



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE BOTÁNICA

**ASIMILACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE ^{14}C EN
PLANTAS DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.)
EN DIFERENTES NIVELES DE HUMEDAD
DURANTE EL LLENADO DE LA VAINA**

NORMA CECILIA MORALES ELIAS

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE**

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2021

La presente tesis titulada: Asimilación y distribución de ^{14}C en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en diferentes niveles de humedad durante el llenado de la vaina, realizada por la alumna: Norma Cecilia Morales Elias, 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
BOTÁNICA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



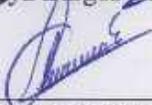
Dr. Daniel Padilla Chacón

ASESORA



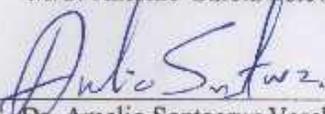
Dra. Mirya Burgos Hernández

ASESOR



M.C. Antonio García Esteva

ASESOR EXTERNO



Dr. Amalio Santacruz Varela

Montecillo, Texcoco, Estado de México, febrero de 2021

ASIMILACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE ¹⁴C EN PLANTAS DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) EN DIFERENTES NIVELES DE HUMEDAD DURANTE EL LLENADO DE LA VAINA

Norma Cecilia Morales Elias, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2021

RESUMEN

Las plantas modifican la distribución de carbono en respuesta a la baja disponibilidad de agua y reciclan moléculas de reserva que translocan a tejidos prioritarios para la supervivencia. El objetivo del presente estudio fue evaluar, con el uso de pulso y caza de ¹⁴CO₂, el efecto de la restricción de humedad en la producción de biomasa en plantas de frijol var. OTI. Las plantas se mantuvieron con riego (100 % de capacidad de campo; CC) hasta el inicio de llenado de las vainas; luego se formaron tres grupos, que se mantuvieron cada uno en tres niveles de humedad (100, 75 y 50 % CC). Después de diez días, las plantas se marcaron con ¹⁴CO₂ durante 4 h, y se cosecharon 24 h (M1), 72 h (M2) y 168 h (M3) posteriores a la aplicación de la marca. Las estructuras de las plantas, deshidratadas a 80 °C, se trituraron y se determinaron las cuentas por minuto, los azúcares solubles y el almidón. Los frutos maduros importaron más del 50 % de la marca total. Particularmente, en pericarpios de etapa III la marca presentó mayores cambios. El contenido de fructosa duplicó el de glucosa y disminuyó con la edad del fruto, la sacarosa aumentó en pericarpios de las etapas III y IV respecto a la etapa II. El efecto de la restricción de humedad sólo se detectó en pericarpios de etapa II en el séptimo día, ya que el contenido de almidón disminuyó a la mitad con 50 % CC. Este último coincidió con la mayor actividad amilolítica evaluada en geles nativos. La planta de frijol con restricción de humedad, durante la etapa de desarrollo de las semillas, modifica la asignación de fotoasimilados. Los resultados de este estudio permitieron profundizar en el mecanismo de asignación del carbono a los órganos de la planta a través del tiempo, bajo restricción de humedad.

Palabras clave: ¹⁴CO₂, fotoasimilados, pericarpio, removilización, vaina.

**ASSIMILATION AND DISTRIBUTION OF ¹⁴C IN COMMON BEAN PLANTS
(*Phaseolus vulgaris* L.) AT DIFFERENT HUMIDITY LEVELS DURING POD FILLING**

Norma Cecilia Morales Elias, M.S.

Colegio de Postgraduados, 2021

ABSTRACT

Plants modify carbon distribution in response to low water availability and recycle reserve molecules that translocate into priority tissues for survival. The objective of this study was to evaluate, with the use of ¹⁴CO₂ hunting pulse, the effect of moisture restriction on biomass production in common bean plants var. OTI. The plants were maintained under irrigation (100 % field capacity; FC) until the beginning of the pod filling; then, three groups were formed, each one kept at three moisture levels (100, 75 and 50 % FC). After ten days, the plants were labeled with ¹⁴CO₂ for 4 h, and were harvested 24 h (M1), 72 h (M2) and 168 h (M3) after applying the label. The plant structures, dehydrated at 80 °C, were ground and the counts per minute, soluble sugars and starch were determined. Ripe fruits imported more than 50 % of the total mark. Particularly, the mark presented greater changes in pericarps at stage III. The content of fructose doubled that of glucose and decreased with the fruit age, sucrose increased in pericarps of stages III and IV in relation to those of stage II. The effect of moisture restriction was only detected in pericarps of stage II on the seventh day, as the starch content decreased by half with 50 % FC. The latter coincided with the highest amylolytic activity evaluated in native gels. The common bean plant under moisture restriction during the seed development modifies the allocation of photoassimilates. The results open new opportunities to deepen on the carbon allocation mechanism to plant organs, over time under moisture restriction.

Key words: ¹⁴CO₂, photoassimilates, pericarp, remobilization, pod.

DEDICATORIA

Esta investigación, si bien ha requerido de esfuerzo y mucha dedicación, no hubiese sido posible su finalización sin la cooperación de todas las personas que me acompañaron en el recorrido laborioso de este trabajo y muchas de las cuales han sido un soporte muy fuerte en momentos de angustia y desesperación. El presente trabajo está dedicado a mi hijo Juan Pablo, esposo Jorge Luis, madre y padre, por haber sido mi apoyo a lo largo de este camino. A todas las personas que me acompañaron en esta etapa, aportando a mi formación tanto profesional como ser humano y han hecho que el trabajo se realice con éxito, en especial a aquéllos que nos abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado para la realización de este proyecto;

Al Colegio de Postgraduados por el apoyo proporcionado por toda la institución, en especial al Posgrado en Botánica y a la Secretaría Académica;

A los integrantes de mi familia por su apoyo incondicional, muy en especial a mi esposo Jorge Luis, por el soporte en los diferentes aspectos que implicó este objetivo, iniciando con la mudanza de estado;

Al Dr. Daniel Padilla Chacón por permitirme ser parte de su grupo de investigación, transmitirme parte de sus conocimientos, por el apoyo absoluto, paciencia, comprensión y dirigirme a lo largo de proyecto;

Al M.C. Antonio García Esteva por su apoyo en todo momento, tiempo, paciencia, sugerencias, consejos que siempre me han ayudado y por compartir su experiencia;

A la Dra. Mireya Burgos Hernández y al Dr. Amalio Santacruz Varela, que forman parte de mi Consejo Particular por el esfuerzo, dedicación, tiempo y apoyo que me han brindado;

A la Dra. Lilia Angélica Bernal Gracida por su tiempo, apoyo y las sugerencias que han hecho posible esta investigación;

Al Dr. Eleazar Martínez Barajas por su tiempo, apoyo y las sugerencias que han hecho posible esta investigación;

Al Dr. Axel Tiessen Favier por todo el apoyo, consejos, enseñanzas. La muerte forma parte de la vida, mi gratitud estará con usted por siempre por la gran huella que ha dejado en mí;

A mis compañeros del laboratorio Marce, Christian, Karla por todo su apoyo, consejos y motivación durante esta etapa;

A la Dra. Martha Hernández Rodríguez por facilitarnos el material y equipo de laboratorio;

Al Dr. Josué Kohashi Shibata por su apoyo durante esta etapa.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE CUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Las leguminosas como alimento	4
2.2. Importancia del cultivo de frijol	5
2.3. Respuestas fisiológicas al estrés por sequía en leguminosas	7
2.3.1. Fotosíntesis y clorofila	8
2.3.2. Transpiración y cierre estomático	9
2.4. Respuestas bioquímicas al estrés por sequía en leguminosas	10
2.4.1. Acumulación de metabolitos secundarios	10
2.4.2. Procesos de oxidación y reducción en la senescencia	11
2.5. Respuestas fenotípicas al estrés por sequía en leguminosas	13
2.5.1. Efecto del déficit de humedad en el crecimiento de la raíz	13
2.5.2. Permanencia de color verde "Stay Green"	14
2.6. Fijación de carbono	15
2.7. Síntesis y degradación de sacarosa y almidón	15
2.8. Llenado de la semilla de frijol	19
2.9. Reasignación de fotoasimilados en condiciones de estrés por restricción de humedad	22
2.9.1. ¹⁴ C como método de análisis en la respuesta al estrés abiótico en plantas	23
2.9.2. Vaina como tejido de almacenamiento	24
2.9.3. Degradación de almidón en pericarpio	25
3. HIPÓTESIS	27
4. OBJETIVOS	27
4.1. General	27
4.2. Específicos	27
5. MATERIALES Y MÉTODOS	28

5.1. Material vegetal y sitio experimental	28
5.2. Diseño experimental.....	28
5.3. Tratamientos	28
5.4. Etiquetado de flores.....	29
5.5. Conductancia estomática (<i>gs</i>).....	30
5.6. ¹⁴ CO ₂ pulso y caza	30
5.7. Determinación de azúcares solubles y almidón.....	31
5.8. Actividad amilolítica en geles nativos PAGE	32
5.9. Rendimiento y sus componentes.....	33
5.10. Análisis estadístico.....	33
6. RESULTADOS.....	34
6.1. Conductancia estomática (<i>gs</i>) de las plantas y pérdida de humedad en el sustrato	34
6.2. Distribución de ¹⁴ C.....	36
6.3. Contenido de azúcares solubles y almidón.....	38
6.4. Actividad amilolítica	40
6.5. Producción de flores y peso seco de órganos	41
7. DISCUSIÓN	47
8. CONCLUSIONES	54
9. PERSPECTIVAS	55
10. LITERATURA CITADA	56

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Medias de las variables de rendimiento e índice de cosecha y de la vaina de las plantas de la var. OTI en diferentes niveles de humedad (100 % CC, 75 % CC y 50 % CC) durante el llenado de la vaina. Medias \pm SE, (Tukey, $P \leq 0.05$) n = 7.	46
---	----

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** El carbono forma almidón en el plastidio y sacarosa en el citosol. El dióxido de carbono (CO₂) se fija en los cloroplastos a través del ciclo de Calvin para producir triosa fosfato (TP) que puede ser transportada al citosol, donde dos moléculas de TP producen una molécula de fructosa 1,6-bisfosfato (Fru 1, 6 BP); ésta se metaboliza hacia fructosa 6-bisfosfato (Fru 6 BP) y glucosa-6-bisfosfato (Glu 6 BP), puede usarse para formar UDP-glucosa (UDP-Glu), combinada con Fru 6 BP forma sacarosa fosfato (Sac-P), la cual al desfosforilarse por la sacarosa fosfato fosfatasa (12) forma sacarosa. En el cloroplasto las TP, producen Fru 1,6 BP, luego de una serie de reacciones se produce ADP-glucosa (ADP-Glu), que es sustrato para sintetizar almidón (Modificado de Tiessen y Padilla-Chacón, 2013).17
- Figura 2.** Vías de transporte de asimilados hacia las semillas en crecimiento y de transformación de la sacarosa a almidón. INV: invertasa, SUS: sacarosa sintasa, PGI: fosfoglucoisomerasa, pPGM: fosfoglucomutasa, UGP-UDP: glucosa pirofosforilasa, AGP: ADP glucosa pirofosforilasa, transportador de GPT-glucosa-6-fosfato, SS: almidón sintasa, GBSSI: almidón sintasa unida a gránulos, SBE: enzima ramificadora de almidón, transportadores de sacarosa-SUT, PEP carboxilasa y aspartato quinasa (PEPC, AK) (modificado de Borisjuk *et al.*, 2003).....18
- Figura 3.** Diagrama del desarrollo de la semilla de *Phaseolus vulgaris* desde la antesis hasta la formación de una semilla (modificado de Herrera-Flores *et al.*, 2005).21
- Figura 4.** Escala de desarrollo de una planta de frijol. En la imagen se observa la duración relativa de las etapas de la var. OTI. Modificado de Villalobos (2015).21
- Figura 5.** Diseño experimental y etapas fenológicas de la var. de frijol OTI (basado en la descripción del CIAT, 1982), niveles de humedad aplicados y el tiempo (h) para efectuar el muestreo (M1, M2 y M3) después de aplicar el pulso con ¹⁴C.....29
- Figura 6.** Estados de desarrollo de los frutos de frijol evaluados con y sin marca con ¹⁴CO₂. II, 10-15 días después del inicio de la antesis (DDA); III, 16-20 DDA y IV, 21-30 DDA.31

- Figura 7.** Conductancia estomática (*gs*) (eje izquierdo) y pérdida de humedad en el sustrato (eje derecho) en plantas de frijol var. OTI. (A) 100 % CC, (B) 75 % CC y (C) 50 % CC. La barra amarilla representa el tiempo en el que se alcanzó el porcentaje de humedad indicado y la barra marrón el tiempo que duró la restricción de humedad. La línea azul indica la cantidad de humedad en el sustrato correspondiente a la CC y la línea punteada es el día que se dio el pulso de $^{14}\text{CO}_2$, $n = 10$. DDS = días después de la siembra.35
- Figura 8.** Efecto de la restricción de humedad durante 10 días en la marca total de ^{14}C en cuentas por minuto (cpm) incorporada en plantas de frijol de la var. OTI, en la etapa de llenado de la vaina (R8). Las barras con color azul, rojo y verde representan los muestreos a las 24 h (M1), 72 h (M2) y 168 h (M3) después de exponer las plantas a $^{14}\text{CO}_2$. 100 % de capacidad de campo (CC), 75 % CC y 50 % CC. Las letras similares sobre las barras indican similitud entre muestreos de los tratamientos según la comparación de medias por Tukey ($P \leq 0.05$) $n = 3$37
- Figura 9.** Distribución relativa del ^{14}C asimilado 24 h (M1), 72 h (M2) y 168 h (M3) después de aplicarlo a plantas de frijol en la etapa de llenado de la vaina (R8), 10 días después de permanecer en suelo con 100 % de capacidad de campo (CC), 75 % CC y 50 % CC. M1, M2 y M3 corresponde al análisis de muestras evaluadas, respectivamente, $n = 3$38
- Figura 10.** Concentración de glucosa, fructosa, sacarosa y almidón ($\mu\text{mol g}^{-1}$ PS) en pericarpios de frutos de plantas de frijol, en la etapa de llenado de la vaina (R8), 10 días después de mantenerse con 100 % de capacidad de campo (CC), 75 % CC y 50 % CC. M1, M2 y M3 corresponden a muestras evaluadas 24 h, 72 h y 168 h después de concluir el pulso de ^{14}C . Las letras similares sobre las barras indican similitud entre los tratamientos (100 % CC (barras azules), 75 % CC (barras moradas) y 50 % CC (barras rosas)) y muestreos (M1, M2 y M3) según la comparación de medias por Tukey ($P \leq 0.05$), $n = 3$40
- Figura 11.** Gel nativo de poliacrilamida (Native-PAGE), teñido con lugol, con el efecto del nivel de humedad en el perfil de actividad de enzimas amilolíticas de pericarpios de vainas, producidas por plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

de la variedad OTI, mantenidas 10 días en suelo con 100 % de capacidad de campo (CC), 75 % CC y 50 % CC a partir del inicio del llenado de vaina (R8). La tinción del gel fue con lugol. II, III y IV corresponden a las etapas de las vainas definidas en la Figura 6.41

Figura 12. Producción de flores a partir de la etapa R6 (círculos azules, eje izquierdo) sin restricción de humedad hasta la etapa de llenado de vainas (R8) y vainas normales cosechadas a la madurez fisiológica (R9) a A) 100 % CC, B) 75 % CC y C) 50 % CC (cuadros rojos, eje derecho), n = 10. La restricción de humedad inicio el día 63. DDS = días después de la siembra. El área azul corresponde al máximo número de vainas normales producidas a la cosecha.....43

Figura 13. Número total de flores producidas por las plantas en tres niveles de humedad [100 % CC (azul), 75 % CC (rojo) y 50 % CC (amarillo)] n = 10.44

Figura 14. Efecto de la restricción de humedad, en el peso seco de raíz, tallo, hojas, pericarpio y semillas de plantas de la var. OTI en tres niveles de humedad (100 % CC, 75 % CC y 50 % CC). Las semillas a la cosecha no se secaron en estufa, se pesaron con el contenido de humedad a la madurez fisiológica, n = 7 (Tukey, $P \leq 0.05$).....44

Figura 15. Frecuencia del peso de las semillas de frijol producidas por las plantas de la var. OTI en los tres niveles de humedad (100 % CC, 75 % CC y 50 % CC). Cada punto representa el valor promedio de tres plantas (n = 3).45

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

Adenosín trifosfato.....	ATP
ADP-Glucosa pirofosforilasa.....	AGPasa
Agua disponible.....	AD
Carbono.....	C
Centro Internacional de Agricultura Tropical.....	CIAT
Conductancia estomática.....	gs
Curie (unidad de actividad radiactiva).....	Ci
D-gliceraldehído 3-fosfato.....	GAP
Días después de floración.....	DDF
Días después de la antesis.....	DDA
Difosfato de adenosina glucosa.....	ADPG
Dióxido de carbono.....	CO ₂
Enzima desproporcionada.....	DPE2
Etapla reproductiva.....	R
Etapla vegetativa.....	V
Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura...FAO	
Fosfato inorgánico.....	Pi
Fructosa 1,6-bifosfato.....	F1,6BP
Fructosa 6-fosfato.....	F6P
Fructosa.....	Frc
Glucosa 6-fosfato.....	G6P
Glucosa adenosina difosfato.....	ADP-G
Glucosa uridina difosfato.....	UDP-G

Glucosa.....	Glc
Índice de cosecha de la vaina.....	ICV
Índice de cosecha.....	IC
Índice de partición de la vaina.....	IPV
Invertasa.....	INV
Oxígeno.....	O ₂
Punto de marchitez permanente.....	PMP
Mapeo de <i>loci</i> de caracteres cuantitativos.....	QTL
Ácido ribonucleico.....	RNA
Sacarosa 6-fosfato.....	S6,P
Sacarosa fosfato fosfatasa.....	SPS
Sacarosa sintasa.....	SUS
Sacarosa.....	Sac
Tejido demanda.....	TD
Tejido fuente.....	TF
Transportador de glucosa.....	pGLcT
Transportador de maltosa.....	MEX1
Transportador de TP fosfato.....	TTP
Triosa fosfato.....	TP
UDP-Glucosa.....	UDP-G
Uridin difosfato.....	UDP
α -glucanofosforilasa.....	PHM2
β -D-glucopiranosas.....	GL

1. INTRODUCCIÓN

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las leguminosas más importantes mundialmente para consumo directo. Sus cualidades nutricionales, como fuente de proteínas, micronutrientes, carbohidratos y fibra de alta calidad, lo hacen un alimento valioso para la salud humana (Sathe y Deshpande, 2003; Beebe *et al.*, 2013; Rao *et al.*, 2013; Polania *et al.*, 2020). El rendimiento del grano lo determina la eficiencia en la captación de la luz, fijación de CO₂, síntesis de carbohidratos y translocación de fotoasimilados hacia la semilla (Gallagher, *et al.* 1976). La sequía es el factor que genera el estrés con mayor efecto en el rendimiento; además, este factor es el que más limita el crecimiento de la planta de frijol y su producción de semillas (Beebe *et al.* 2013; Daryanto *et al.* 2015; Montero-Tavera *et al.* 2008). De acuerdo con la FAO, en la última década los periodos de sequía han reducido el rendimiento, con pérdidas de hasta el 80 % (Graham y Ranalli, 1997; McClean *et al.* 2011). En casos de sequía terminal severa, la pérdida puede alcanzar hasta el 100 % (Rao *et al.*, 2013; Polania *et al.*, 2016, 2017); esto es relevante porque 80 % del sistema de producción se realiza en secano, es decir, depende de las lluvias anuales que se presenten (Beebe *et al.* 2013). Además, el tiempo que invierte la planta en el proceso del llenado del grano (50 a 60 días), comparado con otros cultivos es más de la mitad de su ciclo biológico completo (CIAT, 1982; Stolle-Smits *et al.*, 1999; Michelangeli *et al.*, 2013).

Entre los esfuerzos para obtener cultivares que enfrenten mejor los cambios ambientales originados por el cambio climático está elucidar los puntos clave en la síntesis y distribución de fotoasimilados para diseñar e implementar estrategias eficientes que les permitan tolerar la sequía (Montero-Tavera *et al.*, 2008). El tiempo y severidad del estrés por sequía puede alterar significativamente el balance entre el crecimiento y producción de frutos (Farooq *et al.*, 2017); por ejemplo, el estrés por sequía durante la floración puede inducir abscisión de flores, decrece la

fuerza de la demanda y, por lo tanto, el índice de cosecha (IC) (Michelangeli *et al.*, 2013; Pushpavalli *et al.*, 2015). Entre los ajustes que realizan las plantas para enfrentar el estrés por sequía, la reasignación o removilización de las reservas almacenadas en tejidos fotosintéticos es un proceso que se ha considerado como un carácter agronómico en programas de mejoramiento genético (Asfaw *et al.*, 2012; Teran *et al.*, 2019; Polania *et al.*, 2020).

Los pericarpios en frijol protegen a las semillas y son tejido de reserva de carbono (Sengupta *et al.*, 2019); de hecho, algunos estudios han considerado al índice de cosecha (IC) como un carácter agronómico. Este IC se define como el grado de movilización de asimilados de las estructuras vegetativas a las semillas y se relaciona con el índice de cosecha de vaina (ICV), que indica el grado de movilización de asimilados desde la vaina hasta la formación y llenado de semillas, en condiciones de sequía (Assefa *et al.*, 2013; Chaves-Barrantes *et al.*, 2018). Los resultados obtenidos con mapeo de *loci* de caracteres cuantitativos (QTL) han permitido identificar regiones genómicas asociadas en presencia o ausencia de estrés (Honsdorf *et al.*, 2017; Diaz *et al.*, 2018); sin embargo, la forma en que el nivel de déficit hídrico (moderado o severo) modifica la fuerza de demanda de carbono y el mecanismo que dirige la degradación de reservas de acuerdo a la edad del fruto se conocen escasamente (Polania *et al.*, 2020).

El mesófilo del pericarpio almacena almidón durante el estado I de la embriogénesis y cuando las semillas inician el llenado en la etapa II es degradado. El uso eficiente de este almidón depende de la actividad de las enzimas amilolíticas, que degradan el almidón directamente (Müntz, 1977); sin embargo, la información sobre la regulación y su papel en condiciones de restricción de humedad es escasa.

En este contexto, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar la capacidad de asimilación de $^{14}\text{CO}_2$ y distribución de biomasa en restricción de humedad moderada (75 % CC)

y severa (50 % CC) durante el llenado de la vaina (etapa R8) en plantas de la variedad OTI. Los experimentos con $^{14}\text{CO}_2$ en pulso y caza son útiles para el seguimiento del movimiento de carbono e informa sobre los cambios en la translocación en condiciones de estrés (Dong *et al.*, 2018). Las evidencias muestran que el estrés generalmente acelera la translocación de reservas a los tejidos de demanda como una respuesta adaptativa. Es por ello que nuestra hipótesis fue que, bajo restricción de humedad, la distribución de fotosintatos se modifica de acuerdo con la intensidad de la sequía y la etapa de desarrollo de las estructuras reproductivas y vegetativas ya que en otros estudios la salinidad incrementó el flujo de ^{14}C de la fuente a los frutos en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Gao *et al.*, 1998) y en la raíz de plantas transgénicas de arroz (*Oryza sativa* L.) (Thitisaksakul *et al.*, 2017). En *Arabidopsis* (*A. thaliana* L.), la restricción de agua tuvo efecto sobre la distribución de ^{14}C translocado a la raíz (Durand *et al.*, 2016). Finalmente las plantas de frijol bajo déficit hídrico mostraron mayor acumulación de ^{14}C en la vaina (Cuellar-Ortiz *et al.*, 2008).

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Las leguminosas como alimento

La agricultura comenzó hace más de 10 mil años, cuando los recolectores y cazadores se convirtieron en agricultores; desde entonces, las leguminosas han sido parte de la alimentación humana, las que tradicionalmente se han cultivado para consumo humano, forraje, ensilaje de ganado y abono verde para mejorar el suelo (Zizumbo y García, 2008). Las leguminosas representan la tercera familia más grande de las angiospermas, pertenecen a Fabaceae/Leguminosae e incluye a los guisantes (*Pisum sativum* L.), las lentejas (*Lens culinaris* Medik.), los frijoles (*Phaseolus vulgaris* L.), los cacahuates (*Arachis hypogaea* L.), la soya (*Glycine max* L.) y otras plantas con vaina que se consumen como alimento (Çakir *et al.*, 2019). Las semillas de estas especies proporcionan una variedad de nutrientes esenciales como proteínas (20-45 %) con aminoácidos esenciales, carbohidratos (\pm 60 %) y fibra dietética (5-37 %), generalmente contienen pocos lípidos (\pm 5 %), con excepción del cacahuate (\pm 45 %), garbanzo (*Cicer arietinum* L.) (\pm 15 %) y soya (\pm 47 %) con aporte calórico mayor; además, las leguminosas proporcionan minerales esenciales y vitaminas (Çakir *et al.*, 2019).

Las leguminosas son identificadas como fuente alternativa de proteína y, después de los cereales, se consideran la segunda fuente de alimento más importante en el mundo (Varshney y Kudapa, 2013). Además de su valor nutricional, las leguminosas tienen papel cultural, fisiológico y medicinal, debido a que poseen compuestos bioactivos como isoflavonas, lignanos, inhibidores de proteasa, inhibidores de tripsina, quimotripsina, saponinas, alcaloides, fitoestrógenos, fitatos, glucósidos y polifenoles (Maphosa y Jideani, 2017). Los avances en la investigación de este tema han demostrado que la mayoría de estos compuestos bioactivos son antioxidantes y participan en

la prevención de algunos tipos de cáncer, enfermedades cardíacas, osteoporosis y otras enfermedades degenerativas (Maphosa y Jideani, 2017).

2.2. Importancia del cultivo de frijol

El género *Phaseolus* L. cuenta con alrededor de 70 especies, la mayoría de ellas se distribuyen en Mesoamérica. Cinco de esas especies fueron domesticadas: frijol común (*P. vulgaris* L.), frijol gordo (*P. dumosus* L.), frijol ayocote (*P. coccineus* L.), frijol tépari (*P. acutifolius* L.) y el frijol Lima (*P. lunatus* L.). Las evidencias indican que *P. vulgaris* y *P. lunatus* se domesticaron en Mesoamérica y en los Andes (Delgado-Salinas *et al.*, 2006). De las cinco especies domesticadas de *Phaseolus*, cuatro (*P. vulgaris*, *P. coccineus*, *P. dumosus* y *P. acutifolius*) pertenecen al grupo *Vulgaris* (Delgado-Salinas *et al.*, 2006; Bitocchi *et al.*, 2017). Como resultado de su distribución geográfica, evolución y domesticación, las especies domesticadas de *Phaseolus* se han adaptado a distintos ambientes y de ellas se han seleccionado algunas para desarrollarse en condiciones extremas de frío y calor, deficiencia de agua, fotoperiodo corto y largo, diversas condiciones de suelo y resistencia a ciertas plagas y enfermedades (Bitocchi *et al.*, 2017; De Ron *et al.*, 2019).

P. vulgaris generalmente se adapta a temperaturas cálidas en ambientes semihúmedos a semiáridos, es predominantemente autógena y anual. *P. coccineus* generalmente se adapta a temperaturas frías en ambientes húmedos y mayor altitud que *P. vulgaris*, es una especie alógama y perenne. *P. dumosus* se caracteriza por una adaptación intermedia entre *P. coccineus* y *P. vulgaris*. *P. acutifolius* ha sido seleccionada por su tolerancia extrema a la sequía, debido a su origen en ambientes cálidos y áridos del norte de México y el sureste de Estados Unidos, es autógena y anual. *P. lunatus* está adaptada a climas húmedos y subhúmedos, así como a zonas

templadas cálidas, es una planta autógama que puede ser tanto anual como perenne (Butare *et al.*, 2011; Beebe *et al.*, 2013; Bitocchi *et al.*, 2017).

Phaseolus vulgaris es una planta herbácea con tallos delgados y débiles, cuadrangulares, hojas trifoliadas, ápice acuminado, inflorescencia con un racimo principal compuesto de racimos secundarios, los cuales se originan de un complejo de tres yemas (tríada floral) que se encuentra en las axilas formadas por las brácteas primarias y el raquis (CIAT, 1982). La altura de la planta puede ser entre 50 y 70 cm, desarrolla una raíz pivotante principal y muchas ramificaciones. El fruto es una vaina suavemente curvada, mide de 10 a 12 cm y es de color verde, morada o casi negra. En su interior, las semillas pueden ser oblongas, ovals o redondeadas (según la variedad), poco comprimidas y de color café o negro, o moteadas café, rojo o negro (SAGARPA, 2017). Estas características varían con el hábito de crecimiento, el cual ha sido clasificado por el CIAT (1982) en cuatro tipos con base en las características de la parte terminal del tallo, el número de nudos, la longitud de los entrenudos y la aptitud para trepar:

Tipo I, determinado arbustivo

Tipo II, indeterminado arbustivo

Tipo III, indeterminado postrado

Tipo IV, indeterminado trepador

Los principales países productores de frijol son India, Myanmar, Brasil, Estados Unidos, China y México. De acuerdo con la FAO (2018), el consumo *per cápita* mundial registrado es 2.5 kg por año; en Brasil es 16 kg, en India es 3.0 kg, en EE.UU. es 2.8 kg y en México es 10.4 kg. En este último, el frijol ocupó la tercera posición en importancia por la superficie sembrada en el año agrícola 2018, con un área cosechada de 1.596 millones de ha, 86.8 % en seco y 13.2 % con riego, y se obtuvieron 1.196 millones de t.

Los principales estados productores en México son: Zacatecas (35.4 %), Sinaloa (14.5 %), Durango (8.8 %), Chihuahua (7.2 %) y Nayarit (6.7 %). El rendimiento promedio con riego se ubicó en 1.7 t ha⁻¹ y en condiciones de secano fue 600 kg ha⁻¹ (FAO, 2018; SAGARPA, 2017). Este cultivo en países en desarrollo se produce en condiciones en las que el riesgo de sequía es alto (Okono *et al.*, 2013; Darkwa *et al.*, 2016). El estrés por sequía, como fenómeno estacional se define como la disponibilidad limitada de agua en el suelo, por falta de lluvia, donde se desarrolla una planta; como parte del cambio climático, las sequías son actualmente la principal amenaza para el suministro mundial de alimentos (Keller *et al.*, 2020) ya que impacta negativamente en el crecimiento general de las plantas, desde la etapa de plántula hasta la madurez. Como resultado del efecto de las sequías, las vías fisiológicas, bioquímicas y metabólicas claves se ven interrumpidas.

2.3. Respuestas fisiológicas al estrés por sequía en leguminosas

Entre los cultivos con importancia alimenticia, los de las leguminosas son de las que más se afectan por la falta de lluvias. En general, el rendimiento final disminuye significativamente cuando una planta se enfrenta a las sequías; los efectos pueden ser germinación reducida, actividad fotosintética menor (Chowdhury *et al.*, 2016), disminución de la translocación de asimilados, caída de la fijación de carbono (Mondal *et al.*, 2011; Zlatev y Lidon, 2012), alteración del tiempo de floración (Samarah *et al.*, 2009), disminución del número de vainas y caída del rendimiento de semillas (Croser *et al.*, 2003; Vadez *et al.*, 2012) o esterilidad del polen (Sehgal *et al.*, 2018). Daryanto *et al.* (2015) documentaron que entre 1980 y 2014 *P. vulgaris* fue la leguminosa con mayores pérdidas debidas a las sequías. Aunque existe información abundante

de los efectos del déficit de humedad en las plantas de frijol, existen diversos aspectos fisiológicos y bioquímicos que deben continuar estudiándose.

2.3.1. Fotosíntesis y clorofila

La fotosíntesis es el proceso fundamental responsable del crecimiento y desarrollo de las plantas y está influenciado por diversas tensiones ambientales (Andrianasolo *et al.*, 2016). La intensidad y duración del estrés por sequía, afecta la respuesta de las plantas, limitando la fotosíntesis debido a una disminución en las actividades enzimáticas de la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (Rubisco), fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPCasa), enzima NADP-málica (NADP-ME), fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa) y piruvato ortofosfato dicinasa (PPDK) (Farooq *et al.*, 2009). Por lo tanto, la tasa fotosintética, la conductancia estomática (g_s) y la tasa de transpiración (E), disminuyen significativamente durante el estrés por sequía, lo que provoca una reducción en la acumulación de materia seca, disminuyendo directamente el rendimiento (Ohashi *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2018).

De acuerdo con Hao *et al.* (2013) el contenido de clorofila de plantas de soya estresadas por sequía, se reduce en 31 % en comparación con las plantas no estresadas. De manera similar ocurre en plantas de haba (Siddiqui *et al.*, 2015); pero además, la sequía influyó en la fluorescencia de la clorofila y la actividad antioxidante (Abid *et al.*, 2017). En garbanzo, Mafakheri *et al.* (2010) reportaron una afectación en el contenido de clorofila, la fluorescencia de clorofila y la fotosíntesis debido al estrés por sequía. Un estudio reciente demostró que la aplicación de molibdeno bajo estrés hídrico provocó un aumento en la absorción de nitrógeno y la eficiencia de su uso, que consecuentemente aumenta el índice de clorofila y el rendimiento de grano en cv. de *P. vulgaris* (Heshmat *et al.*, 2021).

2.3.2. Transpiración y cierre estomático

El control de los estomas se considera como un factor fisiológico para optimizar el uso del agua durante el estrés por sequía (Makbul *et al.*, 2011), evitando la pérdida excesiva de agua en condiciones de sequía prolongada; por ejemplo, se ha visto que la conductancia estomática disminuye 60 % con restricción de humedad en la soya (Hao *et al.*, 2013; Mak *et al.*, 2014; Mutava *et al.*, 2015), además de que se reduce a medida que avanza el estrés por sequía, lo que confirma la conclusión de que el impacto de la sequía es más significativo bajo estrés severo que bajo estrés moderado (Abdel y Stutzel, 2016). En otro estudio se observó una disminución en la tasa de fotosíntesis, así como en la de transpiración (E) y en la conductancia estomática (g_s) en un 78.4 %, 89 % y 85.4 % respectivamente, tres días después del inicio del estrés por sequía (Atti *et al.*, 2004). Otros autores explicaron que la g_s correlaciona con la tasa de E más que con la tasa fotosintética (De Souza *et al.*, 1997).

La tasa de E disminuyó 53 % (Hao *et al.*, 2013) y 57 % (Mak *et al.*, 2014) con restricción de humedad en la planta de *Isatis indigotica* Fort., este cambio se debió a la disminución de la g_s que fue controlada por el ácido abscísico (ABA) originado en la raíz (Liu *et al.*, 2005), con un aumento significativo a medida que el estrés se hizo severo (Liu, 2004).

La concentración de giberelinas, citocininas y auxinas disminuye con el déficit de agua, mientras que el etileno y ABA tienden a aumentar en las plantas bajo estrés por sequía (Weyers y Paterson, 2001). El aumento en las concentraciones de ABA se debe a una disminución en su catabolismo, que dificulta su entrada desde el floema a la rizósfera. El pH del xilema en condiciones de déficit de agua también desencadena la entrada de ABA al xilema de la raíz (Hartung *et al.*, 2002).

La disminución de la *gs* se ha vinculado con un aumento de la concentración de ABA provocado por el estrés por sequía en frijol (Miyashita *et al.*, 2005), promoviendo la conductividad hidráulica de las raíces, que es responsable del aumento de la absorción y el transporte de agua en plantas (Merilo *et al.*, 2015; Park *et al.*, 2017).

2.4. Respuestas bioquímicas al estrés por sequía en leguminosas

La acumulación de solutos compatibles es una estrategia fundamental para la osmoprotección y el ajuste osmótico en el estrés por sequía. Estos solutos compatibles se acumulan principalmente en células estresadas por sequía sin interferir con las macromoléculas, y son compuestos hidroxílicos como oligosacáridos, alcoholes polihídricos y sacarosa o compuestos que contienen nitrógeno como aminoácidos, poliaminas y compuestos de amonio (Majumdar *et al.*, 2016).

2.4.1. Acumulación de metabolitos secundarios

El mecanismo de osmoprotección se basa en la estrecha asociación de elementos no tóxicos con numerosos componentes de la célula, y la regulación osmótica ayuda a mantener la turgencia mediante el mantenimiento del contenido de agua de las células (Slama *et al.*, 2015). Durante el estrés por sequía, la prolina juega un papel importante y actúa como un compuesto de señalización para regular la función mitocondrial y afectar la proliferación celular mediante la activación de genes particulares (Gregersen *et al.*, 2008), que son esenciales para la recuperación del estrés (Solanki, 2015). La acumulación de prolina ayuda a retener la integridad de la membrana al disminuir la oxidación de los lípidos mediante la protección del potencial redox celular y la eliminación de los radicales libres (Shinde *et al.*, 2016). Entre los solutos

compatibles, los azúcares no reductores, en particular los di, tri y tetrasacáridos ayudan a mantener la integridad de las membranas (Ramanjulu y Bartels, 2002); por ejemplo, el manitol ayuda a estabilizar las estructuras de macromoléculas como el glutatión, ferredoxina, tiorredoxina, fosforribuloquinasa y los radicales de hidroxilo captadores (Shen *et al.*, 1997; Bhauso *et al.*, 2014).

La trehalosa también interviene en la estabilización de las macromoléculas y estructuras biológicas como proteínas y membranas, lo que ayuda a mejorar la actividad fotosintética en condiciones de sequía (Ibrahim y Abdellatif, 2016; Kather *et al.*, 2018). La formación del mecanismo de protección parece que es una consecuencia de los enlaces de hidrógeno entre osmolitos y macromoléculas, evitando así la creación de enlaces de hidrógeno intramoleculares que podrían modificar irreversiblemente la estructura tridimensional de las moléculas (Amede *et al.*, 2004).

2.4.2. Procesos de oxidación y reducción en la senescencia

La producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) es una respuesta inicial de las plantas estresadas por la sequía; las ROS actúa como mensajeros que activan los mecanismos de protección en la planta (Choudhury *et al.*, 2017). En condiciones de déficit hídrico, se producen y acumulan ROS, como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical hidroxilo (OH^\cdot) y el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), que dañan las macromoléculas y la estructura de las células (Farnese *et al.*, 2016).

Las ROS en concentraciones menores actúan como compuestos de señalización, desencadenando diversas respuestas en condiciones de sequía. Cuando el nivel excede el mecanismo de protección, las ROS causan estrés oxidativo en proteínas, lípidos y ácidos

nucleicos, lo que conduce a la alteración de las propiedades de biomoléculas y la muerte celular (Kurutas, 2016).

Los componentes enzimáticos y no enzimáticos regulan el mecanismo de protección de ROS en las células, y el incremento de la concentración de antioxidantes o enzimas antioxidantes es una respuesta adaptativa en el estrés por sequía (Hassan *et al.*, 2017; Sahitya *et al.*, 2018). Los antioxidantes enzimáticos incluyen catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPX), peróxido de ascorbato (APX), deshidroascorbato reductasa (DHAR), glutatión reductasa (GR) y monodehidroascorbato reductasa (MDHAR) y los antioxidantes no enzimáticos incluyen tocoferoles, carotenoides, fenólicos y ácido ascórbico (Chakrabarty *et al.*, 2016; Farooq *et al.*, 2009). Entre los antioxidantes enzimáticos, la actividad de la SOD conduce a la desintoxicación del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los radicales superóxido ($O_2^{\bullet-}$), APX ayuda a generar $NADP^+$ y convierte el H_2O_2 en agua (Zoz *et al.*, 2013). APX también ayuda a eliminar el H_2O_2 , mientras que DHAR y GR ayudan proporcionando un sustrato para las reacciones de los antioxidantes.

Durante el estrés oxidativo, las concentraciones de antioxidantes pueden aumentar más en la fase de recuperación que en la de estrés, como se observa en *P. vulgaris* (Yasar *et al.*, 2013), en guisante (Osman, 2015), en soya (Saruhan Guler y Pehlivan, 2016) y en garbanzo (Hemantaranjan, 2011). El estrés por sequía activa a SOD, APX, GR, GST y GPX en cultivares resistentes de frijol (Bhardwaj y Yadav, 2012). ABA también aumentó la producción de radicales superóxido y H_2O_2 , mejorando las actividades de enzimas antioxidantes como GR (Saikia *et al.*, 2018). Esto indica que el aumento de las actividades antioxidantes parece que ayudan a mejorar la tolerancia a la sequía mediante la protección del estrés oxidativo.

2.5. Respuestas fenotípicas al estrés por sequía en leguminosas

Las características fisiológicas y bioquímicas se reflejan en el fenotipo de las plantas. Los rasgos fenotípicos también contribuyen considerablemente a la tolerancia a la sequía. Los mecanismos genéticos de floración temprana, tiempo de madurez, vigor de la plántula, valor SPAD alto (contenido de clorofila), rendimiento biológico e índice de cosecha se exploran como rasgos primarios que conducen al rendimiento alto de semillas, como en plantas de lenteja desarrolladas en ambientes propensos a la sequía (Kumar *et al.*, 2012).

En plantas de garbanzo la madurez se aceleró como escape a la sequía; además, se incrementó el crecimiento de la raíz, lo que mejoró la absorción del agua (Upadhyaya *et al.*, 2012). La eficiencia en el uso del agua es un factor clave para determinar el rendimiento del cultivo; por ejemplo, en plantas de soya, los genotipos que poseían una alta eficiencia en el uso del agua, mostraron rendimiento alto y las raíces aumentaron la penetrabilidad (Fried *et al.*, 2019).

2.5.1. Efecto del déficit de humedad en el crecimiento de la raíz

La morfología de las raíces es uno de los rasgos más relevantes para escapar a la sequía (Vadez *et al.*, 2008), permite a la planta obtener agua eficientemente de zonas más profundas del suelo y podría ser inducida o manipulada por un solo gen (Sofi *et al.*, 2018), en el caso de soya se observó que las raíces y sus nódulos son sensores indispensables para la tolerancia a la sequía. Además, el ácido jasmónico (JA) influye en la eliminación de ROS esenciales para mejorar el desarrollo de la raíz (Mir *et al.*, 2012).

Los efectos en las características de las raíces, los brotes, y el porcentaje de formación de las vainas en *P. vulgaris* se correlacionan con el rendimiento de las plantas en sequía (Sofi *et al.*, 2018).

2.5.2. Permanencia de color verde "Stay Green"

Una característica de adaptación importante del sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], especialmente al estrés por sequía, es el fenotipo de permanencia de color verde. Los genotipos de sorgo que permanecen verdes muestran senescencia retardada y se sabe que realizan fotosíntesis durante un período más largo, desde el llenado del grano hasta las etapas de madurez fisiológica (Duncan *et al.*, 1981). La fotosíntesis prolongada se ha correlacionado con un mejor llenado de grano y acumulación de azúcar en el tallo (Borrell *et al.*, 2000). Cuatro loci de rasgos cuantitativos (QTL) la permanencia estable de color verde (Stg1, Stg2, Stg3 y Stg4), ellos representaron el 54 % de la variación fenotípica y contribuyeron al rasgo en todos los ambientes que se han identificado (Subudhi *et al.*, 2000); además, el equilibrio carbono/nitrógeno está involucrado en la regulación de la senescencia foliar inducida por la sequía (Chen *et al.*, 2015).

Padilla-Chacón *et al.* (2019) utilizaron una plataforma de fenotipado con un sensor visible (RGB) para obtener la variación fenotípica a lo largo del tiempo en *P. vulgaris* con restricción de humedad. Los autores lograron identificar diferencias en el "Stay Green" mediante imágenes de alto rendimiento en dos cultivares; los cultivares mostraron modificación del carácter Stay Green y síntomas tempranos de senescencia en las plantas bajo restricción de humedad.

2.6. Fijación de carbono

La fotosíntesis es un proceso crucial para la vida en la Tierra. Lo realizan algunas bacterias, algas y todas las plantas superiores que son capaces de atrapar la luz solar para obtener energía química en los cloroplastos de las hojas en las células del mesófilo y otros tejidos fotosintetizadores. Este proceso se divide en dos tipos de reacciones: las luminosas, que se realizan en las membranas tilacoidales, y las bioquímicas, encargadas de fijar el CO₂, que se realizan en el estroma del cloroplasto. Las reacciones de fijación de CO₂ se agrupan en tres etapas: carboxilación de la ribulosa 1,5-bisfosfato de cinco carbonos (C5) a través de RUBISCO para dar un compuesto temporal de seis carbonos (C6), reducción del C-fijado a gliceraldehido-3-fosfato (3-PGA) y restauración del compuesto original (C5) (Taiz y Zeiger, 2010). Las moléculas de 3-PGA se utilizan para la síntesis de carbohidratos principalmente sacarosa y almidón.

2.7. Síntesis y degradación de sacarosa y almidón

En plantas como el frijol, durante el día CO₂ se fija y se transforma en triosas fosfato, que serán metabolizadas a sacarosa y almidón transitorio o de reserva, la sacarosa se exportará a los tejidos demanda; por la noche, el almidón se consume para proporcionar una fuente de energía para que continúe el crecimiento de la planta. Entre 25 y 30 % del carbono que se fija fotosintéticamente durante el día se transforma en almidón transitorio, alrededor de 7 % de ese carbono se transforma en sacarosa y el resto es consumido en procesos metabólicos para el crecimiento y la respiración (Qu *et al.*, 2018).

La sacarosa es un disacárido no reductor que se transporta por el floema a los órganos de la planta o se almacena en la vacuola, durante períodos largos de tiempo; esta sacarosa puede utilizarse después de su hidrólisis por las enzimas invertasa (INV) y sacarosa sintasa (SUS) (Tiessen y Padilla-Chacon, 2013; Jiang *et al.*, 2015).

El almidón consta de dos tipos de polisacáridos: amilosa y amilopectina. La amilosa es un polímero lineal compuesto por cadenas de glucano unidas por enlaces glucosídicos α -1,4 y tiene muy pocas ramas conectadas por enlaces glucosídicos α -1,6. La molécula de amilopectina es más grande que la molécula de amilosa y contiene abundantes ramificaciones α -1,6 que forman un marco estructural de laminillas amorfas y cristalinas repetidas; por lo tanto, la relación amilosa:amilopectina tiene una influencia importante en la apariencia y estructura de los gránulos de almidón (Taiz y Zeiger, 2010).

El almidón se sintetiza en los plastidios, incluidos los cloroplastos en los tejidos fotosintéticos (Figura 1) y los amiloplastos en los tejidos no fotosintéticos (Figura 2) (Weise *et al.*, 2004). El almidón en los cloroplastos se degrada a maltosa y glucosa durante el período de oscuridad por la actividad de α -amilasas y β -amilasas (Streb y Zeeman, 2012); estos azúcares se transforman a triosas-fosfato que se exportan al citosol y se usan en la síntesis de sacarosa (Santelia y Lunn, 2017).

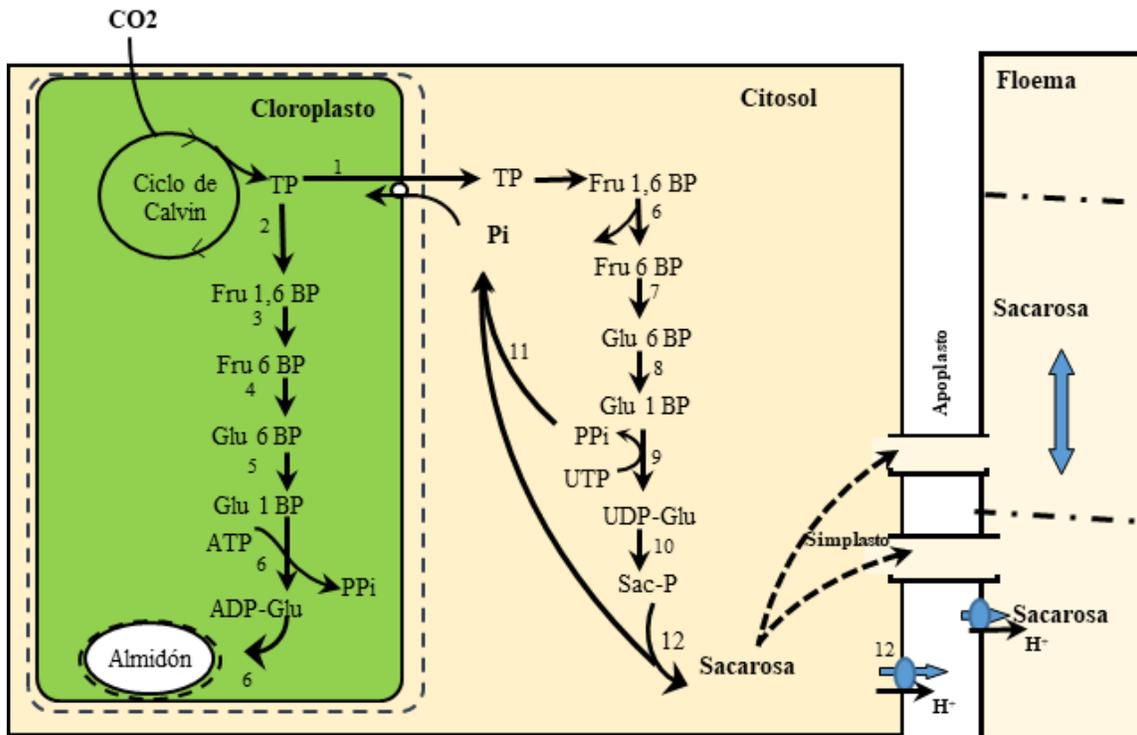


Figura 1. El carbono forma almidón en el plastidio y sacarosa en el citosol. El dióxido de carbono (CO₂) se fija en los cloroplastos a través del ciclo de Calvin para producir triosa fosfato (TP) que puede ser transportada al citosol, donde dos moléculas de TP producen una molécula de fructosa 1,6-bisfosfato (Fru 1, 6 BP); ésta se metaboliza hacia fructosa 6-bisfosfato (Fru 6 BP) y glucosa-6-bisfosfato (Glu 6 BP), puede usarse para formar UDP-glucosa (UDP-Glu), combinada con Fru 6 BP forma sacarosa fosfato (Sac-P), la cual al desfosforilarse por la sacarosa fosfato fosfatasa (12) forma sacarosa. En el cloroplasto las TP, producen Fru 1,6 BP, luego de una serie de reacciones se produce ADP-glucosa (ADP-Glu), que es sustrato para sintetizar almidón (Modificado de Tiessen y Padilla-Chacón, 2013).

CUBIERTA DE LA SEMILLA

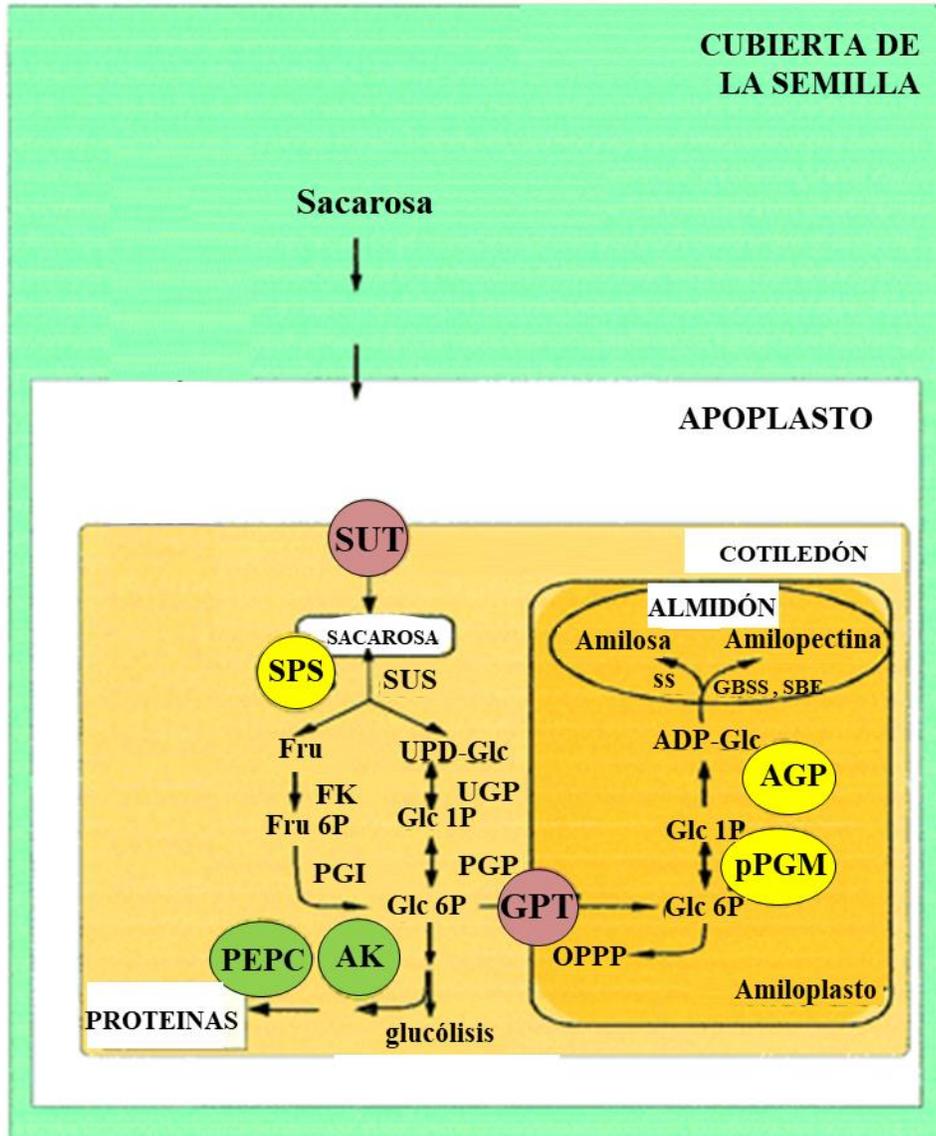


Figura 2. Vías de transporte de asimilados hacia las semillas en crecimiento y de transformación de la sacarosa a almidón. INV: invertasa, SUS: sacarosa sintasa, PGI: fosfoglucoisomerasa, pPGM: fosfoglucomutasa, UGP-UDP: glucosa pirofosforilasa, AGP: ADP glucosa pirofosforilasa, transportador de GPT-glucosa-6-fosfato, SS: almidón sintasa, GBSSI: almidón sintasa unida a gránulos, SBE: enzima ramificadora de almidón, transportadores de sacarosa-SUT, PEP carboxilasa y aspartato quinasa (PEPC, AK) (modificado de Borisjuk *et al.*, 2003).

En *Arabidopsis* (*A. thaliana* L.), soya (*Glycine max* L.), maíz (*Zea mays* L.), arroz (*Oryza sativa* L.) y trigo (*Triticum aestivum* L.) el estrés por sequía altera significativamente el metabolismo de sacarosa-almidón (Xu *et al.*, 2018). La sequía reduce la fotosíntesis, por lo tanto, también la fuente de fotoasimilados y la turgencia en las células del floema. Lo anterior aumenta la viscosidad del medio e inhibe el flujo de la sacarosa a través de las células conductoras hacia las semillas (Sevanto, 2014); además, la expresión de los genes transportadores de sacarosa (SUTs) disminuye en plantas en restricción de humedad (Xu *et al.*, 2018). En esta misma condición, pero en sorgo disminuye la actividad enzimática de la almidón sintasa (SS) (EC 2.4.1.21) y las enzimas de ramificación del almidón (SBE) (E.C. 2.4.1.18), lo que inhibe la acumulación de almidón en las semillas (Yi *et al.*, 2014).

2.8. Llenado de la semilla de frijol

La semilla es el órgano de dispersión y perpetuación de las angiospermas y representa la culminación de la evolución reproductiva de las plantas (Matilla, 2008). La semilla se forma mediante una embriogénesis cigótica que comprende cambios morfológicos, estructurales y de expresión génica que tienen lugar desde la formación del cigoto hasta el final del desarrollo y la maduración del embrión (Matilla, 2008; Rodríguez *et al.*, 2012).

El desarrollo de la semilla de *P. vulgaris* incluye tres fases: 1) fase de histodiferenciación-embriogénesis, el que conduce a la diferenciación del embrión, los cotiledones y la testa; en esta fase la acumulación de biomasa es mínima (Cileide *et al.*, 2008), 2) fase de maduración-llenado, en esta fase ocurre acumulación acelerada de biomasa y el embrión crece considerablemente (Cileide *et al.*, 2008), y 3) fase final, en esta la semilla comienza a

deshidratarse, cesa la acumulación de biomasa, los plastos se transforman en amiloplastos y se activan los mecanismos de desecación (Weber *et al.*, 1996; Cileide *et al.*, 2008) (Figura 3).

La secuenciación del proteoma mostró que en las primeras etapas de desarrollo de la semilla sucede una extensa actividad metabólica. En las etapas intermedias destacan las actividades de enzimas para el almacenamiento, señalización, síntesis de almidón y proteínas relacionadas con la pared celular. En las últimas etapas, el aumento de proteínas relacionadas con eventos redox, degradación/modificación/plegamiento de proteínas y metabolismos de ácidos nucleicos, reflejaron la activación de los mecanismos de resistencia a la desecación de las semillas (Parreira *et al.*, 2016).

En el CIAT (1982) elaboraron la escala de desarrollo de la planta de frijol, de manera general comprende dos fases sucesivas: la vegetativa y la reproductiva (Figura 4). La fase vegetativa se inicia cuando la semilla está en condiciones favorables para germinar, y termina con la antesis (etapa de floración), que es el momento en el que inicia la fase reproductiva, la que termina cuando el grano alcanza la madurez necesaria para la cosecha. Durante la fase reproductiva (R) se desarrolla y madura la semilla a partir de la etapa reproductiva cinco (R5), en la etapa R6 inicia la formación de las semillas, se identifica en un cultivo cuando 50 % de las plantas han iniciado la formación. Las semillas están protegidas por un pericarpio, ambos órganos (semillas y pericarpio) forman la vaina (Fernández *et al.*, 1985). La vaina inicia su crecimiento en la etapa R7, en la que se desarrollan las valvas. Cuando las valvas alcanzan su tamaño final y el peso máximo, inicia el llenado de las vainas en la etapa R8. Entonces comienza el crecimiento activo de las semillas, con la acumulación de reservas, principalmente almidón, proteínas y lípidos. Las vainas presentan abultamientos que corresponden a las semillas en crecimiento. La vaina se alarga hasta los 10-12 días después de antesis (DDA). El peso de las

valvas aumenta 15-20 DDA y el peso de las semillas aumenta y termina de los 30-35 DDA. Al final de esta etapa las semillas pierden su color verde y muestran las características de la variedad a la que pertenecen. La pigmentación aparece primero alrededor del hilio luego se extiende a toda la testa y termina la maduración en la etapa R9, que es la última de la escala de desarrollo, caracterizándose por el inicio de la decoloración y secado de las vainas, el suspensor se degenera, y desaparece la conexión con la planta madre. La función del suspensor la adoptan entonces los tejidos de reserva (cotiledones). El contenido de agua de las semillas disminuye a 15 %. Así termina el ciclo biológico y el cultivo se encuentra listo para la cosecha (Fernández *et al.*, 1985; Herrera-Flores *et al.*, 2005).

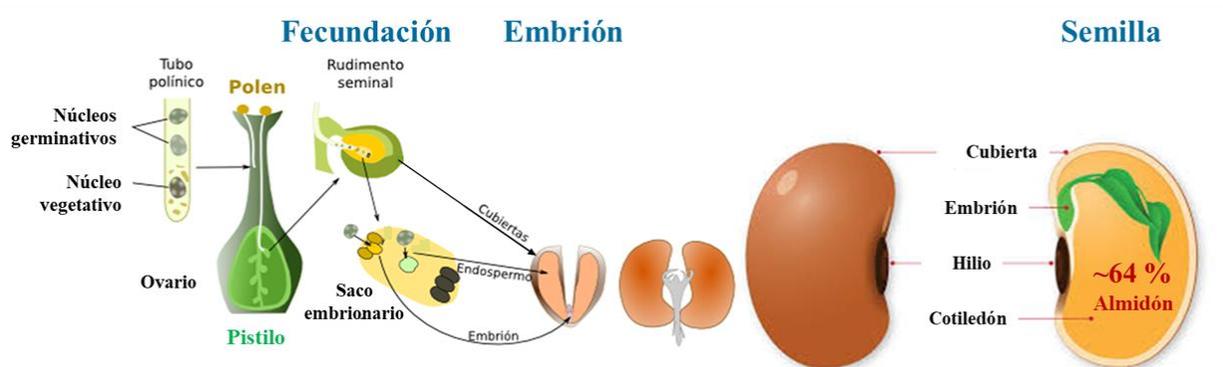


Figura 3. Diagrama del desarrollo de la semilla de *Phaseolus vulgaris* desde la antesis hasta la formación de una semilla (modificado de Herrera-Flores *et al.*, 2005).

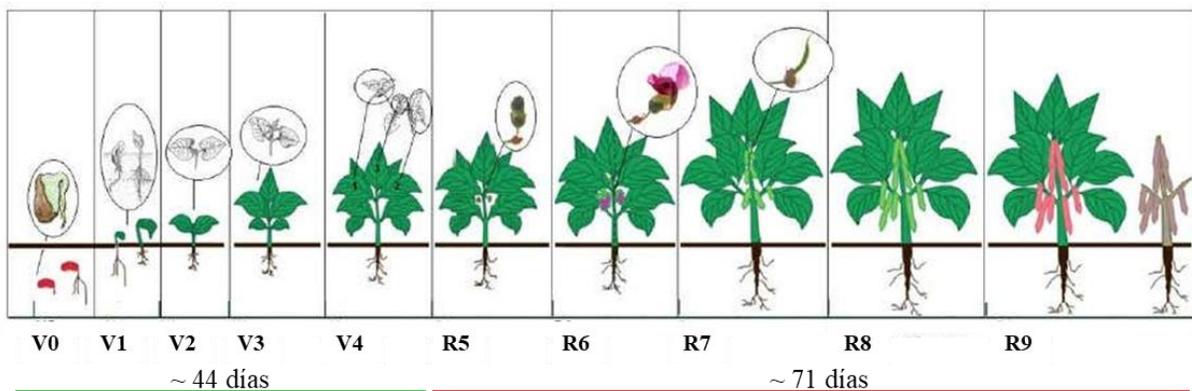


Figura 4. Escala de desarrollo de una planta de frijol. En la imagen se observa la duración relativa de las etapas de la var. OTI. Modificado de Villalobos (2015).

2.9. Reasignación de fotoasimilados en condiciones de estrés por restricción de humedad

Las principales características seleccionadas indirectamente durante el desarrollo de cultivares resistentes a la restricción de humedad son el manejo eficiente del agua, el crecimiento de la raíz y la removilización de fotoasimilados hacia las semillas (Beebe *et al.*, 2008). La translocación de fotoasimilados para la producción de semillas, es medida comúnmente como índice de cosecha (IC), que es fundamental para los mecanismos de tolerancia a la restricción de humedad y la mejora genética del cultivo de frijol. Varios estudios en *P. vulgaris* y *P. acutifolius* han demostrado que la movilización de fotoasimilados a las vainas y semillas contribuye a un mejor rendimiento en condiciones de restricción de humedad (Assefa *et al.*, 2013; Beebe *et al.*, 2013; Polania *et al.*, 2016; Rao *et al.*, 2017; Mukankusi *et al.*, 2019).

En los cultivares mesoamericanos la capacidad de movilizar fotoasimilados es mayor que en los andinos, y la sensibilidad a la restricción de humedad andina puede ser resultado directo de una capacidad genética limitada para redirigir las reservas de la planta a vainas y semillas. Esta diferencia puede ser el resultado de eventos evolutivos divergentes sufridos antes y durante los procesos de domesticación de estas razas. Históricamente, el acervo genético mesoamericano estuvo expuesto a tensiones de restricción de humedad más extremas que las sufridas por los linajes andinos (Polania *et al.*, 2016; Polania y Rao, 2019).

La acumulación y distribución de azúcar con rendimiento alto de semillas en estrés por sequía terminal, se asocia con la movilización eficiente de carbono de las hojas a las vainas y a las semillas, que indican una movilización eficiente de fotoasimilados involucrando la asignación total de carbohidratos no estructurales desde los tallos hasta las vainas y el llenado de semillas (Cuellar-Ortiz *et al.*, 2008). Lo mismo ocurre con las reservas de tallos en sorgo que contribuyen

al llenado del grano en condiciones de estrés por sequía, a pesar de que se inhibe la fotosíntesis; por tanto, la adaptación del sorgo a la sequía mediante la movilización de azúcares solubles parece depender del genotipo (Ghate *et al.*, 2017). En trigo, se debe considerar la acumulación de nitrógeno en la espiga y la posterior removilización del N almacenado a los granos para optimizar el equilibrio fuente/demanda mejorando el llenado del grano (Zhou *et al.*, 2018).

2.9.1. ^{14}C como método de análisis en la respuesta al estrés abiótico en plantas

El tiempo y severidad del estrés por sequía puede alterar significativamente el balance entre el crecimiento y producción de frutos (Farooq *et al.*, 2017). El estrés por sequía durante la floración puede inducir abscisión de flores, reducir la fuerza de la demanda y por lo tanto el índice de cosecha (Michelangeli *et al.*, 2013; pushpavalli *et al.*, 2015). La removilización de reservas almacenadas en tejidos fotosintéticos, es un proceso que se ha considerado como un carácter agronómico en programas de mejoramiento genético y está dentro de los ajustes que realizan las plantas para enfrentar el estrés por sequía (Asfaw *et al.*, 2012; Berny *et al.*, 2019). Los experimentos con ^{14}C en pulso y caza han sido útiles para evidenciar modificaciones en la translocación de carbono en respuesta a condiciones de estrés (Dong *et al.*, 2018). En el caso de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) estudios de este tipo mostró que la salinidad incrementó el flujo de carbono a los frutos (Gao *et al.*, 1998) y en plantas de arroz a la raíz (Thitisaksakul *et al.*, 2017). En arábido, la restricción de agua redistribuyó el ^{14}C hacia la raíz, lo que permitió mantener el sistema radical y descarga de sacarosa (Durand *et al.*, 2016). En frijol con déficit hídrico se observó que los genotipos más tolerantes acumulan mayor ^{14}C en la vaina (Cuellar-Ortiz *et al.*, 2008).

2.9.2. Vaina como tejido de almacenamiento

La movilización eficiente de fotoasimilados de las estructuras vegetativas y la pared de la vaina, aseguran la formación y el llenado adecuado de las semillas (Rao *et al.*, 2013); esto fue evidente en *P. acutifolius*, que experimenta menos abortos de embriones y muestra formación superior de semillas en comparación con otras especies de *Phaseolus*, bajo restricción de humedad. La resistencia de *P. acutifolius* podría estar relacionada con el tamaño pequeño de sus semillas (Rao *et al.*, 2013); al contrario, especies con semillas grandes, como *P. coccineus* y *P. dumosus*, muestran niveles altos de aborto de embriones y menor número de semillas por vaina. La formación de vainas y semillas es muy sensible al suministro de fotoasimilados de las hojas y puede depender de la removilización de los asimilados almacenados en los otros tejidos como el tallo en condiciones de restricción de humedad (Rao *et al.*, 2017).

Los procesos de desarrollo de embriones y llenado de semillas tienen altas demandas de carbono que generalmente se satisfacen con la descarga del floema (Smith *et al.*, 2018); aunque, igual que las hojas, el tejido de la vaina es verde y fotosintético hasta la senescencia. El intercambio de gases de la vaina madura es mínimo en comparación con la hoja (Crookston *et al.*, 1974). En las vainas maduras las restricciones en el intercambio de gases con densidades estomáticas bajas, la reducción de la apertura de estomas, y el desarrollo de cutícula gruesa y cerosa, contribuyen a una muy baja conductancia estomática y valores nulos de fotosíntesis neta (Polania *et al.*, 2020). Estos efectos son evidentes a partir de la determinación de las tasas de fotosíntesis en la vaina, utilizando un sistema de intercambio de gas portátil que mostró valores negativos de fotosíntesis neta de la vaina, debido no sólo a la baja capacidad de la vaina para realizar el intercambio de gases, sino también a la respiración de los embriones en desarrollo. Estas observaciones indican que, mientras que los estomas pueden desempeñar un papel activo

durante la diferenciación y expansión de las vainas, su contribución a la asimilación del carbono de las vainas maduras y al llenado de semillas puede ser insignificante (Polania *et al.*, 2020); sin embargo, en garbanzo la fotosíntesis de la pared de la vaina juega un papel fundamental en la fijación del CO₂ liberado por los embriones que respiran (Furbank *et al.*, 2004); además, con restricción de humedad, este reciclaje interno de CO₂ podría ser un rasgo relacionado con la eficiencia de la distribución del carbono de la planta, y es fuente de asimilados para el llenado de semillas en un momento en que el CO₂ externo esté severamente limitado debido al cierre de los estomas (Ma *et al.*, 2001; Furbank *et al.*, 2004; Brazel y Ó'Maoiléidigh, 2019).

2.9.3. Degradación de almidón en pericarpio

La vaina es un órgano característico de la morfología de la planta y del rendimiento de semillas en frijol. Cuellar-Ortiz *et al.* (2008) midieron en vainas y hojas la acumulación de almidón en los cultivares Pinto Villa (resistente a la restricción de humedad) y Canario 60 (sensible a la restricción de humedad), cultivados en condiciones óptimas de riego y déficit hídrico. El estrés por déficit de humedad incrementó la acumulación de almidón en las vainas del cultivar resistente a la sequía y reducción del contenido de almidón en las hojas durante la etapa de llenado de las semillas; además, se observó la acumulación sincronizada de sacarosa en las vainas inmaduras de este cultivar. En otro estudio, se cortaron las vainas del cv. V8025, 20 días después de la floración, mostraron movilización activa de nutrientes del pericarpio a las semillas. Después de cinco días, el peso seco de la vaina se redujo 50 %. El proceso se caracterizó como una degradación acelerada del almidón, con la disminución mayor observada el día uno después de la extracción de los frutos (Coello y Martínez-Barajas, 2014).

En otras leguminosas, como la soya, la sequía terminal simulada con yoduro de potasio durante las etapas reproductivas (R4, R5 y R6) causó una disminución significativa en almidón, carbohidratos totales y azúcar reductor en las hojas; sin embargo, la pared de la vaina y las semillas mostraron una reducción sólo en el contenido total de carbohidratos, mientras que los niveles de almidón y azúcar reductor permanecieron sin cambios (Sengupta *et al.*, 2019). En el guisante (*Pisum sativum* L.) se identificaron los genes relacionados con el metabolismo del almidón y la sacarosa en la vaina por medio de RNA-seq, tal como SUS, INV, FBA, TPI, ADPasa, SBE, SSS y GBSS, las cuales se expresan de manera diferencial en las diferentes etapas del desarrollo de la vaina (Yang *et al.*, 2019).

3. HIPÓTESIS

Bajo restricción de humedad, la distribución de fotosintatos se modifica de acuerdo con el nivel de humedad y la etapa de desarrollo de las estructuras reproductivas y vegetativas.

4. OBJETIVOS

4.1. General

Determinar la distribución de ^{14}C en los diferentes órganos de la planta, así como el rendimiento del frijol var. OTI, desarrollado en niveles de humedad de 100 % de CC, 75 % de CC y 50 % de CC durante el llenado de la vaina.

4.2. Específicos

Evaluar el efecto de la restricción de humedad en la distribución y porcentaje de $^{14}\text{CO}_2$ asignado a raíz, tallo, hojas jóvenes y maduras, pericarpio y semillas en las etapas II, III y IV del desarrollo de la vaina.

Analizar la respuesta de la restricción de humedad en el contenido de glucosa, fructosa, sacarosa, almidón y actividad amilolítica en los pericarpios de las etapas II, III y IV del desarrollo de la vaina.

Comparar la producción de flores con la de vainas normales, además la asignación de materia seca a los diferentes órganos de la planta en la madurez fisiológica como consecuencia de la restricción de humedad.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Material vegetal y sitio experimental

El estudio se realizó con la variedad de frijol OTI, con hábito de crecimiento determinado tipo I (mata), generado en el Programa de Semillas del Instituto de Recursos Genéticos y Productividad del Colegio de Postgraduados. La variedad muestra ciclo de crecimiento de 110 a 130 días, se identifica como susceptible a sequía de los valles altos centrales y su producción es de 2.5 ton ha⁻¹ (Estrada *et al.*, 2004). Las plantas se cultivaron en invernadero tipo túnel en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México (19° 27'40" N, 98° 54' 19" O y altitud aproximada de 2253 m) de junio a octubre de 2020, con una temperatura promedio máxima de 33.2 °C y mínima de 10.5 °C.

5.2. Diseño experimental

En el estudio se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con tres tratamientos y una planta como unidad experimental (60 plantas en total). Cada planta se cultivó en una maceta con 4 kg de suelo agrícola limoso con capacidad de campo (CC) de 34 %, punto de marchitez permanente (PMP) de 23 % y agua disponible (AD) de 11 %.

5.3. Tratamientos

Los tratamientos evaluados fueron tres niveles de humedad, que incluyeron: el testigo con 100 % de capacidad de campo (CC), 75 % CC y 50 % CC a partir de la etapa fenológica de llenado de vaina (R8) (Figura 5). Posteriormente a cada grupo de plantas se les aplicó un pulso de ¹⁴C por

cuatro horas y se obtuvieron muestras de las plantas a las 24 h (M1), 72 h (M2) y 168 h (M3) después de aplicar el pulso de ^{14}C . Otro grupo de plantas se mantuvo con los niveles de humedad ya señalados hasta madurez fisiológica para determinar la producción de biomasa y componentes del rendimiento (Figura 5).

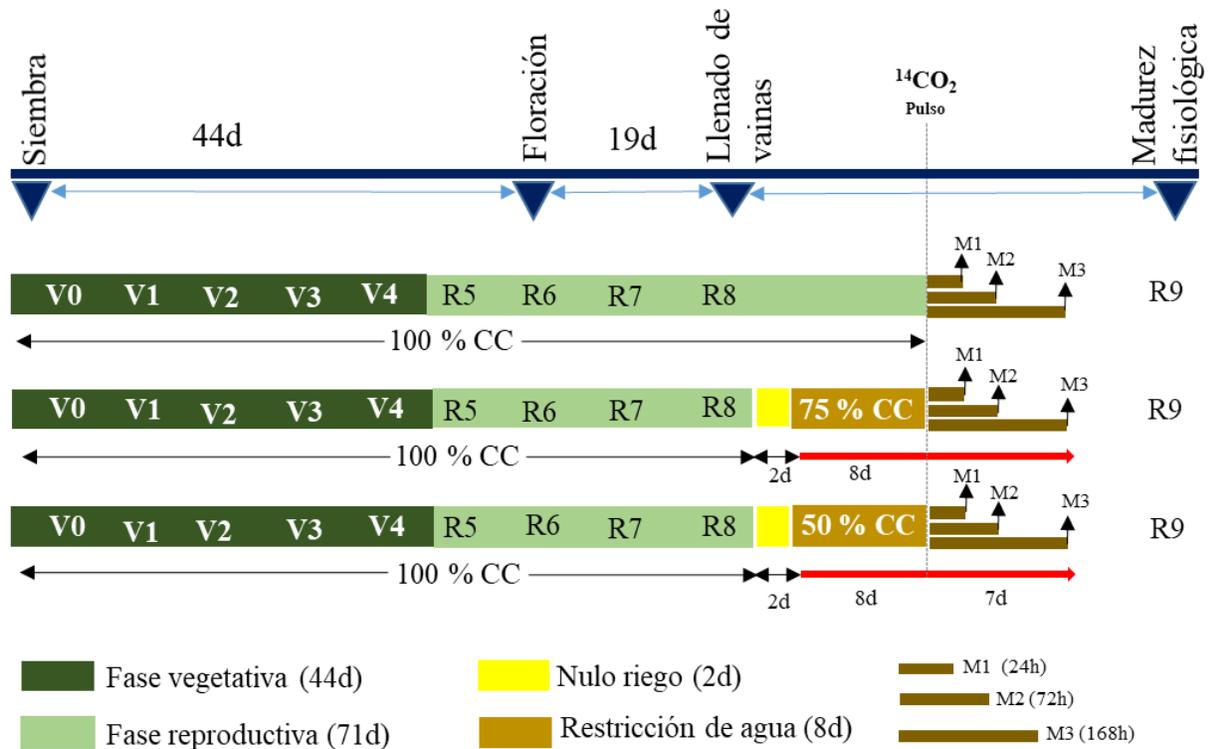


Figura 5. Diseño experimental y etapas fenológicas de la var. de frijol OTI (basado en la descripción del CIAT, 1982), niveles de humedad aplicados y el tiempo (h) para efectuar el muestreo (M1, M2 y M3) después de aplicar el pulso con ^{14}C .

5.4. Etiquetado de flores

Para evaluar el número de flores que originarían vainas normales (vainas con al menos una semilla) en la etapa R6, presencia de las primeras flores en las plantas (CIAT, 1982), se etiquetó cada flor en la anthesis diariamente a las 8:30 a.m. hasta el término del periodo de floración (22 días del inicio de esta etapa).

5.5. Conductancia estomática (*gs*)

La *gs* se evaluó en los tres tratamientos. La conductancia estomática se cuantificó con un porómetro portátil (AP4, Delta-T-Device, United Kindom), diariamente, del inicio de la etapa R7 (formación de vainas) 20 días después de la suspensión de riego (Figura 5). Los registros se realizaron en foliolo central del trifolio número seis, contabilizado de la base del tallo al ápice, entre las 8:30 y 9:00 a.m.

5.6. $^{14}\text{CO}_2$ pulso y caza

Diez días después del inicio de la suspensión de riego y las plantas se expusieron a 10 μCi de $^{14}\text{CO}_2$ [producido a partir de 10 μL de NaHCO_2 (^{14}C) y 400 μl de ácido láctico 3M] por planta, durante 4 h bajo luz natural. Después de 24 h (M1), 72 h (M2) y 168 h (M3) se recolectaron las plantas, separaron y deshidrataron la raíz, el tallo, las hojas jóvenes y las maduras, los pericarpios y las semillas en etapas de desarrollo II, III y IV de la vaina estas últimas según Stolle-Smits *et al.* (1999) (Figura 6).

Los tejidos se secaron a 80 °C en una estufa con circulación forzada de aire (Blue M, EUA) y, el peso se registró en una balanza analítica (Marca Ohaus® modelo Scout Pro™, EUA). Los tejidos se pulverizaron en un molino de balines (TissueLyser II, QIAGEN, USA). En esas muestras se cuantificaron las cpm [cuentas por min por g de tejido seco] en un contador de centelleo líquido (Beckman LS 6000 (Beckman Coulter, Inc., Palo Alto, CA, EUA).

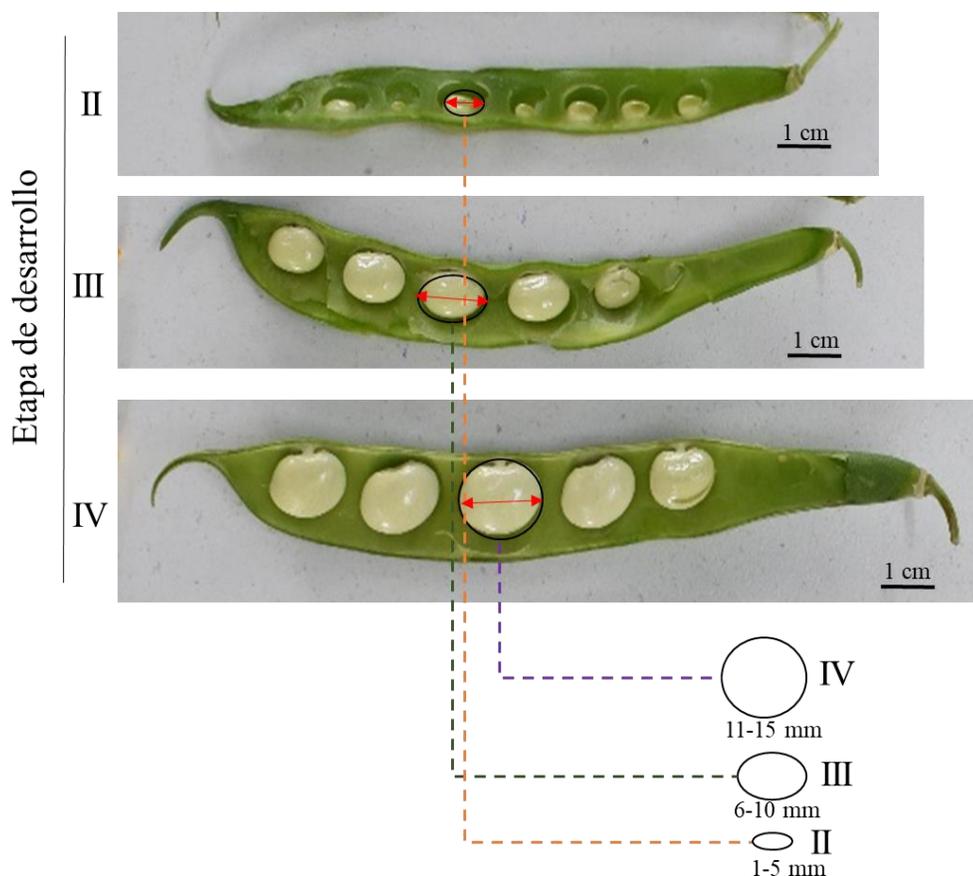


Figura 6. Estados de desarrollo de los frutos de frijol evaluados con y sin marca con $^{14}\text{CO}_2$. II, 10-15 días después del inicio de la antesis (DDA); III, 16-20 DDA y IV, 21-30 DDA.

5.7. Determinación de azúcares solubles y almidón

La concentración de almidón, glucosa, fructosa y sacarosa se cuantificó en los pericarpios de las vainas de los tres tamaños seleccionados. El tejido seco y molido (50 mg) se resuspendió en 500 μL de etanol al 80 % y se mantuvo durante 30 min a 80 $^{\circ}\text{C}$, dos veces (volumen final 1 mL). La glucosa, fructosa y sacarosa se cuantificaron en el sobrenadante. El almidón se cuantificó en el residuo insoluble. En el primer caso, 5 μL del extracto se mezclaron con 200 μL de una mezcla de HEPES 25 mM-HCl (pH 8.0), KCl 50 mM, ATP 1 mM, MgCl_2 , 3 mM, NAD^+ 0.3 mM y 1U mL $^{-1}$ de hexokinasa de levadura (EC 2.7.1.1.). La absorbancia basal a 340 nm se determinó con

un lector de microplaca (Multiskan FC microplate photometer, Thermo Scientific. EUA). En la segunda etapa, 1 U mL⁻¹ de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (EC 1.1.1.49) se agregó a la mezcla, y la absorbancia estable se determinó a 340 nm. Para la fructosa se adicionó 1 U mL⁻¹ de fosfoglucoasa isomerasa (EC 5.3.1.9), y al final 1 U mL⁻¹ invertasa (EC 3.2.1.26). La glucosa y fructosa se cuantificaron en la misma reacción. En esta secuencia de reacciones, los azúcares son transformados estequiométricamente a glucosa 6- fosfato (G6P) y después a 6-fosfogluconato. Esas concentraciones se calcularon con la ecuación del ajuste lineal de curvas con una concentración conocida de glucosa (5 mM), fructosa (5 mM) y sacarosa (2.5 mM) (Bernal *et al.*, 2005). Para cuantificar el almidón, la fracción insoluble se resuspendió en 500 µL de dimetil sulfóxido (DMSO) y se mantuvo a 90 °C por 30 min (Boehlein *et al.*, 2018). El almidón se degradó enzimáticamente por α-amilasa (1 U, EC 3.2.1.1) y β-glucosidasa (10 U, EC 3.2.1.21), a 37 °C por una noche; las muestras se centrifugaron a 10,000 x g por 10 min y en el sobrenadante se cuantificó la glucosa con el método enzimático antes descrito.

5.8. Actividad amilolítica en geles nativos PAGE

La actividad amilolítica se analizó después de la electroforesis de extractos crudos de pericarpios en las tres etapas seleccionadas, 11 d de exposición de la restricción de humedad (M1) en geles no desnaturalizantes de acrilamida. Estas muestras se recolectaron a las 2:00 a.m. y se mantuvieron en nitrógeno líquido para su análisis. Los geles nativos contenían 6 % (p/v) de acrilamida y 2 % de amilopectina de papa (Sigma Aldrich). Después de la electroforesis, los geles se mantuvieron a 37 °C durante 2 h, en un medio que contenía solución amortiguadora de acetato de sodio 50 mM (pH 5,5) MgCl₂ 1 mM, CaCl₂ 1 Mm y 2-mercaptoethanol 10 mM. Las

bandas se revelaron al teñir el gel con solución de lugol (KI 0.66 % e I₂ 0.33 %) (Delatte *et al.*, 2006; Zeeman *et al.*, 1998).

5.9. Rendimiento y sus componentes

En el segundo grupo de plantas de los tres tratamientos, el que se cosechó en la etapa de madurez fisiológica (R9) se evaluó el rendimiento y sus componentes. El total de flores por planta se cuantificó cada 24 h durante 22 días a partir de la etapa R6. Para esta contabilidad se etiquetaron las flores durante el periodo evaluado. Al finalizar el ciclo biológico del cultivo a los 115 días después de la siembra (DDS) las plantas disectadas en hojas, tallos, raíz y vainas se introdujo en bolsas de papel y secaron en una estufa con circulación forzada de aire (Blue M, EUA) a 80 °C por 72 h. Las semillas se mantuvieron a temperatura ambiente para determinar el peso de 100 de ellas. El índice de cosecha (IC) se determinó como el peso de las semillas por planta en madurez fisiológica sobre el total de su biomasa aérea seca multiplicado por 100. El índice de cosecha de la vaina (ICV) se calculó como el total del peso de semillas sobre el peso seco de las vainas (pericarpios + semillas) cosechados, multiplicado por 100 (Chaves-Barrantes *et al.*, 2018).

5.10. Análisis estadístico

Los tratamientos se analizaron mediante ANDEVA y comparación múltiple de medias de los tratamientos con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Estos análisis se hicieron con el programa InfoStat versión 2020e (Di Rienzo *et al.*, 2010). El número total de repeticiones se indica en la descripción de cada figura.

6. RESULTADOS

6.1. Conductancia estomática (g_s) de las plantas y pérdida de humedad en el sustrato

La pérdida de humedad por suspensión del riego, que generó 75 % y 50 % CC se obtuvo en los primeros dos días (Figura 7). Debido a que el peso por maceta fue inferior al estimado por cada nivel de humedad, diariamente se añadió la cantidad de agua necesaria para alcanzar el nivel de 100 % CC (Figura 7A), 75 % CC (Figura 7B) y 50 % CC (Figura 7C) a las 8:00 a.m. El nivel diario de humedad del suelo en el grupo control se mantuvo entre el 90 y 100 % CC, lo que correspondió a volúmenes entre 0.27 y 0.3 mL g⁻¹ de sustrato. El 75 % CC se mantuvo con 0.17 a 0.22 mL g⁻¹ de sustrato y el 50 % CC se mantuvo con 0.1 a 0.15 mL g⁻¹ de sustrato. La g_s disminuyó directamente con el nivel de humedad en el sustrato y se mantuvieron constantes durante el experimento. La g_s en el tratamiento 100 % CC fluctuó entre 90 y 50 mmol m⁻² s⁻¹, con el 75 % CC g_s disminuyó ~30 % y las plantas al 50 % CC fueron menores con un ~75 % con respecto al control (Figura 9).

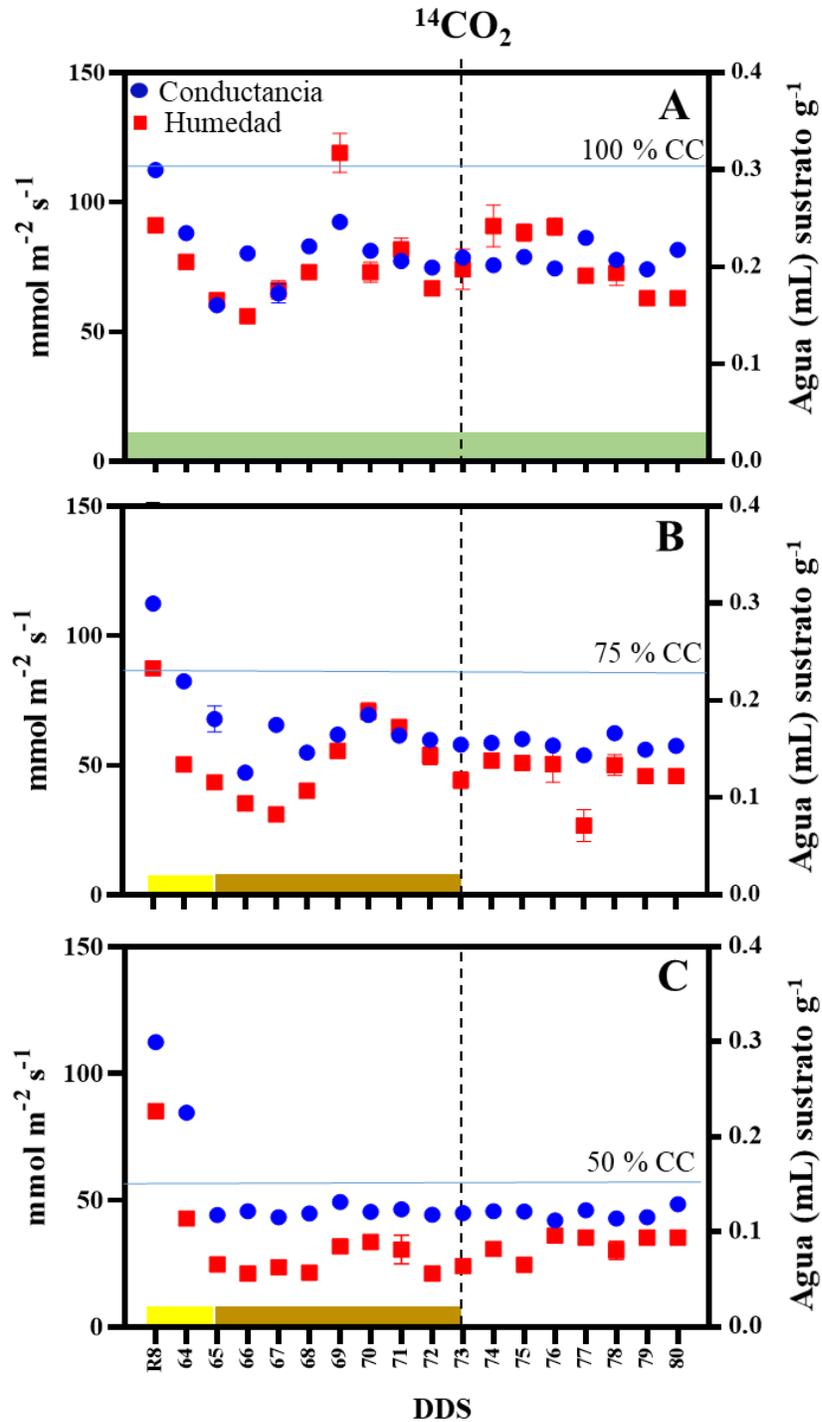


Figura 7. Conductancia estomática (*gs*) (eje izquierdo) y pérdida de humedad en el sustrato (eje derecho) en plantas de frijol var. OTI. (A) 100 % CC, (B) 75 % CC y (C) 50 % CC. La barra amarilla representa el tiempo en el que se alcanzó el porcentaje de humedad indicado y la barra marrón el tiempo que duró la restricción de humedad. La línea azul indica la cantidad de humedad en el sustrato correspondiente a la CC y la línea punteada es el día que se dio el pulso de ¹⁴CO₂, n = 10. DDS = días después de la siembra.

6.2. Distribución de ^{14}C

El total de $^{14}\text{CO}_2$ asimilado por las plantas en cada muestreo fue similar (Figura 8). El menor porcentaje de marca se presentó en la raíz, el tallo, las hojas jóvenes y maduras. En estos órganos la marca fue menor a 10 % del total asimilado, independientemente del nivel de humedad en los tres muestreos (Figura 9). El porcentaje de ^{14}C tendió a incrementar en la raíz de las plantas del tratamiento 50 % CC en los tres muestreos. El tallo se mantuvo sin cambios, en contraste con la raíz. La marca ^{14}C en hojas jóvenes y maduras tendió a disminuir con la falta de humedad en el sustrato en el tiempo.

La distribución dinámica de la marca de ^{14}C en los frutos mostró porcentajes mayores al 45 % en los tres niveles de humedad (Figura 9). Destacó que en los pericarpios en etapa III, el porcentaje de ^{14}C mostró alteraciones mayores dependientes del nivel de humedad.

La cantidad de ^{14}C en los pericarpios en etapa II disminuyó con el nivel de humedad; las plantas del tratamiento 50 % CC asignaron la cantidad mínima (1 %) a los frutos en esta etapa. En este tratamiento, los pericarpios de la etapa III acumularon 31 % de la marca de ^{14}C en el muestreo 1 (M1) y disminuyó a 12 y 9 % en M2 y M3, respectivamente. En los pericarpios maduros (etapas IV), los cambios en el porcentaje de ^{14}C fueron de 9 a 12 % y 7 % en los muestreos M1, M2 y M3 comparados con los pericarpios jóvenes, lo que sugiere que en etapas iniciales del desarrollo de las semillas, el metabolismo de carbono está muy activo en los pericarpios.

La acumulación de la marca de ^{14}C en las semillas incrementó con la edad de las vainas y el nivel de humedad (Figura 9). En el último muestreo (M3), las semillas maduras (etapa IV) del tratamiento 50 % CC tuvieron más del triple de ^{14}C que las del tratamiento 100 % CC, con 32 %

y 10 % respectivamente. Así, las plantas en 50 % CC podrían estar acelerando el proceso de llenado de la vaina.

Las semillas de la etapa IV de los tratamientos 100 % y 75 % CC incrementaron 54 % el porcentaje de marca en el último muestreo (M3) y en las del tratamiento 50 % CC el porcentaje de ^{14}C fue del 39 % (Figura 9). Cabe señalar que en el primer muestro (M1) en los tres niveles de humedad las semillas III tenían 20 % de ^{14}C del total del ^{14}C asimilado en toda la planta.

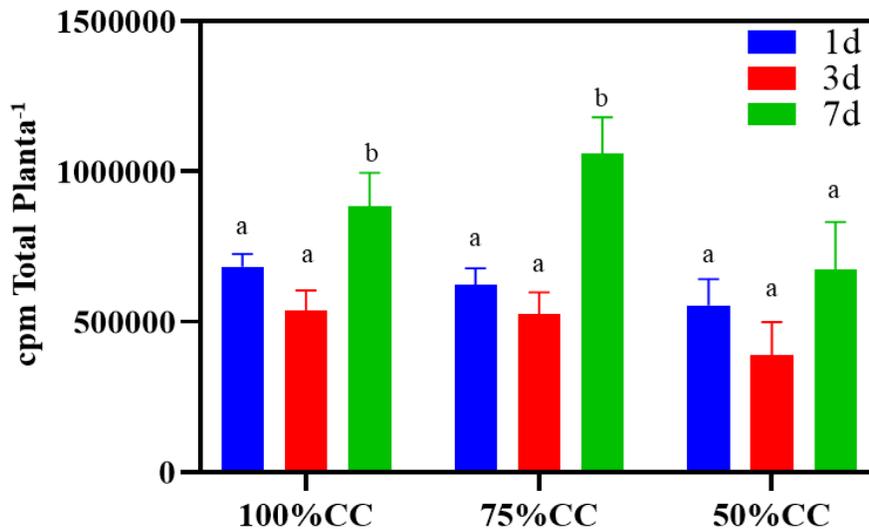


Figura 8. Efecto de la restricción de humedad durante 10 días en la marca total de ^{14}C en cuentas por minuto (cpm) incorporada en plantas de frijol de la var. OTI, en la etapa de llenado de la vaina (R8). Las barras con color azul, rojo y verde representan los muestreos a las 24 h (M1), 72 h (M2) y 168 h (M3) después de exponer las plantas a $^{14}\text{CO}_2$. 100 % de capacidad de campo (CC), 75 % CC y 50 % CC. Las letras similares sobre las barras indican similitud entre muestreos de los tratamientos según la comparación de medias por Tukey ($P \leq 0.05$) $n = 3$.

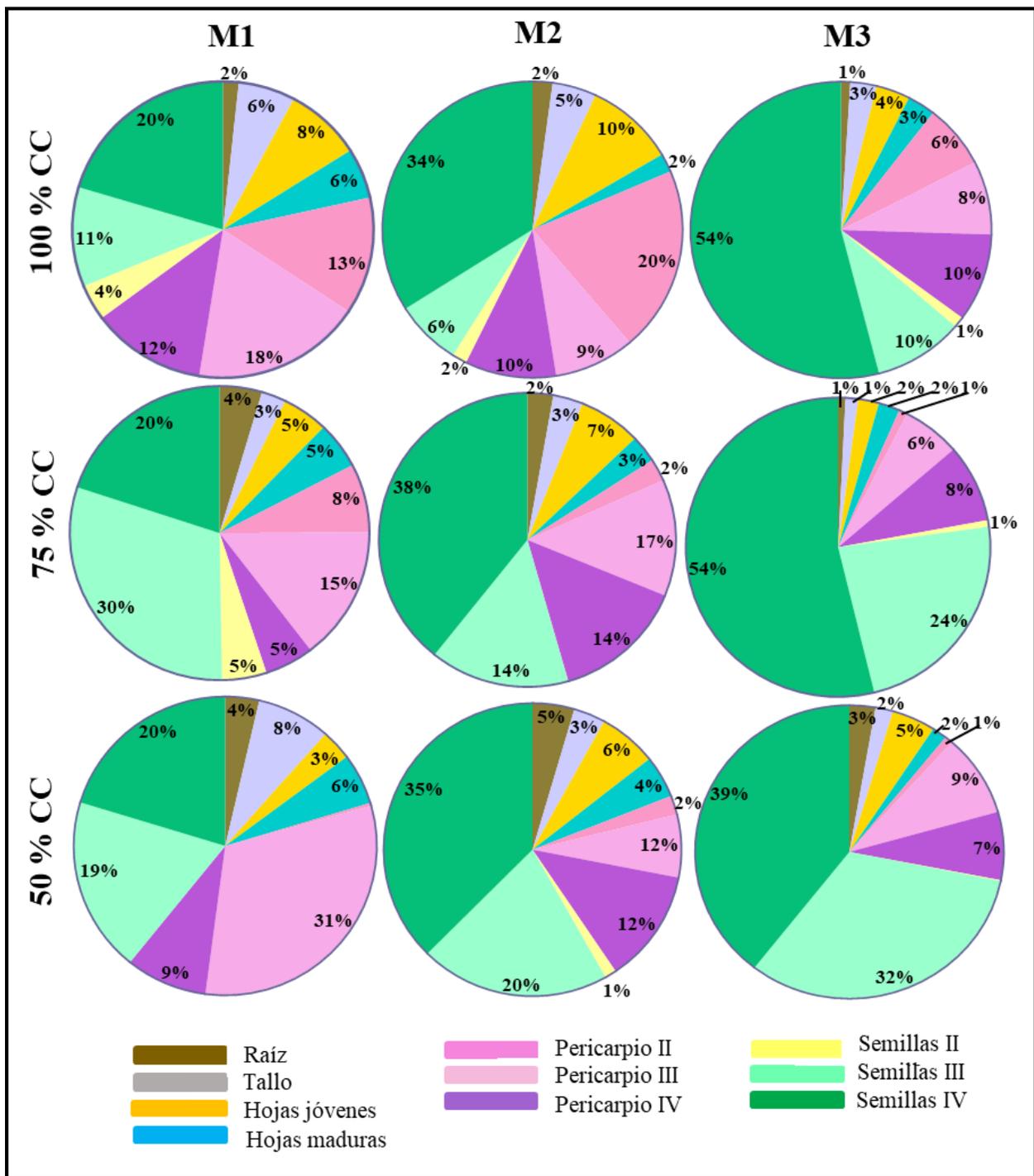


Figura 9. Distribución relativa del ¹⁴C asimilado 24 h (M1), 72 h (M2) y 168 h (M3) después de aplicarlo a plantas de frijol en la etapa de llenado de la vaina (R8), 10 días después de permanecer en suelo con 100 % de capacidad de campo (CC), 75 % CC y 50 % CC. M1, M2 y M3 corresponde al análisis de muestras evaluadas, respectivamente, n = 3.

Para evaluar el efecto de la disponibilidad de humedad en el suelo y el desarrollo de las vainas se evaluaron los porcentajes de materia acumulada en los pericarpios y su relación con los niveles de glucosa, fructosa, sacarosa y almidón en los muestreos M1, M2 y M3 (Figura 10).

Las concentraciones de glucosa fueron 50 % menores que las de fructosa. Ambas hexosas disminuyeron con la restricción de humedad, respecto al testigo, en los tres muestreos. La concentración de glucosa y fructosa en los pericarpios disminuyó con la edad de las vainas, pero aumentó la concentración de sacarosa en los tres niveles de humedad. Excepto en pericarpios de etapa II en el día 7, en ese tiempo se detectó disminución del 10 % al 75 % CC y 50 % CC con respecto al testigo (Figura 10).

La concentración de almidón en los pericarpios se mantuvo sin cambios significativos por efecto del nivel de humedad y etapa de desarrollo (Figura 10). La excepción se observó en los pericarpios de las vainas en el M1 de pericarpios II al 50 % CC; en ellos se observó disminución de alrededor del 57 % con respecto a los pericarpios de la misma edad, pero en condiciones de riego (100 % CC). Esto permite sugerir que la restricción de humedad severa promueve la degradación del almidón en etapas tempranas del llenado del grano; asimismo, en el M3 las diferencias fueron significativas en los pericarpios de las tres edades y que la disminución en el contenido de almidón representó 30 %, 16 % y 6 % (II, III y IV) en los pericarpios del tratamiento a 50 % CC, comparado con el testigo.

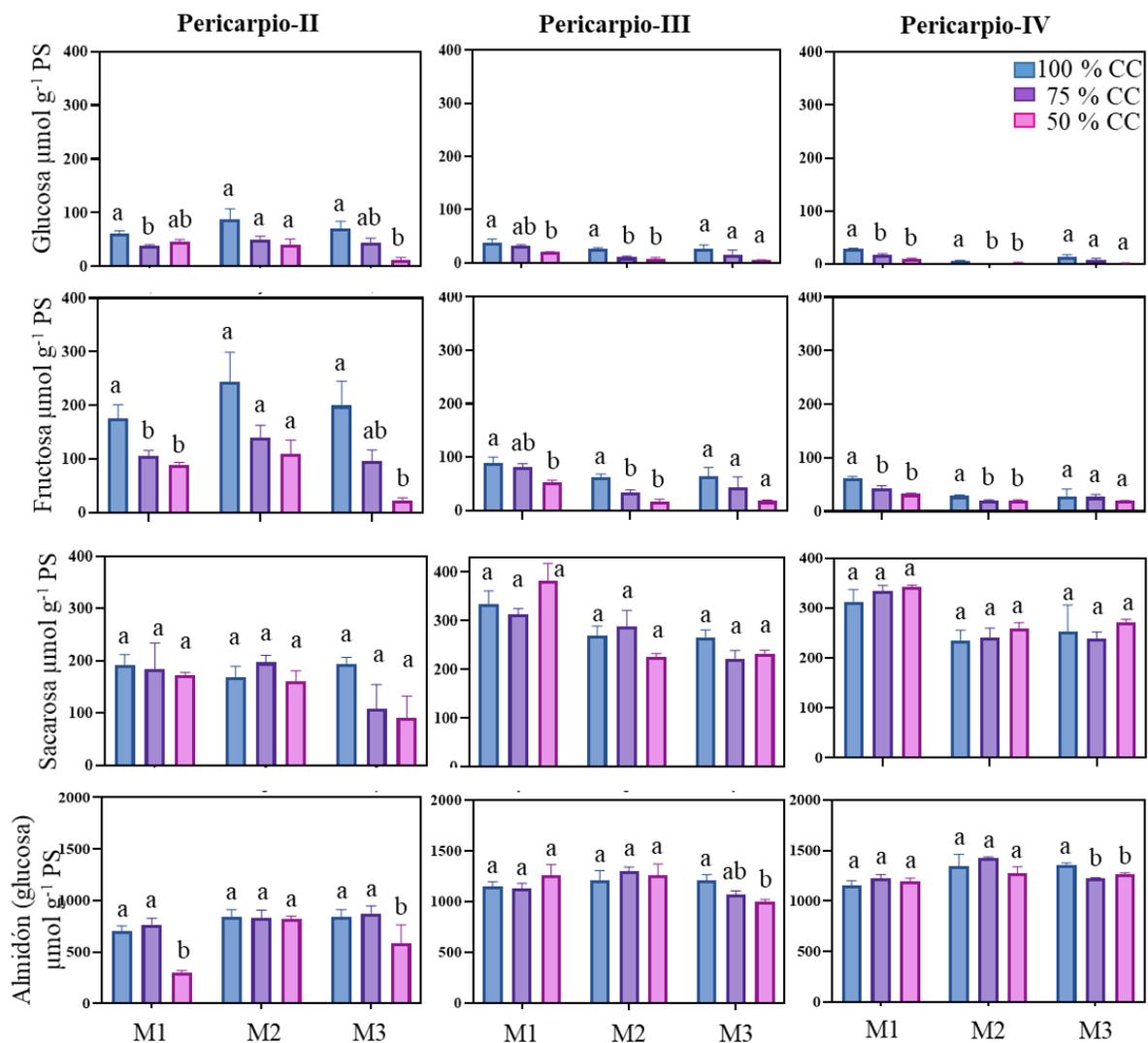


Figura 10. Concentración de glucosa, fructosa, sacarosa y almidón ($\mu\text{mol g}^{-1}$ PS) en pericarpios de frutos de plantas de frijol, en la etapa de llenado de la vaina (R8), 10 días después de mantenerse con 100 % de capacidad de campo (CC), 75 % CC y 50 % CC. M1, M2 y M3 corresponden a muestras evaluadas 24 h, 72 h y 168 h después de concluir el pulso de ^{14}C . Las letras similares sobre las barras indican similitud entre los tratamientos (100 % CC (barras azules), 75 % CC (barras moradas) y 50 % CC (barras rosas)) y muestreos (M1, M2 y M3) según la comparación de medias por Tukey ($P \leq 0.05$), $n = 3$.

6.4. Actividad amilolítica

La restricción de humedad 11 días después de suspender el riego (M1) en la actividad amilolítica de los pericarpios de las vainas de las tres edades (II, III y IV) mostró dos bandas de alto peso

molecular en todas las muestras y una banda de menor peso con mayor actividad amilolítica (Figura 11). El extracto crudo de proteínas de pericarpio II en tratamiento 50 % CC reveló mayor actividad amilolítica; esto mostró que la disminución del contenido de almidón se debe a esta actividad (Figura 10).

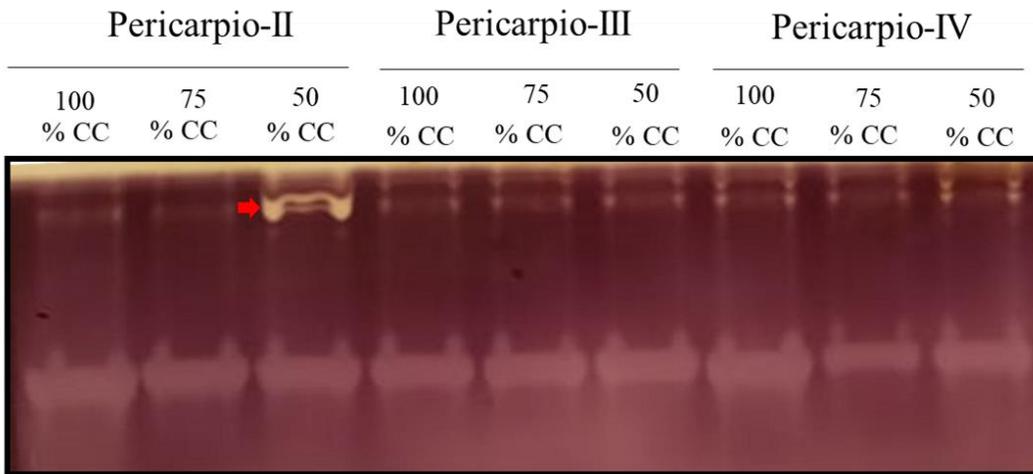


Figura 11. Gel nativo de poliacrilamida (Native-PAGE), teñido con lugol, con el efecto del nivel de humedad en el perfil de actividad de enzimas amilolíticas de pericarpios de vainas, producidas por plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) de la variedad OTI, mantenidas 10 días en suelo con 100 % de capacidad de campo (CC), 75 % CC y 50 % CC a partir del inicio del llenado de vaina (R8). La tinción del gel fue con lugol. II, III y IV corresponden a las etapas de las vainas definidas en la Figura 6.

6.5. Producción de flores y peso seco de órganos

De acuerdo con el diseño del experimento descrito en la Figura 5, un grupo adicional de plantas se usó para determinar el número de vainas normales a partir del total de flores producidas y que fueron etiquetadas. Al inicio de la etapa de floración (R6), las flores en antesis se etiquetaron y cuantificaron cada 24 h y se le dio seguimiento a cada una de ellas. Al iniciar la etapa R8 (50 % de plantas con vainas en llenado) se mantuvo cada grupo a 100 % CC, 75 % CC y 50 % CC hasta la cosecha y se cuantificó el número de vainas normales (presentan al menos una semilla normal)

(Figura 12A-C). Los resultados muestran que la cinética de producción de flores fue similar en los tres tratamientos (Figura 13), dado que la restricción de humedad se aplicó en R8 o 18 días después del inicio de la floración (Figura 7, eje izquierdo). Los tratamientos de restricción de humedad no modificaron la producción de flores (Figura 12), de manera natural las flores que se desarrollan después del día 55 DDS tienen menos probabilidad de formar frutos (Figura 12); sin embargo, incrementó el aborto de frutos respecto a la mayor disponibilidad de humedad. Las zonas azules indican los momentos críticos (Figura 12). Respecto al número de vainas producidas se encontró que en condiciones óptimas (100 % CC), las flores se transformaron en vainas hasta los 10 d después de iniciar la etapa R6 (Figura 12A). Al aplicar la suspensión de riego con el 75 % CC se redujo el tiempo máximo de producción de vainas a los 8 d de haber iniciado la etapa R6 (Figura 12B) y 4 d al 50 % CC (Figura 12C).

Las diferencias en la biomasa seca del tallo y las hojas no fueron significativas entre los tratamientos. En contraste el peso de la raíz se incrementó 20 % en el tratamiento de 50 % CC y el de pericarpios y las semillas disminuyó 55 % y 61 % en los tratamientos con 75 % y 50 % CC respecto al testigo (Figura 14).

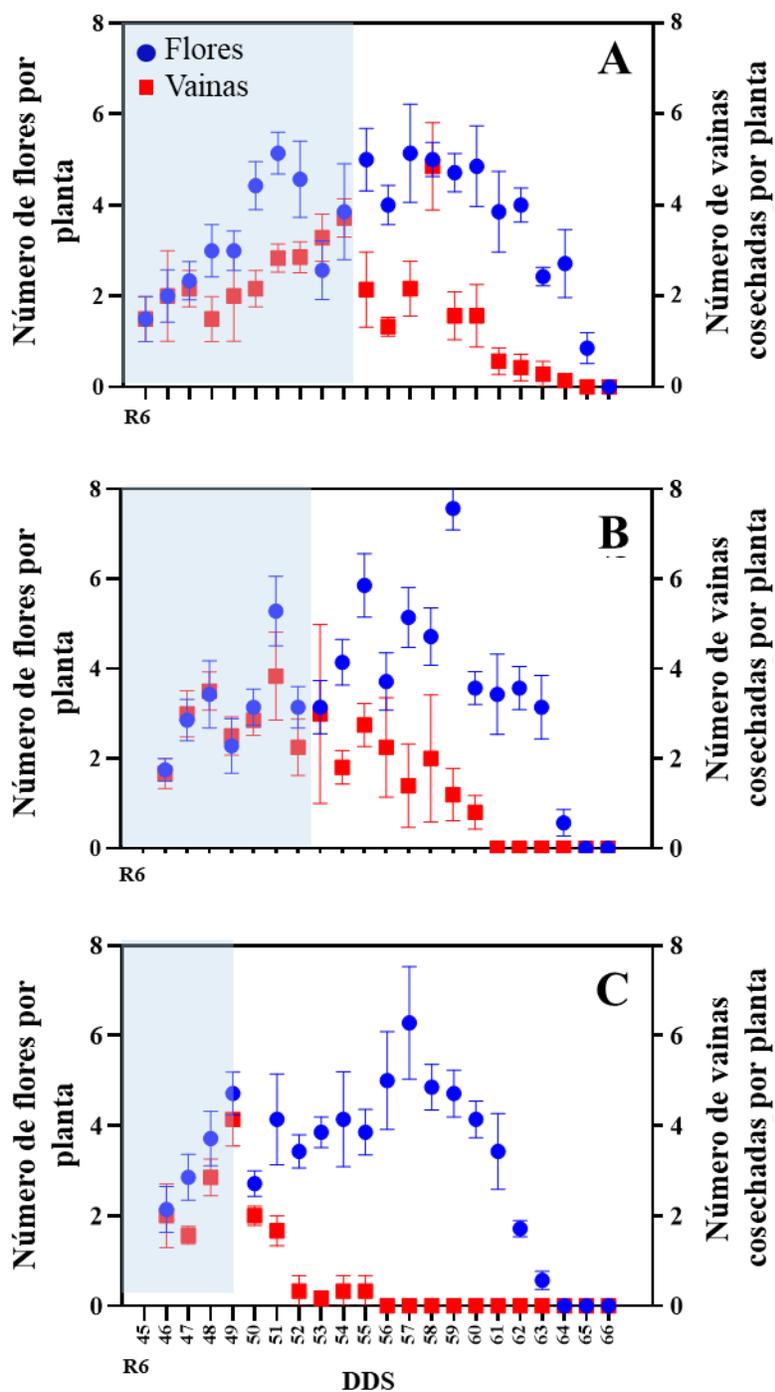


Figura 12. Producción de flores a partir de la etapa R6 (círculos azules, eje izquierdo) sin restricción de humedad hasta la etapa de llenado de vainas (R8) y vainas normales cosechadas a la madurez fisiológica (R9) a A) 100 % CC, B) 75 % CC y C) 50 % CC (cuadros rojos, eje derecho), n = 10. La restricción de humedad inicio el día 63. DDS = días después de la siembra. El área azul corresponde al máximo número de vainas normales producidas a la cosecha.

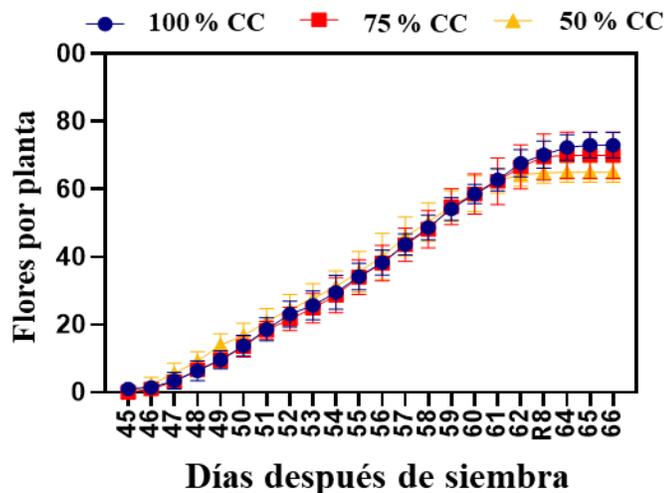


Figura 13. Número total de flores producidas por las plantas en tres niveles de humedad [100 % CC (azul), 75 % CC (rojo) y 50 % CC (amarillo)] n = 10.

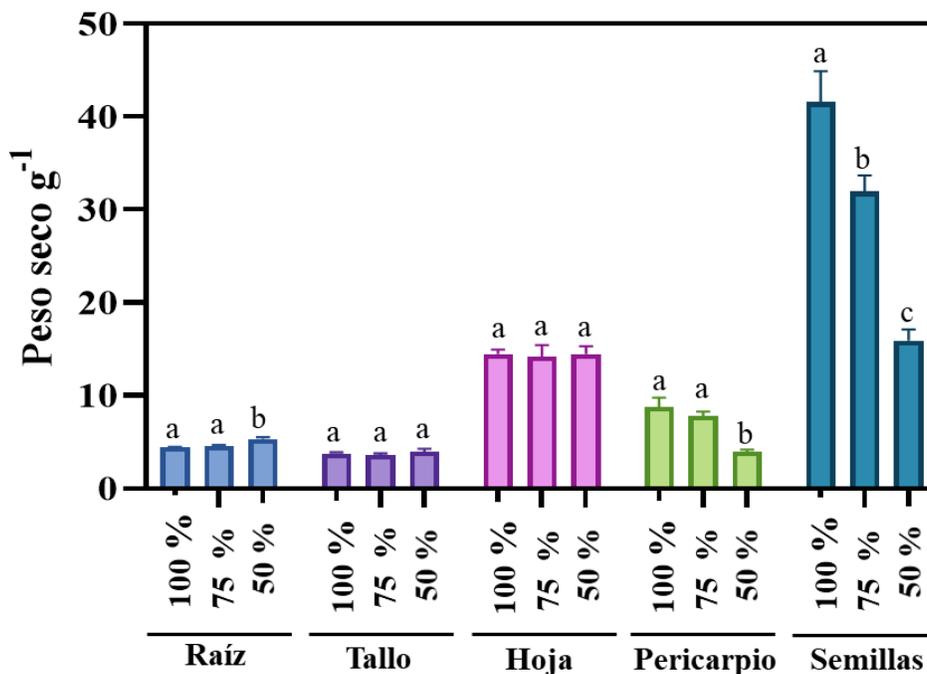


Figura 14. Efecto de la restricción de humedad, en el peso seco de raíz, tallo, hojas, pericarpio y semillas de plantas de la var. OTI en tres niveles de humedad (100 % CC, 75 % CC y 50 % CC). Las semillas a la cosecha no se secaron en estufa, se pesaron con el contenido de humedad a la madurez fisiológica, n = 7 (Tukey, $P \leq 0.05$).

Para tener un panorama general de la uniformidad de los pesos de las semillas a la madurez fisiológica producidas por las plantas en los tres niveles de humedad, se pesó cada semilla producida por tres plantas tomadas al azar de cada tratamiento (Figura 15). Se observa que la mayoría de las semillas se encuentran entre 0.32 y 0.41 g; asimismo se pueden encontrar valores extremos (0.05 g) o hasta 10 veces mayores (0.5 g) en los tres tratamientos (100 % CC, 75 % CC y 50 % CC).

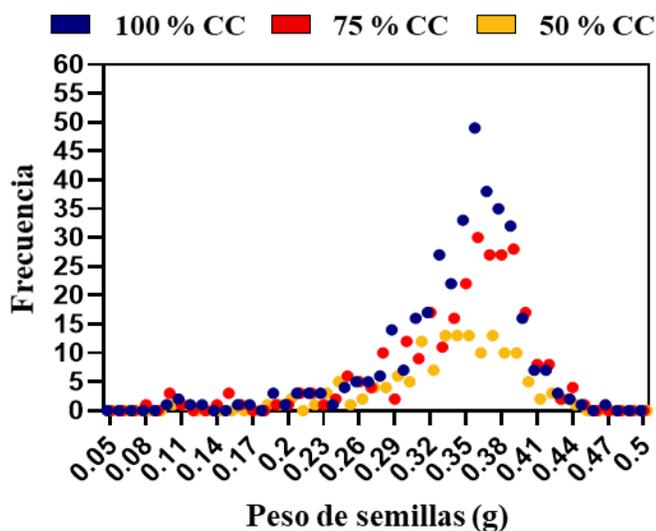


Figura 15. Frecuencia del peso de las semillas de frijol producidas por las plantas de la var. OTI en los tres niveles de humedad (100 % CC, 75 % CC y 50 % CC). Cada punto representa el valor promedio de tres plantas (n = 3).

El índice de cosecha disminuyó 5 % en restricción de humedad moderada (75 % CC) y 19 % en restricción severa (50 % CC); sin embargo, el peso individual de la semilla y el promedio de semillas por vaina, se mantuvo similar en los tres niveles de humedad con 3.9 semillas por vaina con el mismo peso acumulado por grano (Cuadro 1). Lo anterior indica que, a pesar de la fuerte reducción del número de vainas normales, las que llegaron a madurez fisiológica, se

llenaron igual que las vainas de las plantas control (100 % CC). El peso de 100 semillas fue muy similar en los tres tratamientos y el índice de cosecha de la vaina no mostró cambios significativos en los tres niveles de humedad (Cuadro 1). Los resultados indican que, a pesar de la restricción de humedad, los fotoasimilados son destinados a semillas viables.

Cuadro 1. Medias de las variables de rendimiento e índice de cosecha y de la vaina de las plantas de la var. OTI en diferentes niveles de humedad (100 % CC, 75 % CC y 50 % CC) durante el llenado de la vaina. Medias \pm SE, (Tukey, $P \leq 0.05$) $n = 7$.

Tratamientos	Número de vainas por planta	Número de semillas por vaina	Peso de una semilla (g)	Semillas producidas por planta (gpl^{-1})	Índice de cosecha (%)	Índice de cosecha de la vaina (%)
100 % CC	29.71 (SE \pm 2.13) a	3.9 (SE \pm 0.10) a	0.344 (SE \pm 0.003) a	41.55 (SE \pm 3.35) a	60.22 (SE \pm 1.50) a	82.63 (SE \pm 4.11) a
75 % CC	24.42 (SE \pm 1.90) a	3.8 (SE \pm 0.12) a	0.341 (SE \pm 0.005) a	31.93 (SE \pm 1.74) b	55.60 (SE \pm 0.57) b	80.45 (SE \pm 2.21) a
50 % CC	14.14 (SE \pm 1.03) b	3.6 (SE \pm 0.16) b	0.332 (SE \pm 0.005) a	15.87 (SE \pm 1.21) c	41.36 (SE \pm 1.36) c	80.04 (SE \pm 1.47) a

7. DISCUSIÓN

La sequía es el estrés con impacto mayor en la pérdida del rendimiento en los cultivos. Entre las alternativas de las plantas, la removilización de moléculas de reserva como fuente de nutrientes es necesaria para enfrentar las condiciones adversas (Assefa *et al.*, 2013; Beebe *et al.*, 2008; Mukankusi *et al.*, 2019; Polania *et al.*, 2016). En el presente estudio en las plantas de frijol la disminución de humedad del suelo disminuyó la conductancia estomática de las hojas (Figura 7), lo que evita la pérdida excesiva de agua, como en otros cultivos (Abdel y Stutzel, 2016; Hao *et al.*, 2013). La cuantificación de la incorporación de ^{14}C en plantas con restricción de humedad (Figura 5) mostró cambios en el patrón de distribución de la marca entre los tejidos (Figura 8 y 9). La restricción de humedad disminuyó la marca en los pericarpios y las semillas en el tiempo, en las etapas II y III, y los cambios fueron menores en la etapa IV. El análisis de los carbohidratos en los pericarpios muestra que los niveles de glucosa y fructosa se reducen con la restricción de humedad. Esa respuesta fue evidente en los pericarpios de las vainas jóvenes (etapa II). Sin embargo, el déficit de humedad tuvo poco efecto en los niveles de sacarosa y almidón.

Los resultados mostraron que las plantas respondieron al déficit de humedad; incrementando la proporción de marca que se canalizó a las semillas que se encontraban en las etapas III y IV y se cortó el suministro a los frutos pequeños. Sólo en ellos se observó una disminución significativa de almidón. Se ha reportado que genotipos de frijol resistentes a sequía, responden a la baja disponibilidad de agua modificando la distribución de fotosintatos y acumulando almidón en el pericarpio de los frutos, pero no lo degradan (Cuellar-Ortiz *et al.*, 2008). Los niveles de hexosas (glucosa y fructosa) disminuyeron con respecto a la edad de las vainas, pero los niveles de sacarosa aumentaron, estos resultados ocurrieron independientemente

del nivel de humedad, excepto en los pericarpios de etapa II del M1, en el que se observaron menores concentraciones del disacárido en bajos niveles de humedad (Figura 10). Dichas observaciones sugieren que el metabolismo de sacarosa es más activo en vainas jóvenes y es dependiente de la edad del fruto. Resultados similares fueron encontrados en vainas de plantas de soya (*Glycine max* L.), donde la sequía no alteró los niveles de almidón y azúcares no reductores en los pericarpios de los frutos (Sengupta *et al.*, 2019). Por otro lado, el hecho de que Coello y Martínez-Barajas (2014) hayan observado que vainas de 20 días después de la antesis, cortadas de la planta e incubadas en oscuridad, degradan eficientemente el almidón de la vaina y que los recursos generados permiten el desarrollo exitoso de algunas semillas indica que la degradación del almidón en esta etapa depende de señales que se originan cuando la planta interrumpe el suministro de nutrientes.

El pericarpio en frijol con restricción de humedad es uno de los tejidos fuente de carbono para la semilla (Cuellar-Ortiz *et al.*, 2008); por lo que, el índice de cosecha de la vaina se ha considerado un carácter agronómico para selección de resistencia a sequía (Assefa *et al.*, 2013). Las evidencias indican que el almidón se acumula en cantidades suficientes sin cambios significativos en su contenido. Cuellar-Ortiz *et al.* (2008) demostraron que el almidón en sequía disminuye en las hojas y se acumula en la vaina de un cultivar de frijol resistente a sequía. En el proceso de la liberación de CO₂ por el embrión en vainas de las leguminosas se fija nuevamente mediante una capa de células en la pared interior de la vaina. En el garbanzo este proceso de refijación permite el balance de carbono de la semilla, particularmente en condiciones de sequía; en esta especie el embrión, la cubierta de la semilla y la pared de la vaina son fotosintéticamente competentes, pero la pared de la vaina por sí sola es capaz de una producción neta de O₂ por encima de la respiración. El papel predominante de la pared de la vaina en la refijación está

respaldado por las mediciones de la fijación de CO₂ marcado isotópicamente, que muestran que más del 80 % del CO₂ es fijado por este tejido cuando se suministra al interior de la vaina; además, las concentraciones de clorofila en las vainas más jóvenes son altas, pero disminuyen diferencialmente con el desarrollo (Furbank *et al.*, 2004).

El pericarpio de la vaina en alfalfa (*Medicago sativa* L.) tiene capacidad fotosintética en las primeras etapas del desarrollo de las semillas y su fotosíntesis podría proporcionar carbono a los órganos, incluidas semillas, pericarpios, hojas, tallos y raíces, además de la fotosíntesis de las hojas. La fotosíntesis del pericarpio afecta el balance total de C de la rama de alfalfa con la redistribución de una porción del pericarpio asimilada a otros órganos de la planta. El ¹³C asimilado del pericarpio se utilizó para el crecimiento de semillas y pericarpio (Zhang *et al.*, 2017). Los requerimientos de C asimilado provienen principalmente del pericarpio joven en el desarrollo temprano de la semilla, y los requerimientos posteriores provienen principalmente de la hoja; esto mismo podría estar ocurriendo en la planta de frijol.

Los pericarpios juegan un papel clave al encapsular las semillas en desarrollo y protegerlas de plagas y patógenos; además de esta función protectora, se ha demostrado que la pared del pericarpio es fotosintéticamente activa además de que contribuye con asimilados y nutrientes para impulsar el crecimiento de las semillas. El estudio de Bennett *et al.* (2011) reveló que las señales que se originan en el pericarpio también actúan en el llenado de las semillas y regulan la reasignación de reservas de semillas dañadas a aquellas que han conservado su viabilidad, particularmente en los miembros de la familia Brassicaceae.

Los resultados del presente estudio con los pericarpios de las etapas III y IV concuerdan con los de otros estudios sobre los niveles elevados de almidón en el pericarpio en los tres niveles de humedad (Figura 9), pero contrastan con los resultados en la etapa inicial (II). Estos

resultados permiten sugerir que la fuerza de demanda favorece a las vainas que se encuentran en etapas iniciales de llenado del grano que cambian hacia un estado de transición, en el que la vaina pierde capacidad metabólica e inicia la pérdida de la clorofila y por lo tanto la senescencia del fruto (Furbank, 2004; Michelangeli *et al.*, 2013; Padilla-Chacón *et al.*, 2017). Para explorar si la disminución en el contenido de almidón en pericarpios II se debe al aumento en la actividad de degradación del almidón en el pericarpio, se determinó su actividad amilolítica en las etapas de crecimiento II, III y IV (Figura 11) con 11 d de restricción de humedad (M1). Los resultados mostraron que la actividad amilolítica en las tres etapas de crecimiento, la de pericarpio de etapa II con restricción de humedad severa tuvo mayor actividad. Hasta el momento se desconoce el mecanismo de degradación de almidón en vainas de frijol en respuesta a la sequía (Polania *et al.*, 2020). Evidencias experimentales demostraron que las enzimas que hidrolizan el almidón responden al estrés abiótico (Thalman y Santelia, 2017). Monroe *et al.* (2014) mostraron que con la aplicación exógena de ABA se induce la expresión de BAM1 y AMY3, dos enzimas glucano hidrolíticas con propiedades bioquímicas diferentes; BAM3 es activa en temperaturas bajas y pH ácidos, y BAM1 tiene actividad mayor en temperaturas altas y pH más alcalinos. Los resultados del presente estudio permiten sugerir la participación de enzimas que respondan a la restricción de humedad, o al ambiente celular promovido por esta condición, en la degradación del almidón de vainas jóvenes.

Los resultados mostraron que las concentraciones de fructosa fueron el doble que las de glucosa y que la concentración de ambos azúcares disminuyó con la maduración de la vaina y la restricción de humedad. Estos resultados son similares a los obtenidos en vainas de plantas de soya en sequía, en ellas los niveles de carbohidratos totales disminuyeron en las vainas de edad avanzada (Sengupta *et al.*, 2019). En contraste, Cuellar-Ortiz *et al.* (2008) mostraron que los

carbohidratos solubles aumentaron entre la primera y segunda semana de formación de la vaina en plantas con restricción de humedad. Está ampliamente demostrado que la sequía, salinidad y bajas temperaturas incrementan la concentración de azúcares solubles; particularmente, la sacarosa y la glucosa actúan como sustrato en la respiración celular o como osmolito para mantener la homeostasis (Gupta y Kaur, 2005), y la fructosa parece estar relacionada en la síntesis de metabolitos secundarios. Al respecto, Hilal *et al.* (2004) demostraron que el aumento de fructosa parece estar relacionado con la mayor demanda de eritrosa-4P como sustrato para la síntesis de lignina y fenólicos.

En el presente estudio, las fluctuaciones de carbohidratos solubles en condiciones de estrés parece que estuvieron relacionadas con cambios en la asimilación de CO₂, repartición de fotosintatos entre tejidos fuente-demanda y en la expresión de genes específicos (Roitsch, 1999; Hilal *et al.*, 2004; Gupta y Kaur, 2005). El metabolismo de carbohidratos solubles depende de la etapa del desarrollo de la vaina e involucra cambios en su síntesis y degradación, ya que en las vainas de la etapa II estuvieron en concentraciones mayores que en las etapas posteriores (III y IV) (Figura 11).

El análisis de la producción de flores por día, del número de flores abortivas y de las semillas formadas, así como de los componentes del rendimiento e índices de cosecha y de la vaina (Figura 12) mostró que las plantas obtuvieron una cantidad similar de flores en los tres tratamientos. Estos resultados son consistentes con el análisis de la cinética de producción de flores en 24 genotipos de frijol, poniendo en evidencia que existen diferencias entre genotipos de acuerdo a su ciclo (Michelangeli *et al.*, 2013).

Con respecto a las vainas que alcanzaron la madurez hasta cosecha, se demostró que en los tres niveles de humedad, el número de vainas no se correlacionó con la producción de flores

(Figura 12) en el caso del 100 % CC todas las flores producidas después del día 10 de iniciada la anthesis fueron abortivas. Dicho efecto dependió de la cantidad de humedad en el sustrato; con 75 % CC las plantas abortaron todas las flores después del día ocho y con 50 % CC a partir del día cuatro. La capacidad de la planta para mantener las flores y formar vainas (evitar el aborto) es fundamental en la tolerancia a la sequía en frijol (Nadeem *et al.*, 2019). El número de semillas por vaina lo determinan el potencial de los óvulos formados por la planta, los procesos de polinización y la capacidad de la planta para transportar carbohidratos hacia los embriones en desarrollo (Farooq *et al.*, 2017). Las plantas de *P. vulgaris*, incluso con un suministro de agua óptimo sacrifican óvulos, con lo que optimizó la formación de semillas dentro de una vaina, y en condiciones de sequía, una planta puede abortar la mitad o más de sus óvulos dependiendo de la especie; sin embargo, los cultivares tolerantes a la sequía muestran menos aborto de embriones y semillas, lo que, combinado con la movilización eficaz de fotoasimilados de las estructuras vegetativas y la pared de la vaina, asegura la formación y el llenado adecuados de las semillas por vaina (Rao *et al.*, 2013). El suministro de fotoasimilados podría ejercer influencia cuantitativa y positiva en la fuerza de demanda a través del establecimiento del número de semillas y vainas porque se demostró que las tasas de aborto están relacionadas positivamente con el tamaño de la semilla y el número de óvulos fecundados que se desarrollen en la elongación de la vaina (Nakamura, 1988; Lord y Westoby, 2012). Estas observaciones indican que la capacidad de la planta para captar, transportar, asignar fotoasimilados dependen del estatus hídrico; esto, a la vez permite el desarrollo de las flores y las vainas.

El rendimiento disminuyó significativamente ~23 % y 61 % en restricción de humedad (75 % CC y 50 % CC), lo cual coincide con lo mencionado por otros autores que la sequía en la etapa final del desarrollo puede disminuir drásticamente el rendimiento de los cultivos (Chaves-

Barrantes *et al.*, 2018; Polania *et al.*, 2016). La biomasa de raíz, expresada como peso seco, generada por las plantas fue mayor en el tratamiento 50 % CC comparado con los tratamientos con mayor humedad; lo que confirmó el mayor desarrollo de raíces en respuesta al déficit de humedad y su tolerancia a la sequía de la variedad OTI (Strock *et al.*, 2019). En general, los resultados demostraron que las semillas son las estructuras que importan la mayor cantidad de carbono; además, las reservas en pericarpios son utilizadas en etapas tempranas cuando las plantas se enfrentan a la restricción de humedad.

8. CONCLUSIONES

En las plantas de frijol variedad OTI, la restricción de humedad modifica la distribución de fotoasimilados y cancela su translocación a las vainas pequeñas (etapa II), que al disminuir la asimilación de C, consumen los azúcares solubles (glucosa y fructosa) y degradan el almidón. Sin embargo, los recursos generados son insuficientes, lo que se traduce en abscisión mayor de número de órganos reproductivos y esto se refleja finalmente en el número de vainas normales producidas o en el número de semillas por planta.

9. PERSPECTIVAS

Estudiar los procesos bioquímicos y moleculares que controlan la movilización de carbono, ya que una mayor movilización de carbono hacia la formación de semillas puede convertirse en una característica importante en cultivares de *P. vulgaris* tolerantes a sequía.

Estudiar las funciones de los transportadores de la carga y descarga de fotoasimilados en el floema con el fin de detectar las isoformas de enzimas que son importantes en frijol.

Realizar experimentos con sacarosa¹⁴ y almidón¹⁴ para reforzar que el pericarpio es un tejido que puede fungir como estructura de almacenamiento de sacarosa o almidón, que actúa como órgano fuente cuando las plantas están sujetas a condiciones de estrés hídrico.

Realizar ensayos enzimáticos de SUS, INV, AGPasa y otras enzimas claves del metabolismo de sacarosa-almidón para explicar los cambios en el contenido de carbohidratos inducidos por la restricción de humedad.

10. LITERATURA CITADA

- Abdel, C. G., & Stutzel, H. (2016). Abdel & Stutzel Effects of water stress on Epidermis and stomata population of sixteen water stressed and irrigated barley (*Hordeum vulgare*) genotypes. *Euphrates Journal of Agriculture Science-Third Agricultural Conference*, 48–50.
- Abid, G., M'hamdi, M., Mingeot, D., Aouida, M., Aroua, I., Muhovski, Y., Sassi, K., Souissi, F., Mannai, K., & Jebara, M. (2017). Effect of drought stress on chlorophyll fluorescence, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in faba bean (*Vicia faba* L.). *Archives of Agronomy and Soil Science*, 63(4), 536–552. <https://doi.org/10.1080/03650340.2016.1224857>
- Al Hassan, M., Chaura, J., Donat-Torres, M. P., Boscaiu, M., & Vicente, O. (2017). Antioxidant responses under salinity and drought in three closely related wild monocots with different ecological optima. *AoB PLANTS*, 9(2). <https://doi.org/10.1093/aobpla/plx009>
- Amede, T., Schubert, S., & Stahr, K. (2004). Mechanisms of drought resistance in grain legumes I: Osmotic adjustment. *SINET: Ethiopian Journal of Science*, 26(1), 37–46. <https://doi.org/10.4314/sinet.v26i1.18198>
- Andrianasolo, F. N., Debaeke, P., Champolivier, L., & Maury, P. (2016). Analysis and modelling of the factors controlling seed oil concentration in sunflower: a review. *OCL*, 23(2), D206. <https://doi.org/10.1051/ocl/2016004>
- Asfaw, A., Blair, M. W., & Struik, P. C. (2012). Multienvironment Quantitative Trait Loci Analysis for Photosynthate Acquisition, Accumulation, and Remobilization Traits in Common Bean Under Drought Stress. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 2(5), 579–595. <https://doi.org/10.1534/g3.112.002303>
- Assefa, T., Beebe, S. E., Rao, I. M., Cuasquer, J. B., Duque, M. C., Rivera, M., Battisti, A., & Lucchin, M. (2013). Pod harvest index as a selection criterion to improve drought resistance in white pea bean. *Field Crops Research*, 148, 24–33. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.04.008>
- Atti, S., Bonnell, R., Smith, D., & Prasher, S. (2004). Response of an Indeterminate Soybean (*Glycine Max* (L.) Merr) to Chronic Water Deficit During Reproductive Development Under Greenhouse Conditions. *Canadian Water Resources Journal*, 29(4), 209–222. <https://doi.org/10.4296/cwrj209>
- Beebe, S. E., Rao, I. M., Blair, M. W., & Acosta-Gallegos, J. A. (2013). Phenotyping common beans for adaptation to drought. *Frontiers in Physiology*, 4 MAR, 35. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00035>
- Beebe, S. E., Rao, I. M., Cajiao, C., & Grajales, M. (2008). Selection for drought resistance in common bean also improves yield in phosphorus limited and favorable environments. *Crop Science*, 48(2), 582–592. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.07.0404>
- Bennett, E. J., Roberts, J. A., & Wagstaff, C. (2011). The role of the pod in seed development: Strategies for manipulating yield. *New Phytologist*, 190(4), 838–853.

<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03714.x>

- Bernal, L., Coello, P., & Martínez-Barajas, E. (2005). Possible role played by R1 protein in starch accumulation in bean (*Phaseolus vulgaris*) seedlings under phosphate deficiency. *Journal of Plant Physiology*, *162*(9), 970–976. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.12.005>
- Berny Mier y Teran, J. C., Konzen, E. R., Palkovic, A., Tsai, S. M., Rao, I. M., Beebe, S., & Gepts, P. (2019). Effect of drought stress on the genetic architecture of photosynthate allocation and remobilization in pods of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), a key species for food security. *BMC Plant Biology*, *19*(1), 171. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1774-2>
- Bhardwaj, J., & Yadav, S. K. (2012). Comparative study on biochemical parameters and antioxidant enzymes in a drought tolerant and a sensitive variety of horsegram (*Macrotyloma uniflorum*) under drought stress. *American Journal of Plant Physiology*, *7*(1), 17–29. <https://doi.org/10.3923/ajpp.2012.17.29>
- Bhauso, T. D., Radhakrishnan, T., Kumar, A., Mishra, G. P., Dobaría, J. R., Patel, K., & Rajam, M. V. (2014). Overexpression of bacterial mtlD gene in peanut improves drought tolerance through accumulation of mannitol. *Scientific World Journal*, *2014*. <https://doi.org/10.1155/2014/125967>
- Bitocchi, E., Rau, D., Bellucci, E., Rodriguez, M., Murgia, M. L., Gioia, T., Santo, D., Nanni, L., Attene, G., & Papa, R. (2017). Beans (*Phaseolus* spp.) as a Model for Understanding Crop Evolution. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 722. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00722>
- Boehlein, S. K., Shaw, J. R., Boehlein, T. J., Boehlein, E. C., & Hannah, L. C. (2018). Fundamental differences in starch synthesis in the maize leaf, embryo, ovary and endosperm. *Plant Journal*, *96*(3), 595–606. <https://doi.org/10.1111/tpj.14053>
- Borrell, A. K., Hammer, G. L., & Henzell, R. G. (2000). Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry matter production and yield. *Crop Science*, *40*(4), 1037–1048. <https://doi.org/10.2135/cropsci2000.4041037x>
- Brazel, A. J., & Ó'Maoiléidigh, D. S. (2019). Photosynthetic activity of reproductive organs. *Journal of Experimental Botany*, *70*(6), 1737–1754. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz033>
- Butare, L., Rao, I., Lepoivre, P., Polania, J., Cajiao, C., Cuasquer, J., & Beebe, S. (2011). New genetic sources of resistance in the genus *Phaseolus* to individual and combined aluminium toxicity and progressive soil drying stresses. *Euphytica*, *181*(3), 385–404. <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0468-0>
- Çakir, Ö., Uçarlı, C., Tarhan, Ç., Pekmez, M., & Turgut-Kara, N. (2019). Nutritional and health benefits of legumes and their distinctive genomic properties. *Food Science and Technology*, *39*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1590/fst.42117>
- Chakrabarty, A., Aditya, M., Dey, N., Banik, N., & Bhattacharjee, S. (2016). Antioxidant signaling and redox regulation in drought-and salinity-stressed plants. In *Drought Stress Tolerance in Plants, Vol 1: Physiology and Biochemistry* (Vol. 1, pp. 465–498). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-28899-4_20
- Chaves-Barrantes, N. F., Polanía, J. A., Muñoz-Perea, C. G., Rao, I. M., & Beebe, S. E. (2018).

- Caracterización fenotípica por resistencia a sequía terminal de germoplasma de frijol común. *Agronomía Mesoamericana*, 29(1), 1. <https://doi.org/10.15517/ma.v29i1.27618>
- Chen, D., Wang, S., Xiong, B., Cao, B., & Deng, X. (2015). Carbon/nitrogen imbalance associated with drought-induced leaf senescence in *sorghum bicolor*. *PLoS ONE*, 10(8), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137026>
- Choudhury, F. K., Rivero, R. M., Blumwald, E., & Mittler, R. (2017). Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *Plant Journal*, 90(5), 856–867. <https://doi.org/10.1111/tpj.13299>
- Chowdhury, J., Karim, M., Khaliq, Q., Ahmed, A., & Khan, M. (2016). Effect of drought stress on gas exchange characteristics of four soybean genotypes. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 41(2), 195–205. <https://doi.org/10.3329/bjar.v41i2.28215>
- CIAT. (1982). *Centro Internacional de Agricultura Tropical*. Etapas de desarrollo de la planta de frijol común. Guía de estudio para ser usada como complemento de la unidad audiotutorial sobre el mismo tema. Cali, Colombia: (Serie 04SB-09.03)
- Cileide, M., Medeiros, C., Vagner, A., CMM, C., & Benedito, V. (2008). Seed development and reserve compound accumulation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Seed Sci. Biotechnol*, 2, 42–52.
- Clavijo Michelangeli, J. A., Bhakta, M., Gezan, S. A., Boote, K. J., & Vallejos, C. E. (2013). From flower to seed: identifying phenological markers and reliable growth functions to model reproductive development in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant, Cell & Environment*, 36(11), n/a-n/a. <https://doi.org/10.1111/pce.12114>
- Coello, P., & Martínez-Barajas, E. (2014). The activity of SnRK1 is increased in *Phaseolus vulgaris* seeds in response to a reduced nutrient supply. *Frontiers in Plant Science*, 5(MAY), 196. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00196>
- Crookston, R. K., O'Toole, J., & Ozbun, J. L. (1974). Characterization of the Bean Pod as a Photosynthetic Organ 1. *Crop Science*, 14(5), 708–712. <https://doi.org/10.2135/cropsci1974.0011183x001400050030x>
- Crop, A., Society, S., Rao, I., Beebe, S., Polania, J., Ricaurte, J., Cajiao, C., Garcia, R., & Rivera, M. (2013). Can Tepary Bean Be a Model for Improvement of Drought Resistance in Common Bean. *African Crop Science Journal*, 21(4), 265–281. <https://doi.org/10.4314/acsj.v21i4>
- Croser, J. S., Ahmad, F., Clarke, H. J., & Siddique, K. H. M. (2003). Utilisation of wild Cicer in chickpea improvement progress, constraints, and prospects. In *Australian Journal of Agricultural Research* (Vol. 54, Issue 5, pp. 429–444). <https://doi.org/10.1071/AR02157>
- Cuellar-Ortiz, S. M., De La Paz Arrieta-Montiel, M., Acosta-Gallegos, J., & Covarrubias, A. A. (2008). Relationship between carbohydrate partitioning and drought resistance in common bean. *Plant, Cell and Environment*, 31(10), 1399–1409. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01853.x>
- Darkwa, K., Ambachew, D., Mohammed, H., Asfaw, A., & Blair, M. W. (2016). Evaluation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes for drought stress adaptation in Ethiopia.

Crop Journal, 4(5), 367–376. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2016.06.007>

- De Ron, A. M., Kalavacharla, V., Álvarez-García, S., Casquero, P. A., Carro-Huelga, G., Gutiérrez, S., Lorenzana, A., Mayo-Prieto, S., Rodríguez-González, A., Suárez-Villanueva, V., Rodiño, A. P., Beaver, J. S., Porch, T., Galván, M. Z., Gonçalves Vidigal, M. C., Dworkin, M., Bedmar Villanueva, A., & De la Rosa, L. (2019). Common Bean Genetics, Breeding, and Genomics for Adaptation to Changing to New Agri-environmental Conditions. In *Genomic Designing of Climate-Smart Pulse Crops* (pp. 1–106). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96932-9_1
- De Souza, P. I., Egli, D. B., & Bruening, W. P. (1997). Water stress during seed filling and leaf senescence in soybean. *Agronomy Journal*, 89(5), 807–812. <https://doi.org/10.2134/agronj1997.00021962008900050015x>
- Delatte, T., Umhang, M., Trevisan, M., Eicke, S., Thorneycroft, D., Smith, S. M., & Zeeman, S. C. (2006). Evidence for distinct mechanisms of starch granule breakdown in plants. *Journal of Biological Chemistry*, 281(17), 12050–12059. <https://doi.org/10.1074/jbc.M513661200>
- Delgado-Salinas, A., Bibler, R., & Lavin, M. (2006). Phylogeny of the genus *Phaseolus* (Leguminosae): A recent diversification in an ancient landscape. *Systematic Botany*, 31(4), 779–791. <https://doi.org/10.1600/036364406779695960>
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2010). *Infostat - Software estadístico*. InfoStat Versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar/>
- Diaz, L. M., Ricaurte, J., Tovar, E., Cajiao, C., Terán, H., Grajales, M., Polanía, J., Rao, I., Beebe, S., & Raatz, B. (2018). QTL analyses for tolerance to abiotic stresses in a common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) population. *PLoS ONE*, 13(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202342>
- Dong, S., Zhang, J., & Beckles, D. M. (2018). A pivotal role for starch in the reconfiguration of (14)C-partitioning and allocation in *Arabidopsis thaliana* under short-term abiotic stress. *Scientific Reports*, 8(1), 9314. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27610-y>
- Duncan, R. R., Bockholt, A. J., & Miller, F. R. (1981). Descriptive Comparison of Senescent and Nonsenescent Sorghum Genotypes ¹. *Agronomy Journal*, 73(5), 849–853. <https://doi.org/10.2134/agronj1981.00021962007300050024x>
- Durand, M., Porcheron, B., Hennion, N., Maurousset, L., Lemoine, R., & Pourtau, N. (2016). Water deficit enhances C export to the roots in *Arabidopsis Thaliana* plants with contribution of sucrose transporters in both shoot and roots. *Plant Physiology*, 170(3), 1460–1479. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01926>
- Estrada Gómez, A. J., Estrada Trejo, V., Hernández Livera, A., Molina Moreno, C. J., & Campos Escudero, A. (2004). OTI, una nueva variedad de frijol para el Valle de México OTI. *Revista Fitotecnia Mexicana* 27(1): 115-116.
- FAO. (2018). Legumbres. Pequeñas semillas, grandes soluciones. In *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*.
- Farnese, F. S., Menezes-Silva, P. E., Gusman, G. S., & Oliveira, J. A. (2016). When bad guys

- become good ones: The key role of reactive Oxygen species and Nitric Oxide in the plant responses to abiotic stress. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 7, Issue APR2016, p. 471). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00471>
- Farooq, M., Gogoi, N., Barthakur, S., Baroowa, B., Bharadwaj, N., Alghamdi, S. S., & Siddique, K. H. M. (2017). Drought Stress in Grain Legumes during Reproduction and Grain Filling. In *Journal of Agronomy and Crop Science* (Vol. 203, Issue 2, pp. 81–102). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/jac.12169>
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. In *Agronomy for Sustainable Development* (Vol. 29, Issue 1, pp. 185–212). <https://doi.org/10.1051/agro:2008021>
- Fernández, F., Gepts, P., & López, M. (1985). *Etapas de desarrollo en la planta de frijol*. Programa de las Naciones Unidas (PNUD). <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/82106>
- Fried, H. G., Narayanan, S., & Fallen, B. (2019). Evaluation of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] genotypes for yield, water use efficiency, and root traits. *PLOS ONE*, *14*(2), e0212700. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212700>
- Furbank, R. T., White, R., Palta, J. A., & Turner, N. C. (2004). Internal recycling of respiratory CO₂ in pods of chickpea (*Cicer arietinum* L.): The role of pod wall, seed coat, and embryo. *Journal of Experimental Botany*, *55*(403), 1687–1696. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh190>
- Gallagher, J. N., Biscoe, P. V., & Hunter, B. (1976). Effects of drought on grain growth. *Nature*, *264*, 541. <https://doi.org/10.1038/264541a0>
- Gao, Z., Sagi, M., & Lips, S. H. (1998). Carbohydrate metabolism in leaves and assimilate partitioning in fruits of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) as affected by salinity. *Plant Science*, *135*(2), 149–159. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(98\)00085-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(98)00085-5)
- Ghate, T., Deshpande, S., & Bhargava, S. (2017). Accumulation of stem sugar and its remobilisation in response to drought stress in a sweet sorghum genotype and its near-isogenic lines carrying different stay-green loci. *Plant Biology*, *19*(3), 396–405. <https://doi.org/10.1111/plb.12538>
- Gregersen, P. L., Holm, P. B., & Krupinska, K. (2008). Leaf senescence and nutrient remobilisation in barley and wheat. *Plant Biology*, *10*(SUPPL. 1), 37–49. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2008.00114.x>
- Gupta, A. K., & Kaur, N. (2005). Sugar signalling and gene expression in relation to carbohydrate metabolism under abiotic stresses in plants. In *Journal of Biosciences* (Vol. 30, Issue 5, pp. 761–776). J Biosci. <https://doi.org/10.1007/BF02703574>
- Hao, X., Li, P., Feng, Y., Han, X., Gao, J., Lin, E., & Han, Y. (2013). Effects of Fully Open-Air [CO₂] Elevation on Leaf Photosynthesis and Ultrastructure of *Isatis indigotica* Fort. *PLoS ONE*, *8*(9), e74600. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074600>
- Hartung, W., Sauter, A., & Hose, E. (2002). Abscisic acid in the xylem: where does it come from, where does it go to? *Journal of Experimental Botany*, *53*(366), 27–32. <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.366.27>

- Hemantaranjan, A. (2011). Growth and antioxidant system under drought stress in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) as sustained by salicylic acid. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 7(4), 130–144.
- Herrera-Flores, T. S., Cárdenas-Soriano, E., Ortíz-Cereceres, J., Acosta-Gallegos, J. A., & Mendoza-Castillo, M. del C. (2005). Anatomy of the pod of three species of the genus *Phaseolus*. *Agrociencia*, 39(6), 595–602.
- Heshmat, K., Asgari Lajayer, B., Shakiba, M. R., & Astatkie, T. (2021). Assessment of physiological traits of common bean cultivars in response to water stress and molybdenum levels. *Journal of Plant Nutrition*, 44(3), 366–372. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1822395>
- Hilal, M., Parrado, M. F., Rosa, M., Gallardo, M., Orce, L., Massa, E. M., González, J. A., & Prado, F. E. (2004). Epidermal Lignin Deposition in Quinoa Cotyledons in Response to UV-B Radiation. *Photochemistry and Photobiology*, 79(2), 205. [https://doi.org/10.1562/0031-8655\(2004\)079<0205:eldiqc>2.0.co;2](https://doi.org/10.1562/0031-8655(2004)079<0205:eldiqc>2.0.co;2)
- Honsdorf, N., March, T. J., & Pillen, K. (2017). QTL controlling grain filling under terminal drought stress in a set of wild barley introgression lines. *PLOS ONE*, 12(10), e0185983. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185983>
- Ibrahim, H. A., & Abdellatif, Y. M. R. (2016). Effect of maltose and trehalose on growth, yield and some biochemical components of wheat plant under water stress. *Annals of Agricultural Sciences*, 61(2), 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.aosas.2016.05.002>
- Jiang, S. Y., Chi, Y. H., Wang, J. Z., Zhou, J. X., Cheng, Y. S., Zhang, B. L., Ma, A., Vanitha, J., & Ramachandran, S. (2015). Sucrose metabolism gene families and their biological functions. *Scientific Reports*, 5. <https://doi.org/10.1038/srep17583>
- Keller, B., Ariza-Suarez, D., de la Hoz, J., Aparicio, J. S., Portilla-Benavides, A. E., Buendia, H. F., Mayor, V. M., Studer, B., & Raatz, B. (2020). Genomic Prediction of Agronomic Traits in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Under Environmental Stress. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01001>
- Khater, M. A., Mona G., D., Mervat Sh., S., Magda A.F., S., M.E., E.-A., & Karima, G. E. (2018). Enhancement the performance of cowpea plants grown under drought conditions via trehalose application. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 7(3), 782–800.
- Kumar, J., Basu, P. S., Srivastava, E., Chaturvedi, S. K., Nadarajan, N., & Kumar, S. (2012). Phenotyping of traits imparting drought tolerance in lentil. *Crop and Pasture Science*, 63(6), 547–554. <https://doi.org/10.1071/CP12168>
- Kurutas, E. B. (2016). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: Current state. In *Nutrition Journal* (Vol. 15, Issue 1, pp. 1–22). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12937-016-0186-5>
- Lakshmi Sahitya, U., Krishna, M. S. R., Sri Deepthi, R., Shiva Prasad, G., & Peda Kasim, D. (2018). Seed antioxidants interplay with drought stress tolerance indices in chilli (*Capsicum annuum* L) seedlings. *BioMed Research International*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/1605096>

- Liu, F., Andersen, M. N., Jacobsen, S. E., & Jensen, C. R. (2005). Stomatal control and water use efficiency of soybean (*Glycine max* L. Merr.) during progressive soil drying. *Environmental and Experimental Botany*, *54*(1), 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.05.002>
- Liu, F., Jensen, C. R., & Andersen, M. N. (2004). Pod set related to photosynthetic rate and endogenous ABA in soybeans subjected to different water regimes and exogenous ABA and BA at early reproductive stages. *Annals of Botany*, *94*(3), 405–411. <https://doi.org/10.1093/aob/mch157>
- Lord, J. M., & Westoby, M. (2012). Accessory costs of seed production and the evolution of angiosperms. *Evolution*, *66*(1), 200–210. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2011.01425.x>
- Ma, Q., Behboudian, M. H., Turner, N. C., & Palta, J. A. (2001). Gas exchange by pods and subtending leaves and internal recycling of CO₂ by pods of chickpea (*Cicer arietinum* L.) subjected to water deficits. *Journal of Experimental Botany*, *52*(354), 123–131. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.354.123>
- Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P., & Sohrabi, Y. (2010). Effect of Drought Stress on Yield, Proline and Chlorophyll Contents in Three Chickpea Cultivars. *Australian Journal of Crop Science*, *4*(1835–2693), 580–585. <https://search.informit.com.au/documentSummary;dn=857341254680658;res=IELHSS>
- Majumdar, R., Barchi, B., Turlapati, S. A., Gagne, M., Minocha, R., Long, S., & Minocha, S. C. (2016). Glutamate, ornithine, arginine, proline, and polyamine metabolic interactions: The pathway is regulated at the post-transcriptional level. *Frontiers in Plant Science*, *7*(FEB2016), 78. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00078>
- Mak, M., Babla, M., Xu, S. C., O’Carrigan, A., Liu, X. H., Gong, Y. M., Holford, P., & Chen, Z. H. (2014). Leaf mesophyll K⁺, H⁺ and Ca²⁺ fluxes are involved in drought-induced decrease in photosynthesis and stomatal closure in soybean. *Environmental and Experimental Botany*, *98*, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.10.003>
- Makbul, S., Saruhan Güler, N., & Durmuş, N. (2011). Changes in anatomical and physiological parameters of soybean under drought stress. *Turk J Bot*, *35*, 369–377. <https://doi.org/10.3906/bot-1002-7>
- Maphosa, Y., & Jideani, V. A. (2017). The Role of Legumes in Human Nutrition. In *Functional Food - Improve Health through Adequate Food*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.69127>
- Matilla, A. J. (2008). Desarrollo y germinación de las semillas. Fundamentos de Fisiología Vegetal. *Fundamentos de Fisiología Vegetal, October 2008*, 537–558. <https://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2016/08/matilla-2008.pdf>
- Merilo, E., Jalakas, P., Laanemets, K., Mohammadi, O., Hõrak, H., Kollist, H., & Brosché, M. (2015). Abscisic acid transport and homeostasis in the context of stomatal regulation. In *Molecular Plant* (Vol. 8, Issue 9, pp. 1321–1333). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.06.006>
- Miyashita, K., Tanakamaru, S., Maitani, T., & Kimura, K. (2005). Recovery responses of photosynthesis, transpiration, and stomatal conductance in kidney bean following drought

- stress. *Environmental and Experimental Botany*, 53(2), 205–214. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.03.015>
- Mondal, M. M. A., Fakir, M. S. A., Juraimi, A. S., Hakim, M. A., Islam, M. M., & Shamsuddoha, A. T. M. (2011). Effects of flowering behavior and pod maturity synchrony on yield of mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]. *Australian Journal of Crop Science*, 5(8), 945–953.
- Monroe, J. D., Storm, A. R., Badley, E. M., Lehman, M. D., Platt, S. M., Saunders, L. K., Schmitz, J. M., & Torres, C. E. (2014). β -amylase1 and β -amylase3 are plastidic starch hydrolases in arabidopsis that seem to be adapted for different thermal, pH, and stress conditions. *Plant Physiology*, 166(4), 1748–1763. <https://doi.org/10.1104/pp.114.246421>
- Montero-Tavera, V., Ruiz-Medrano, R., & Xoconostle-Cázares, B. (2008). Systemic nature of drought-tolerance in common bean. *Plant Signaling & Behavior*, 3(9), 663–666. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2634550/>
- Mukankusi, C., Raatz, B., Nkalubo, S., Berhanu, F., Binagwa, P., Kilango, M., Williams, M., Enid, K., Chirwa, R., & Beebe, S. (2019). Genomics, genetics and breeding of common bean in Africa: A review of tropical legume project. *Plant Breeding*, 138(4), 401–414. <https://doi.org/10.1111/pbr.12573>
- Müntz, K. (1977). Isoenzymes of α -amylase during pod development of field beans. *Phytochemistry*, 16(10), 1491–1494. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0031-9422\(77\)84007-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0031-9422(77)84007-7)
- Mutava, R. N., Prince, S. J. K., Syed, N. H., Song, L., Valliyodan, B., Chen, W., & Nguyen, H. T. (2015). Understanding abiotic stress tolerance mechanisms in soybean: A comparative evaluation of soybean response to drought and flooding stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 86, 109–120. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.11.010>
- Nadeem, M., Li, J., Yahya, M., Sher, A., Ma, C., Wang, X., & Qiu, L. (2019). Research Progress and Perspective on Drought Stress in Legumes: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10). <https://doi.org/10.3390/ijms20102541>
- Nakamura, R. R. (1988). Seed Abortion and Seed Size Variation within Fruits of *Phaseolus vulgaris*: Pollen Donor and Resource Limitation Effects. *American Journal of Botany*, 75(7), 1003. <https://doi.org/10.2307/2443768>
- Ohashi, Y., Nakayama, N., Saneoka, H., & Fujita, K. (2006). Effects of drought stress on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and stem diameter of soybean plants. *Biologia Plantarum*, 50(1), 138–141. <https://doi.org/10.1007/s10535-005-0089-3>
- Okono, A., Monneveux, P., & Ribaut, J.-M. (2013). Facing the challenges of global agriculture today: what can we do about drought? *Frontiers in Physiology*, 4, 289. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00289>
- Osman, H. S. (2015). Enhancing antioxidant–yield relationship of pea plant under drought at different growth stages by exogenously applied glycine betaine and proline. *Annals of Agricultural Sciences*, 60(2), 389–402. <https://doi.org/10.1016/j.aogas.2015.10.004>
- Padilla-Chacón, D., Martínez-Barajas, E., García-Esteva, A., Leal-Delgado, R., Kohashi-Shibata,

- J., & Peña-Valdivia, C. B. (2017). Biomass remobilization in two common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars under water restriction. *South African Journal of Botany*, 112, 79–88. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.05.015>
- Park, J., Lee, Y., Martinoia, E., & Geisler, M. (2017). Plant hormone transporters: What we know and what we would like to know. In *BMC Biology* (Vol. 15, Issue 1, pp. 1–15). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12915-017-0443-x>
- Parreira, J. R., Bouraada, J., Fitzpatrick, M. A., Silvestre, S., Bernardes da Silva, A., Marques da Silva, J., Almeida, A. M., Fevereiro, P., Altelaar, A. F. M., & Araújo, S. S. (2016). Differential proteomics reveals the hallmarks of seed development in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Proteomics*, 143, 188–198. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.03.002>
- Polania, J. A., Chater, C. C. C., Covarrubias, A. A., & Rao, I. M. (2020). Phaseolus Species Responses and Tolerance to Drought. In *The Plant Family Fabaceae* (pp. 319–336). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4752-2_12
- Polania, J. A., Poschenrieder, C., Beebe, S., & Rao, I. M. (2016). Effective Use of Water and Increased Dry Matter Partitioned to Grain Contribute to Yield of Common Bean Improved for Drought Resistance. *Frontiers in Plant Science*, 7(MAY2016), 660. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00660>
- Polania, J. A., & Rao, I. M. (2019). *Drought Resistance of Common Bean Water Spending and Water: Saving Plant Ideotypes*. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/105438>
- Polania, J., Rao, I. M., Cajiao, C., Grajales, M., Rivera, M., Velasquez, F., Raatz, B., & Beebe, S. E. (2017). Shoot and Root Traits Contribute to Drought Resistance in Recombinant Inbred Lines of MD 23–24 × SEA 5 of Common Bean. *Frontiers in Plant Science*, 8, 296. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00296>
- Polania, J. A., Rao, I. M., Cajiao, C., Rivera, M., Raatz, B., & Beebe, S. (2016). Physiological traits associated with drought resistance in Andean and Mesoamerican genotypes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica*, 210(1), 17–29. <https://doi.org/10.1007/s10681-016-1691-5>
- Pushpavalli, R., Zaman-Allah, M., Turner, N. C., Baddam, R., Rao, M. V., & Vadez, V. (2015). Higher flower and seed number leads to higher yield under water stress conditions imposed during reproduction in chickpea. *Funct Plant Biol*, 42(2), 162–174. <https://doi.org/10.1071/fp14135>
- Qu, J., Xu, S., Zhang, Z., Chen, G., Zhong, Y., Liu, L., Zhang, R., Xue, J., & Guo, D. (2018). Evolutionary, structural and expression analysis of core genes involved in starch synthesis. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30411-y>
- Ramanjulu, S., & Bartels, D. (2002). Drought and desiccation-induced modulation of gene expression in plants. In *Plant, Cell and Environment* (Vol. 25, Issue 2, pp. 141–151). Plant Cell Environ. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00764.x>
- Rao, I. M., Beebe, S. E., Polania, J., Grajales, M., Cajiao, C., Ricaurte, J., García, R., & Rivera, M. (2017). Evidence for genotypic differences among elite lines of common bean in the

- ability to remobilize photosynthate to increase yield under drought. *Journal of Agricultural Science*, 155(6), 857–875. <https://doi.org/10.1017/S0021859616000915>
- Rodríguez, M. V., Mendiondo, G. M., Cantoro, R., Auge, G. A., Luna, V., Masciarelli, O., & Benech-Arnold, R. L. (2012). Expression of seed dormancy in grain sorghum lines with contrasting pre-harvest sprouting behavior involves differential regulation of gibberellin metabolism genes. *Plant and Cell Physiology*, 53(1), 64–80. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcr154>
- Roitsch, T. (1999). Source-sink regulation by sugar and stress. *Current Opinion in Plant Biology*, 2(3), 198–206. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(99\)80036-3](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(99)80036-3)
- SAGARPA. (2017). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Frijol mexicano. Folleto de la planeación agrícola nacional.
- Saglam, A., Saruhan, N., Terzi, R., & Kadioglu, A. (2011). The relations between antioxidant enzymes and chlorophyll fluorescence parameters in common bean cultivars differing in sensitivity to drought stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(1), 60–68. <https://doi.org/10.1134/S102144371101016X>
- Samarah, N. H., Haddad, N., & Alqudah, A. M. (2009). Yield potential evaluation in chickpea genotypes under late terminal drought in relation to the length of reproductive stage. *Italian Journal of Agronomy*, 4(3), 111–117. <https://doi.org/10.4081/ija.2009.3.111>
- Santelia, D., & Lunn, J. E. (2017). Update on Guard Cell Metabolism Transitory Starch Metabolism in Guard Cells: Unique Features for a Unique Function 1[OPEN]. *Plant Physiology*, 174, 539–549. <https://doi.org/10.1104/pp.17.00211>
- Saruhan Guler, N., & Pehlivan, N. (2016). Exogenous low-dose hydrogen peroxide enhances drought tolerance of soybean (*Glycine max* L.) through inducing antioxidant system. *Acta Biologica Hungarica*, 67(2), 169–183. <https://doi.org/10.1556/018.67.2016.2.5>
- Sathe, S. K., & Deshpande, S. S. (2003). BEANS. In B. Caballero (Ed.), *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (pp. 403–412). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00083-3>
- Sehgal, A., Sita, K., Siddique, K. H. M., Kumar, R., Bhogireddy, S., Varshney, R. K., HanumanthaRao, B., Nair, R. M., Prasad, P. V. V., & Nayyar, H. (2018). Drought or/and Heat-Stress Effects on Seed Filling in Food Crops: Impacts on Functional Biochemistry, Seed Yields, and Nutritional Quality. *Frontiers in Plant Science*, 9(1705). <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01705>
- Sengupta, D., Kariyat, D., Marriboina, S., & Reddy, A. R. (2019). Pod-wall proteomics provide novel insights into soybean seed-filling process under chemical-induced terminal drought stress. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(5), 2481–2493. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9457>
- Sevanto, S. (2014). Phloem transport and drought. *Journal of Experimental Botany*, 65(7), 1751–1759. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert467>
- Shen, B., Jensen, R. G., & Bohnert, H. J. (1997). Mannitol protects against oxidation by hydroxyl radicals. *Plant Physiology*, 115(2), 527–532. <https://doi.org/10.1104/pp.115.2.527>

- Shinde, S., Villamor, J. G., Lin, W., Sharma, S., & Verslues, P. E. (2016). Proline coordination with fatty acid synthesis and redox metabolism of chloroplast and mitochondria. *Plant Physiology*, *172*(2), 1074–1088. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01097>
- Siddiqui, M., Al-Khaishany, M., Al-Qutami, M., Al-Wahaibi, M., Grover, A., Ali, H., Al-Wahibi, M., & Bukhari, N. (2015). Response of Different Genotypes of Faba Bean Plant to Drought Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*(12), 10214–10227. <https://doi.org/10.3390/ijms160510214>
- Slama, I., Abdelly, C., Bouchereau, A., Flowers, T., & Saviouré, A. (2015). Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. In *Annals of Botany* (Vol. 115, Issue 3, pp. 433–447). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu239>
- Smith, M. R., Rao, I. M., & Merchant, A. (2018). Source-sink relationships in crop plants and their influence on yield development and nutritional quality. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 871, p. 1889). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01889>
- Sofi, P. A., Djanaguiraman, M., Siddique, K. H. M., & Prasad, P. V. V. (2018). Reproductive fitness in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under drought stress is associated with root length and volume. *Indian Journal of Plant Physiology*, *23*(4), 796–809. <https://doi.org/10.1007/s40502-018-0429-x>
- Solanki, J. (2015). Effect of drought stress on epicuticular wax load in peanut genotypes. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, *July*. <https://doi.org/10.7324/jabb.2015.3410>
- Stolle-Smits, T., Beekhuizen, J. G., Kok, M. T. C., Pijnenburg, M., Recourt, K., Derksen, J., & Voragen, A. G. J. (1999). Changes in cell wall polysaccharides of green bean pods during development. *Plant Physiology*, *121*(2), 363–372. <https://doi.org/10.1104/pp.121.2.363>
- Streb, S., & Zeeman, S. C. (2012). Starch Metabolism in Arabidopsis. *The Arabidopsis Book*, *10*, e0160. <https://doi.org/10.1199/tab.0160>
- Strock, C. F., Burrige, J., Massas, A. S. F., Beaver, J., Beebe, S., Camilo, S. A., Fourie, D., Jochua, C., Miguel, M., Miklas, P. N., Mndolwa, E., Nchimbi-Msolla, S., Polania, J., Porch, T. G., Rosas, J. C., Trapp, J. J., & Lynch, J. P. (2019). Seedling root architecture and its relationship with seed yield across diverse environments in *Phaseolus vulgaris*. *Field Crops Research*, *237*, 53–64. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2019.04.012>
- Subudhi, P. K., Rosenow, D. T., & Nguyen, H. T. (2000). Quantitative trait loci for the stay green trait in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench): Consistency across genetic backgrounds and environments. *Theoretical and Applied Genetics*, *101*(5–6), 733–741. <https://doi.org/10.1007/s001220051538>
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). Plant Physiology. *Sinauer Associates* (Fifth edit).
- Thalmann, M., & Santelia, D. (2017). Starch as a determinant of plant fitness under abiotic stress. *New Phytologist*, *214*(3), 943–951. <https://doi.org/10.1111/nph.14491>
- Thitisaksakul, M., Arias, M. C., Dong, S., & Beckles, D. M. (2017). Overexpression of GSK3-like Kinase 5 (OsGSK5) in rice (*Oryza sativa*) enhances salinity tolerance in part via preferential carbon allocation to root starch. *Functional Plant Biology*, *44*(7), 705–719.

<https://doi.org/10.1071/FP16424>

- Tiessen, A., & Padilla-Chacon, D. (2013). Subcellular compartmentation of sugar signaling: Links among carbon cellular status, route of sucrolysis, sink-source allocation, and metabolic partitioning. *Frontiers in Plant Science*, 3(JAN), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00306>
- Upadhyaya, H. D., Kashiwagi, J., Varshney, R. K., Gaur, P. M., Saxena, K. B., Krishnamurthy, L., Gowda, C. L. L., Pundir, R. P. S., Chaturvedi, S. K., Basu, P. S., & Singh, I. P. (2012). Phenotyping Chickpeas and Pigeonpeas for Adaptation to Drought. *Frontiers in Physiology*, 3, 179. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00179>
- Vadez, V., Rao, S., Kholova, J., Krishnamurthy, L., Kashiwagi, J., Ratnakumar, P., Sharma, K. K., Bhatnagar-Mathur, P., & Basu, P. S. (2008). *Root research for drought tolerance in legumes: Quo vadis?*
- Vadez, V., Berger, J. D., Warkentin, T., Asseng, S., Ratnakumar, P., Rao, K. P. C., Gaur, P. M., Munier-Jolain, N., Larmure, A., Voisin, A. S., Sharma, H. C., Pande, S., Sharma, M., Krishnamurthy, L., & Zaman, M. A. (2012). Adaptation of grain legumes to climate change: A review. In *Agronomy for Sustainable Development* (Vol. 32, Issue 1, pp. 31–44). Springer. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0020-6>
- Varshney, R. K., & Kudapa, H. (2013). Legume biology: The basis for crop improvement. In *Functional Plant Biology* (Vol. 40, Issue 12). CSIRO. https://doi.org/10.1071/FPv40n12_FO
- Wang, W., Wang, C., Pan, D., Zhang, Y., Luo, B., & Ji, J. (2018). Effects of drought stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence images of soybean (*Glycine max*) seedlings. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 11(2), 196–201. <https://doi.org/10.25165/j.ijabe.20181102.3390>
- Weber, H., Borisjuk, L., & Wobus, U. (1996). Controlling seed development and seed size in *Vicia faba*: A role for seed coat-associated invertases and carbohydrate state. *Plant Journal*, 10(5), 823–834. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1996.10050823.x>
- Weise, S. E., Weber, A. P. M., & Sharkey, T. D. (2004). Maltose is the major form of carbon exported from the chloroplast at night. *Planta*, 218(3), 474–482. <https://doi.org/10.1007/s00425-003-1128-y>
- Weyers, J. D. B., & Paterson, N. W. (2001). Plant hormones and the control of physiological processes. In *New Phytologist* (Vol. 152, Issue 3, pp. 375–407). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1046/j.0028-646X.2001.00281.x>
- Xu, Q., Chen, S., Yunjuan, R., Chen, S., & Liesche, J. (2018). Regulation of sucrose transporters and phloem loading in response to environmental cues. *Plant Physiology*, 176(1), 930–945. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01088>
- Yang, P., Li, Z., Wu, C., Luo, Y., Li, J., Wang, P., Gao, X., Gao, J., & Feng, B. (2019). Identification of differentially expressed genes involved in the molecular mechanism of pericarp elongation and differences in sucrose and starch accumulation between vegetable and grain pea (*Pisum sativum* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 20(24).

<https://doi.org/10.3390/ijms20246135>

- Yasar, F., Uzal, O., Yasar, T. O., & Ozlem, Y. (2013). Investigation of the relationship between the tolerance to drought stress levels and antioxidant enzyme activities in green bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) genotypes. *African Journal of Agricultural Research*, 8(46), 5759–5763. <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.6734>
- Yi, B., Zhou, Y. F., Gao, M. Y., Zhang, Z., Han, Y., Yang, G. D., Xu, W., & Huang, R. D. (2014). Effect of drought stress during flowering stage on starch accumulation and starch synthesis enzymes in sorghum grains. *Journal of Integrative Agriculture*, 13(11), 2399–2406. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(13\)60694-2](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60694-2)
- Zeeman, S. C., Northrop, F., Smith, A. M., & Ap Rees, T. (1998). A starch-accumulating mutant of *Arabidopsis thaliana* deficient in a chloroplastic starch-hydrolysing enzyme. *Plant Journal*, 15(3), 357–365. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1998.00213.x>
- Zhang, L., Li, X.-H., Gao, Z., Shen, S., Liang, X.-G., Zhao, X., Lin, S., & Zhou, S.-L. (2017). Regulation of maize kernel weight and carbohydrate metabolism by abscisic acid applied at the early and middle post-pollination stages in vitro. *Journal of Plant Physiology*, 216, 1–10. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.05.005>
- Zhou, B., Serret, M. D., Pie, J. B., Shah, S. S., & Li, Z. (2018). Relative contribution of nitrogen absorption, remobilization, and partitioning to the ear during grain filling in chinese winter wheat. *Frontiers in Plant Science*, 9(September), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01351>
- Zizumbo Villarreal, D., & García Marín, P. C. (2008). El origen de la agricultura, la domesticación de plantas y el establecimiento de corredores biológico-culturales en Mesoamérica. *Revista de Geografía Agrícola*, 41, 85–113.
- Zlatev, Z., & Lidon, F. C. (2012). An overview on drought induced changes in plant growth, water relations and photosynthesis. In *Emirates Journal of Food and Agriculture* (Vol. 24, Issue 1, pp. 57–72). United Arab Emirates University. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v24i1.10599>
- Zoz, T., Steiner, F., Guimarães, V. F., Castagnara, D. D., Meinerz, C. C., & Fey, R. (2013). Peroxidase activity as an indicator of water deficit tolerance in soybean cultivars. *Bioscience Journal*, 29(5), 1664–1671.