exógena de giberelinas se produce una amplia variedad de respuestas en el desarrollo, sobre todo a nivel celular (Amador-Alfárez *et al.*, 2013), en la etapa V3 el daño por la helada fue menor al 10%, sin embargo con el tratamiento Lom+Gib el daño por la helada fue del 50% en el vástago de las plantas. El daño en estas etapas con la aplicación del producto Gib pudo deberse a que la síntesis y el transporte de hormonas es afectada por las bajas temperaturas (Jones, 1985) lo que provoca un desbalance fisiológico en la planta, Fraile-Robayo *et al.* (2012) reporta que plantas de tomate con concentraciones de 400 mg L⁻¹ GA₃ mostraron un mayor vigor, lo cual se expresó en la altura, diámetro de tallo, fitomasa fresca y seca, lo cual coincide con los resultados mostrados en la figura 3.1, destacando en alturas las plantas del tratamiento Gib en las etapas V2 y V3.

La etapa de desarrollo R6 del frijol presentó el menor daño por la helada con los tratamientos Lom (25.2%) y Am (25.8%) (Figura 3.3), el mayor daño fue con el SA (44%) seguido de Gib (40.4%). Sobre las plantas de la etapa R7 con el tratamiento Lom+An (13.4%) ejerció mayor protección, seguido del tratamiento An (15.7%), mientras que el mayor daño se presentó con Lom+Gib (51.7%).

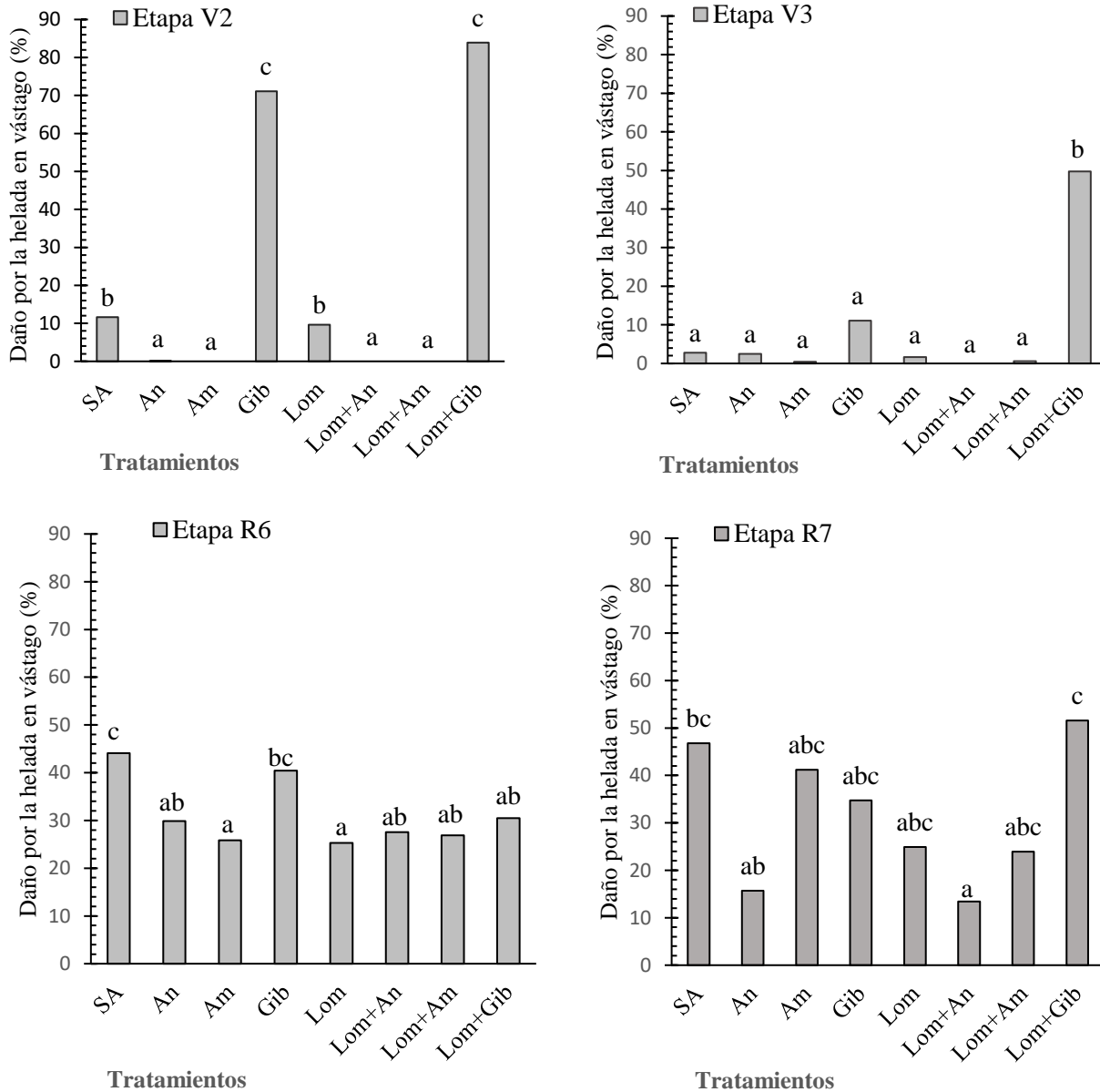


Figura 3. 3. Daño por la helada en el vástago de las plantas con la aplicación de los tratamientos en las etapas V2, V3, R6 y R7 del frijol. SA: Suelo agrícola, An: Anticongelante, Am: Aminoácidos, Gib: Giberelinas, Lom: Lombricomposta, Lom+An: Lombricomposta+Anticongelante, Lom+Am: Lombricomposta+Aminoácidos y Lom+Gib: Lombricomposta+Giberelinas.

Bajo las mismas condiciones de helada, cada órgano de la planta presenta diferente sensibilidad ante el fenómeno, el daño por helada en las plantas se observó principalmente sobre las hojas (Figura 3.4), este suceso pudiera estar relacionado con el porcentaje de agua presente en las hojas, valor que oscila entre los 90-94% en leguminosas (Alcántar y Trejo-Téllez, 2007).



Figura 3. 4. Magnitud del daño por helada en los diferentes órganos de la planta de frijol.

Con la aplicación de los tratamientos, el grado de protección fue en diferente magnitud con respecto al peso seco total del vástago. En la etapa V2 con los tratamientos Am (54.5%) y Lom+An (56%) presentaron el mayor %PsHoS (Figura 3.5). En Lom+Gib todas las hojas fueron dañadas, con ese tratamiento se tuvo la mayor distribución en el %PsHoD el cual corresponde al 60% de su peso seco total en el vástago. En la etapa V3 el tratamiento Lom+Gib obtuvo el mayor %PsHoD (40.2%) mientras que el tratamiento Lom+An acumula el 100% de peso seco sin daño, debido a que el producto anticongelante al formar una capa cerosa sobre las hojas brindó protección a las hojas y la etapa V3 ha mostrado tener mayor tolerancia que las demás.

En la etapa R6 el mayor %PsHoD fue con el tratamiento SA (31.5%) y el menor con Lom (8.8%), en esta etapa el peso seco de hojas sanas no presentó diferencia significativa entre tratamientos. En la etapa R7 con Gib el %PsHoD fue el valor más alto (28.7%), mientras que las hojas que presentaron mayor protección fueron con el tratamiento An (38%).

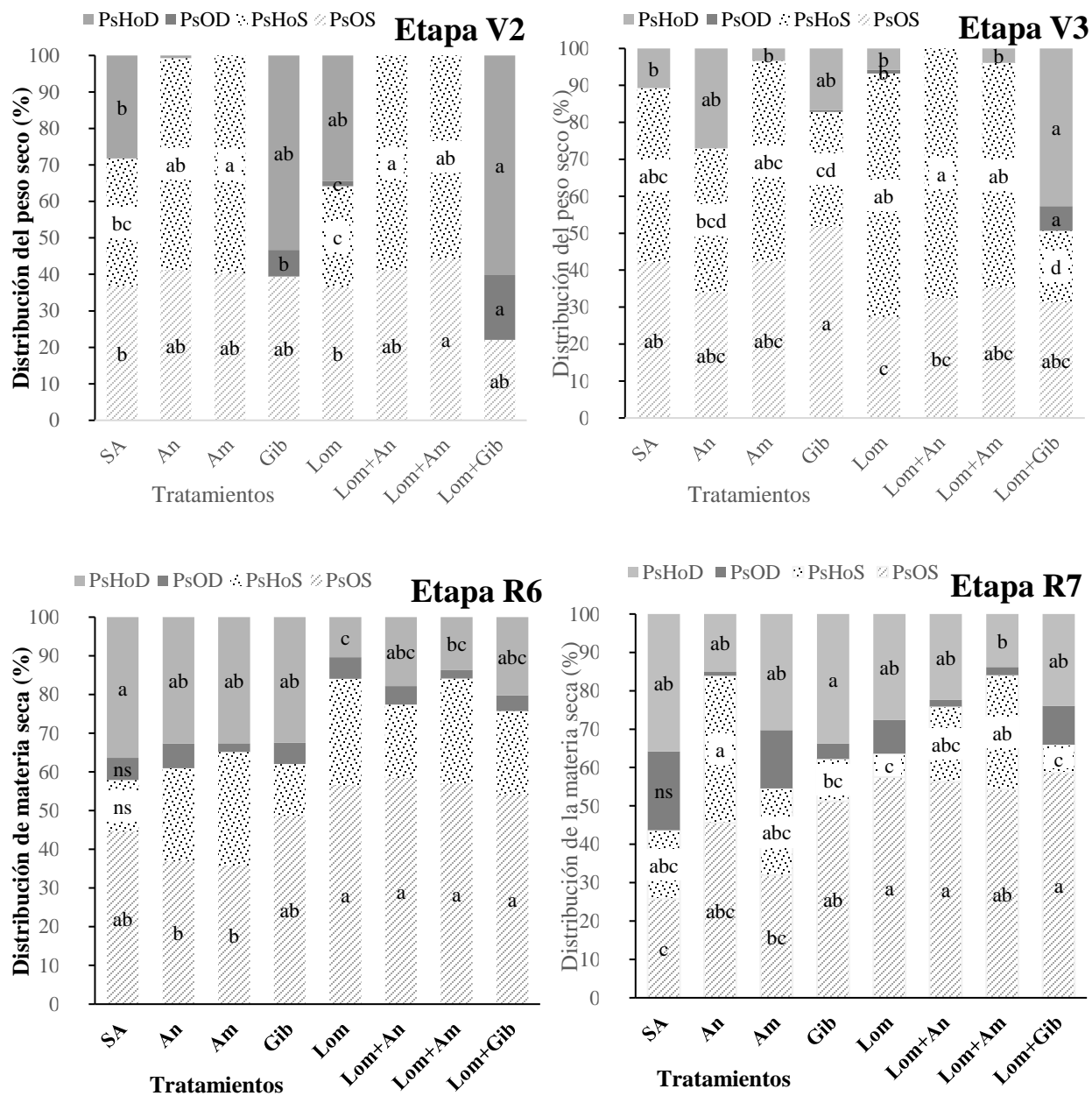


Figura 3. 5. Distribución de la materia seca con respecto al peso total del vástago de la planta con cada tratamiento en las etapas V2, V3, R6 y R7. PsHoD: Peso seco de hojas dañadas, PsOD: Peso seco de órganos dañados, PsHoS: Peso seco de hojas sin daño y PsOS: Peso seco de órganos sin daño. SA: Suelo agrícola, An: Anticongelante, Am: Aminoácidos, Gib: Giberelinas, Lom: Lombricomposta, Lom+An: Lombricomposta+Anticongelante, Lom+Am: Lombricomposta+Aminoácidos y Lom+Gib: Lombricomposta+Giberelinas.

Con excepción del tratamiento Lom+Gib, el menor daño en las estructuras foliares del frijol en la etapa R6 y R7 fue en las plantas que tenían lombricomposta como parte de su tratamiento, lo cual coincide con lo mencionado por Badaruddin y Meyer (2001) quienes reportan que en la

supervivencia de plántulas tanto la alfalfa y de soya, el menor daño por helada fue mayor en suelos de textura ligera que en suelo de textura pesada con agua en el suelo a capacidad de campo.

Las variables de peso seco dañado y sin daño de hoja y peciolo, muestran diferencia significativa entre etapa y tratamientos (Cuadro 3.6). El peso seco de hipocótilo sin daño (PsHipS) y con daño (PsHipD) no muestra diferencia significativa entre etapas ni entre tratamientos, mientras que el peso seco de epicótilo dañado, muestra diferencia significativa entre etapas pero no entre tratamientos.

Cuadro 3. 6. Análisis de varianza para la distribución del peso seco dañado y sin daño en el vástago de las plantas entre etapas y tratamientos.

	PsHoS	PsHoD	PSPecS	PSPecD	PsHipS	PsHipD	PsEpiS	PsEpiD
ETA	**	**	**	**	**	ns	**	**
TRA	**	**	**	**	**	ns	**	ns

ns: no significativo, ** altamente significativo a $p \leq 0.01$. ETA: Etapa, TRA: Tratamientos, PsHoS: Peso seco de hojas sin daño, PsHoD: Peso seco de hojas dañadas, PSPecS: Peso seco de peciolo sanos, PSPecD: Peso seco de peciolo sin daño, PsHipS: Peso seco de hipocótilo sano, PsHipD: Peso seco de hipocótilo dañado, PsEpiS: Peso seco de epicótilo sano, PsEpiD: Peso seco de epicótilo dañado.

En la etapa V2 la acumulación del peso seco total del vástago de la planta no presentó diferencia significativa entre los tratamientos, la diferencia significativa se presentó con el peso seco de la parte sin daño y con daño en los diferentes órganos de la planta (Figura 3.6). El mayor peso seco de hojas sin daño fue con los tratamientos Lom+An (0.11 g), Lom+Am (0.1 g) y Am (0.09 g). Con el tratamiento Lom+An, la cantidad de hojas sin daño pudo deberse a la protección que le brinda el producto anticongelante, mientras que con los tratamientos Lom+Am y Am, pudo deberse a que con esos tratamientos se tuvo una mejor nutrición, por lo que las reservas nutricionales de los tejidos vegetales, influyen sobre el amortiguamiento a las heladas. Chaar (2013) menciona que las reservas de nutrientes influyen en la resistencia a las heladas, mediante la degradación del almidón en compuestos osmóticamente activos, los cuales aumentan la capacidad de sobre-enfriamiento del tejido vegetal, por lo tanto, de evitación a la congelación.

El mayor peso seco de hojas dañadas en la etapa V2 se presentó con los tratamientos Gib (0.1 g). Lom+Gib (0.09 g), Lom (0.07g) y SA (0.06 g) (Figura 3.6). En los peciolo el peso dañado solo fue evidente con los tratamientos Gib (0.011 g) seguido del tratamiento Lom+Gib (0.006 g), en éste último tratamiento también se presentó el mayor peso seco de epicótilo dañado (0.01 g).

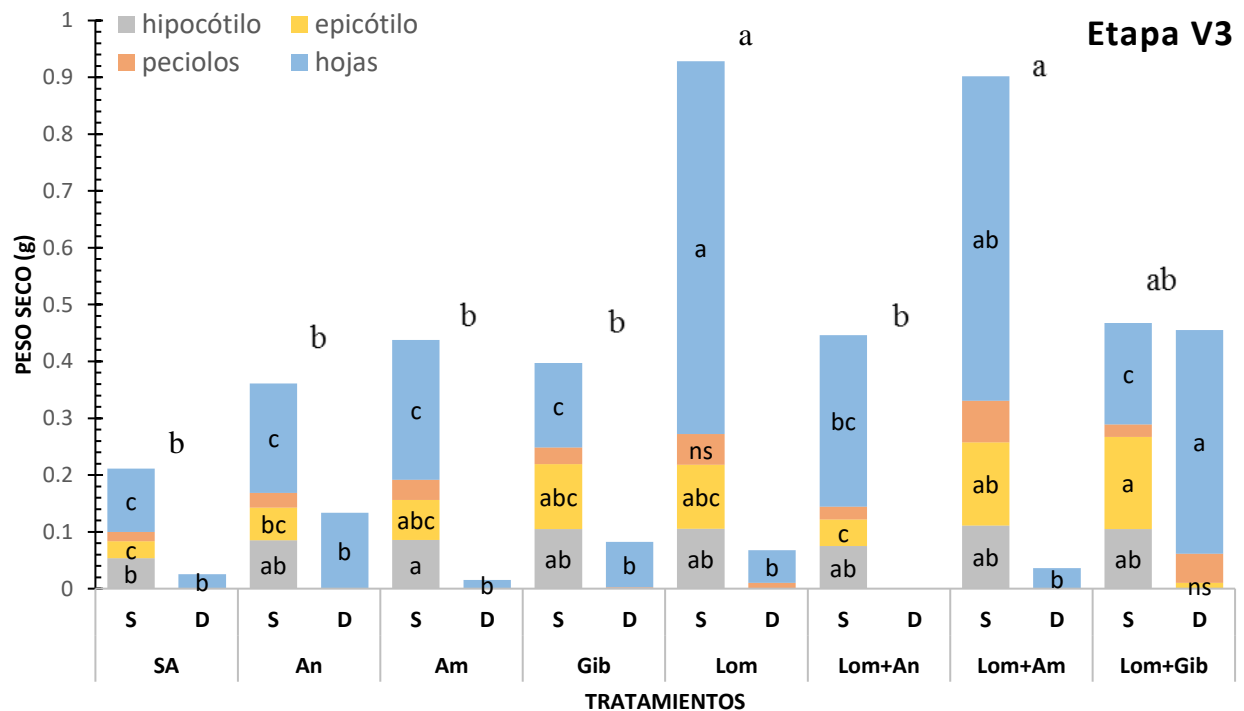
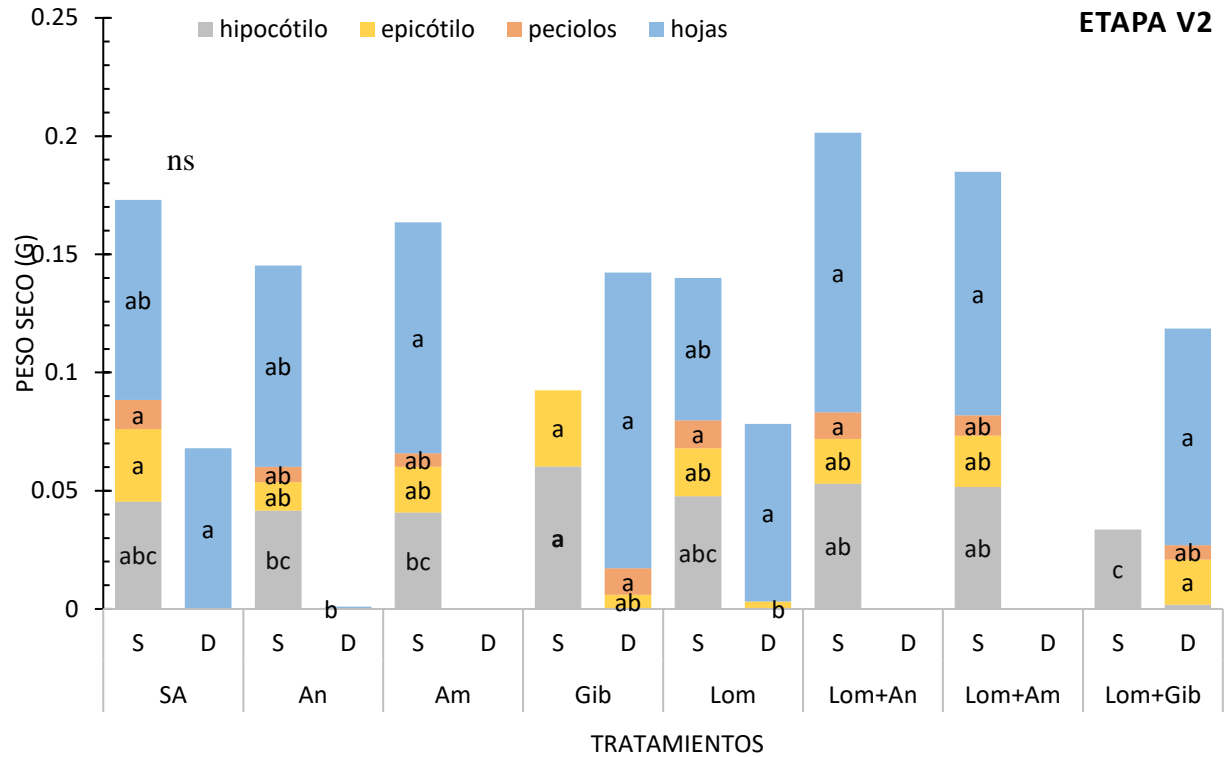


Figura 3. 6. Acumulación de materia seca en las plantas y en sus diferentes órganos sin daño (S) y con daño (D) por la helada en las etapas vegetativas V3 y V4 del frijol en los distintos tratamientos. Letras diferentes entre tratamientos indica diferencia significativa ($p < 0.05$). La letra superior indica la acumulación total del peso seco en el vástago (S+D). SA: Suelo agrícola, An: Anticongelante, Am: Aminoácidos, Gib: Giberelinas, Lom: Lombricomposta, Lom+An: Lombricomposta+Anticongelante, Lom+Am: Lombricomposta+Aminoácidos y Lom+Gib: Lombricomposta+Giberelinas.

La mayor acumulación de materia seca en la etapa V3 fue con el tratamiento Lom (1.1 g) y Lom+Am (1.19 g) (Figura 3.6). El mayor peso seco de hojas sanas fue con el tratamiento Lom (0.6 g) seguido del tratamiento Lom+Am (0.5 g). El tratamiento con mayor peso seco de hojas dañadas fue Lom+Gib (0.4 g), en esta etapa no se presentó daño sobre el hipocótilo ni el epicótilo, por lo que el mayor peso seco de hipocótilo sin daño fue con el tratamiento Am (0.08g) y el mayor peso de epicótilo sin daño fue con el tratamiento Lom+Gib (0.16g).

La síntesis de giberelinas (GAs) ocurre en varios lugares, en plántulas, la síntesis y presencia de altos contenidos de estas hormonas se detecta en hojas y yemas en activo crecimiento (Jordán y Casaretto, 2006), por lo que seguramente la fuerte división y elongación celular de tejidos estén en constante crecimiento, lo cual podría favorecer las condiciones para que las heladas afecten directamente sobre los tejidos, además de que las condiciones de bajas temperaturas son determinantes en la conversión de GAs inactivas a moléculas activas en los demás órganos (Jordán y Casaretto, 2006).

En la etapa reproductiva R6 del frijol la mayor acumulación del peso seco en el vástago de las plantas fue con el tratamiento Lom (39.9 g), Lom+Am (32.9 g) y Lom+Gib (31.8 g) (Figura 3.7), mientras que el peso seco más bajo fue con los tratamientos SA (9.3 g) y An (10.6 g). Con el tratamiento Lom la acumulación de materia seca en hojas sanas (11.1 g) y peciolo sanos (6.2 g) fue mayor, de igual forma el peso seco en epicótilo sin daño (4.5 g). El peso seco de flores dañadas fue significativo con el tratamiento Lom+Gib (0.5g), mientras que el peso seco de flores sin daño no presentó diferencia significativa. Shafiq *et al.* (2012) en su estudio en el campo con chícharo (*Pisum sativum* L.) reportan que en la fase de floración y etapa de desarrollo de vainas expuestas a una temperatura mínima de -4.8°C durante 4 h, afectó negativamente el rendimiento de semillas a través de aborto de yemas, flores y vainas establecido, la muerte de vainas y la reducción en el tamaño de la semilla, concluyendo que la variación genética se observó entre 83 accesiones colectadas de 34 países en todo el mundo para la supervivencia de las yemas, flores y vainas establecidos, en el 60 de 83 accesiones, no se presentaron brotes, flores o vainas después de la helada.

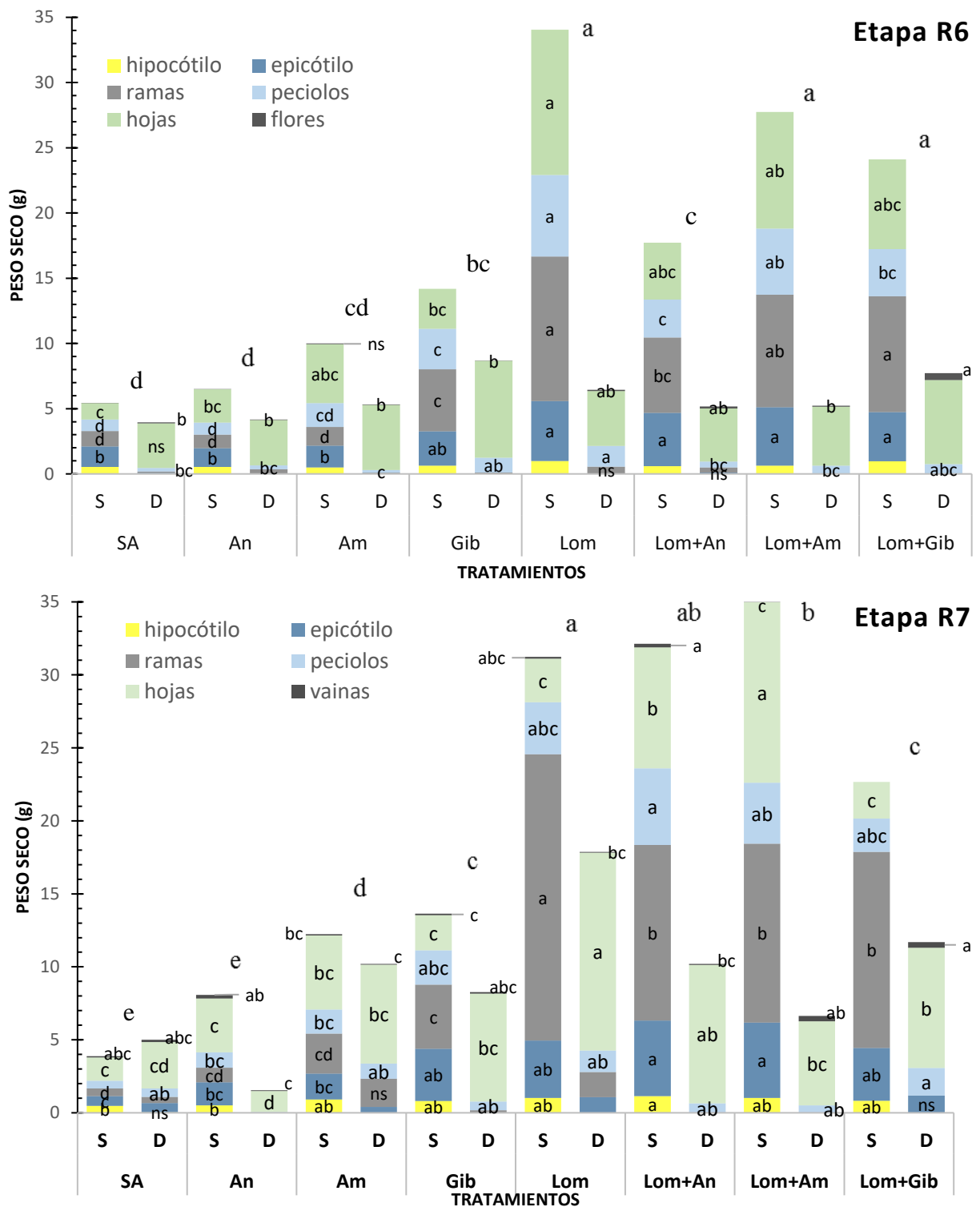


Figura 3. 7. Acumulación de materia seca en las plantas y en sus diferentes órganos sin daño (S) y con daño (D) por la helada en las etapas reproductivas R6 y R7 del frijol en los distintos tratamientos. Letras diferentes entre tratamientos indica diferencia significativa ($p \leq 0.05$). La letra superior indica la acumulación total del peso seco en el vástago (S+D). SA: Suelo agrícola, An: Anticongelante, Am: Aminoácidos, Gib: Giberelinas, Lom: Lombricomposta, Lom+An: Lombricomposta+Anticongelante, Lom+Am: Lombricomposta+Aminoácidos y Lom+Gib: Lombricomposta+Giberelinas.

La etapa R7 registró mayor acumulación de peso seco total en el vástago de la planta con el tratamiento Lom (49 g) seguido de la Lom+An (45.8 g) (Figura 3.7). En hojas sin daño el peso seco sobresalió con el tratamiento Lom+Am (12 g) mientras que el mayor peso de hojas dañadas fue con el tratamiento Lom (13.5 g), el mayor peso de peciolo sanos fue con Lom+An (5.2 g) y de peciolo dañados sobresalió con el tratamiento Lom+Gib (1.9 g). En ramas sanas el mayor peso fue con Lom (19.6 g), sin embargo no fue significativo para el peso de ramas dañadas. El peso seco de epicótilo sin daño sobresalió con los tratamientos Lom+An y Lom+Am (5.1 g), mientras que el peso de epicótilo dañado no fue significativo. El mayor peso de vainas sin daño se presentó con el tratamiento Lom+An (0.2 g) y el peso de vainas dañadas con el tratamiento Lom+Gib (0.39 g).

La menor producción de PsToVas en las etapas V3, R6 y R7 con los tratamientos que tenían como sustrato SA, podría relacionarse con una limitación en la humedad del suelo, mientras que el desarrollo de las plantas sobre lombricomposta, pudo haber favorecido el PsToVas debido a las características que le proporciona al suelo, permitiendo una mayor retención hídrica (Labrador, 2001). Mientras que en la etapa V2 no fue significativo entre los tratamientos, esto pudiera deberse a que las plantas en esta etapa sus días de desarrollo sobre el sustrato fue menor (20 dds) comparado con las plantas de la etapa reproductiva (mayor a 60 dds).

3.3.4. Evaluación del daño por la helada en raíz

El análisis de varianza muestra que no hay diferencia significativa para la temperatura del suelo antes de la helada (TSuAH) entre las etapas, pero si entre los tratamientos (Cuadro 3.7), la variable temperatura del suelo después de la helada (TSuDeH) presentó diferencia significativa en ambas. En la cantidad de nódulos sin daño (NodS) y con daño (NodD) por la helada muestran diferencia altamente significativa entre etapas, entre tratamientos la cantidad de NodD es significativa, el total de nódulos es altamente significativo entre etapas y tratamientos.

La TeSuAH no fue significativa entre las etapas presentándose la temperatura cercana a los 26°C (Figura 3.8), sin embargo la TeSuDeH fue mayor en la etapa R6 (14°C) y menor en la etapa V3 (10.6°C).

Cuadro 3. 7. Análisis de varianza de la temperatura del suelo antes y después de la helada, peso seco y cantidad de nódulos de la raíz.

	TSuAH	TSuDeH	NodS	NodD	NodTotal
ETA	ns	**	**	**	**
TRA	**	**	**	*	**

ns: no significativo, ** altamente significativo a $p \leq 0.01$. ETA: Etapa, TRA: Tratamientos, TSuAH: Temperatura del suelo antes de la helada, TSuDeH: Temperatura del suelo después de la helada, NodS: Número de nódulos sin daño, NodD: Cantidad de nódulos dañados y NodTotal: Nódulos totales.

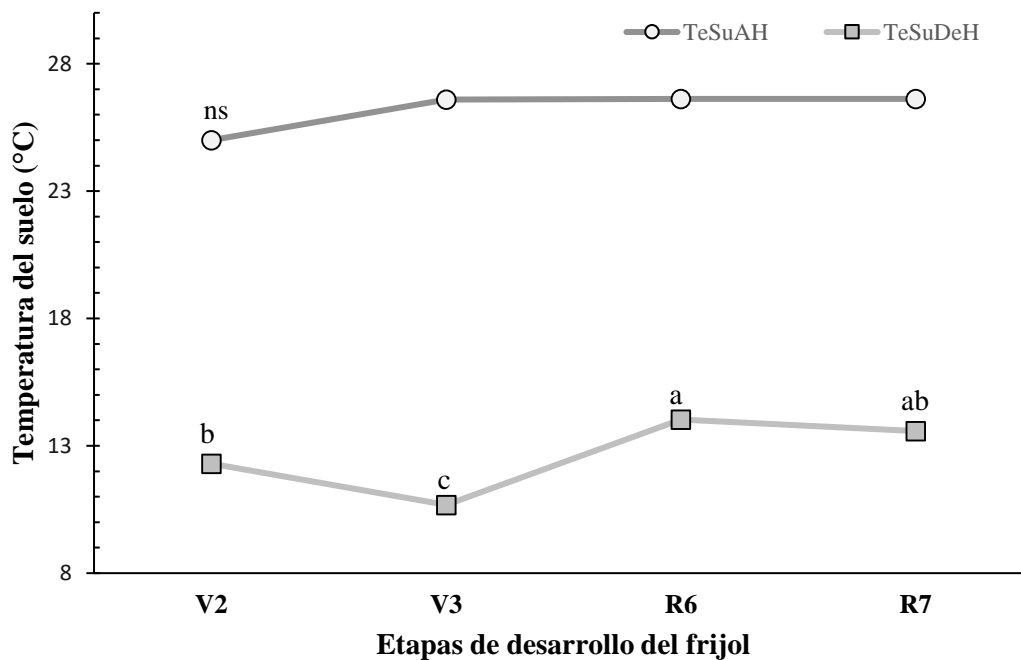


Figura 3. 8. Temperatura del suelo antes (TSuAH) y después de la helada (TSuDeH) por etapas. Letras diferentes presentan diferencia significativa entre tratamientos, ns: no significativo ($p \leq 0.05$).

La TeSuAH en la etapa V2 fue mayor con SA (30.4°C) y la más baja con el tratamiento An (19.5°C) (Figura 3.9), después de la helada la temperatura más alta fue con el tratamiento Lom+An (14.6°C) y la más baja con SA (10.4°C). En la etapa V3 el tratamiento Lom+Am (32.8°C) presentó la TeSuAH más alto y la temperatura más baja con An (19.1°C), la TeSuDeH fue significativamente alta con el tratamiento Lom+Am (13.7°C) y la más baja con Gib (7.1°C).

En la etapa R6 el tratamiento que presentó la TeSuAH y TeSuDeH más alta fue Lom+An (32.2 y 19.1°C respectivamente) (Figura 3.9), después de la helada el tratamiento Am (8.3°C) presentó la

temperatura más baja. En la etapa R7 la TeSuAH fue mayor con el tratamiento Gib (33.8°C), seguido de los tratamientos SA (28.6°C) y Am (27.4°C), después de la helada los tratamientos Lom+An (15.6°C), Lom+Am (15.6°C) y Lom+Gib (16°C) fueron los tratamientos con la TeSuDeH más alta.

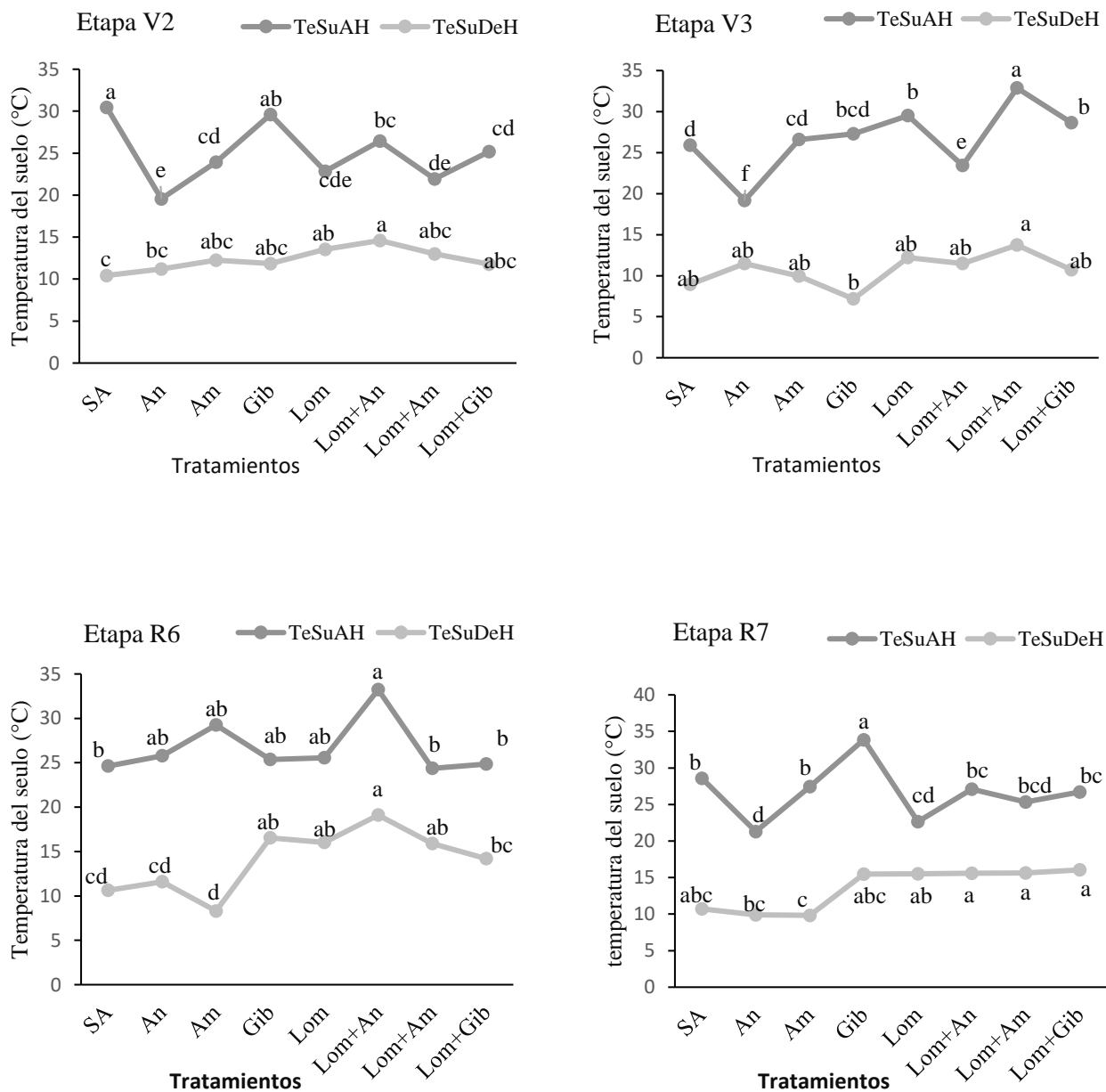


Figura 3. 9. Temperatura del suelo antes (TSuAH) y después de la helada (TSuDeH) en las etapas V2, V3, R6 y R7 del frijol con la aplicación de productos con efecto anticongelante. Letras diferentes presentan diferencia significativa entre tratamientos, ns: no significativo, ($p \leq 0.05$). SA: Suelo agrícola, An: Anticongelante, Am: Aminoácidos, Gib: Giberelinas, Lom: Lombricomposta, Lom+An: Lombricomposta+Anticongelante, Lom+Am: Lombricomposta+Aminoácidos y Lom+Gib: Lombricomposta+Giberelinas.

El desarrollo de nódulos fue mayor en las etapas R6 (601) y R7 (566) del frijol (Figura 3.10), el número de nódulos más bajo fue en las etapa V2 (2.1) y V3 (2.5), coincidiendo con la menor cantidad de nódulos dañados.

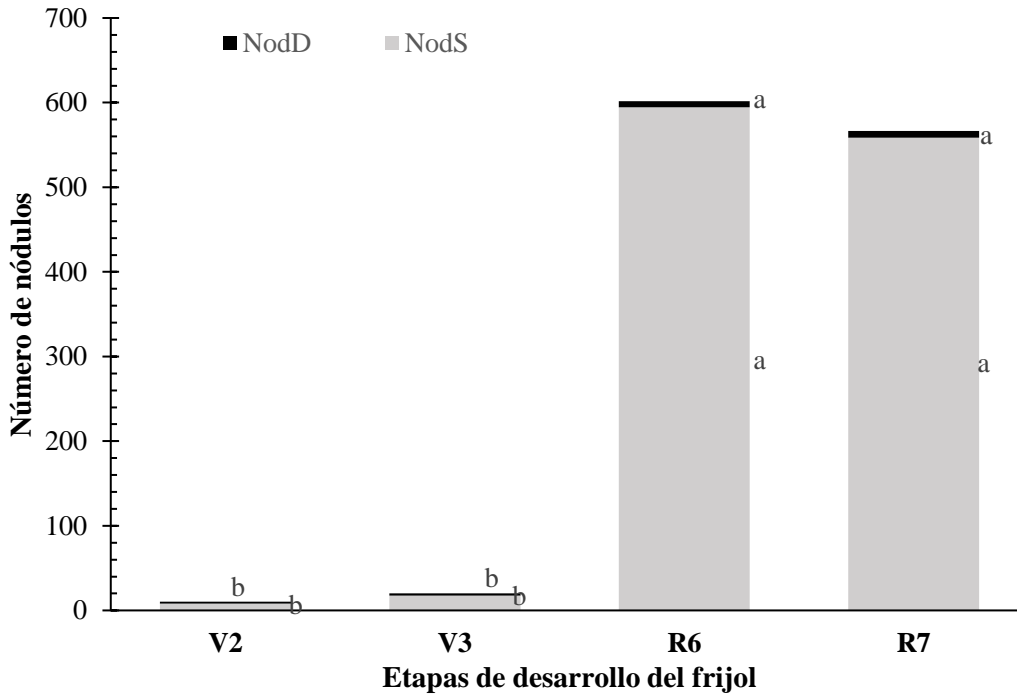


Figura 3. 10. Cantidad de nódulos buenos y malos en cada etapa. NodS: Número de nódulos buenos y NodD: nódulos dañados. Letras diferentes representan diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

La NodS después de la helada en la etapa V2 fue mayor con Lom+An (25.6) (Figura 3.11), mientras que el tratamiento An no presentó nódulos en esta etapa. El tratamiento SA presentó el mayor número de NodD (8). En la etapa V3 los tratamientos Lom+An (33) y Lom+Am (33.3) fueron los que tuvieron mayor número de nódulos buenos, en esta misma etapa el número de nódulos dañados no fue significativamente diferente entre los tratamientos. Díaz-Rivas *et al.* (2009) reportan que la lombricomposta mezclada con suelo agrícola al 50% favoreció mejor la nodulación en relación a dosis probadas de fertilización química sobre el desarrollo vegetativo de las plantas.

La etapa R6 contabilizó el mayor número de nódulos buenos con el tratamiento Am (866), mientras que la menor cantidad se obtuvo con el tratamiento Lom+An (362), el mayor número de NodD fue con Gib (20) y la menor cantidad con Am (4.6), Lom (4.6) y Lom+An (5). En la etapa R7 el mayor

número de nódulos buenos fue con el tratamiento Lom+An (820) y la menor cantidad con SA (239), mientras que para la cantidad de NodD no se presentó diferencia significativa.

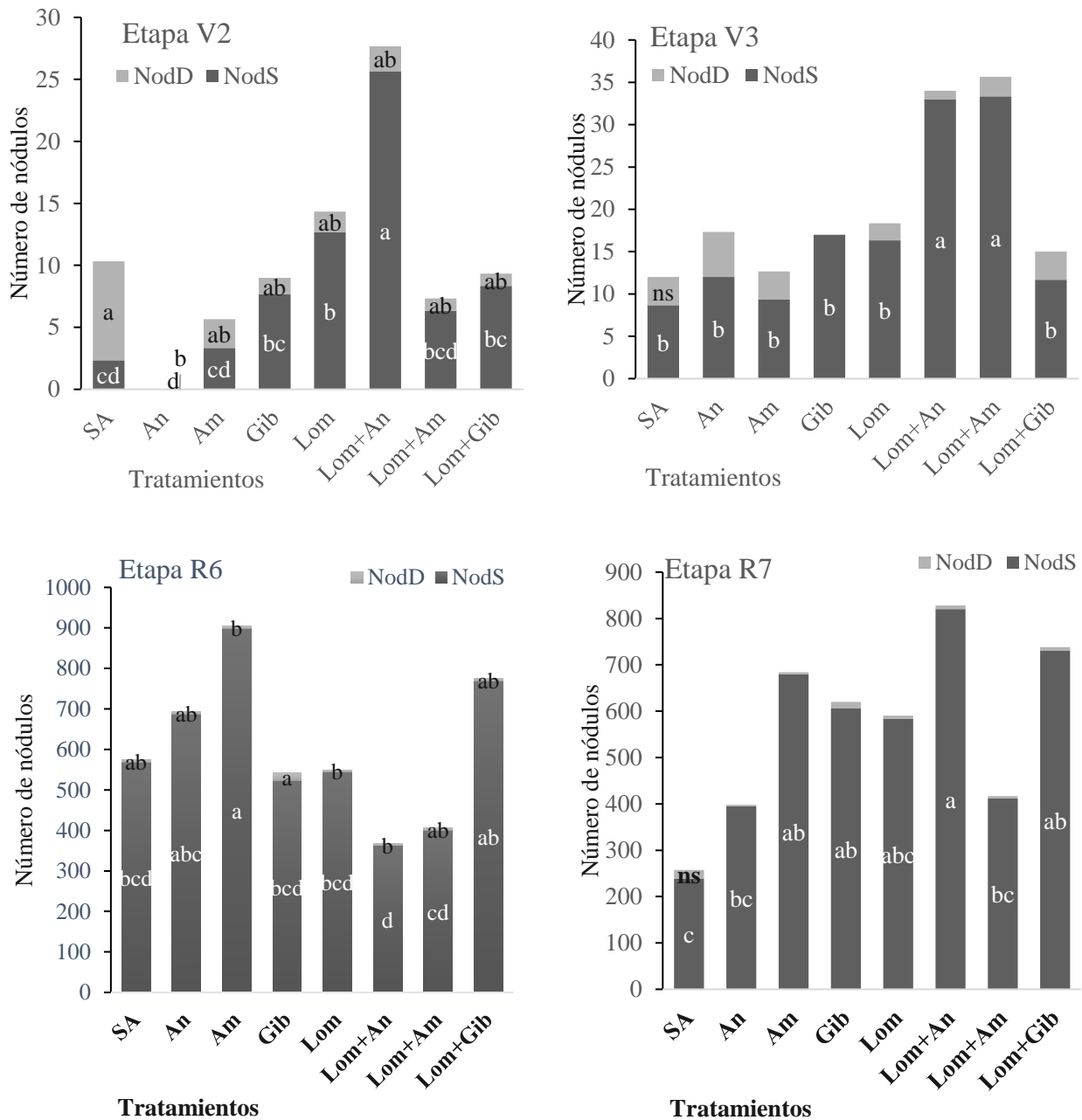


Figura 3. 11. Cantidad de nódulos en la raíz mediante la aplicación de productos con acción anticongelante. Letras diferentes representan diferencia significativa ($p \leq 0.05$). NodS: número de nódulos buenos y NodD: número de nódulos dañados. SA: Suelo agrícola, An: Anticongelante, Am: Aminoácidos, Gib: Giberelinas, Lom: Lombricomposta, Lom+An: Lombricomposta+Anticongelante, Lom+Am: Lombricomposta+Aminoácidos y Lom+Gib: Lombricomposta+Giberelinas.

3.4 CONCLUSIONES

La incidencia de la helada sobre el vástago de las plantas de las diferentes etapas evaluadas, provocó una magnitud de daño distinta, la etapa V3 fue la más tolerante a las heladas, en la etapa V2 su alto porcentaje de daño provocado por la helada en el vástago, se debió a que los tratamientos Gib y Lom+Gib presentaron el daño más alto.

En cada etapa el efecto de los tratamientos fue diferente, con respecto a porcentaje de estructuras dañadas en la planta con los tratamientos Lom+An, Am y Lom brindaron mayor protección en la etapa V2, la etapa V3 fue la etapa más tolerante a las heladas, por lo que con el tratamiento Lom+An no se presentó daño por la helada en el vástago mientras que con Lom+Gib se presentó el mayor daño, en la etapa R6 el mejor tratamiento fue Lom y en R7 con An según al porcentaje del peso seco sin daño.

La mayor distribución de peso seco dañado se detectó en hojas, en la etapa V2 y V3 el %PsHoD fue del 60 y 40.2% respectivamente, mientras que en las etapa R6 y R7 el %PsHoD fue del 31.5% y 28.7 con los tratamiento SA y Gib. En las etapas V3, R6 y R7 la mayor acumulación fue con el tratamiento Lom, seguido de la combinación Lom+Am.

En la raíz el efecto de la helada no fue evidente, probablemente a que la temperatura del suelo después de la helada fue mayor a los 12°C en las distintas etapas, sin embargo la cantidad de nódulos fue significativo entre los tratamientos, en la etapa V2 la mayor cantidad de nódulos activos fue con el tratamiento Lom+An, en la etapa V3 Lom+An y Lom+Am, en la R6 con el tratamiento Am y en la etapa R7 Lom+An.

3.5. LITERATURA CITADA

- Abdelhamid, M. T., SH Sadak, M., and Schmidhalter, U. 2015. Effect of foliar application of aminoacids on plant yield and some physiological parameters in bean plants irrigated with seawater. *Acta Biológica Colombiana*, 20(1):141-152.
- Alcántar, G. G. y Trejo-Téllez, L. 2007. *Nutrición de cultivos*. Mundi-Prensa México. 438 p.

- Amador-Alfárez, K. A., Díaz-González, J., Loza-Cornejo, S., y Bivián-Castro, E. Y. 2013. Efecto de diferentes reguladores de crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos especies de *Ferocactus* (Cactaceae). *Polibotánica*, (35):109-131.
- Badaruddin, M., and Meyer, D. W. 2001. Factors modifying frost tolerance of legume species. *Crop Science*, 41(6):1911-1916.
- CENAPRED (Centro Nacional de prevención de desastres). 2016. Heladas y nevadas. <http://132.248.68.83/portal/index.php/riesgos-hidrometeorologicos/heladas-y-nevadas>. Consultada en abril 2016.
- Chaar, J. 2013. Resistencia a heladas en plantas frutales. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 17(3):109-121.
- Díaz-Rivas, M. A., y Díaz-Ruiz, R. 2009. Efecto de fertilizantes nitrogenados y lombricomposta en la distribución de materia seca y nodulación en frijol. *Agricultura Sostenible*. Galdámez-Galdámez J., Guevara-Hernández F., Soto-Pinto L., López-Martínez J., Vázquez-García M. (Compiladores). Universidad Autónoma de Chiapas, Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible, AC. pp. 318-328.
- Díaz-Ruiz, R., Kohashi-Shibata, J., Yañez-Jiménez, P., and Escalante-Estrada, A. 2008. Growth and allocation of dry matter in bean seedlings developed up to the senescence of the cotyledons. *Agriculturae Conspectus Scientificus (ACS)*, 73(4):203-210.
- Fraile-Robayo, A. L., Álvarez-Herrera, J. G., and Deaquiz-Oyola, Y. A. 2012. Effect of gibberellins on the propagation of the tomato (*Solanum lycopersicum* L.) with different substrates enriched with fertilizer. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 6(1):41-54.
- Fernández de C. F. y Marcelino L. G. P. 1986. Etapas de desarrollo de la planta de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). Cali. Colombia. 34 p.
- Fuentes Y. J. L. 2002. Manual práctico sobre utilización de suelo y fertilizantes. 2da edición. Mundi-Prensa. Madrid España. pp 51-53.
- Hernández-López, V. M., Vargas-Vázquez, M., Luisa, P., Muruaga-Martínez, J. S., Hernández-Delgado, S., y Mayek-Pérez, N. 2013. Origen, domesticación y diversificación del frijol común: Avances y perspectivas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(2):95-104.

- Ibarquim. 2016. Disponible en www.ibarquim.com.mx/portfolio/lines/line2/HojaAnticongelante. Consultada el 17 de octubre de 2016.
- Jones, C. A. 1985. C4 grasses and cereals: Growth, development and stress response. Wiley and Sons, Nueva York. 419 p.
- Jordán, M., y Casaretto, J. 2006. Hormonas y reguladores del crecimiento: auxinas, giberelinas y citocininas. Squeo, F, A., Cardemil, L. (eds.). Fisiología Vegetal. Universidad de la Serena. Chile. pp. 1-28.
- Labrador M., J. 2001. La materia orgánica en los agroecosistemas. 2da. Edición. Mundi-Prensa. Madrid España. 293 p.
- Lira Saldívar, R. H. 2007. Fisiología vegetal. Editorial Trillas. 2da edición. México. 237 p.
- Manresa, R. E. 1983. La fertilización foliar con aminoácidos. Horticultura: Revista de industria, distribución y socioeconómica hortícola: frutas, hortalizas, flores, plantas, árboles ornamentales y viveros, (12):33-35.
- Maldonado, S. H. G., Gallegos, J. A. A., de los Ángeles Álvarez-Muñoz, M., García-Delgado, S., y Piña, G. L. 2015. Calidad alimentaria y potencial nutracéutico del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 28(2):159-173.
- Martínez, L. O., Mendoza, J. O., Valenzuela, C. M., Serrano, A. P., y Olarte, J. S. 2013. Efecto de las giberelinas sobre el crecimiento y calidad de plántulas de tomate. BIOTecnia, 15(3):56-60.
- Moreno C., J., y Moral H., R. 2008. Compostaje. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid España. 570 p.
- Moreno ME. 1984. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Universidad Nacional Autónoma de México. pp:169-77.
- Schuldt, M. 2006. Lombricultura teoría y práctica. Mundi-Prensa. España. 307 p.
- Shafiq, S., Mather, D. E., Ahmad, M., and Paull, J. G. 2012. Variation in tolerance to radiant frost at reproductive stages in field pea germplasm. Euphytica, 186(3):831-845.
- Snyder, R. L., Melo-Abreu J. P. 2010. Protección contra las heladas: fundamentos, práctica y economía. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma. 241 p.

CAPÍTULO IV

EFFECTO DE PRODUCTOS CON ACCIÓN ANTICONGELANTE EN COMPONENTES DEL RENDIMIENTO DE HABA EN TEPEYAHUALCO DE CUAUHTÉMOC, PUEBLA

4.1 INTRODUCCIÓN

Las leguminosas han mantenido la producción y la fertilidad de los sistemas agrícolas desde la antigüedad, ya que constituye la familia botánica que produce nitrógeno fijado de forma biológica, por lo que en la actualidad, están siendo revalorizadas en todo el mundo, además de que en general las leguminosas aportan del 20 al 35% de proteína de buena calidad (Confalone *et al.*, 2013). El cultivo de haba recibe mayor atención debido a que tolera bajas temperaturas y fija de 100-120 kg N ha⁻¹ proveniente de la atmósfera (Confalone *et al.*, 2013), por lo que puede crecer en zonas marginadas, además su valor proteínico y el precio que puede alcanzar en el mercado permite que sea atractivo para el productor (Pérez *et al.*, 2014).

El cultivo de *Vicia faba* L. perteneciente a la familia papilionoidea, es de gran importancia social y económica en la región de los valles altos de la meseta central, que comprende los estados de Puebla, Tlaxcala, México, Hidalgo y Morelos, (Rosales *et al.*, 2002). En el estado de Puebla destaca por ser de las leguminosas con mayor superficie sembrada, ocupando el quinto lugar con 15 001 ha en la modalidad de temporal (SIAP, 2014). Sin embargo, a pesar de la importancia social y económica que genera este cultivo, la superficie sembrada fluctúa cada año debido a los bajos rendimientos, lo cual podría atribuirse a que los productores no utilizan un método adecuado para la selección de sus semillas, no aplican fertilizantes y existe un mínimo o nulo control de plagas y enfermedades (Rosales *et al.*, 2002; Rojas-Tiempo *et al.*, 2012).

Por otra parte en el estado de Puebla, la región que limita con el Sistema Volcánico Transversal, se encuentra dentro de la zona con un índice medio a alto de días por heladas durante el ciclo del cultivo, presentándose hasta 120 días (CENAPRED, 2016), las cuales coinciden con las etapas reproductivas del haba donde se presenta la mayor sensibilidad por las bajas temperaturas, afectando el rendimiento final de las plantas (Cervantes *et al.*, 2009), en conjunto con el tipo de suelo, la precipitación pluvial y la incidencia de granizo, son las principales componentes de

variación en la generación, validación y aplicación de tecnología, así como en la producción de semillas (Pérez *et al.*, 2015).

La aplicación de sustancias sobre los cultivos proporcionan un efecto sobre su rendimiento, entre ellos el uso de nitrógeno incrementa el número de vainas, el número de semillas y, en consecuencia el rendimiento de haba (Quiroz *et al.*, 2007), además se logra una mayor eficiencia en el uso del agua, la radiación y eficiencia agronómica del nitrógeno y, en consecuencia, mayor producción de biomasa, índice de cosecha y rendimiento de semilla (Pichardo-Riego *et al.*, 2007). Por lo que el objetivo de esta investigación es determinar el efecto de productos con acción anticongelante como los aminoácidos, giberelinas, aceite vegetal y lombricomposta en componentes del rendimiento de haba cultivada bajo riego en el municipio de Tepeyahualco de Cuauhtémoc, Puebla.

4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Localización del terreno experimental en campo

El terreno experimental se ubicó en el municipio de Tepeyahualco de Cuauhtémoc en el estado de Puebla, localizado entre las coordenadas 18° 47' 48" y 18° 49' 12" de latitud norte y los meridianos 97° 50' 06" y 97° 53' 18" de longitud occidental (Figura 4.1).

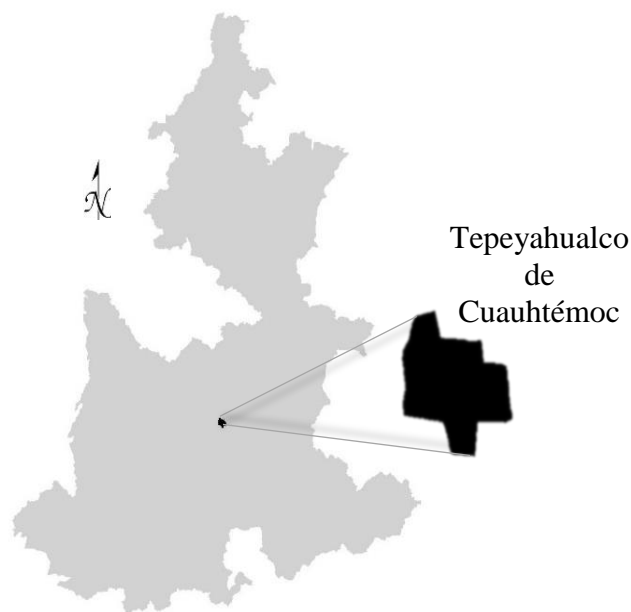


Figura 4. 1. Ubicación geográfica de la zona de estudio Tepeyahualco de Cuauhtémoc, Puebla.

Tepeyahualco de Cuauhtémoc cuenta con una altura promedio de 1,940 m. s. n. m., colinda al norte con el municipio Santa Ana Coapan, al noroeste con Atoyatempan y al sur con Santa Clara Huiziltepec. Los climas que predominan son templado subhúmedo, semiseco templado y semiseco muy cálido, con un rango de 40 a 80 días con heladas (INEGI, 2000).

4.2.2 Variedad de haba utilizada

Se utilizó una variedad de haba tipo *major* de color amarillo, proveniente de la región del Valle de Serdán.

4.2.2.1. Manejo del cultivo

La preparación del terreno consistió en aplicar una rastra, un barbecho con profundidad de 40 cm, un segundo paso de rastra para eliminar los terrones y maleza, a los 15 días se realizó un segundo barbecho. Previo a la siembra se definieron dos parcelas de 250 m², para la incorporación de 375 kg de lombricomposta en una de las parcelas, se obtuvo el nivel del terreno y el surcado con apero, dejando un espacio de 80 cm entre surcos.

La siembra fue realizada el 9 de enero de 2015, depositando dos semillas a tres centímetros de profundidad, dejando una separación entre matas de 40 cm y a cada cinco metros de distancia se dejó una calle de un metro. El mismo día se realizó el primer riego con agua de pozo y a los 23 días se fertilizó el terreno mediante la fórmula 40-40-00. Las fuentes utilizadas fueron nitrato de amonio y súper fosfato de calcio triple, para nitrógeno y fósforo respectivamente, posterior a su aplicación, el fertilizante fue tapado con una cultivadora, se realizó el cierre de labor al día siguiente de la fertilización, se combatieron las malezas con azadón cuando este fue necesario.

4.2.2.2. Distribución de los tratamientos

El diseño experimental consistió en dos parcelas en bloques totalmente al azar, definidos al momento de la emergencia de las plantas, en cada parcela con y sin lombricomposta, se definieron en bloques para la aplicación de los tratamientos anticongelante (An), aminoácidos (Am) y giberelinas (Gib). Los bloques fueron compuestos por tres surcos contiguos, con 60 cm de ancho, el largo de los surcos fue de 5 m, dejando una separación (de forma longitudinal) de 1 m entre cada tratamiento. Se establecieron ocho tratamientos con ocho repeticiones cada uno (Cuadro 4.1).

Se realizaron tres aplicaciones de los productos dirigidas al follaje del cultivo, la primera en la fase vegetativa al momento que las plantas tenían hojas con tres folíolos (V13), en la etapa de floración (R50) y en formación de vainas (R70) de las habas (Meier, 2001) utilizando un aspersor de mochila con capacidad de 15 litros.

Cuadro 4. 1. Tratamientos utilizados para amortiguar el daño por la helada y las dosis utilizadas.

<i>Tratamientos</i>	Dosis	Abreviación
Suelo agrícola	--	SA
Anticongelante	10 mL L ⁻¹	An
Aminoácidos	1.5 g L ⁻¹	Am
Giberelinas	0.05 g L ⁻¹	Gib
Lombricomposta*	1.5 ton ha ⁻¹	Lom
Lombricomposta*+Anticongelante	1.5 ton ha ⁻¹ +10 mL L ⁻¹	Lom+An
Lombricomposta*+Aminoácidos	1.5 ton ha ⁻¹ +1.5 g L ⁻¹	Lom+Am
Lombricomposta*+Giberelinas	1.5 ton ha ⁻¹ +0.05 g L ⁻¹	Lom+Gib

*La lombricomposta fue incorporada al momento de la preparación del terreno.

4.2.2.3. Características de los productos utilizados

Anticongelante compuesto por 95% de aceite vegetal estabilizado, producto comercial de la línea del Grupo Ibarquim S. A. de C.V., su aplicación es vía foliar, el cual es formulado para formar una fina capa cerosa biodegradable que actúa como barrera física entre la superficie vegetal y los cambios de temperatura, en casos de frío extremo sin bajar de los 0°C, evita la formación de hielo intercelular (Ibarquim, 2016).

Los *aminoácidos* obtenidos del producto comercial Aminocel 500®, el cual permite a la planta formar proteínas de manera más rápida y con menor gasto de energía, este ahorro energético favorece un mejor balance entre fotosíntesis y respiración, en favor de cultivos más productivos. Se compone principalmente de aminoácidos libres (50%), nitrógeno (10%), fósforo (8%) y potasio (10%), su uso se sugiere en las etapas de mayor actividad de la planta como el desarrollo vegetativo, floración y fructificación, o bien cuando el cultivo haya sido expuesto a problemas asociados por el frío, calor, falta o exceso de humedad, desbalance nutricional, incidencia o enfermedades o plagas, etc. con el propósito de lograr una recuperación más rápida (COSMOCEL, 2016).

Las *giberelinas* se obtuvieron del producto BioGib10PS, el cual se compone del 10% de ácido giberélico y 90% de diluyentes y acondicionadores. Es un estimulante de crecimiento vegetal, actúa uniformizando la floración, mejora el amarre y desarrollo de frutos (ARYSTA, 2016).

Lombricomposta obtenida a base de estiércol de ovino el cual aporta cantidades de nutrientes como N (1.26%), P (0.18%) y K (0.9%) (Schuldt, 2006).

4.2.3. Mantenimiento del cultivo

Se hizo deshierbe manual cada 20 días con azadón para competencia con el cultivo y permitir la toma de datos. Las plagas mosquita blanca y pulgón se evitaron mediante la aplicación de una solución de ajo y cebolla en 50 litros de agua, una vez por semana. Se presentó mancha de chocolate en plantas de haba, por lo que fue necesaria la aplicación de Prozycar (2g L⁻¹ de agua) durante la etapa R50 de las plantas y Manzate 200 en etapa R63 (5 g L⁻¹ de agua).

4.2.4. Evaluación del daño por heladas en plantas de haba

Cuando las plantas estaban prácticamente defoliadas y con un 85% de vainas totalmente secas, se procedió a seleccionar al azar 10 plantas de cada tratamiento y sus repeticiones, seleccionando plantas con competencia completa. De las 10 plantas se contabilizó el número de ramas de la planta y el total de sus vainas realizando una selección de las vainas buenas las cuales eran apreciadas con al menos un grano bueno y las vainas malas consideradas con ausencia de granos o granos no desarrollados. De las vainas buenas y malas seleccionadas se obtuvo su respectivo peso (peso de vainas buenas, malas y el peso total de las vainas) mediante una balanza de la marca OHAUS con capacidad para 2610 g. De las vainas buenas se seleccionaron 10 para obtener su longitud y el ancho de cada una tomadas con un vernier digital con precisión al 0.01 mm, modelo 209.

Del total de vainas buenas se contabilizó el número de granos totales, de ellos los granos buenos y los granos malos considerados con manchas, deformaciones o de menor tamaño y abortados. También fue determinado el peso para cada catalogación de grano con una balanza de la marca OHAUS con capacidad para 2610 g. Se tomaron al azar 10 semillas buenas, para la evaluación de los caracteres longitud, ancho y grosor de cada una de ellas, el registro de los valores fue obtenido con un vernier digital marca Mitutoyo Corporation modelo CD-6" CSX con precisión 0.01. De cada repetición de tratamientos se obtuvo el peso total de las vainas y de los granos.

Los registros de temperatura máxima, temperatura mínima y precipitación fueron proporcionados por la estación meteorológica más cercana a Tepeyahualco de Cuauhtémoc, la cual está ubicada en el municipio de Ahuatepec, Puebla, reporte obtenido de CONAGUA (2015).

4.2.5. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para verificar si existió diferencia significativa entre los tratamientos en las variables de estudio y una prueba de separación de medias Tukey ($\alpha=0.05$) para detectar los mejores tratamientos en cada variable. Para ambos análisis se utilizó el paquete estadístico SAS ver. 9.0 para Windows.

4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las condiciones climáticas bajo las cuales se desarrolló el cultivo, desde el periodo de siembra hasta la fecha de cosecha la T_{máx} reportada en los meses de enero a julio fue de 31°C (Figura 4.2) y la T_{mín} registrada en el mes de enero fue de 3°C, en febrero 2°C y 6°C en el mes de marzo, en los meses de abril a julio la T_{mín} reportada fue de 10°C, por lo que las bajas temperaturas incidieron sobre las etapas vegetativas y en la etapa de formación de botón en las plantas de haba.

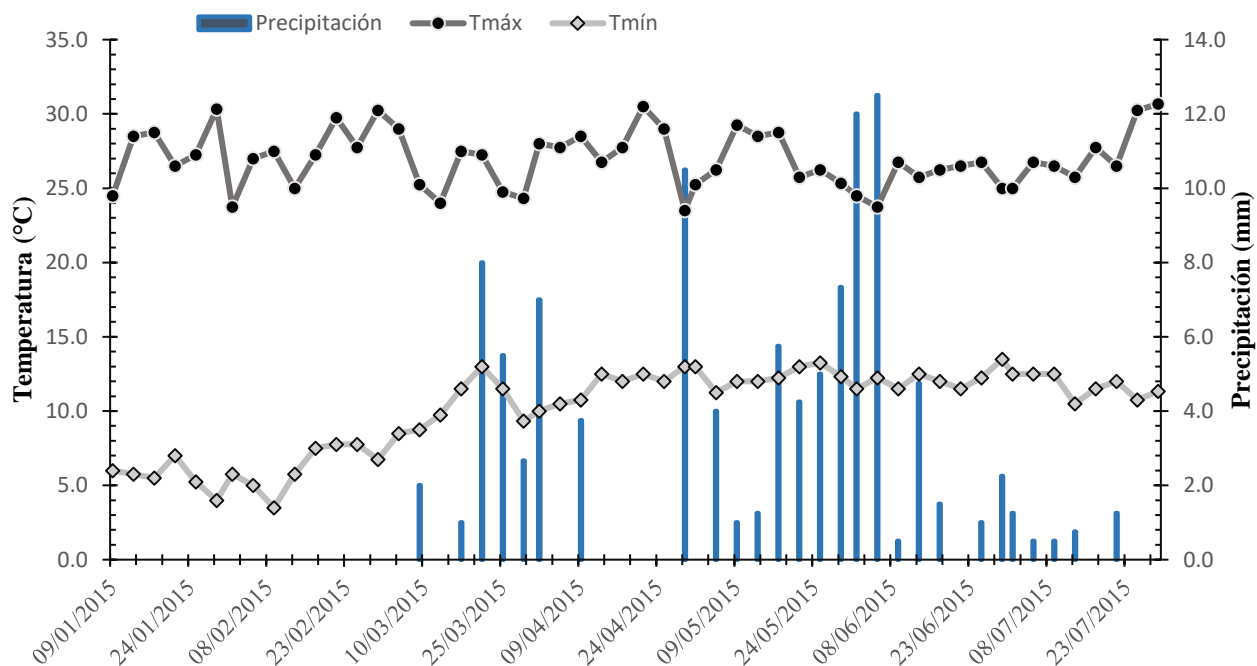


Figura 4. 2. Temperatura máxima, mínima y precipitación durante el desarrollo del haba en el periodo del 9 de enero al 23 de julio del 2015 en la comunidad de Tepeyahualco de Cuauhtémoc.

La precipitación inició en el mes de marzo, registrada la mayor cantidad de agua en el mes de junio con 133.5 mm (Figura 4.2) en la etapa de maduración de las vainas, por lo que el secado de las vainas sobre las plantas para su cosecha fue extendido hasta el mes de julio.

El número de ramas por planta (NumRam) y la altura de la primera vaina (AltVai), no presentaron diferencias significativas para la prueba de medias Tukey, mientras que el mayor número de vainas buenas (NVaiBu) fue con el tratamiento Am (17 vainas por planta), seguido de Lom+An (16) y el menor número se registró con SA y An (10.9) (Cuadro 4.2).

Cuadro 4. 2. Número de ramas y vainas por planta en la aplicación de los productos con efecto anticongelante en haba sembrada en Tepeyahualco de Cuauhtémoc. Invierno-primavera 2015.

<i>Tratamientos</i>	NumRam	AltVai (cm)	NumVaiBu	NumVaiMal	VaiTotal
SA	8.57 ns	37.79 ns	10.91 c	2.56 ns	13.48 ns
An	9.35	36.07	10.97 c	1.02	11.99
Am	9.42	36.03	17.02 a	1.88	17.45
Gib	9.73	39.10	14.73 abc	1.59	16.32
Lom	10.06	33.23	13.46 abc	2.35	15.82
Lom+An	9.67	34.34	16.70 abc	1.90	18.60
Lom+Am	10.24	31.57	11.08 bc	2.17	13.26
Lom+Gib	8.24	28.22	14.16 abc	2.60	16.76

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales $p \leq 0.05$, ns: no significativo. NumRam: Número de ramas por planta, AltVaina: Altura a la primera vaina, NumVaiBu: Vainas buenas, NumVaiMal: Vainas malas y VaiTotal: Vainas totales por planta, SA: Suelo agrícola, An: Anticongelante, Am: Aminoácidos, Gib: Giberelinas, Lom: Lombricomposta, Lom+An: Lombricomposta+Anticongelante, Lom+Am: Lombricomposta+Aminoácidos y Lom+Gib: Lombricomposta+Giberelinas.

El mayor peso de vainas buenas (PVaiBu) fue con el tratamiento Am (56.8 g), de igual forma para el peso de vainas totales con 57.9 g (Cuadro 4.3). En el trabajo de Serna-Rodríguez *et al.* (2011) quienes realizaron aplicaciones foliares de ácido glutámico en plantas de jitomate, concluyendo que se favorece la formación de clorofila b, y se provoca un incremento en la actividad de la glutamina sintetasa, lo que se refleja en mayor producción de frutos sobre todo con la concentración al 2.50 g L⁻¹, mientras que Abdelhamid *et al.* (2015) reporta que con 1.5 g L⁻¹ de aminoácidos se ejerce el máximo efecto en el alivio ante los efectos nocivos de estrés por salinidad de agua de mar, su aplicación por aspersión foliar incrementan significativamente el rendimiento de semilla y el peso seco total por planta.

La dosis utilizada favoreció el incremento en el número de vainas totales y su respectivo peso de vainas totales (PVaiTotal) sobresalió con 57.96 g por planta con el tratamiento Am, mientras que el largo y ancho de la vaina no fue significativo con la aplicación de productos entre los tratamientos.

Cuadro 4. 3. Peso y dimensiones de las vainas por planta en la aplicación de los productos con efecto anticongelante en haba sembrada en Tepeyahualco de Cuauhtémoc, Puebla. Invierno-primavera 2015.

<i>Tratamientos</i>	PesVaiBu (g)	PesVaiMal (g)	PesVaiTotal (g)	LongVai (cm)	AnchoVai (cm)
SA	33.98 c	1.44 ns	35.43 b	6.53 ns	1.95 ns
An	33.96 c	0.65	34.60 b	7.09	1.92
Am	56.81 a	1.06	57.96 a	7.23	1.95
Gib	49.55 abc	0.85	50.40 ab	7.00	2.01
Lom	46.86 abc	1.00	47.85 ab	6.71	1.93
Lom+An	43.89 abc	1.34	45.23 ab	6.83	1.96
Lom+Am	36.78 bc	1.46	38.20 b	6.74	1.96
Lom+Gib	51.80 ab	0.92	52.72 ab	7.10	2.00

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales $p \leq 0.05$, ns: no significativo. PesVaiBu: Peso de vainas buenas, PesVaiMal: Peso de vainas malas, PesVaiTotal: Peso de vainas totales, LongVai: Longitud de la vaina y AnchoVai: Ancho de la vaina. SA: Suelo agrícola, An: Anticongelante, Am: Aminoácidos, Gib: Giberelinas, Lom: Lombricomposta, Lom+An: Lombricomposta+Anticongelante, Lom+Am: Lombricomposta+Aminoácidos y Lom+Gib: Lombricomposta+Giberelinas.

El mayor número de granos buenos (NGraBu) fue con el tratamiento Am (24.9), sobresaliendo también con el mayor número de granos malos (NGraMal) (2.11) mientras que los valores más bajos se obtuvieron con el tratamiento SA (15 y 0.95 respectivamente) (Cuadro 4.4). Por lo tanto el peso de granos totales fue mayor con el tratamiento Am con 45.2 g y 44.2 g en el peso de granos buenos (PGraBu). De la Fé *et al.* (2016) señalan que el rendimiento final de grano en seco, presenta una alta correlación con el componente número de vainas por planta, por lo que este carácter se identifica como componente del rendimiento asociado con su mayor potencial.

Estos rendimientos mostrados con el tratamiento Am se pueden atribuir a que los aminoácidos tienen propiedades protectoras derivadas de su comportamiento en la planta tal como menciona Escaich *et al.* (1989) quienes demostraron que en plantas de tomate se dio una migración de algunos aminoácidos, principalmente prolina, hacia las partes vegetativas, en perjuicio de los órganos florales (anteras y pistilos), durante periodos de estrés térmico provocado por altas temperaturas, por lo que una aplicación exógena de prolina antes de la antesis, ayudó a equilibrar

el déficit de prolina provocado por el estrés, elevándose su concentración en el grano de polen y su resistencia frente a factores adversos de temperatura.

Por lo tanto, la aplicación de aminoácidos realizada durante la etapa de floración y formación de vainas en el haba, fue reflejada en el número y peso de vainas y granos, por lo que el An no resultó de los tratamientos más significativos, debido a que es un producto con acción protectora en la parte foliar de las plantas, ante el posible estrés provocado por heladas.

Cuadro 4. 4. Número y peso de granos por planta en la aplicación de los productos con efecto anticongelante en haba sembrada en Tepeyahualco de Cuauhtémoc, Puebla. Invierno-primavera 2015.

<i>Tratamientos</i>	NGraBu	NgraMal	GraTotal	PgraBu (g)	PgraMal (g)	PgraTotal (g)
SA	15.08 b	0.95 b	16.08 c	26.84 b	0.54 ab	27.38 b
An	15.44 b	1.19 ab	16.63 bc	26.87 b	0.34 b	27.20 b
Am	24.96 a	2.11 a	27.07 a	44.2 a	1.26 a	45.26 a
Gib	21.55 ab	1.25 ab	22.81 abc	39.26 ab	0.55 ab	39.84 ab
Lom	21.59 ab	1.27 ab	22.86 ab	36.33 ab	1.03 ab	36.71 ab
Lom+An	23.89 ab	1.38 ab	25.22 abc	33.81 ab	0.44 b	34.25 ab
Lom+Am	16.61 ab	1.77 ab	18.38 abc	27.86 b	0.86 ab	29.62 b
Lom+Gib	20.27 ab	1.72 ab	21.66 abc	38.82 ab	0.85 ab	39.71 ab

Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales $p \leq 0.05$. SA: Suelo agrícola, An: Anticongelante, Am: Aminoácidos, Gib: Giberelinas, Lom: Lombricomposta, Lom+An: Lombricomposta+Anticongelante, Lom+Am: Lombricomposta+Aminoácidos y Lom+Gib: Lombricomposta+Giberelinas.

Cuadro 4. 5. Dimensiones de la semilla de haba con la aplicación de cada tratamiento.

<i>Tratamiento</i>	LGra (mm)	AGra (mm)	GroGra (mm)
SA	23.39 ab	16.27 ns	6.97 ns
An	23.9 ab	16.51	6.98
Am	24.09 a	16.55	6.59
Gib	23.5 b	16.36	7.03
Lom	22.73 b	16.18	6.68
Lom+An	22.6 b	16.26	6.68
Lom+Am	22.84 ab	15.86	6.61
Lom+Gib	23.52 b	16.76	6.89

ns: no significativo, letras diferentes representan diferencia significativa ($p \leq 0.05$). LGra: Longitud de grano, AGra: Ancho del grano y GroGra: Grosor del grano. SA: Suelo agrícola, An: Anticongelante, Am: Aminoácidos, Gib: Giberelinas, Lom: Lombricomposta, Lom+An: Lombricomposta+Anticongelante, Lom+Am: Lombricomposta+Aminoácidos y Lom+Gib: Lombricomposta+Giberelinas.

El análisis de Tukey muestra que la longitud de grano (LGra) fue mayor con el tratamiento Am (24.09 mm), seguido de los tratamientos An (23.9 mm), SA (23.39 mm) y Lom+Am (22.84 mm) (Cuadro 4.5) mientras que las variables ancho de grano (AGra) y grosor de grano (GroGra) no presentaron significancia, sin embargo la LGra contribuyó significativamente a un incremento en el rendimiento del grano, sobre todo con el tratamiento Am.

4.4 CONCLUSIONES

Los productos con acción anticongelante y la combinación de ellos con lombricomposta tuvieron un efecto sobre los componentes del rendimiento de haba cultivada con riego. El rendimiento de vaina y grano destacó con el tratamiento Am, mientras que con los tratamientos SA y An se presentaron los valores más bajos, probablemente a que el An solo es un producto que protege físicamente mediante la formación de una fina capa cerosa que evita la deshidratación de las plantas y en SA no se aplicó ningún producto, con Am las características o propiedades que le proporcionó a la planta favorecen la nutrición de la planta, lo cual se ve reflejado en el rendimiento final de la planta.

4.5 LITERATURA CITADA

- Abdelhamid, M. T., SH Sadak, M., and Schmidhalter, U. 2015. Effect of foliar application of aminoacids on plant yield and some physiological parameters in bean plants irrigated with seawater. *Acta Biológica Colombiana*, 20(1):141-152.
- Arysta Lifescience México. 2016. Disponible en www.arystalifescience.com consultada el 13 de octubre 2016.
- CENAPRED (Centro Nacional de prevención de desastres). 2016. Heladas y nevadas. <http://132.248.68.83/portal/index.php/riesgos-hidrometeorologicos/heladas-y-nevadas>. Consultada el 10 de abril de 2016.
- Cervantes, F. S., Ruiz, R. D., Hernández, C. J., Álvarez, L. A., y de la Peña, A. H. 2009. Prácticas agrícolas, descripción morfológica, proteínica y culinaria del grano de cultivares de frijol sembrados en la región de Tlatzala, Guerrero. *Ra Ximhai*, 5(2):187-199.
- Confalone, A., Barufaldi, M., Navarro, M., Aguas, L., Vilatte, C., y Ponce, G. 2013. Crecimiento, captura de luz y componentes del rendimiento del haba cv. Alameda creciendo en Azul, provincia de Buenos Aires. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 45(1).

- CONAGUA (Comisión Nacional del Agua). 2015. Disponible en <http://www.gob.mx/conagua>. Consultada en septiembre de 2016.
- COSMOCEL. 2016. Disponible en www.tacsa.mx/DEAQ/src/productos/126_48.htm. Consultada el 13 de octubre de 2016.
- De la Fé, M., C. F., Lamz P., A., Cárdenas Travieso, R. M., y Hernández Pérez, J. 2016. Respuesta agronómica de cultivares de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) de reciente introducción en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 37(2):102-107.
- Escaich, J., Gomis, P., Juncosa, R., y Soler, F. 1989. Estudio de la influencia de los aminoácidos durante la polinización y fecundación. *Horticultura: Revista de industria, distribución y socioeconomía hortícola: frutas, hortalizas, flores, plantas, árboles ornamentales y viveros*, (51):95-103.
- Ibarquim. 2016. Disponible en www.ibarquim.com.mx/portfolio/lines/line2/. Consultada el 17 de octubre de 2016.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2000. Síntesis Geográfica del estado de Puebla. www.inegi.org.mx. Consultada el 10 de enero de 2015.
- Medrano, H., Bota, J., Cifre, J., Flexas, J., Ribas-Carbó, M., y Gulías, J. 2007. Eficiencia en el uso del agua por las plantas. *Investigaciones Geográficas (Esp)*, (43):63-84.
- Meier, U. 2001. Estadios de las plantas mono y dicotiledóneas. 2da edición. Centro Federal de Investigaciones Biológicas para Agricultura y Silvicultura, Alemania pp. 33-35
- Pérez L., D. D. J., González H., A., Franco M., O., Rubí A., M., Ramírez D., J. F., Castañeda V., Á., y Aquino M., J. G. 2014. Aplicación de métodos multivariados para identificar cultivares sobresalientes de haba para el Estado de México, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(2):265-278.
- Pérez L., D. D. J., González H., A., Rubí A., M., Franco M., O., Martínez, F., Pascual, J. R., y Padilla L., A. 2015. Análisis de 35 cultivares de haba por su producción de vaina verde y otros componentes del rendimiento. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(7):1601-1613.
- Pichardo-Riego, J. C., Escalante-Estrada, J. A., Rodríguez-González, M. T., y Sánchez-García, P. 2007. Aplicación dividida y eficiencia agronómica de nitrógeno, uso de agua y radiación, y rendimiento de haba. *Terra Latinoamericana*, 25(2):145-154.

- Quiroz, A. G., Estrada, J. A. E., González, M. T. R., García, P. S., y Castro, E. S. 2007. Biomasa, proteína, taninos y rendimiento en haba en función del nitrógeno. *Terra Latinoamericana*, 25(2):169-175.
- Rojas-Tiempo, J., Díaz-Ruiz, R., Álvarez-Gaxiola, F., Ocampo-Mendoza, J., y Escalante-Estrada, A. 2012. Tecnología de producción de haba y características socioeconómicas de productores en Puebla y Tlaxcala. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(1):35-49.
- Rosales, E. J. M., De la O Ávila, H., Ruiz, A. M., y de la Cruz Arellano, V. M. 2002. Evaluación de cinco genotipos de haba (*Vicia faba* L.) con seis niveles de fósforo en Tecámac, México. *CIENCIA ergo-sum*, 9(2):184-189.
- Serna-Rodríguez, J. R., Castro-Brindis, R., Colinas-León, M. T., Sahagún-Castellanos, J., y Rodríguez-Pérez, J. E. 2011. Aplicación foliar de ácido glutámico en plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mili.). *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 17(1): 9-13.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2014. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/>. Consultada el 20 de mayo de 2016.
- Schuldt, M. 2006. *Lombricultura teoría y práctica*. Mundi-Prensa Libros. 307 p.

CONCLUSIONES GENERALES

La comparación de variedades de climas cálidos y templados, permitió determinar su comportamiento ante el estrés producido por heladas, de esta manera se detectó que existe una misma tendencia del grado de daño en las plantas no importando el origen climático ni la variedad, el cual incrementa conforme se desarrollan las plantas de la fase vegetativa hacia la fase reproductiva. La etapa V4 presentó el mayor daño en las cuatro variedades estudiadas y la V2 el menor. Sin embargo, el daño fue significativo en las variedades de clima cálido, por lo que la adaptación previa a sus climas de origen les confiere el grado de tolerancia a las bajas temperaturas.

La magnitud del daño provocado por la helada fue mayor en frijol que en haba, presentándose en diferente magnitud en el vástago de las plantas, sometidas bajo la misma temperatura y en el mismo estado fenológico. Las etapas más tolerantes en el frijol fueron la V1 (19%) y V2 (2.5%) mientras que la etapa vegetativa V4 presentó el mayor daño en el vástago (100%), no obstante, la helada en las etapas R6 y R7 provocó daños irreversibles en las flores y vainas. Las plantas de haba fueron más tolerantes, presentándose el mayor daño en la etapa de floración (R63) con daño en el vástago del 17%. Sin embargo al disminuir la humedad en el suelo, el daño en el vástago fue en su totalidad.

El daño en ambas especies fue detectado principalmente en las hojas. En la planta de frijol, las hojas menos desarrolladas localizadas cercanas al ápice de crecimiento, presentaron daño total, mientras que en haba con humedad en el suelo, las hojas presentaron marchitamiento después de la helada, con recuperación a las pocas horas, suceso que no se presentó con las plantas de haba que tenían humedad mínima en el suelo.

Con la aplicación de los productos, la etapa V3 fue la más tolerante a las heladas (7.5%), en la etapa V2 su alto porcentaje de daño provocado por la helada en el vástago fue con los tratamientos Gib (71%) y Lom+Gib (83%). En cada etapa el efecto de los tratamientos fue diferente, con respecto a porcentaje de estructuras dañadas en la planta con los tratamientos Lom+An, Am y Lom brindaron mayor protección en la etapa V2, la etapa V3 fue la más tolerante a las heladas, por lo que con el tratamiento Lom+An no se presentó daño por la helada en el vástago mientras que con Lom+Gib se observó mayor daño.

La mayor distribución de peso seco dañado fue en hojas, en la etapa V2 el %PsHoD fue con Gib, Lom+Gib, Lom y SA y en la etapa V3 con Lom+Gib, mientras que en las etapas R6 y R7 el %PsHoD fue con los tratamiento SA y Gib. La mayor acumulación de peso seco total en el vástago de la etapa V2 no presentó diferencia significativa, en las etapas V3, R6 y R7 la mayor acumulación fue con Lom, seguido del tratamiento Lom+Am.

En la raíz el efecto de la helada no fue evidente, probablemente debido a que la temperatura del suelo con la aplicación de los tratamientos, después de la helada, fue mayor a los 12°C en las distintas etapas, los nódulos se presentaron a partir de la etapa V2 incrementando conforme se desarrollaba la planta.

Los productos con acción anticongelante y la combinación de ellos con lombricomposta tuvieron un efecto sobre los componentes del rendimiento de haba cultivada con riego. El rendimiento de vaina y grano destacó con aplicación de Am, mientras que con SA y An se presentaron los valores más bajos, probablemente el An solo es un producto de protección superficial y el SA fue el testigo sin aplicación de productos, mientras que los Am favorecen la nutrición de la planta, lo cual se ve reflejado en el rendimiento.