# Respuesta diferencial de tres cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. al estrés hídrico *in vitro* inducido por PEG-6000

Milady F. Mendoza-Rodríguez¹\* https://orcid.org/0000-0002-8946-9838 Novisel Veitía¹ https://orcid.org/0000-0001-6357-4843 Amanda Martirena-Ramírez¹ https://orcid.org/0000-0002-1152-7735 Luis E Rojas¹ https://orcid.org/0000-0002-0107-1842 Damaris Torres¹ https://orcid.org/0000-0001-8443-4209 Samuel Hernández¹ https://orcid.org/0000-0001-5914-8243 Leonardo Rivero¹ https://orcid.org/0000-0003-3627-9421

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP), Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5,5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

#### **RESUMEN**

El crecimiento y rendimiento agrícola de frijol común (Phaseolus vulgaris L.) se ve afectado, entre otros factores, por limitaciones en la disponibilidad de aqua. Por ello, se trabaja en la búsqueda de cultivares tolerantes a dicho estrés abiótico. La investigación tuvo como objetivo determinar el efecto de diferentes concentraciones de PEG-6000 en la germinación in vitro de semillas de tres cultivares de frijol común (´ICA Pijao´, ´BAT-93´ y ´Tío Canela-75´) con diferente respuesta al estrés hídrico. Se empleó PEG-6000 como agente inductor de estrés in vitro al 10, 12 y 14% (m/v) en el medio de cultivo líquido. Como control se utilizó agua desionizada. Semillas de cada cultivar se colocaron sobre un papel de filtro ubicado en forma de M dentro del tubo de ensayo que contenía la solución correspondiente. A los tres días de cultivo se cuantificó el número de semillas germinadas y se calculó el porcentaje de germinación. Posteriormente, a los siete días se midió la longitud de la raíz, del hipocótilo y del epicótilo, respectivamente. En los tres cultivares el estrés hídrico afectó la germinación in vitro de las semillas en cada uno de los tratamientos. Se evidenció una disminución significativa en los valores de las variables evaluadas con respecto al control. Específicamente, el crecimiento del epicótilo se inhibió. La respuesta al estrés hídrico inducido in vitro con PEG 600 en cada cultivar fue específica y diferencial. Los resultados tributan al desarrollo de estrategias de selección temprana en el programa de mejoramiento genético del cultivo.

Palabras clave: epicótilo, estrés abiótico, frijol común, hipocótilo, raíz

## Differential response of three *Phaseolus vulgaris* L. cultivars to *in vitro* water stress induced by PEG-6000

## **ABSTRACT**

The growth and agricultural yield of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) is affected, among other factors, by limitations in the availability of water. For this reason, there are working on the search for cultivars tolerant to that abiotic stress. The objective of the research was to determine the effect of different concentrations of PEG-6000 on the *in vitro* seeds germination of three cultivars of common bean (´ICA Pijao´, ´BAT-93´ and ´Tío Canela-75´) with different responses to water stress. PEG-6000 was used as an *in vitro* stress-inducing agent at 10, 12 and 14% (m / v) in the liquid culture medium. Deionized water was used as a control. Seeds of each cultivar were placed on a filter paper located in the shape of an M inside the test tube containing the corresponding solution. After three days of culture, the number of germinated seeds was quantified and the percentage of germination was calculated. Subsequently, at seven days the length of the root, hypocotyl and epicotyl, respectively, was measured. In the three cultivars, water stress affected the *in vitro* germination of the seeds in each of the treatments. There was

<sup>\*</sup>Autora para correspondencia e-mail: milady@ibp.co.cu

a significant decrease in the values of the variables evaluated with respect to the control. Specifically, the growth of epicotyl was inhibited. The response to water stress *in vitro* induced with PEG 600 in each cultivar was specific and differential. The results contribute to the development of early selection strategies in the genetic improvement program of this crop.

Keywords: abiotic stress, common bean, epicotyl, germination, hypocotyl, root

## INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), es una de las legumbres más consumidas a nivel mundial sin embargo, su producción está restringida tanto por la acción de factores bióticos como abióticos. Entre los abióticos el estrés hídrico debido a sequía, insuficiente irrigación o problemas en los sistemas de abasto de agua, limita la germinación de la semilla y el crecimiento de las plantas lo que trae como consecuencia disminución en la productividad y los rendimientos en el cultivo (Kusvuran y Dasgan, 2017).

En Cuba el estrés por sequía se considera la segunda causa que limita la producción de la leguminosa (Polón *et al.*, 2014) y constituye un alimento esencial en la dieta alimentaria de la población (Lamz *et al.*, 2016). Según la FAOSTAT la producción del grano en el año 2019 fue de 169 900 toneladas (FAOSTAT, 2019).

Teniendo en cuenta los efectos adversos de la sequía en el cultivo de frijol, la obtención de cultivares tolerantes, constituye una prioridad en los programas de mejoramiento genético. En tal sentido, la realización de investigaciones enfocadas en determinar el efecto del estrés hídrico sobre la germinación de la semilla y el crecimiento de las plantas, constituyen una prioridad. A este propósito, la utilización de la Biotecnología Vegetal como una alternativa a los problemas que se presentan con el mejoramiento genético convencional, hace una gran contribución (Collado et al., 2017).

La inducción de estrés hídrico *in vitro* con polietilenglicol-6000 (PEG-6000), ha sido una herramienta de gran utilidad en los estudios de mejoramiento genético en *Phaseolus*. En este sentido, autores como Mohamed y Tawfik (2006) realizaron estudios de resistencia a sequía en varias accesiones de *Phaseolus acutifolius*. Por otra parte, Collado *et al.* (2017) estudiaron la diferenciación de cultivares de *P. vulgaris* mediante la respuesta del tejido foliar expuesto a estrés hídrico.

Es de destacar, que a pesar de la importancia que tiene la obtención y empleo de cultivares de frijol con tolerancia a estrés hídrico, los estudios en la temática aún son insuficientes. Específicamente, los relacionados con su efecto en la germinación, momento más vulnerable del ciclo de vida de una planta (Pérez-Hernández et al., 2018). Por ello, se hace necesario profundizar en el conocimiento de la respuesta de las plantas bajo estas condiciones de crecimiento.

El conocimiento de la respuesta de cultivares de P. vulgaris al estrés hídrico es una premisa para los programas de mejoramiento genético del cultivo en el Instituto de Biotecnología de las Plantas. En él se incluyen los cultivares (cv.) 'ICA Pijao' (Voysest, 2000) y 'BAT-93 (Sanchez-Valdez et al., 2004) por su alto rendimiento, este último además con resistencia a enfermedades y ambos con susceptibilidad al estrés hídrico. Sin embargo, en estos cultivares no existen estudios previos relacionados con su respuesta a estrés hídrico, excepto para el cultivar 'ICA Pijao' bajo condiciones más estresantes (García et al., 2015). Estos autores concluyeron que para la continuación de los estudios en este cultivar, se deben utilizar concentraciones inferiores del agente estresante.

Teniendo en cuenta la información previa, la presente investigación se propuso determinar el efecto de diferentes concentraciones de PEG-6000 en la germinación *in vitro* de semillas de tres cultivares de frijol común (´ICA Pijao´, ´BAT-93´ y ´Tío Canela-75´) con diferente respuesta al estrés hídrico. Los resultados pretenden contribuir al desarrollo de metodologías de selección temprana, como apoyo a los programas de mejora genética del cultivo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y condiciones de cultivo

Se emplearon semillas maduras de *P. vulgaris* de los cultivares 'ICA Pijao', 'BAT-93' y 'Tío

Canela-75' con un mes de cosechadas, los dos primeros con susceptibilidad y el último con tolerancia al estrés hídrico, respectivamente. Estas fueron obtenidas del banco de germoplasma del Centro de Investigaciones Agropecuarias de la Universidad Central Marta Abreu de Las Villas.

#### Desinfección de las semillas

Las semillas maduras de cada cultivar de *P. vulgaris* se colocaron por separado en una solución de etanol al 70% (v/v) por 30 segundos y se agitaron de forma manual. A continuación se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3% (v/v) por 10 minutos (min) con agitación constante, en un agitador orbital a 110 rpm. Posteriormente, se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril en la cabina de flujo laminar (Collado *et al.*, 2017).

Preparación del medio de cultivo para la inducción de estrés hídrico

En este ensayo se utilizó como agente estresante PEG-6000, para simular condiciones de estrés hídrico *in vitro*. Para ello se prepararon soluciones de PEG-6000 con agua destilada a diferentes concentraciones (10, 12 y 14% (m/v). El cálculo del potencial osmótico en Mega Pascals (MPa) equivalente, se realizó de acuerdo con la ecuación descrita por Michel y Kaufmann (1973) dónde: 10% (-0.148 MPa), 12% (-0.201 MPa) y 14% (-0.262 MPa).

Para cada concentración se utilizaron 45 tubos de ensayo (150 mm largo x 20 mm diámetro), a los que se les añadieron 5 ml de la solución correspondiente. Además, se incluyeron 15 tubos de ensayo con 5 ml de agua destilada cada uno como control. Posteriormente, se esterilizaron en una autoclave (SAKURA) a 121 °C y 1.2 kg cm<sup>-2</sup> por 15 min.

## Diseño del experimento

En cada cultivar (cv.) se estudiaron cuatro tratamientos, que incluían las tres concentraciones de PEG-6000 en estudio y el control. El número de réplicas por tratamiento fue de 15 semillas. En una cabina de flujo laminar cada semilla se colocó sobre un papel de filtro (Whatman No. 42), ubicado en forma de M dentro del tubo de ensayo, que contenía la solución correspondiente. El experimento se repitió una vez en el tiempo. El material

vegetal se mantuvo en una cámara de cultivo a 25  $\pm$  2 °C bajo un fotoperíodo de 16 h luz/8 h oscuridad y a una densidad de flujo de fotones fotosintéticos de 45  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

## Evaluación experimental

A los tres días de cultivo se cuantificó el número de semillas germinadas y se calculó el porcentaje de germinación de las semillas (PG) (%) (Scott et al., 1984). Posteriormente, a los siete días se midió con una regla graduada la longitud de la raíz (cm), del hipocótilo (cm) (Nakagawa et al., 1999) y del epicótilo (cm) respectivamente.

#### Análisis estadístico

Los datos experimentales se procesaron con el paquete *Statistic Packaged for Social Science* (SPSS) versión 21.0 para Window, con previa comprobación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza con un valor p≤0.05. Se emplearon las pruebas no paramétricas H de Kruskall-Wallis y U de Mann-Whitney, después de haber generado hasta 10 000 muestras con distribución similar a la real mediante técnica de Monte Carlo, para estimar de esta forma la significación con el 95% de confianza.

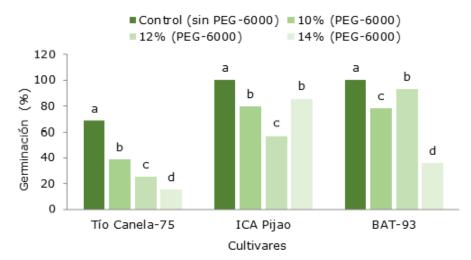
## **RESULTADOS**

En este estudio la inducción de estrés hídrico con diferentes concentraciones de PEG-6000, afectó el porcentaje de germinación *in vitro* de las semillas de los cultivares ´ICA Pijao´, ´BAT-93´ y ´Tío Canela-75´. A los tres días de incubación, en el tratamiento control germinó el 100% de las semillas y en el cultivar tolerante el 69%. En cada cultivar se obtuvo una reducción significativa para este indicador entre tratamientos y con respecto al control. En el cultivar ´Tío Canela-75´, los valores de germinación disminuyeron en correspondencia con el aumento de las condiciones estresantes mientras que en los cultivares susceptibles la respuesta fue más variable (Figura 1).

En la evaluación posterior a los siete días, el 100% de las semillas del cultivar 'Tío Canela-75' germinaron y se incrementaron los porcentajes de germinación en 86.5, 83.6 y 93% en los tratamientos con 10, 12 y 14% de PEG-6000, respectivamente. Por otra parte, en el cultivar 'Ica Pijao' en los tratamientos con 10 y 12% de PEG-6000 se alcanzaron

valores de 96.5 y 100% de germinación y en el cultivar 'BAT-93' de 92 y 83% respectivamente, con 10 y 14%. En el tratamiento control de los tres cultivares se observó la formación de raíz principal y raíces secundarias (Figura 2a). Sin embargo, en condiciones de estrés se observó el

crecimiento de la raíz principal y escasas raíces secundarias. A las diferencias observadas en el desarrollo radicular, se adicionó el escaso o nulo desarrollo de la parte aérea de las plantas en los tres tratamientos donde se empleó el agente estresante (Figura 2b).



Letras diferentes sobre barras de un mismo cultivar indican diferencias significativas según las pruebas de H de Kruskall Wallis y U de Mann-Whitney para p≤0.05

Figura 1. Porcentaje de germinación *in vitro* de semillas de tres cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. en presencia de diferentes concentraciones de PEG-6000 a los tres días de incubación.

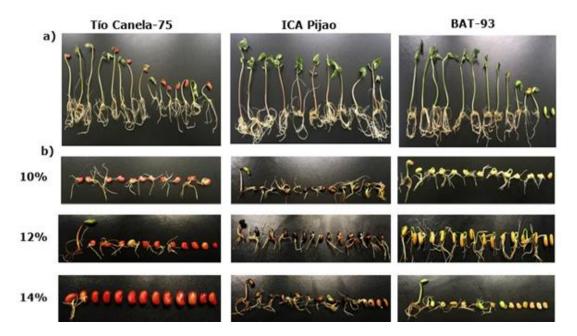


Figura 2. Germinación *in vitro* de semillas de tres cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. en presencia de diferentes concentraciones de PEG-6000 a los siete días de cultivo (a) Control y (b) Concentraciones de PEG-6000.

La variable longitud de la raíz se afectó por las diferentes concentraciones de PEG-6000. Tanto en el cultivar tolerante como en los susceptibles, en cada tratamiento se redujo en más de un 50% la longitud de la raíz con diferencias significativas respecto al control. En el cv. 'Tío Canela-75' la variable disminuyó progresivamente con el aumento del estrés, con valores por debajo de 1.0 cm al utilizar 14% de PEG-6000. Sin embargo, en 'BAT-93' e 'Ica Pijao' la respuesta fue variable. Los tres cultivares mostraron los menores valores de longitud de la raíz cuando se empleó 14% del agente estresante (Figura 3).

De igual forma, en la variable longitud del hipocótilo, se evidenció un reducción significativa, en las semillas germinadas de los cultivares en cada uno de los tratamientos con respecto al control. En el cv. 'Tío Canela-75' se observó crecimiento hasta la concentración de 12% de PEG-6000. Sin embargo, en 'Ica Pijao' y 'BAT-93' solo se registraron valores para esta variable para la menor y mayor concentración del agente inductor de estrés (Figura 4).

La respuesta de la variable longitud del epicótilo evidenció la incidencia negativa directa de la inducción de estrés hídrico por PEG 6000 en el desarrollo de la parte aérea de la planta. Solo los cultivares 'Tío Canela-75' e 'Ica Pijao' presentaron crecimiento del epicótilo (por debajo de 0.2 cm) en presencia

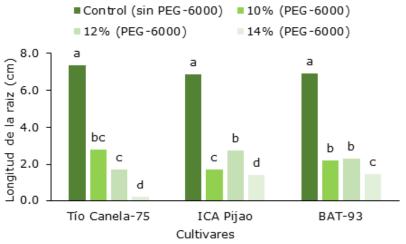
de 10% de PEG-6000. Sin embargo, en el cultivar 'BAT-93' no hubo respuesta para esta variable con los tratamientos empleados (Figura 5).

## DISCUSIÓN

Los resultados mostraron que el agente estresante afectó la germinación *in vitro* de las semillas, lo que se tradujo en una disminución del porcentaje de germinación, el escaso desarrollo de raíces laterales y reducción de la longitud de la raíz principal, del hipocótilo y el epicótilo respectivamente.

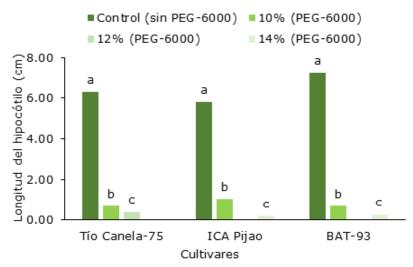
Estos resultados corroboraron hallazgos previos del efecto negativo del PEG-6000 en la germinación de semillas de *P. vulgaris*. En este sentido, Suárez *et al.* (2014) encontraron una menor germinación en todos cultivares evaluados, con el incremento de la concentración de PEG-8000. De igual forma en el cv. 'Ica Pijao' García *et al.* (2015) con el empleo de 8, 10, 12, 14, 16 y 18 de PEG-6000, describieron porcentajes de germinación inferiores a los alcanzados por el tratamiento control.

Una respuesta similar para esta variable también ha sido informada por diversos autores en otros cultivos tales como: Sorghum *bicolor* (L.) Moench (Rezende *et al.*, 2017), y *Solanum lycopersicum* L. (Florido *et al.*, 2018). Los resultados de estas investigaciones



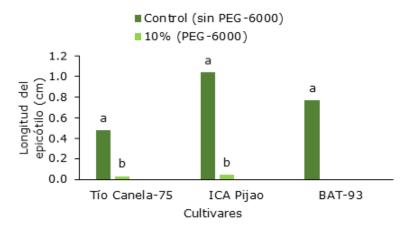
Letras diferentes sobre barras de un mismo cultivar indican diferencias significativas según las pruebas de H de Kruskall Wallis y U de Mann-Whitney para p≤0.05

Figura 3. Longitud de la raíz de semillas de tres cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. germinadas *in vitro* en presencia de diferentes concentraciones de PEG-6000 a los siete días de incubación.



Letras diferentes sobre barras de un mismo cultivar indican diferencias significativas según las pruebas de H de Kruskall Wallis y U de Mann-Whitney para  $p \le 0.05$ 

Figura 4. Longitud del hipocótilo de semillas de *Phaseolus vulgaris* L. germinadas *in vitro* de tres cultivares de frijol común en presencia de diferentes concentraciones de PEG-6000 a los siete días de incubación.



Letras diferentes sobre barras de un mismo cultivar indican diferencias significativas según las pruebas de H de Kruskall Wallis y U de Mann-Whitney para p≤0.05

Figura 5. Longitud del epicótilo de semillas de *Phaseolus vulgaris* L. germinadas *in vitro* de tres cultivares en presencia de diferentes concentraciones de PEG-6000 a los siete días de incubación.

permitieron a dichos autores la selección de plantas con tolerancia a estrés hídrico. Este tipo de estrés sobre la germinación, se relaciona con desórdenes metabólicos y enzimáticos como la generación de especies reactivas de oxígeno, la reducción del potencial de soluto e hídrico entre otras. La disminución de este último a su vez, restringe la disponibilidad de agua, lo cual es crítico para la activación de procesos metabólicos y bioquímicos en la semilla que culmina con su germinación (Fathi y Tari,

2016). La germinación de la semilla es un proceso complejo y la fase más crítica en el ciclo de vida de una planta, el cual se compromete bajo condiciones de estrés hídrico (Nadeem et al., 2019). En estudios de germinación para la simulación de las condiciones de estrés, el PEG resulta un osmolito eficiente al ser un compuesto inerte y no tóxico. Al respecto, Kosturkova et al. (2014) comunicaron acerca de la correlación que existe entre la tolerancia a sequía en

campo y los experimentos a nivel de laboratorio con PEG.

La afectación en la longitud de la raíz, es una de las manifestaciones que se observa en plantas que crecen bajo un régimen de estrés hídrico. Según Sofi et al. (2017) la exposición del frijol común a estrés hídrico reduce la longitud de su radícula. Los resultados presentados en este trabajo así lo confirman ya que, la reducción de esta variable tuvo lugar para los tres cultivares de frijol común estudiados. Además, coincidieron con los informados previamente por Muscolo et al. (2014) en el estudio de cuatro cultivares de Lens culinaris L. y Pérez-Hernández et al. (2018) en S. bicolor. Estos autores informaron que la disminución de esta variable estuvo vinculada con el incremento de la concentración de PEG-6000.

La respuesta al estrés hídrico en una planta está dada por su capacidad para evitar la deshidratación del tejido, lo cual se debe en parte a la arquitectura de la raíz. En investigaciones realizadas por Sofi et al. (2018) estos autores concluyeron que el estrés por carencia de agua cambia la arquitectura de la raíz en el frijol común, al comparar su efecto en el desarrollo del sistema radicular en un cultivar tolerante respecto a uno susceptible. Los resultados de este estudio corroboraron estos informes ya que, en respuesta al estrés inducido por PEG 6000 en los cultivares se favoreció la formación de la raíz principal, en contraste con el desarrollo típico del cultivo que tuvo el sistema radicular en las plantas control.

La disminución observada en la longitud del hipocótilo ante el estrés inducido in vitro por PEG en los cultivares estudiados, concordó con estudios previos realizados en esta temática. Autores como Lejardi et al. (2011), al evaluar 26 cultivares de frijol común, encontraron afectaciones en esta variable en todos los tratamientos que incluían las concentraciones de PEG-6000 a partir de 3%. De forma similar, Suárez et al. (2014) a su vez concluyeron que el aumento de las condiciones de déficit hídrico, influyeron negativamente en el desarrollo del hipocótilo de los ocho cultivares de frijol común utilizados. Por su parte, Pierre et al. (2014), en Medicago truncatula Gaertn. también informaron diferencias en el alargamiento del hipocótilo

entre los diferentes cultivares. El crecimiento del hipocótilo tiene un papel importante en la emergencia de la planta, lo cual está influenciado por las condiciones ambientales. Sin embargo, pocos estudios han evaluado esta respuesta (Kutschera y Niklas, 2013). La inhibición del crecimiento de las plántulas por estrés hídrico se relaciona directamente con la reducción de entrada de agua hacia los tejidos. Este factor es esencial para el desarrollo de la presión de turgencia para que ocurra el alargamiento celular (Pierre et al., 2014). En correspondencia con lo anterior y de acuerdo con varios autores en casos típicos de estrés hídrico, los órganos subterráneos (raíz o radícula) de la planta se desarrollan más rápido que los órganos aéreos (tallo o hipocótilos), para lograr así su aclimatización (Jiao-jun et al., 2005; Zhu et al., 2006; Lejardi et al., 2011).

A partir de los resultados se pudo constatar que para cada cultivar de frijol común, de los incluidos en el estudio, la respuesta in vitro a la germinación bajo condiciones de estrés inducido por PEG 6000 fue específica y diferencial. De esta forma, en el cv. ´Tío Canela-75 ´ hubo una disminución gradual de todas las variables evaluadas, en la medida que aumentaron las concentraciones del agente estresante. En cambio, los cultivares ´ICA Pijao´ y ´BAT-93´ tuvieron una respuesta variable. En los tres cultivares el desarrollo de la parte aérea de la planta fue más sensible que la radicular al estrés inducido vitro. Es de destacar, que las concentraciones de PEG-6000 empleadas afectaron tanto al cultivar tolerante como a los susceptibles. Los datos obtenidos sugieren que para establecer un criterio de selección in vitro a estrés hídrico con el empleo de PEG-6000 en estos tres cultivares se deben utilizar concentraciones inferiores a las estudiadas. Sin embargo, aportan elementos valiosos para el conocimiento del efecto del estrés hídrico en estos cultivares y abren nuevas interrogantes para estudios posteriores.

## **CONCLUSIONES**

Los cultivares de *P. vulgaris* ´ICA Pijao´, ´BAT-93´ y ´Tío Canela-75´ muestran una respuesta diferencial al estrés hídrico *in vitro* inducido por PEG 6000 que se manifiesta en el proceso de germinación de las semillas. No obstante, las concentraciones utilizadas (10, 12 y 14) afectan la longitud del hipocótilo, el epicótilo y la raíz tanto en el cultivar tolerante ('Tio Canela-75') como en los susceptibles. Este aspecto debe considerarse para establecer métodos de evaluación temprana donde se incluyan dichos cultivares.

## **AGRADECI MI ENTOS**

Este trabajo fue financiado a través del proyecto: Mejoramiento genético de *Phaseolus vulgaris* L. para la búsqueda de resistencia a estrés biótico y abiótico (código P131LH001084) financiado por el Programa Nacional de Alimento Humano del CITMA. Los financistas no tuvieron participación en el diseño del estudio, la colecta y análisis de los datos, la decisión de publicar o la preparación del manuscrito es de la institución y el colectivo de autores del proyecto.

Conflicto de interés Los autores no declaran conflicto de intereses.

Contribución de los autores Conceptualización NV, Análisis formal NV, MFMR y AMR, Investigación MFMR, NV, DT, LR AMR y SH, Metodología NV, MFMR, Escritura-Primera redacción MFMR, NV, Escritura-Revisión y Edición MFMR, NV y AMR.

## **REFERENCIAS**

Collado R, Carabeo A, Poveda I, Rojas LE, Leiva-Mora M, García LR, Veitía N, Martirena A, Torres D, Rivero L (2017) Diferenciación de cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. mediante respuesta del tejido foliar expuesto a estrés hídrico y salino. Biotecnología Vegetal 17(1): 25-32

FAOSTAT (2019) Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponible en: http://faostat.fao.org. Consultado 24/05/2020

Fathi A, Tari DB (2016) Effect of drought stress and its mechanism in plants. International Journal of Life Sciences 10(1): 1-6

Florido M, Bao L, Lara RM, Castro Y, Acosta R, Álvarez M (2018) Efecto del estrés hídrico simulado con PEG 6000 en la germinación en tomate (*Solanum* sección *Lycopersicon*). Cultivos Tropicales 39(1): 87-92

García LR, Leiva-Mora M, Carabeo A, Collado R, Poveda I, Veitía N, Martirena A, Torres D,

Rivero L (2015) Efecto del estrés hídrico inducido con PEG 6000 sobre la germinación *in vitro* de semillas de *Phaseolus vulgaris* L. cv. 'ICA Pijao'. Biotecnología Vegetal 15(4): 243-249

Jiao-jun Z, Hong-zhang K, Hui T, Mei-ling X, Jun W (2005) Natural regeneration characteristics of *Pinus sylvestris* var. mongolica forests on sandy land in Honghuaerji, China. Journal of Forestry Research 16(4): 253-259; doi: 1007-662X(2005)04-0253-07

Kosturkova G, Todorova R, Dimitrova M, Tasheva K (2014) Establishment of test for facilitating screening of drought tolerance in soybean. Scientific Bulletin Series F Biotechnologies 18: 27-32

Kusvuran S, Dasgan HY (2017) Effects of drought stress on physiological and biochemical changes in *Phaseolus vulgaris* L. Legume Research 40 (1): 55-62; doi: 10.18805/lr.v0i0.7025

Kutschera U, Niklas KJ (2013) Cell division and turgor-driven stem elongation in juvenile plants: a synthesis. Plant Science 207: 45-56

Lamz A, Cárdenas RM, Ortiz R, Montero V, Martínez B, de la Fé CF, Duarte Y, Alfonzo LE (2016) Evaluación del comportamiento agromorfológico a partir de la caracterización de la variabilidad en líneas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) sembradas en época tardía. Cultivos Tropicales 37(2): 108-114; doi: 10.13140/RG.2.1.3451.0329

Lejardi MC, Nicolaus NL, Rodríguez MJM (2011) Tolerancia a la sequía de cultivares de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Agrisost 17(3): 1-15

Michel BE, Kaufmann MR (1973) The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiology 51(5): 914-916

Mohamed MF, Tawfik AA (2006) Dehydration-induced alterations in growth and osmotic potential of callus from six tepary bean lines varying in drought resistance. Plant Cell Tissue and Organ Culture 87(3): 255-262; doi: 10.1007/s11240-006-9159-2

Muscolo A, Sidari M, Anastasi U, Santonoceto C, Maggio A (2014) Effect of PEG-induced

drought stress on seed germination of four lentil genotypes. Journal of Plant Interactions 9(1): 354-363; doi: 10.1080/17429145.2013.835880

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): 2541; doi: 10.3390/ijms20102541

Nakagawa J, Krzyzanowski F, Vieira R, França J (1999) Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. En: Krzyananowski F, Vieira R, França-Neto J (eds). Vigor de sementes: conceitos e testes, pp. 9-13. ABRATES, Londrina, Brasil

Pérez-Hernández Y, Navarro-Boulandier M, Rojas-Sánchez L, Fuentes-Alfonso L, Sosadel Castillo M (2018) Efecto del estrés hídrico en la germinación de semillas de *Sorghum bicolor* (L.) Moench cv. UDG-110. Pastos y Forrajes 41(4): 243-252

Pierre J, Teulat B, Juchaux M, Mabilleau G, Demilly D, Dürr C (2014) Cellular changes during *Medicago truncatula* hypocotyl growth depend on temperature and genotype. Plant Science 217: 18-26; doi: 10.1016/j.plantsci.2013.12.001

Polón R, Miranda A, Ramírez MA, Maqueira LA (2014) Efectos del estrés de agua sobre el rendimiento de granos en la fase vegetativa en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias 23(4): 33-36

Rezende RKS, Masetto TE, Oba GC, Jesus MV (2017) Germination of sweet *Sorghum* seeds in different water potentials. American Journal of Plant Sciences 8(12): 3062; doi: 10.4236/ajps.2017.812206

Sanchez-Valdez I, Acosta-Gallegos JA, Ibarra-Perez FJ, Rosales-Serna R, Singh SP (2004) Registration of 'Pinto Saltillo' common bean. Crop Science 44 (5): 1865-1866; doi: 10.2135/cropsci2004.1865a

Scott SJ, Jones RA, Williams WA (1984) Review of data analysis methods for seed germination. Crop Science 24(6): 1192-1199; doi: 10.2135/cropsci1984.0011183X002400060043x

Sofi PA, Rehman K, Bhat MA (2017) Relative water content, membrane stability index and DAB assay in relation to reduction in yield components and resource remobilisation under water stress in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). SKUAST Journal of Research 19(1): 133-142

Sofi PA, Djanaguiraman M, Siddique KHM, Prasad PVV (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; doi: 10.1007/s40502-018-0429-x

Suárez AD, Hernández YP, del Castillo MS, del Castillo DS, Suárez RR (2014) Efecto del estrés hídrico sobre la germinación de genotipos de frijol común en condiciones experimentales de sequía. Avanzada Científica 17(1): 53-67

Voysest O (2000) Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.): legado de variedades de América Latina 1930-1999. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali

Zhu J, Kang H, Tan H, Xu M (2006) Effects of drought stresses induced by polyethylene glycol on germination of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* seeds from natural and plantation forests on sandy land. Journal of Forest Research 11(5): 319-328; doi: 10.1007/s10310-006-0214-y

Recibido: 06-10-2020 Aceptado: 25-11-2020

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC 4.0) https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/ Está permitido su uso, distribución o reproducción citando la fuente original y los autores.