



UNIVERSIDAD DE CIEGO DE ÁVILA
"MÁXIMO GÓMEZ BÁEZ"
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



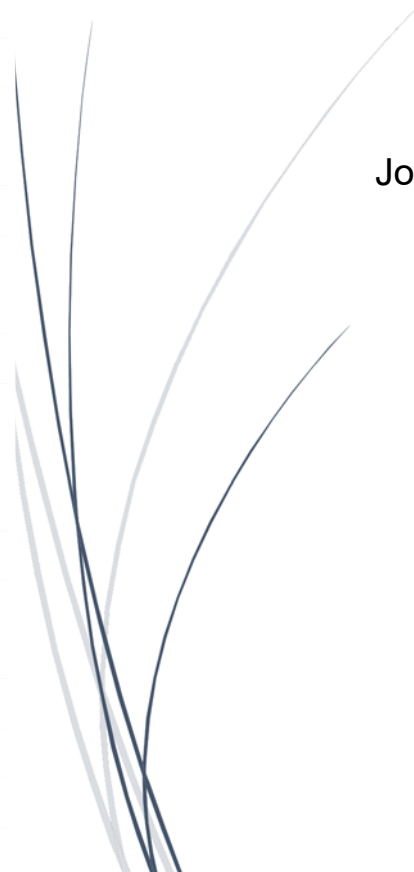
*Caracterización morfo-fisiológica y bioquímica de dos cultivares de soya (*Glycine max* (L.) Merrill) en respuesta al déficit hídrico.*

**Trabajo de Diploma Presentado en Opción al Título de
Ingeniero Agrónomo**

Autor(a):

Joselma Dias Dovala de Vasconcelos

Ciego de Ávila, 2019





UNIVERSIDAD DE CIEGO DE ÁVILA
“MÁXIMO GÓMEZ BÁEZ”
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



Caracterización morfo-fisiológica y bioquímica de dos cultivares de soya
(*Glycine max (L.) Merrill*) en respuesta al déficit hídrico.

Trabajo de Diploma Presentado en Opción al Título de Ingeniero
Agrónomo

Autor(a):

Joselma Dias Dovala de Vasconcelos

Tutor(a):

MSc. Lucía Sandra Pérez Borroto

Co-tutor(a):

DrC. Romelio Rodríguez Sánchez

Ciego de Ávila, 2019

PENSAMIENTO

...Tendremos que buscar los cultivos más racionales y más productivos, no solo en el volumen de sus productos, sino también en el valor comercial de las producciones...

Fidel Castro Ruz

AGRADECIMIENTOS:

Ha sido largo el viaje, pero al fin llegué, aun así, no hubiera sido posible sin la ayuda incondicional de muchos la cual logro el triunfo definitivo. Es ahora el momento más propicio para comunicar mis más entrañables deseos de gratitud, a quienes me han apoyado moral y espiritualmente.

Mi eterno agradecimiento en primer lugar a Diós, por la fuerza y el coraje que me ha dado para poder alcanzar esta meta que será de gran importancia para mi nación.

A mis familiares, que nunca han negado palabras de fuerza, incentivo e optimismo a lo largo de la jornada académica, muchas gracias por el cariño sin ustedes habría enloquecido. A todos mis maestros que a lo largo de los cinco años de curso me brindaron todo el caudal de conocimientos para fomentar el aprendizaje propio, especialmente a mi tutora Lucia Sandra Pérez Borroto, que hizo toda la diferencia este año, por el conocimiento transmitido, confianza y comprensión, gracias por todo el apoyo, paciencia y compañerismo en estos meses de mucho trabajo. A todos los que en esta etapa de estudio me han ayudado a seguir adelante.

A mi querida y amada madre, Teresa Cecilia Dovala, que es mi mayor fuente de inspiración y fuerza, sus enseñamientos y valores siempre alimentaran mi alma y condujeron mis pasos hasta aquí. A mi padre, José Augusto Silva de Vasconcelos, (in memoriam) que no puede estar presente en este momento tan increíble de mi vida. Saudades eternas.

Resumen

Factores ambientales como la sequía limitan el desarrollo, la distribución y el rendimiento de los principales cultivos. La soya (*Glycine max* (L.) Merrill) es la leguminosa de mayor importancia en el mercado mundial, por el alto valor nutricional tanto de sus semillas como de sus derivados y se encuentra fuertemente afectada por el déficit hídrico. Por ello numerosos programas de mejoramiento centran sus esfuerzos en la selección y obtención de variedades con tolerancia incrementada a la sequía. La presente tesis tiene como objetivo desarrollar la caracterización morfo-fisiológica y bioquímica de los cultivares de soya Conquista y Munasqa RR en respuesta al déficit hídrico, a fin de identificar posibles respuestas de tolerancia que permitan recomendar o no el uso de dichos genotipos en programas de siembra a gran escala. Para ello se caracterizó el efecto del déficit hídrico en el desarrollo vegetativo, economía hídrica y respuesta antioxidante, se determinaron los indicadores morfo-fisiológicos Duración de la Biomasa y Eficiencia en el uso del agua, así como los bioquímicos contenido de Prolina Libre, contenido de Malondialdehído y otros aldehídos, actividad enzimática y específica de la Superóxido Dismutasa y Catalasa. Los resultados obtenidos demuestran que las plantas de los cultivares de soya Conquista y Munasqa RR evaluadas en condiciones de déficit hídrico presentan una respuesta diferencial al estrés. Siendo Munasqa RR el cultivar con mecanismos de tolerancia a la sequía más eficientes, evidenciado por su capacidad de mantener los procesos de crecimiento, economía hídrica y respuesta antioxidante.

Palabras clave: caracterización morfo-fisiológica y bioquímica, déficit hídrico, sequía, soya, tolerancia.

Abreviaturas:

EMBRAPA:	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria
EROs:	Especies Reactivas del Oxígeno
O₂^{•-}:	Radicales Superóxido
OH:	Hidroxilo
H₂O₂	Peróxido de hidrógeno
MDA:	Malondialdehido
OA:	Otros Aldehídos
BDR:	<i>Bradyrhizobium</i>
HE:	Hora de Evaluación
TA:	Temperatura Ambiental
HR:	Humedad Relativa
TF:	Temperatura Foliar
IL:	Intensidad Lumínica
DB:	Duración de la Biomasa
EUA:	Eficiencia en el uso del agua
SOD:	Superóxido Dismutasa
CAT:	Catalasa
FBN:	Fijación Biológica del Nitrógeno
UFC:	Unidad Formadora de Colonia
PS:	Peso Seco

Índice

1.	Introducción	1
2.	Revisión Bibliográfica	4
2.1	Origen y evolución de la soya	4
2.2	Descripción taxonómica, botánica y agronómica del cultivo	5
2.2.1	Clasificación taxonómica de la soya	5
2.2.2	Descripción botánica	5
2.2.3	Etapas fenológicas del cultivo	7
2.2.4	Cultivares objeto de estudio: Munasqa RR y Conquista	9
2.3	Principales factores abióticos que afectan la producción de soya	10
2.4	Indicadores fisiológicos y bioquímicos de la respuesta a déficit hídrico	12
3.	Materiales y Métodos	17
3.1	Generalidades del diseño experimental	17
3.2	Procedimiento experimental	17
3.2.2	Inoculación, siembra e implementación del riego	17
3.2.3	Manejo agronómico e indicadores evaluados	17
3.3	Procesamiento estadístico	21
4.	Resultados y Discusión	22
4.1	Efecto del déficit hídrico en el crecimiento y economía hídrica de la soya	22
4.1.1	Efecto del déficit hídrico en la duración de la biomasa (DB)	22
4.1.2	Efecto del déficit hídrico en la eficiencia en el uso del agua (EUA)	24
4.3	Efecto del déficit hídrico en la actividad antioxidante de la soya	26
4.3.1	Efecto del déficit hídrico en el contenido de Prolina Libre	26
4.3.2	Efecto del déficit hídrico en el contenido de Malondialdehído (MDA) y otros aldehídos (OA)	28
4.3.3	Efecto del déficit hídrico en la actividad enzimática y específica de la Superóxido Dismutasa (SOD)	30
4.3.4	Efecto del déficit hídrico en la actividad enzimática y específica de la Catalasa (CAT)	31
5.	Conclusiones	34
6.	Referencias bibliográficas	35

1. INTRODUCCION

La soya (*Glycine max L. Merrill*) es una leguminosa originaria de Asia y cultivada intensivamente por el alto valor proteico (35-50%), tanto de sus semillas como de sus derivados, por lo que constituye la planta oleaginosa de mayor importancia en el mercado mundial (Romero *et al.*, 2013). En Cuba fue introducida en el año 1904, sin embargo, después de más de un siglo de explotación aún no ha sido posible estabilizar la producción del grano, aunque su demanda como alimento animal y humano se incrementó significativamente en los últimos diez años.

Por este motivo la importación de soya desde Brasil, Argentina y países de Asia, alcanzó cifras cercanas a los 16 millones de dólares anuales (MINAG, 2014). Es por ello, surgió la necesidad de desarrollar estrategias que contribuyan a la estabilización de la producción de la soya en Cuba y a la disminución de sus tasas de importación.

Se han identificado numerosos factores limitantes de la producción de soya: i) el control de malezas, ii) la selección de genotipos adecuados a las condiciones climáticas y edáficas del territorio cubano y iii) el desarrollo de estrategias de manejo para dichos genotipos en el contexto productivo actual; donde se evidencia un incremento marcado de la salinidad de los suelos y la disminución en cantidad y calidad del agua con fines de riego. En este sentido la sequía ha recibido creciente atención pues aproximadamente 800 millones de hectáreas, 75,25% de la superficie terrestre agrícola se encuentran afectadas por deficiencia de los recursos hídricos (Daryanto *et al.*, 2017) , que casi siempre, superan la tolerancia de los cultivos tradicionales (Royon, 2003). Las principales afectaciones generadas por la sequía en la fenología de la soya se informan en estadios relacionados con la formación de nódulos, el cuajado floral y el cuajado de la vaina. Reduciéndose los procesos de fijación biológica de nitrógeno (FBN), el número de flores y de granos por vainas, con drásticas caídas en el rendimiento por temporada productiva, alcanzando en el 2017 disminuciones del rendimiento en un 30% y de la disponibilidad de agua para el cultivo en un 40% (Daryanto *et al.*, 2017) .

En Cuba se han introducido, establecido y estudiado numerosas variedades de soya provenientes de centros originarios mayormente brasileros y asiáticos. Dichas investigaciones se han desarrollado con el objetivo de identificar y caracterizar variedades altamente productivas y adaptables a las condiciones climáticas del país (Núñez Vázquez *et al.*, 2014).

Además, las estrategias de selección se han dirigido a la búsqueda de resistencia y tolerancia a estrés biótico y abiótico, respectivamente. Siendo la sequía, el principal factor abiótico dentro de los programas de introducción y/o mejoramiento de variedades. Como parte del programa de desarrollo intensivo del cultivo de la soya, el proceso de selección de variedades se comenzó a desarrollar más intensamente en la última década, teniendo como ente productivo rector a la Empresa Agrícola Cubasoy de la Provincia de Ciego de Ávila.

Como parte de las investigaciones desarrolladas en la Empresa, se han introducido y cultivado numerosas variedades de procedencia vietnamita y en especial de la EMBRAPA SOYA de Brasil. Dentro de estas últimas, destaca por sus características agronómicas y productivas, el genotipo Conquista (Fundación Matogrosso, Brasil) de gran porte, arquitectura aérea erecta y potencial de rendimiento, cualidades que le han conferido un espacio central en las estrategias productivas de la Empresa Cubasoy, pese a que los rendimientos obtenidos son significativamente inferiores ($1,2 \text{ t ha}^{-1}$) a los registrados en su centro de origen ($4,5 \text{ a } 5 \text{ t ha}^{-1}$), principalmente por su alta demanda hídrica y de agua de riego de calidad. Por lo mencionado anteriormente, resulta necesario desarrollar nuevamente procesos de selección de variedades procedentes de este u otro centro de origen, con potencialidades productivas y tolerancia a déficit hídrico.

En este contexto, se ha identificado con buenas perspectivas, al genotipo Munasqa RR (Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Argentina, 2001), para desarrollar el proceso de caracterización y adaptación a las condiciones ambientales cubanas, por presentar en su centro de origen, alto rendimiento ($4,2 \text{ t ha}^{-1}$), buenas características agronómicas y cierta tolerancia a diversas intensidades de déficit hídrico (Pardo *et al.*, 2015), lo que conduce

al siguiente **PROBLEMA** investigativo: ¿Cómo se comportarán los genotipos de soya Conquista y Munasqa RR en condiciones de déficit hídrico?

HIPÓTESIS:

Si se evalúa el comportamiento de los genotipos de soya Conquista y Munasqa RR en condiciones de déficit hídrico es posible establecer estrategias de manejo que permitan la utilización de estos genotipos en la producción extensiva.

OBJETIVO GENERAL:

Caracterizar el efecto del déficit hídrico en el desarrollo vegetativo, economía hídrica y respuesta antioxidante de los genotipos de soya Conquista y Munasqa RR.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- 1- Caracterizar el efecto del déficit hídrico en el desarrollo vegetativo y economía hídrica de los genotipos de soya Conquista y Munasqa RR.
- 2- Caracterizar el efecto del déficit hídrico en la respuesta antioxidante de los genotipos de soya Conquista y Munasqa RR.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Origen y evolución de la soya (*Glycine max* (L.) Merrill)

La Soya (*Glycine max*. (L.) Merrill) es una planta originaria de China. La antigua literatura china revela que la soya fue extensamente cultivada y tenía un alto valor como alimento. El cultivo es citado en los manuscritos por lo que su consumo es tan antiguo como la propia civilización del hombre, considerada la leguminosa cultivada más importante de la civilización asiática (Gazzoni, 1995). La soya ha sido utilizada como alimento humano desde el año 3000 A.C. Es uno de los diez cultivos más importantes de la agricultura mundial por ser la mayor fuente de proteína y aceite vegetal (Iglesias Andreu, 1985; Díaz Carrasco and Diaz, 1992).

Actualmente, es un cultivo explotado en diferentes partes del mundo y contribuye a la solución de problemas nutritivos en las regiones tropicales. La importancia mundial de la soya se puede analizar en base a la productividad, calidad, contenido de proteínas y múltiples usos que posee. El grano contiene entre 18 y 21 % de grasa y entre 38 y 40 % de proteína. Con el aceite de soya se producen barnices, colas, esmaltes, lubricantes y tintas. Además, en la industria alimentaria animal la soya ha sustituido a distintos productos proteicos, entre los que se encuentran el maíz y la harina de pescado (Panizzi and Gontijo Mandarin, 1995) . En América fue introducida por los Estados Unidos de Norte América en 1765 sin embargo, su gran expansión se inició en 1840. En Brasil y Argentina fue introducida en la década de 1880, aunque el cultivo extensivo en dichos países se inició a principio del siglo XX (Villar, 2009). En Cuba se conoce la soya desde 1904, donde se iniciaron los primeros estudios con variedades introducidas. No obstante, pese a ser un cultivo con 115 años de explotación no ha sido posible para el país estabilizar la producción del grano, por lo que el consumo de soya se sustentaba aún en la importación (Ponce *et al.*, 2002).

2.2 Descripción taxonómica, botánica y agronómica del cultivo

2.2.1 Clasificación taxonómica de la soja (*Glycine max* (L.) Merrill)

De acuerdo al Sistema Integrado de Información Taxonómica (ITIS, 2019), que surgió en 1996 como respuesta a la necesidad de establecer un estándar taxonómico mundial y se puede consultar en la base de datos pública del ITIS (por sus siglas en inglés “Integrated Taxonomic Information System”), la clasificación botánica de la soja es la siguiente:

Reino	<i>Plantae</i>
Sub Reino	Viridaeplantae
Infra Reino	Streptophyta
División	Tracheophyta
Sub División	Spermatophytina
Infra División	Angiospermae
Clase	Magnoliopsida
Súper Orden	Rosanae
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Genero	<i>Glycine</i>
Especie	<i>Glycine max</i>

2.2.2 Descripción botánica

La planta es anual, herbácea y presenta una amplia variabilidad genética y morfológica debido al gran número de variedades existentes. Dentro de los caracteres morfológicos, algunos son constantes y otros variables, estos últimos son más afectados por las condiciones ambientales, resultado de la interacción genotipo medio ambiente (Valladares, 2010).

La soja cuenta con una raíz principal pivotante, un gran número de raíces adventicias muy ramificadas que salen de la base del hipocótilo. La raíz principal es potente puede alcanzar hasta un metro de profundidad, aunque lo normal es que no sobrepase los 40-50 cm. En la raíz principal o en las secundarias se encuentran los nódulos, en número variable.

La radícula emerge de una hendidura en la cubierta seminal, cerca del micrópilo y comienza a crecer hacia abajo uno o dos días después de la siembra formando la raíz principal. Luego se inicia el desarrollo de las raíces secundarias para posteriormente emerger de éstas, las raíces terciarias; de la parte inferior del hipocótilo brotan raíces adventicias. El crecimiento de las raíces es continuo hasta el período de llenado de los granos; luego, comienza a declinar, para finalmente cesar poco antes que los granos alcancen su madurez fisiológica (Guamán, 2005).

Según (Socorro y Martín, 1989), el tallo presenta consistencia leñosa, forma cilíndrica, color verde, aunque se pueden encontrar otras coloraciones antocianinas de diferentes intensidades y su longitud varía entre 15 y 200 cm. Generalmente su hábito de crecimiento es erecto, aunque se pueden encontrar formas semitrepadoras y trepadoras. Del tallo principal se originan ramificaciones en número de dos a ocho.

Las hojas verdaderas son trifoliadas, excepto las dos primeras, su color es verde en diferentes intensidades. La superficie puede ser lisa, brillante o arrugada y también se pueden encontrar densamente cubiertas de pelos, tanto por el haz como por el envés

Las flores son pequeñas, de color blanco o púrpura y en raras ocasiones se presentan ambos colores en la misma flor. Se hallan situadas en las axilas de las hojas. Estructuralmente constan de cinco pétalos: un estandarte, dos alas y una quilla. El cáliz es acampanado y muy piloso. El pistilo está rodeado por diez estambres que forman una columna estaminal y normalmente se autopoliniza, aunque muchas flores se caen sin llegar a formar frutos.

Produce sus frutos en forma de legumbres cubiertas de pelos, que contienen de dos a tres semillas y muy raramente puede llegar hasta cuatro. La coloración es muy variada: gris-arenoso, amarillo claro, amarillo-parduzco, gris-parduzco, rojizo-parduzco o negro. Las legumbres.

Las semillas de la mayoría de las variedades comerciales son de color amarillo (diversas tonalidades), aunque también pueden ser verdes, negras, castañas, pardo-amarillentas o mezcla de colores. El color del hilo puede ser negro, castaño claro, castaño oscuro o del mismo color que la semilla. La forma es variable pero generalmente son ovaladas, pequeñas y de superficie lisa.

2.2.3 Etapas fenológicas del cultivo

Existen varias clasificaciones de los estadios de desarrollo de la soya, (Fehr *et al.*, 1971) definieron dos escalas, una para el estadio vegetativo y otra para el estadio reproductivo.

Etapa vegetativa

Con condiciones ambientales adecuadas, la germinación comienza cuando la semilla absorbe, aproximadamente, el 50% de su peso en agua. Los dos primeros estados vegetativos (**V**) se identifican con letras.

VE - Emergencia: se observa el hipocótilo en forma de arco, empujando al epicótilo y a los cotiledones, haciéndolos emerger sobre la superficie del suelo.

VC: Etapa cotiledonar: el hipocótilo se endereza, los cotiledones se despliegan totalmente y en el nudo inmediato superior los bordes de las hojas unifoliadas no se tocan.

A partir de aquí los demás estadios vegetativos se identifican con el número de nudos.

V1 (primer nudo): el par de hojas opuestas unifoliadas están totalmente expandidas, y en el nudo inmediato superior se observa que los bordes de cada uno de los folíolos de la 1er hoja trifoliada no se tocan.

V2 (segundo nudo): la primera hoja trifoliada está totalmente desplegada, y en el nudo inmediato superior los bordes de cada uno de los folíolos de la segunda hoja trifoliada no se están tocando.

V3 (tercer nudo): la segunda hoja trifoliada está completamente desarrollada, y en la tercera hoja trifoliada los bordes de cada uno de sus folíolos no se tocan.

V5 - (quinto nudo): La cuarta hoja trifoliada está completamente desarrollada, y en la quinta hoja trifoliada los bordes de cada uno de sus folíolos no se tocan.

Vn ("n" número de nudos): la hoja trifoliada del nudo (n) está expandida totalmente, y en el nudo inmediato superior los bordes de cada uno de los folíolos no se tocan.

Normalmente, se observa el amarillamiento de los cotiledones (fin de la movilización de sus reservas) a partir del estadio V2. Este rasgo fenotípico es indicativo de que la planta presenta un mínimo de hojas y raíces para su normal crecimiento.

Etapa reproductiva

R1 (inicio de floración): se observa una flor abierta en cualquier nudo del tallo principal. La floración comienza en la parte media de la planta progresando hacia la parte superior e inferior. La aparición de nuevas flores alcanza su máximo entre R2, 5-R3 y culmina en R5.

R2 (floración completa): se observa una flor abierta en uno de los nudos superiores del tallo principal con hojas totalmente desplegadas. Esta etapa indica el comienzo de un período de acumulación diaria y constante de materia seca y nutrientes, que continuará hasta poco después de R6, además el ritmo de fijación biológica del nitrógeno en los nódulos aumenta rápidamente.

R3 (inicio de formación de vainas): una vaina de 5 mm de largo en uno de los cuatro nudos superiores del tallo principal, y con hojas totalmente desplegadas. La formación de vainas se inicia en los nudos inferiores, además la planta presenta flores marchitas, abiertas y pimpollos.

R4: una vaina de 2 cm en uno de los cuatro nudos superiores, con hojas totalmente desplegadas. Se caracteriza por un rápido crecimiento de las vainas y el inicio del desarrollo de la semilla. Entre R4 y R5, cinco de las vainas incrementan rápidamente su peso seco. Además, las vainas alcanzan la mayor parte de su tamaño antes de que las semillas inicien el llenado.

R5: una vaina con una semilla de 3 mm de largo, en uno de los cuatro nudos superiores con hojas totalmente desplegadas. En este estadio se inicia el crecimiento de la semilla, o llenado de granos y la redistribución de materia seca, y nutrientes de la planta a la semilla. Al inicio de R5 el grado de desarrollo reproductivo varía desde flores recién abiertas a vainas conteniendo semillas de 8 mm de largo.

R6 (semilla completamente desarrollada): una vaina, en cualquiera de los cuatro nudos superiores del tallo principal, que contiene una semilla verde completamente llena. Poco después de R6 decae el ritmo de acumulación de biomasa en toda la planta. A partir de esta etapa, las hojas de toda la planta comienzan a ponerse amarillas, el envejecimiento de las mismas y su caída comienzan en los nudos inferiores y continúa hacia arriba.

R7 (inicio de maduración): una vaina normal en cualquier nudo del tallo principal que alcanza su color de madurez. La semilla alcanza la madurez fisiológica

cuando finaliza la acumulación de biomasa, modificando su coloración de verde a amarillo. La semilla en este momento contiene el 60% de humedad.

R8 (maduración completa): el 95% de las vainas de la planta han alcanzado el color de madurez. Luego de R8, se requieren hasta diez días de baja humedad ambiental, para que las semillas reduzcan su humedad por debajo del 15%.

2.2.4 Cultivares objeto de estudio: Munasqa RR y Conquista

Para el desarrollo de la presente tesis, se seleccionaron dos cultivares de soya con buenas características agronómicas y comportamiento contrastante en condiciones de déficit hídrico. A continuación se describen sus principales características.

Munasqa RR

Se definen características agronómicas distintivas tales como crecimiento determinado, ciclo entorno a los 119 a 125 días, con hipocótilo de color verde, altura promedio a la madurez de 90 cm, arquitectura ramificada y pubescencia erecta con densidad intermedia y de color gris. Hojas de coloración verde intenso, foliolo oval de 6.60 cm de ancho, 11.10 cm de largo y borde liso. Posee inflorescencia de tipo pedunculada y flor blanca. Sus vainas son de coloración grisácea de tonalidad intermedia y textura lisa, generalmente con dos semillas por vaina, a una altura en tallo a partir de los 9.00 cm. Sus semillas son de forma esférica, de tegumento normal, con color amarillo claro opaco e hilo castaño claro. Suele florecer a los 48 días después de la siembra y no posee segunda floración, mientras que a los 119 días después de la siembra se identifica el inicio del proceso de maduración de las vainas. Es una variedad del ciclo de verano, con un fotoperiodo de días largos y buen desempeño productivo ante altas temperaturas y pocas precipitaciones. Es una variedad con menor porte y facilidad para la mecanización en comparación con el genotipo Conquista, con rendimiento promedio por temporada de 4 a 4,5 t/ha. No obstante, en condiciones de sequía los índices productivos no decaen, por lo que se considera una variedad con respuesta de tipo tolerante a dichos niveles de estrés lo que le proporciona una gran estabilidad de rendimiento.

Conquista

Posee un crecimiento determinado y un ciclo en el entorno de los 110 a 130 días de duración, con maduración de mediana a semi-tardía. Como rasgos principales para su identificación se encuentra la característica coloración violeta de la flor e hipocótilo, así como el hilo negro en la semilla. Las plantas de esta variedad alcanzan alturas entre 70 y 80 cm aproximadamente en dependencia de la época de siembra, con la inserción de la primera vaina entre los 12 y 15 cm, por lo que lo resulta excelente para la mecanización. En Cuba, las temporadas de siembra de esta variedad comprenden la etapa de primavera-verano (Julio-Agosto), así como para los meses Noviembre, Diciembre hasta la primera quincena del mes de Enero, con excelente comportamiento productivo en el mes de Marzo. Posee una densidad de plantación entre las 260 y 320 mil plantas por hectáreas. Es una variedad muy adaptable, con un promedio de rendimiento por ciclo de hasta 5 toneladas por hectárea en países como Brasil y Argentina, siempre que sean correctamente definidas la época, marco de plantación y principalmente la cantidad y calidad del agua de riego disponible para el ciclo completo. La variedad Conquista, es la que mayor potencial de rendimiento posee en condiciones óptimas de cultivo, no obstante, cuando es sometida a diversas intensidades de estrés hídrico presenta una respuesta de tipo susceptible a dichas condiciones.

2.3 Principales factores abióticos que afectan la producción de soya

Existen números factores de abiótico que afectan el desarrollo y productividad de la soya a nivel mundial. Sin embargo, la salinidad de los suelos y el déficit hídrico son considerados los principales estreses abióticos para todos los cultivos del planeta, incluyendo la soya.

El cambio climático, el crecimiento de la población y la importancia de la producción sostenible de alimentos hace que el desarrollo de cultivares tolerantes al estrés sea una prioridad a nivel mundial (Al Hassan *et al.*, 2016). La sequía es un problema universal, influye en la producción y calidad de las cosechas, afectando el crecimiento de cultivares. Constituye una de las limitaciones ambientales más importantes para el crecimiento, la productividad y la supervivencia de las plantas (Biswas *et al.*, 2016). En Cuba la sequía ha

incrementado su severidad y frecuencia, pues los períodos moderados y severos de déficit hídrico en los últimos 40 años se han duplicado (Florido Bacallao and Bao Fundora, 2014).

El déficit hídrico no sólo es causado por una pérdida de agua, sino además por estreses ambientales como las bajas temperaturas y la salinidad (Bartels and Souer, 2004). En el cultivo de la soya, dependiendo de la variedad, se requieren entre 450 a 700 mm de agua durante el ciclo de cultivo (Dogan, 2007) y existe cierto consenso en tomar como los períodos más susceptibles a dicho estrés a los estadios de floración y posteriores (Meckel, 1984).

En referencia a los mecanismos de respuesta al estrés hídrico, algunos autores prefieren usar una clasificación basada en las estrategias que manifiestan las plantas para enfrentarse al mismo como criterio de clasificación, lo que define tres tipos de comportamiento: (i) escape, (ii) anulación o evitación y (iii) tolerancia. El mecanismo de escape (i) se refiere a aquel que le permite a la planta completar su ciclo vital durante el período en el cual la disponibilidad de agua es la suficiente y necesaria antes de la llegada del estrés. Normalmente el ciclo de vida de la planta es corto y de esta manera logran producir semillas antes del período de estrés. Un ejemplo para el caso de la soya consiste en la práctica utilizada por los productores de sembrar cultivares de ciclo de vida corto, o grupos de madurez cortos (Manavalan LP, 2009). El segundo mecanismo, anulación o evitación del estrés (ii), involucra las estrategias que ayudan a la planta a mantener un alto potencial hídrico durante los períodos de estrés, ya sea por una absorción más eficiente de agua por las raíces o por reducción de la evapotranspiración en las partes aéreas. El tercer mecanismo, la tolerancia al estrés (iii), le permite a la planta mantener el turgor celular y el metabolismo fotosintético activo aún bajo condiciones de bajo potencial hídrico. Como ejemplo de lo anterior se puede mencionar la tolerancia producida por la síntesis de osmolitos, osmoprotectores o solutos compatibles (Nguyen HT., 1997), en combinación con el mantenimiento de las estructuras celulares y órganos de la planta.

Las plantas sometidas a sequía, modifican su crecimiento y tasa fotosintética mediante múltiples mecanismos. La intensidad del estrés, la aparición de

estreses superpuestos y las características de cada cultivar definen el impacto del déficit hídrico y el tipo de ajuste o respuesta al mismo (Parreira *et al.*, 2016).

En un escenario futuro marcado por el cambio climático, la obtención de variedades más tolerantes a esas condiciones ambientales constituye un objetivo prioritario. En los últimos años las sequías han aumentado debido a la disminución de las precipitaciones y al aumento en la evapotranspiración. Se considera que las pérdidas de rendimiento de los cultivos provocadas por la sequía exceden probablemente a la suma de todas las pérdidas por otros factores, por lo que es necesario la combinación de métodos convencionales de mejoramiento genético y el uso de herramientas biotecnológicas con el objetivo de incrementar la tolerancia en cultivos de importancia. Es importante contar con cultivares de soja que sean tolerantes a estos cambios pues la siembra de este cultivo se realiza mayormente en condiciones de secano (Neiff *et al.*, 2016).

Para garantizar la obtención de cultivares de soja con tolerancia incrementada al déficit hídrico, actualmente se llevan a cabo numerosas estrategias investigativas por mejoramiento convencional y transformación genética. No obstante, todas estas investigaciones presentan como etapa común el desarrollo de procesos de fenotipado a niveles morfofisiológicos, anatómicos, bioquímicos y moleculares que permiten la identificación de rasgos productivos y de respuesta a estrés de interés para el mejorador (Pardo *et al.*, 2015). La selección de variedades mediante fenotipado se puede realizar en condiciones controladas o *in vitro*, en ambientes semicontrolados como cámaras de crecimiento, fitotrones o invernaderos climatizados, así como en ambientes *ex vitro* como parcelas, macroparcelas o extensiones en campo. Como parte de este proceso de selección varietal, se evalúan numerosos indicadores o marcadores que son descriptores de los principales cambios metabólicos ocasionados por la sequía en las plantas (Neiff *et al.*, 2016).

2.4 Indicadores fisiológicos y bioquímicos de la respuesta a déficit hídrico

De manera general, cuando una planta está expuesta a estrés, se observa una respuesta que depende de la secuencia de reacciones que ocurren desde la exposición al estrés hasta percibir el efecto en la planta. En término de tiempo

esa secuencia puede ocurrir en milisegundos, segundos, minutos, horas, semanas o meses, en dependencia de las condiciones, las características del estrés y la respuesta observada (Campos *et al.*, 2004).

En condiciones de sequía, existen caracteres visuales y anatomorfológicos que constituyen indicadores certeros de la capacidad de una cultivar para responder a dicho estrés. La pérdida de porte por deshidratación, así como la clorosis, necrosis o senescencia de los tejidos, son indicadores de la baja disponibilidad hídrica y pérdida de la turgencia celular (Pardo *et al.*, 2015). Además la reducción en la producción de biomasa en la planta durante periodos de déficit hídrico es un indicador de la incapacidad del cultivo para regular los procesos de crecimiento, economía hídrica y defensa.

La exposición de las plantas al estrés hídrico provoca un incremento del contenido de especies reactivas del oxígeno (EROs) tales como el oxígeno singlete, los radicales superóxido (O_2^-) e hidroxilo (OH), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los alcoxi-radicales (RO), generadores de un desbalance oxidativo como estrés secundario a la sequía (Osakabe, Shinozaki y Tran, 2014). La producción de EROs durante la sequía ocurre principalmente en compartimentos celulares como los cloroplastos, mitocondrias y peroxisomas (Osakabe *et al.*, 2014) y su generación en los sistemas biológicos está representada por mecanismos no enzimáticos y enzimáticos dependientes de la concentración de oxígeno en las células (Farooq *et al.*, 2009).

Las EROs pueden reaccionar con proteínas, lípidos y otras macromoléculas importantes desencadenando la desnaturalización de su estructura y por ende la pérdida de su función (Bhargava y Sawant, 2013). Es por ello que las plantas han desarrollado mecanismos complejos e integrados denominados sistemas de defensa antioxidante; conformado por componentes enzimáticos y no enzimáticos involucrados en la respuesta antioxidante a fin de prevenir afectaciones por acción de las EROs, (Kheradmand *et al.*, 2014). Son estos componentes enzimáticos y no enzimáticos los principales marcadores funcionales del sistema antioxidante involucrados en la determinación tanto del tipo e intensidad del estrés, como de la respuesta de las plantas al mismo (Emamverdian *et al.*, 2018; Grzesik *et al.*, 2018).

Las plantas tienen varios indicadores enzimáticos antioxidantes que intervienen en la respuesta en condiciones de estrés oxidativo mediante la reducción eficiente de EROs (Upadhyaya y Hossain, 2016). Entre ellas se encuentran la Superóxido Dismutasa (SOD; EC 1.15.1.1) (Mittler, 2002) y la Catalasa (CAT; EC 1.11.1.6) (Mhamdi *et al.*, 2012).

La SOD es una metaloenzima intracelular presente en todos los organismos aeróbicos y en plantas se localiza en todos los compartimentos celulares (cloroplastos, mitocondrias y peroxisomas) que generan radicales superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (Verma *et al.*, 2003). Presenta la mayor velocidad catalítica del sistema antioxidante por lo que constituye la primera enzima respuesta al estrés oxidativo (Gill y Tuteja, 2010). Al eliminar el $O_2^{\cdot-}$ la SOD disminuye el riesgo de formación de radicales OH, este proceso ocurre mediante la reacción de *Habere-Weiss*, donde se dismuta el $O_2^{\cdot-}$ en H_2O_2 y O_2 por acción catalítica de la enzima, la cual posee una velocidad 10 000 veces mayor que la dismutación espontánea (Asada 2006).

El H_2O_2 generado principalmente por la actividad catalítica de la SOD constituye el sustrato del sistema enzimático de remoción de esta ERO, compuesto entre otras enzimas por la CAT (Zagorchev *et al.*, 2016). La CAT, es una enzima tetramérica que contiene un grupo Hemo en su estructura y fue la primera proteína antioxidante descubierta y caracterizada (Mhamdi *et al.*, 2010). La CAT desempeña un papel fundamental en la dismutación directa del H_2O_2 en H_2O y O_2 y posee una de las velocidades catalíticas más altas entre las enzimas antioxidantes, pues tan solo una molécula de enzima puede convertir 26 millones de moléculas de H_2O_2 en H_2O y O_2 por minuto (Garg y Manchanda, 2009). Esta oxidorreductasa desarrolla un importante papel en la eliminación del H_2O_2 generado en los peroxisomas por las oxidasas involucradas en la β -oxidación de los ácidos grasos, la fotorrespiración y el catabolismo de las purinas (Mittler 2002; Vellosillo *et al.*, 2010). Además, durante el estrés se desencadenan mecanismos de proliferación de los peroxisomas, con el incremento del contenido de enzimas CAT para regular los niveles de H_2O_2 que se difunde desde el citosol (López-Huertas *et al.*, 2000).

Las enzimas removedoras de EROs como la SOD y la CAT, desarrollan un papel fundamental en la desintoxicación de las células vegetales durante el

estrés. Sin embargo su acción ocurre en combinación con compuestos no enzimáticos de actividad redox, también esenciales en los procesos de desintoxicación (Asada, 1999; Ashraf and Foolad, 2007; Ceccarelli *et al.*, 2010). El ácido ascórbico, el glutatión, los fenoles, carotenoides y tocoferoles son algunos compuestos que intervienen en el sistema de defensa antioxidante de las plantas (Diaz-Vivancos *et al.* 2008) y constituyen también indicadores de la respuesta a estreses como la sequía (Ceccarelli *et al.*, 2010). Por otra parte, dentro de las respuestas de las plantas al bajo potencial hídrico se encuentra la acumulación de solutos osmóticamente compatibles (Tiwari *et al.*, 2017). Dentro de éstos la prolina es un componente importante con una amplia distribución en plantas, especialmente en condiciones estresantes como la sequía (Zandalinas *et al.*, 2018). La acumulación de este osmolito durante el déficit hídrico se asocia a dos procesos principales de ajuste metabólico, la estimulación de la síntesis y la disminución de los procesos de oxidación (Zegaoui *et al.*, 2017). A su vez, un enlentecimiento en la síntesis de proteína durante el estrés contribuye también a la acumulación de prolina (Zandalinas *et al.*, 2018). Este compuesto orgánico altamente soluble no posee carga a pH fisiológico y se almacena en altas concentraciones dentro de las células sin ser tóxico (Alam *et al.*, 2017). Actúa como estabilizador de proteínas, capturador de ERO, osmolito compatible, fuente de carbono y nitrógeno y en el mantenimiento del potencial redox celular (Zandalinas *et al.*, 2018). Teniendo como función añadida la capacidad para retardar la desnaturalización térmica de las enzimas y proteger las membranas celulares del ataque de los radicales hidroxilo (Yu *et al.*, 2017).

Uno de los objetivos comúnmente afectados por el estrés hídrico son precisamente los sistemas de membranas, que bajo condiciones normales desarrollan numerosos procesos de mantenimiento celular (Quiroga *et al.*, 2017). Las membranas biológicas poseen altas proporciones de ácidos grasos insaturados y están inmersas en un fluido que contiene metales y además es rico en oxígeno. Por lo que los lípidos de membrana son muy susceptibles al ataque peroxidativo (Mittler, 2002). La principal manifestación molecular del incremento en el estrés oxidativo es la peroxidación de los lípidos de membrana (Quiroga *et al.*, 2017). El deterioro de los lípidos conlleva a la pérdida de

integridad y fluidez de las membranas, afectando a su vez la función apropiada de sus proteínas, ya sea por un ataque directo de las EROs o por la pérdida de actividad debida a un ambiente desfavorable (Quiroga *et al.*, 2017). Un indicador de la peroxidación de los lípidos de membrana es la cuantificación de sus productos intermediarios y finales, como son el butanal, metanal heptanal, hexanal conocidos como otros aldehídos (OA) reactivos al ácido tiobarbitúrico y el malondialdehído (MDA). Siendo este último uno de los tres dialdehídos de carbono altamente reactivos producidos en los procesos de peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de membranas en su etapa terminal (Zandalinas *et al.*, 2018).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se desarrolló en las áreas de aclimatización del Centro de Bioplasmas, de la Universidad de Ciego de Ávila "Máximo Gómez Báez" (41°53'N, 78°41'W, 45 m.s.n.m) en los meses comprendidos de mayo a noviembre del 2017.

3.1 Generalidades del diseño experimental

En la presente tesis se desarrollaron dos experimentos en condiciones de invernadero con un diseño de tipo Completamente Aleatorizado con Arreglo Factorial. El primer ensayo fue direccionado a la caracterización del efecto del déficit hídrico en el desarrollo vegetativo y economía hídrica de los genotipos comerciales de soya Conquista y Munasqa RR. Mientras, el segundo experimento consistió en la caracterización del efecto del déficit hídrico en la respuesta antioxidante de dichos genotipos. Para ambos ensayos se evaluaron indicadores morfo-fisiológicos y bioquímicos asociados al crecimiento y respuesta a estrés en el tiempo.

3.2 Procedimiento experimental

3.2.1 Material vegetal

Para el desarrollo de los experimentos se utilizaron semillas provistas por el Banco de Semillas de la Empresa Agrícola Cubasoy de la Provincia de Ciego de Ávila (para el genotipo Conquista) y el Banco de Germoplasma del Programa de Mejoramiento Genético de la Soya (PMGS) de la Estación Experimental Agroindustrial "Obispo Colombes" (EEAOC) de la Provincia de Tucumán, Argentina (para el genotipo Munasqa RR). Las semillas se conservaron a 4°C y dos semanas previas al momento de su uso, se trataron con el Protector de Semillas Celest®Top 312 FS (Thiamethoxam + Fludioxonil + Difenconazol) a dosis de 0.192 L.la/kg de semilla (www.syngenta.com). Posteriormente se seleccionaron 500 semillas de cada genotipo para desarrollar los ensayos.

3.2.2 Inoculación, siembra e implementación del riego

En la inoculación con BDR se diluyeron en 100 mL de agua destilada 10 mL de solución bacteriana a 10^{-9} unidades formadoras de colonias (UFC) de

concentración. Luego las semillas, previamente embebidas en agua destilada por 20 min, se introdujeron en la solución bacteriana diluida por cuatro horas, a fin de lograr una adhesión reversible. Luego de retiradas de la solución de BDR se colocaron sobre papel de filtro y se dejaron secar a la sombra.

Las semillas fueron sembradas en bolsas de 36 cm de largo y 26 cm de ancho, con 5 kg de suelo ferralítico rojo de pH 6,62, que fue previamente fertilizado con superfosfato triple ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) a una dosis de 1,4 g/bolsa y sulfato de potasio (K_2SO_4) a una dosis de 1,25 g/bolsa. No se realizó fertilización nitrogenada para prevenir efectos inhibitorios en la simbiosis BDR-soya. Se realizaron dos riegos de acondicionamiento, 48 y 24 horas antes de la siembra de semillas. La siembra se realizó en horario de la mañana (8:30 am), colocando cinco semillas por bolsa a un centímetro de la superficie y recubiertas sin aplicar presión.

El riego se estableció a partir del cálculo del contenido de agua en el suelo estimado para cada maceta según (Pereyra-Irujo *et al.*, 2012). Para calcular el contenido de agua en el suelo de cada bolsa y la cantidad de agua a agregar con el fin de lograr el nivel hídrico deseado, se determinó el peso de cada bolsa vacía y del sustrato seco al comienzo del experimento y se estableció la relación matemática entre el porcentaje de disponibilidad de agua en suelo y el potencial hídrico (Richards, 1965). Todas las plantas se irrigaron cada dos días con 1 200 mL de agua por bolsa equivalente a un 22% de disponibilidad de agua en suelo. El déficit hídrico equivalente a un 15% de disponibilidad de agua en suelo se impuso por ocho días aplicando 600 mL de agua por bolsa cada dos días.

3.2.3 Manejo agronómico e indicadores evaluados

Desde la siembra de las semillas hasta la finalización del experimento, se evaluaron cada tres días las condiciones ambientales del invernadero del centro de Bioplasmas (Tabla 1). Para determinar la temperatura ambiental ($^{\circ}\text{C}$) y la Humedad Relativa (%) se utilizó el Termohigrómetro Digital TECPEL® modelo DTM- 303. Mientras que para la Temperatura foliar ($^{\circ}\text{C}$) se utilizó la Pistola de Rayos Infrarrojos FLUKE 62 Mini. Todas las determinaciones se realizaron en el rango de las 9:00 a 10:00 horas.

Tabla 1. Variables ambientales evaluadas en los ensayos de caracterización del efecto del déficit hídrico en el crecimiento vegetativo, economía hídrica y actividad antioxidante de los genotipos de soya Conquista y Munasqa RR en condiciones de invernadero.

HE	TA (°C)	HR (%)	TF (°C)		IL ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)
9:00 - 10:00	32,38	71,8	Munasqa 28,96	Conquista 29,11	1 555

Cada dato representa la media del total de mediciones desarrolladas para cada planta y tratamiento durante treinta y ocho días $n=400$. **HE**: hora de evaluación; **TA**: temperatura ambiental; **HR**: humedad relativa; **TF**: temperatura foliar; **IL**: intensidad lumínica.

Cuando las plantas de los genotipos Conquista y Munasqa RR alcanzaron el estadio vegetativo V2, representado por la expansión completa de la hoja del primer nudo trifoliado (Fehr *et al.*, 1971), fueron reducidas a dos plantas por bolsa. Al arribar al estadio fenológico V3 (expansión completa de la hoja del segundo nudo trifoliado) se dio inicio al ensayo. Las realizó una aleatorización semanal de las bolsas a fin de reducir el error experimental dado por el ambiente.

Para los dos ensayos realizados se utilizaron plantas de los genotipos Conquista y Munasqa RR crecidas hasta fase V3 y distribuidas en los siguientes cuatro tratamientos: **1)** Conquista con riego, **2)** Munasqa RR con riego, **3)** Conquista con déficit hídrico y **4)** Munasqa RR con déficit hídrico. Se definieron tres tiempos de evaluación para el primer experimento (caracterización del efecto del déficit hídrico en el crecimiento vegetativo y economía hídrica): 1) **0d**: imposición del déficit hídrico, 2) **4d**: cuarto día de déficit hídrico y 3) **8d**: octavo día de déficit hídrico. Para el segundo experimento (caracterización del efecto del déficit hídrico en la actividad antioxidante) se definieron también tres tiempos de evaluación relacionados a la detección temprana de los indicadores: 1) **0h**: imposición del déficit hídrico, 2) **48h**: segundo día de déficit hídrico y 3) **96h**: cuarto día de in déficit hídrico.

Para el ensayo de caracterización del efecto del déficit hídrico en el crecimiento vegetativo y economía hídrica de los genotipos Conquista y Munasqa RR, se evaluaron quince plantas por tratamiento y tiempo de muestreo (180 plantas totales). Para cada tiempo de evaluación se colectaron y etiquetaron plantas

completas, a fin de utilizarlas en evaluaciones de los siguientes indicadores destructivos:

- 1. Duración de la Biomasa (DB):** Se calcula según el método de Hunt (1978) $BD = PS_T / (t_2 - t_1)$. Donde PS_T = peso seco total por tratamiento y genotipo; $t_2 - t_1$ = periodo de días entre las observaciones. Se expresa en gramos de peso seco total por día (gPS/día).
- 2. Eficiencia en el uso del agua (EUA) en función de la biomasa:** Se calculó a partir del protocolo de $PS (g) / AR$. Donde PS = peso seco de la muestra; AR = agua de riego (m^3). Se expresa en gramos de peso seco total por metro cúbico de agua de riego (gPS/ m^3 de agua de riego).

Para el ensayo de caracterización del efecto del déficit hídrico en la actividad antioxidante de los genotipos Conquista y Munasqa RR se evaluaron diez plantas por tratamiento y tiempo de evaluación (120 plantas totales). Para cada tiempo de evaluación se colectaron discos de todas las hojas y peciolo, que fueron posteriormente triturados con nitrógeno líquido y alicuotados en tubos eppendorf etiquetados y conservados a $-20^\circ C$ hasta la evaluación de los siguientes indicadores destructivos:

- 1. Contenido de Prolina Libre:** Se calcula según el método de (Bates *et al.*, 1973) con las siguientes modificaciones: a 0.07 g de tejido vegetal se le adicionaron 1.4 ml de ácido sulfosalicílico al 3% (m/v), calentándose a $100^\circ C$ durante 15 minutos. Posteriormente, se enfrió en baño de agua corriente y se centrifugó a 10000 g por dos minutos. Se extrajo 1 mL del sobrenadante y se adicionó 1 mL de Ninhidrina en medio ácido y 1 mL ácido acético glacial, respectivamente. La mezcla anterior fue calentada a $100^\circ C$ durante 45 minutos y luego se enfrió en hielo para terminar la reacción. A continuación, se adicionaron 2 mL de tolueno, se agitó vigorosamente en vórtex y se dejó reposar durante 5 minutos para extraer el producto de reacción. Se leyó la absorbancia a 520 nm utilizando como blanco el tolueno. El contenido de Prolina Libre se determinó por una curva de calibración previamente realizada con concentraciones conocidas de este aminoácido disuelto en tolueno. Se

expresa en microgramos de prolina por miligramo de material vegetal fresco ($\mu\text{g Pro/mg MF}$).

2. **Contenido de Malondialdehído (MDA)** según (Wang *et al.*, 2009) y **otros aldehídos (OA)** como el propanal, butanal, hexanal, heptanal y propanal-dimetilacetal según el método de (Heath and Packer, 1968). Se expresa en micromoles por miligramo de material vegetal fresco ($\mu\text{mol/mgPF}$).

Para la evaluación de los indicadores enzimáticos se realizó un método de **extracción enzimática uniforme** (Liu *et al.*, 2010; Singh *et al.*, 2014) y se cuantificó el **contenido de proteínas solubles** mediante el método Bradford (1976).

1. **Actividad enzimática y específica de la Superóxido Dismutasa (SOD; EC 1.15.1.1)** por el método de autoxidación del Pirogalol según Ma *et al.* (2009). La actividad enzimática se expresa en micromoles de anión superóxido por gramo de material vegetal fresco por minuto ($\mu\text{mol O}_2^- \text{ gPF min}^{-1}$). La actividad específica se expresa en unidades de enzima por miligramo de proteína (U/mgProt).
2. **Actividad enzimática y específica de la Catalasa (CAT; EC 1.11.1.6)** según el protocolo de (Chance and Maehly, 1965). La actividad enzimática se expresa en micromoles de peróxido de hidrógeno por gramo de material vegetal fresco por minuto ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ gPF min}^{-1}$). La actividad específica se expresa en unidades de enzima por miligramo de proteína (U/mgProt).

3.3 Procesamiento estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico InfoStat (StatSoft, Inc. 2018) y para la elaboración de gráficos y tablas se utilizó el programa SigmaPlot. Para comprobar los supuestos de ajuste a la distribución normal de los datos de cada tratamiento y homocedasticidad se aplicaron las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Levene respectivamente. Se realizó análisis paramétrico de todos los datos puesto que cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza. Las diferencias estadísticas entre los tratamientos se determinaron mediante la realización de ANOVA y la prueba de HSD para un intervalo de confianza de un 95% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Efecto del déficit hídrico en el crecimiento y economía hídrica de la soya (*Glycine max* (L.) Merrill)

4.1.1 Efecto del déficit hídrico en la Duración de la Biomasa (DB)

La DB de los genotipos de soya Conquista y Munasqa RR presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y tiempos de evaluación (Figura 1).

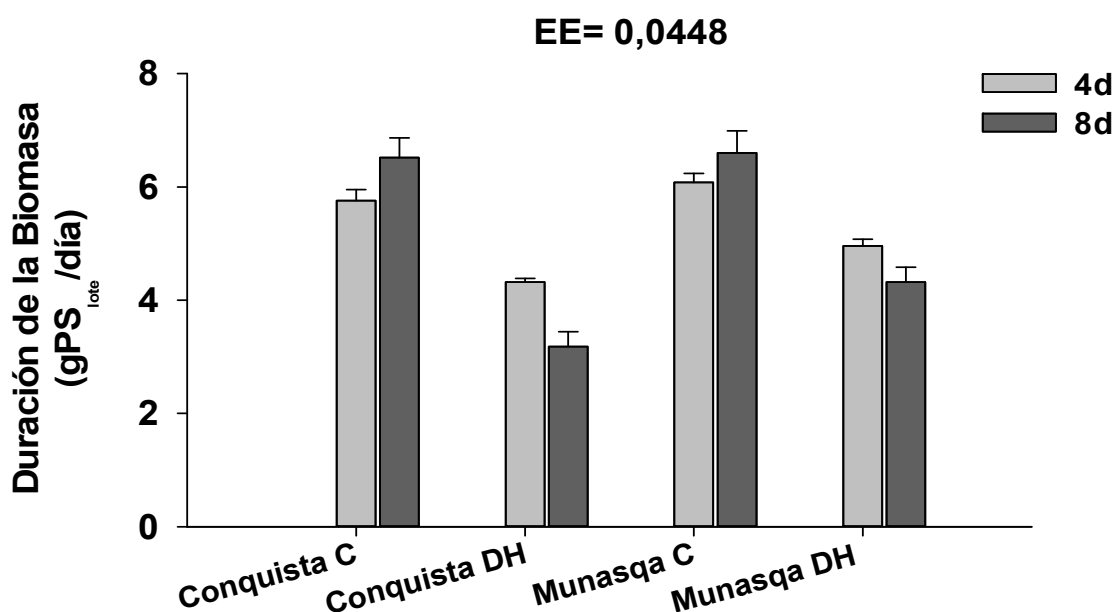


Figura 1. Efecto del déficit hídrico en la Duración de la Biomasa de 180 plantas de los genotipos de soya Conquista y Munasqa RR crecidos en invernadero hasta fase V3 a 32°C y fotoperiodo de 12 h luz. Se definieron cuatro tratamientos: **1)** Conquista con riego (**Conquista C**), **2)** Munasqa RR con riego (**Munasqa C**), **3)** Conquista con déficit hídrico (**Conquista DH**) y **4)** Munasqa RR con déficit hídrico (**Munasqa DH**). Muestras tomadas aleatoriamente en tres tiempos: 1) **0d**: imposición del déficit hídrico, 2) **4d**: cuarto día de déficit hídrico y 3) **8d**: octavo día de déficit hídrico. (ANOVA, HSD $p > 0.05$).

Las plantas del tratamiento control mostraron valores superiores de DB a los cuantificados en el tratamiento de las plantas sometidas a déficit hídrico, siendo Munasqa RR superior a Conquista con diferencias significativamente bajas. Para ambos genotipos los valores fueron superiores al octavo día de evaluación, donde hubo una disminución de la DB en las plantas sometidas a déficit hídrico donde los valores de Conquista son similares a los de Munasqa RR. Sin embargo, Munasqa RR presentó una DB significativamente alta en

comparación con Conquista en los dos tiempos de evaluación. Resultado que sugiere que el déficit hídrico disminuye la DB en el tiempo, afectando con mayor intensidad al genotipo Conquista.

Para analizar el crecimiento de las plantas se han evaluado una amplia variedad de parámetros, como la tasa de crecimiento relativo, la tasa de asimilación neta, la tasa de crecimiento de los cultivos y la duración de la biomasa (Hunt, 1982). La DB contrasta con el resto de los parámetros en función del tiempo, por lo que constituye un buen indicador del funcionamiento total de una población durante un período de tiempo (Hozumi, 1989). La primera referencia de la DB fue la duración del área foliar, siendo más importante que la tasa de asimilación neta para determinar el rendimiento de algunos cultivos (Watson, 1947; Watson, 1952). Otros autores demostraron que la DB de la raíz se relaciona estrechamente con la tasa de mortalidad de algunos cultivos, como por ejemplo el durazno en condiciones de invernadero. Además, se demostró que el índice de área foliar multiplicado por el período de crecimiento en meses por año presentaba una correlación positiva con la producción de biomasa anual en varios tipos de rodales forestales (Kira and Shidei, 1967). La DB también se define como un concepto análogo al de duración del área foliar y ambos indicadores se definen como un valor integral de la biomasa o el índice de área de la hoja durante un período de tiempo, proporcionando una expresión aproximada y útil de la vitalidad de una planta o un conjunto de plantas (Kvet and Ondok, 1971). Además, la DB proporciona una medida exacta de la respiración nocturna total de una planta con respecto al tiempo (Ninomiya and Hozumi, 1983). Por otra parte, es un estudio desarrollado en *Cryptomeria japonica* se demostró que la tasa de mortalidad anual de las partes aéreas se correlaciona con la DB de dichas partes aéreas (Miyaura and Hozumi, 1993). La DB permite analizar el crecimiento de un cultivo, que en condiciones de déficit hídrico regula de formas diversas su metabolismo primario. La duración de la biomasa en condiciones de baja disponibilidad de agua es un indicador robusto, utilizado para diferenciar genotipos con mayor y menor grado de tolerancia a dicho estrés (Ali *et al.*, 2015).

En los cultivares Munasqa RR y Conquista se evidencian diferencias en la capacidad de sintetizar y estabilizar el contenido de biomasa durante ocho días

de déficit hídrico. En el caso de Munasqa RR, mayores valores de DB en condiciones de sequía indican la capacidad de esta variedad para mantener los procesos de crecimiento en condiciones de baja disponibilidad hídrica, siendo este un rasgo de tolerancia a dicho estrés. En concordancia con estos resultados, la evaluación de la DB en plantas de Brassica (Singh *et al.*, 1998), arroz (Saxena *et al.*, 2002), garbanzo (Gunes *et al.*, 2008), caupí (Agbicodo *et al.*, 2009) y *Sesbania sesban* (L. Merrill.) sometidas a déficit hídrico permitió diferenciar variedades tolerantes y susceptibles a dicho estrés.

4.1.2 Efecto del déficit hídrico en la eficiencia en el uso del agua (EUA)

En la Figura 2 se presenta la EUA (gPS/m³ de agua de riego) de los genotipos de soya Conquista y Munasqa RR, entre los cuales se observaron diferencias significativas para los tratamientos y tiempos de evaluación.

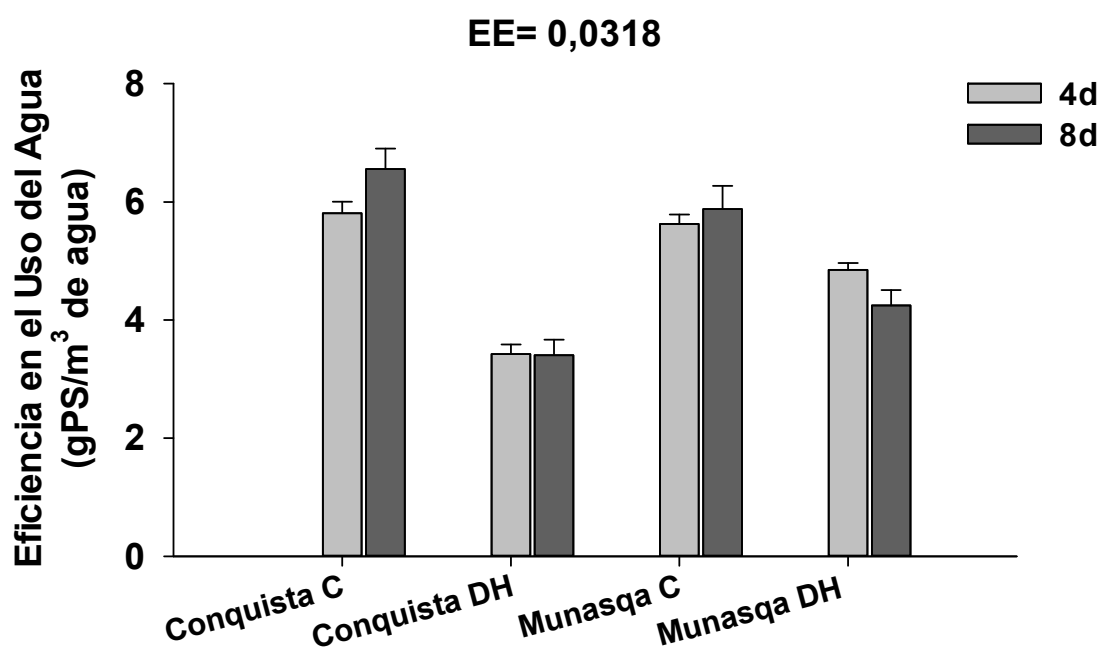


Figura 2. Efecto del déficit hídrico en la eficiencia en el uso del agua de 180 plantas de los genotipos de soya Conquista y Munasqa RR crecidos en invernadero hasta fase V3 a 32°C y fotoperiodo de 12 h luz. Se definieron cuatro tratamientos: **1) Conquista con riego (Conquista C)**, **2) Munasqa RR con riego (Munasqa C)**, **3) Conquista con déficit hídrico (Conquista DH)** y **4) Munasqa RR con déficit hídrico (Munasqa DH)**. Muestras tomadas aleatoriamente en tres tiempos: 1) **0d**: imposición del déficit hídrico, 2) **4d**: cuarto día de déficit hídrico y 3) **8d**: octavo día de déficit hídrico. (ANOVA, HSD $p > 0.05$).

En el tratamiento control, la EUA de Conquista es relativamente superior a Munasqa RR, donde las mayores diferencias se registraron al cuarto día de evaluación. Sin embargo, en el tratamiento con déficit hídrico Munasqa presenta valores de EUA superiores a Conquista, principalmente al cuarto día de inducido el déficit hídrico. La EUA, es un indicador robusto que representa el consumo hídrico de una planta en función de la producción de biomasa. En condiciones de déficit hídrico, mayores valores de EUA indican la capacidad de la plantas para producir biomasa utilizando menor cantidad de agua, por lo que es posible presuponer que el cultivar Munasqa RR en condiciones de sequía regula de manera más eficiente los mecanismos de economía hídrica.

La producción de biomasa en cualquier cultivo o comunidad vegetal está fuertemente determinada por la cantidad de agua disponible en el suelo y es dependiente tanto de la fotosíntesis como del consumo de agua por transpiración. Por lo que la EUA de las plantas puede entenderse también como el volumen de agua que éstas necesitan evapotranspirar para incorporar a su biomasa una determinada cantidad de carbono proveniente de la atmósfera, en la que se encuentra en forma de CO₂ (Medrano Gil *et al.*, 2007).

A partir de los resultados obtenidos es posible sugerir que Munasqa RR bajo sequía tiene una mayor asimilación de carbono y una menor tasa de evapotranspiración hídrica, rasgo fisiológico que contribuye a reforzar el carácter tolerante de esta variedad en condiciones de déficit hídrico. En concordancia con nuestros resultados, autores relacionan la tolerancia a la sequía con mayor valores de EUA en variedades de haba (*Vicia faba* L.) (Medrano Gil *et al.*, 2007; Pichardo-Riego *et al.*, 2013). También en evaluaciones sobre la EUA en cultivares de cacao (*Theobroma cacao*) se correlacionó el incremento en los valores de dicho indicador con la tolerancia a diferentes condiciones hídricas (Tezara *et al.*, 2008).

4.3 Efecto del déficit hídrico en la actividad antioxidante de la soya (*Glycine max* (L.) Merrill)

4.3.1 Efecto del déficit hídrico en el contenido de Prolina Libre

Al evaluar el contenido endógeno de metabolitos antioxidantes no enzimáticos como el aminoácido de prolina libre, se registraron diferencias significativas entre los tratamientos y genotipos Conquista y Munasqa RR en el tiempo (Figura 3).

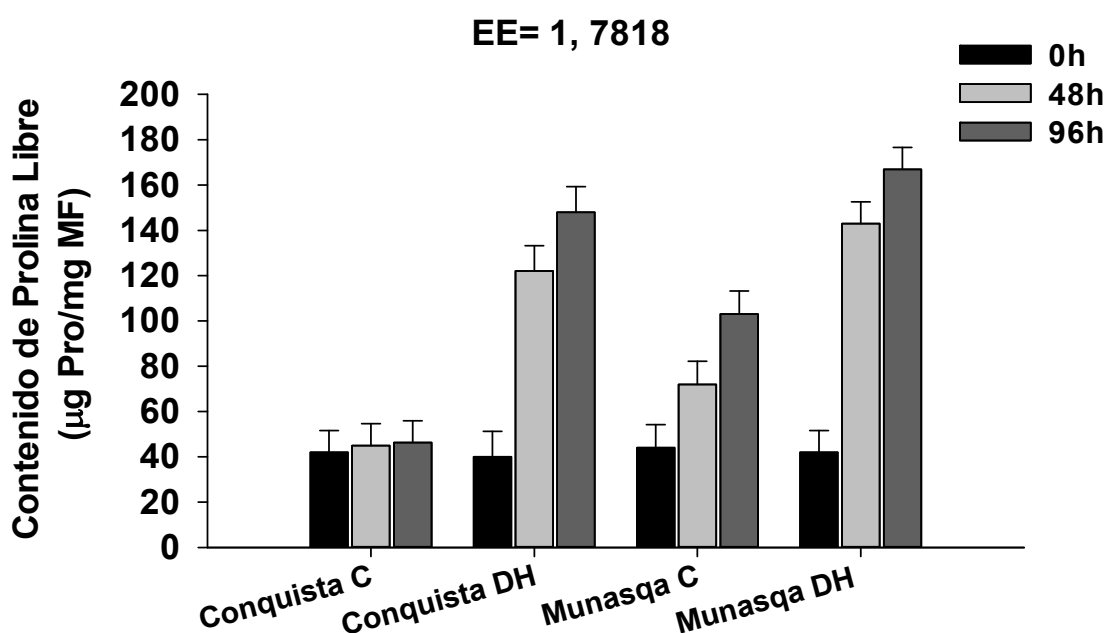


Figura 3. Efecto del déficit hídrico en el contenido de Prolina libre de 120 plantas de los genotipos de soya Conquista y Munasqa RR crecidos en invernadero hasta fase V3 a 32°C y fotoperiodo de 12 h luz. Se definieron cuatro tratamientos: 1) Conquista con riego (**Conquista C**), 2) Munasqa RR con riego (**Munasqa C**), 3) Conquista con déficit hídrico (**Conquista DH**) y 4) Munasqa RR con déficit hídrico (**Munasqa DH**). Muestras tomadas aleatoriamente en tres tiempos: 1) **0h**: imposición del déficit hídrico, 2) **48h**: segundo día de déficit hídrico y 3) **96h**: cuarto día de déficit hídrico. (ANOVA, HSD $p > 0.05$).

No se observaron diferencias significativas en las plantas evaluadas al inicio del experimento. El contenido endógeno de prolina libre en el tratamiento control es significativamente menor en las plantas del genotipo Conquista en comparación a las del genotipo Munasqa RR, indicando que en este último ocurren procesos de acumulación del aminoácido en condiciones de buen riego.

La acumulación de prolina es considerada una estrategia adaptativa que confiere tolerancia a numerosos tipos de estrés, sin embargo, en condiciones normales (no estresantes) el incremento en el contenido endógeno del aminoácido ocurre no como osmolito compatible, sino como fuente de almacenamiento de esqueletos carbonados y nitrógeno fácilmente reconvertibles en precursores como el glutamato y ornitina (Hare and Cress, 1997). Por lo que el incremento de los niveles endógenos de prolina en las plantas de Munasqa RR bajo condiciones de buen riego, podría estar relacionado con mecanismos de almacenamiento de compuestos nitrogenados y esqueletos carbonados, o con una respuesta a una condición estresante.

Por otra parte en condiciones de déficit hídrico los resultados evidencian la acumulación de prolina en el tiempo para ambos genotipos, siendo mayor en las plantas de Munasqa RR. Comportamiento que indica que este genotipo tiene una mayor capacidad para sintetizar este aminoácido en respuesta a la sequía.

La síntesis de prolina en plantas es un mecanismo adaptativo de tolerancia a estrés al ser un osmolito compatible (Hare and Cress, 1997). Estudios *in vitro* desarrollados en condiciones de sequía, evidenciaron que los incrementos en el contenido de prolina se asocian con mecanismos de degradación de EROs (Smirnoff and Cumbes, 1989). Otra de las funciones de este aminoácido es la de molécula chaperona estabilizadora de proteínas, contribuyendo además al equilibrio del pH citosólico y el balance redox, es también considerada una molécula señalizadora de la respuesta a estrés (Maggio *et al.*, 2002).

La acumulación de prolina durante estrés osmótico causado por sequía está asociada al incremento de la biosíntesis y reducción de la degradación de este aminoácido, comportamiento que ha sido corroborado por numerosos estudios desarrollados en *Arabidopsis thaliana* (Hua *et al.*, 2001; Fabro *et al.*, 2004; Székely *et al.*, 2008). En estudios desarrollados en plantas transgénicas de soya que sobreexpresan el gen *P5CR* de *A. thaliana* se informaron incrementos en la tolerancia a estrés hídrico y calórico en comparación con cultivares no transformados (De Ronde *et al.*, 2000; De Ronde *et al.*, 2004). En plantas de caupí sometidas a déficit hídrico, se reportaron incrementos significativos de prolina que propiciaron el ajuste osmótico (Lobato *et al.*, 2008). No obstante,

para algunos autores, el aumento en el contenido de prolina, no está claro si contribuye al ajuste osmótico, dado que su papel en caupí ha sido reportado como síntoma de lesiones en las hojas (Cardona-Ayala, 2013).

4.3.2 Efecto del déficit hídrico en el contenido de Malondialdehído (MDA) y otros aldehídos (OA).

En cuanto los productos primarios de la peroxidación lipídica Malondialdehído (MDA) y otros aldehídos (OA) tales como el propanal, butanal, hexanal, heptanal y propanal-dimetilacetal se aprecian diferencias significativas entre los tratamientos y genotipos en el tiempo (Figura 4).

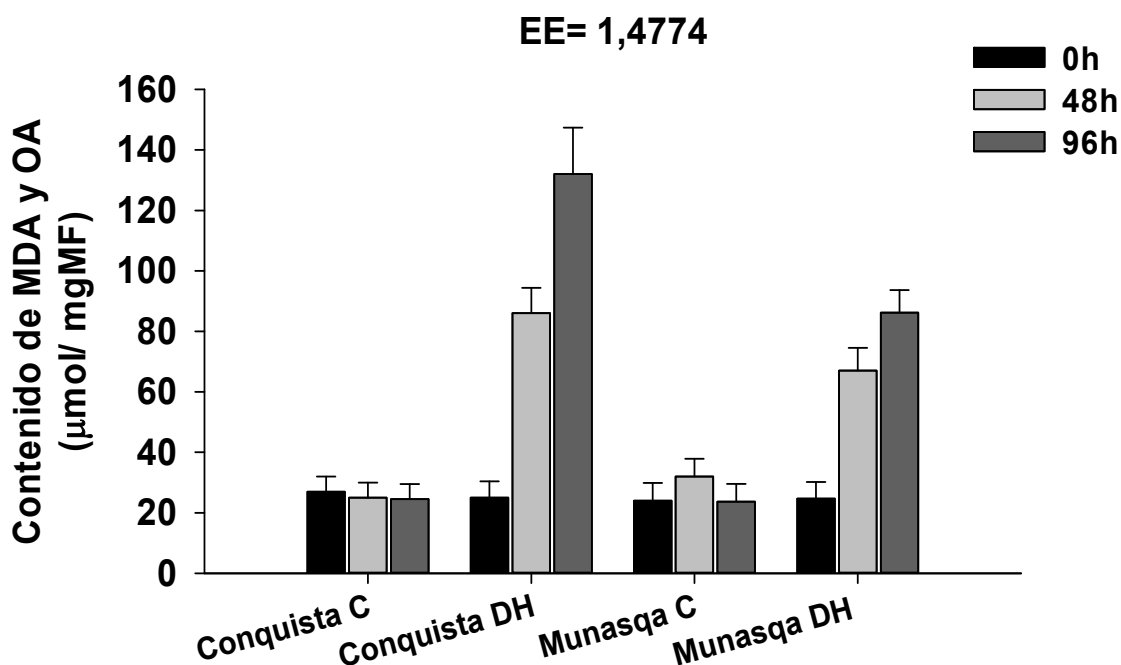


Figura 4. Efecto del déficit hídrico en el contenido de Malondialdehído (MDA) y otros aldehídos (OA) de 120 plantas de los genotipos de soya Conquista y Munasqa RR crecidos en invernadero hasta fase V3 a 32°C y fotoperiodo de 12 h luz. Se definieron cuatro tratamientos: **1) Conquista con riego (Conquista C)**, **2) Munasqa RR con riego (Munasqa C)**, **3) Conquista con déficit hídrico (Conquista DH)** y **4) Munasqa RR con déficit hídrico (Munasqa DH)**. Muestras tomadas aleatoriamente en tres tiempos: 1) **0h**: imposición del déficit hídrico, 2) **48h**: segundo día de déficit hídrico y 3) **96h**: cuarto día de déficit hídrico. (ANOVA, HSD $p > 0.05$).

En el tratamiento control las plantas de Conquista presentaron bajo contenido de MDA y OA. Mientras en Munasqa RR presentó un ligero aumento en el segundo tiempo de evaluación. El MDA constituye el metabolito primario

resultante de la peroxidación lipídica de las membranas celulares y es promotor de la formación de otros aldehídos (Møller, 2001). De esta forma, la peroxidación lipídica, determinada a partir de los valores de MDA y OA, está relacionada con los niveles de actividad antioxidante en las células vegetales, siendo un buen indicador de la producción de EROs (Bandeoğlu *et al.*, 2004; Cavalcanti *et al.*, 2007). Por lo que el incremento significativo de estos compuestos en plantas del genotipo Munasqa RR en condiciones óptimas de riego, podría indicar la producción de EROs por procesos como la fotosíntesis o el aumento de la fluidez de la membrana plasmática.

En el tratamiento con déficit hídrico los niveles de MDA y OA aumentan en el tiempo para ambos genotipos. Registrándose los mayores incrementos en las plantas de Conquista. Comportamiento que indica una mayor peroxidación lipídica en este genotipo y puede asociarse con una mayor susceptibilidad al estrés.

El MDA constituye el metabolito primario de la respuesta de las plantas a un estrés como resultado de la peroxidación lipídica en las membranas (Møller, 2001), por lo que incrementos de MDA y OA en condiciones de estrés constituyen indicadores directos del daño ocasionado por dichas condiciones. La acumulación paulatina de MDA y OA en el tiempo, se ha correlacionado con el incremento en la severidad de un (Hashem A, 2014; Shahid. *et al.*, 2014). Sin embargo, después de cierto nivel, la acumulación de estos compuestos es considerado un indicador de la muerte celular.

Nuestros resultados indican que el genotipo Munasqa RR en comparación con Conquista, tiene una mayor capacidad para regular la acumulación de ERO y por ende la peroxidación lipídica ocasionada por las mismas en diversos compartimientos celulares, en condiciones de sequía. Comportamiento que indica la mayor tolerancia a déficit hídrico de este genotipo. En concordancia, varios estudios relacionan el incremento del contenido de MDA y OA con la susceptibilidad a la sequía; es el caso de las investigaciones desarrolladas en plantas de tomate (Yuan *et al.*, 2010), maíz (McHugh M, 2013), *Ailanthus altissima* (Miller) (Filippou *et al.*, 2014) y tamarindo rosa (*Tamarix chinensis* Lour.) (Liu *et al.*, 2014b).

4.3.3 Efecto del déficit hídrico en la actividad enzimática y específica de la Superóxido Dismutasa (SOD)

Al evaluar la actividad enzimática y específica de la SOD en los genotipos Conquista y Munasqa RR se observan diferencias significativas en los tratamientos y genotipos estudiados (Figura 5).

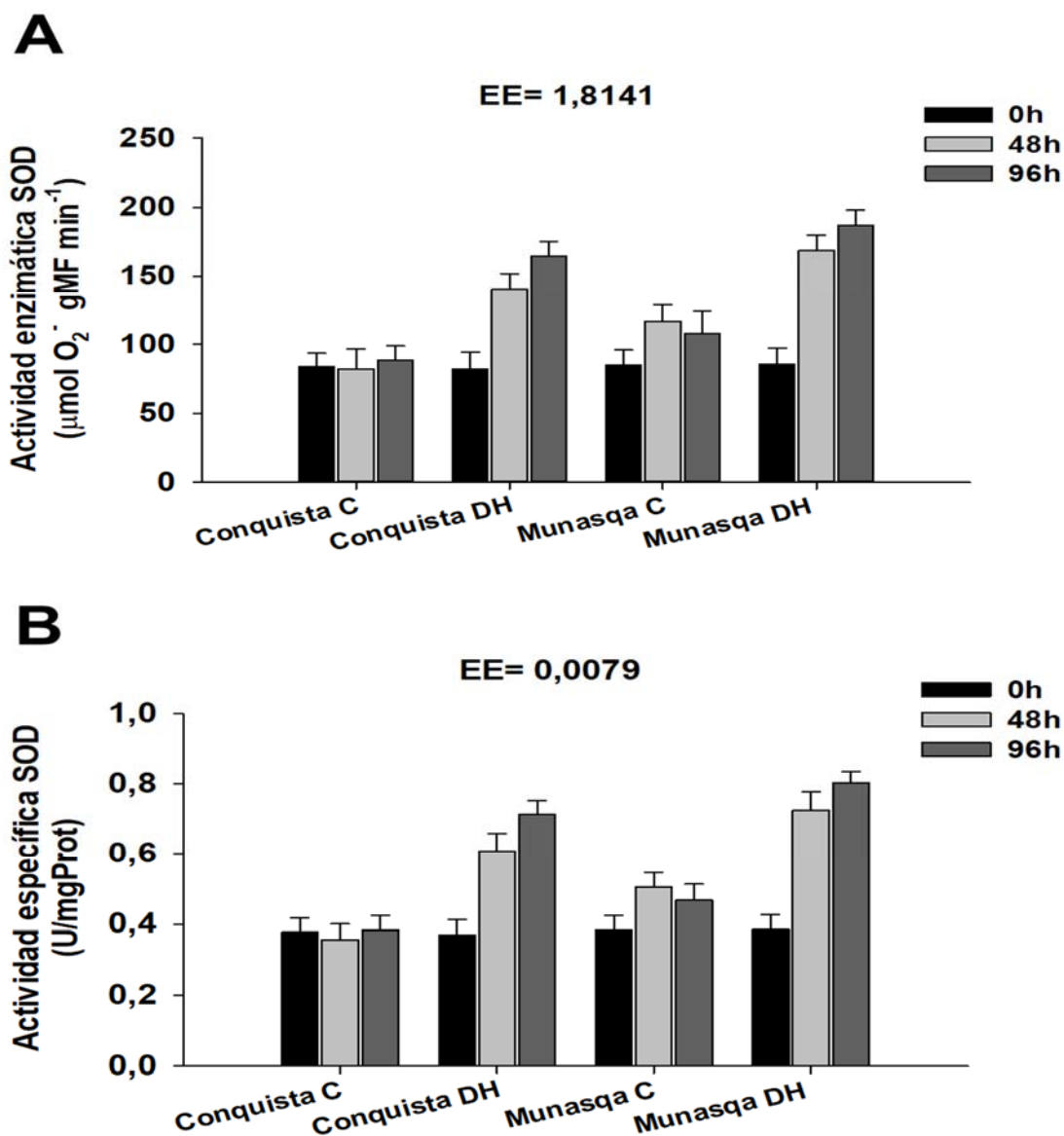


Figura 5. Efecto del déficit hídrico en la actividad enzimática (A) y específica (B) de la Superóxido Dismutasa (SOD) de 120 plantas de los genotipos de soya Conquista y Munasqa RR crecidos en invernadero hasta fase V3 a 32°C y fotoperiodo de 12 h luz. Se definieron cuatro tratamientos: **1)** Conquista con riego (**Conquista C**), **2)** Munasqa RR con riego (**Munasqa C**), **3)** Conquista con déficit hídrico (**Conquista DH**) y **4)** Munasqa RR con déficit hídrico (**Munasqa DH**). Muestras tomadas aleatoriamente en tres tiempos: **1) 0h:** imposición del déficit hídrico, **2) 48h:** segundo día de déficit hídrico y **3) 96h:** cuarto día de déficit hídrico. (ANOVA, HSD $p > 0.05$).

En el tratamiento control no se observaron diferencias significativas de la actividad SOD en las plantas de Conquista. Mientras Munasqa presentó un aumento significativo a partir del cuarto día de ensayo, observándose un ligero descenso al octavo día. Comportamiento que indica la acumulación de EROs como el radical superóxido en las plantas de Munasqa RR bajo buenas condiciones de riego.

Por otra parte, en condiciones de déficit hídrico ambos genotipos evidenciaron un incremento en la actividad enzimática y específica de la SOD. Siendo Munasqa RR el que presentara los mayores valores de actividad al cuarto y octavo día de inducido el estrés. Este comportamiento indica que las plantas de Munasqa RR producen mayor cantidad de radicales superóxido que las de Conquista, probablemente como parte del estallido oxidativo que se desencadena en condiciones de estrés. En concordancia, varios autores han relacionado el incremento de radicales superóxido, sustrato de la SOD, con una respuesta oxidativa incrementada en plantas de lupino (*Lupinus angustifolius* L.) (Yu and Rengel, 1999), remolacha (*Beta vulgaris* L.) (Bor *et al.*, 2003; Sen and Alikamanoglu, 2013), garbanzo (*Cicer arietinum* L.) (Sheokand *et al.*, 2008), mostaza castaña (*Brassica juncea* L.) (Kumar *et al.*, 2013), tamarindo (Liu *et al.*, 2014b) y *Fargesia denudata* (Franch.) (Liu *et al.*, 2014a) tolerantes a la sequía.

4.3.4 Efecto del déficit hídrico en la actividad enzimática y específica de la Catalasa (CAT)

Al analizar la actividad enzimática y específica de la CAT se observaron diferencias significativas entre los genotipos, tratamientos y tiempos evaluados (Figura 6). Las plantas de Conquista y Munasqa RR en el tratamiento control no registraron modificaciones significativas en la actividad de esta enzima. Sin embargo, en el tratamiento de estrés se evidenció un incremento de la actividad CAT en el genotipo Conquista a partir del cuarto día de inducción del déficit hídrico y posteriormente se registró un descenso al octavo día de estrés. Por otra parte, el genotipo Munasqa RR no exhibió alteraciones significativas en la actividad enzimática y específica de esta enzima en condiciones de baja disponibilidad hídrica.

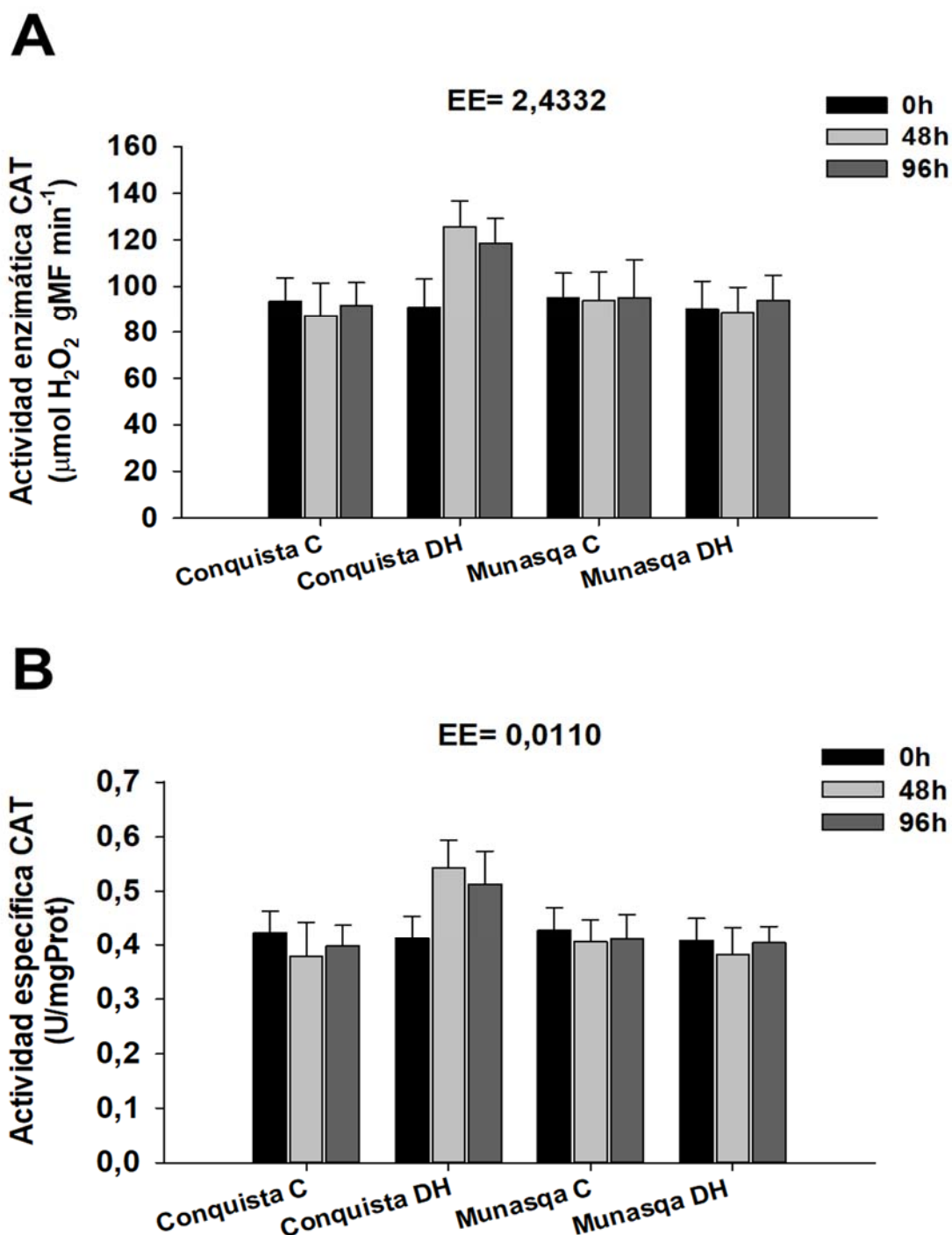


Figura 6. Efecto del déficit hídrico en la actividad enzimática (A) y específica (B) de la Catalasa (CAT) de 120 plantas de los genotipos de soya Conquista y Munasqa RR crecidos en invernadero hasta fase V3 a 32°C y fotoperiodo de 12 h luz. Se definieron cuatro tratamientos: 1) Conquista con riego (**Conquista C**), 2) Munasqa RR con riego (**Munasqa C**), 3) Conquista con déficit hídrico (**Conquista DH**) y 4) Munasqa RR con déficit hídrico (**Munasqa DH**). Muestras tomadas aleatoriamente en tres tiempos: 1) **0h**: imposición del déficit hídrico, 2) **48h**: segundo día de déficit hídrico y 3) **96h**: cuarto día de déficit hídrico. (ANOVA, HSD $p > 0.05$).

La CAT es una enzima oxidorreductasa que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en oxígeno y agua, se localiza en los peroxisomas y pueden desarrollar actividad peroxidasa para muchas sustancias orgánicas, aunque su principal función radica en la etapa intermedia del proceso de fotorrespiración. En este proceso metabólico, la CAT es la mayor enzima antioxidante vinculada a la remoción del H_2O_2 generado a través del ciclo del glioxalato (Yong *et al.*, 2013).

Las plantas del genotipo Munasqa RR no presentaron alteraciones en la actividad enzimática y específica de esta enzima en condiciones de déficit hídrico, comportamiento que está directamente relacionado con una mayor tolerancia a dicho estrés. Ante la ocurrencia de un estrés oxidativo significativo la remoción del H_2O_2 no puede ocurrir de manera compartimentada por lo que las enzimas CAT no solo degradan el proveniente de la fotorrespiración, sino que actúan de manera acoplada al sistema enzimático de remoción del H_2O_2 , compuesto por las enzimas del ciclo Ascorbato-Glutatión, numerosas peroxidasas de paredes celulares y reductoras de compuestos fenólicos (Mittler, 2002). Por otra parte, el incremento de actividad CAT observado en el genotipo Conquista en el segundo momento de evaluación podría estar ocasionado por el acoplamiento de esta enzima al sistema de remoción de H_2O_2 , comportamiento que podría indicar la una menor eficiencia en la respuesta a estrés hídrico en este genotipo. Es de destacar, que aunque las plantas de Munasqa RR presentaron los mayores incrementos de actividad SOD y por ende de producción de H_2O_2 , dichas plantas no registraron variaciones de actividad CAT, por lo que es posible inferir en que en condiciones de déficit hídrico i) los procesos asociados a la fotorrespiración se encuentran fuertemente regulados y conjuntamente con ii) otros mecanismos de remoción de H_2O_2 altamente eficientes.

La activación de la CAT, en condiciones de estrés hídrico, ha sido relacionada con una mayor susceptibilidad, por ser considerada una enzima capaz de censurar el desbalance redox (Asada, 1999; Ichimura *et al.*, 2002; Foyer and Noctor, 2005; Gill and Tuteja, 2010; Miller *et al.*, 2010; Krasensky and Jonak, 2012).

5. CONCLUSIONES

Las plantas de los genotipos de soya Conquista y Munasqa RR evaluadas en condiciones de déficit hídrico presentaron una respuesta diferencial al estrés. Siendo Munasqa RR el genotipo con mecanismos de tolerancia a la sequía más eficientes, evidenciado a través del mantenimiento de los procesos de crecimiento, economía hídrica y respuesta antioxidante.

6. RECOMENDACIONES

Repetir estos experimentos en condiciones de campo y llegar hasta la etapa reproductiva para conocer los rendimientos los genotipos de soya Conquista y Munasqa RR en condiciones de déficit hídrico.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agbicodo, E., Fatokun, C., Muranaka, S., Visser, R.J.E., 2009. Breeding drought tolerant cowpea: constraints, accomplishments, and future prospects. 167, 353-370.
2. Al Hassan, M., Morosan, M., López-Gresa, M., Prohens, J., Vicente, O., Boscaiu, M., 2016. Salinity-induced variation in biochemical markers provides insight into the mechanisms of salt tolerance in common (*Phaseolus vulgaris*) and runner (*P. coccineus*) beans. *International journal of molecular sciences* 17, 1582.
3. Alam, R., Das, D., Islam, M., Murata, Y., Hoque, M., 2017. Exogenous proline enhances nutrient uptake and confers tolerance to salt stress in maize (*Zea mays* L.). *Progressive Agriculture* 27, 409-417.
4. Ali, Z., Ashraf, M., Qurainy, F., Khan, M.J.P.J.o.B., 2015. Appraising drought tolerance in local accessions of sesbania (*Sesbania sesban* (L.) merril.) using biomass production, relative membrane permeability and photosynthetic capacity as selection criteria. 47, 845-850.
5. Asada, K., 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual review of plant biology* 50, 601-639.
6. Ashraf, M., Foolad, M., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59, 206-216.
7. Bandoğlu, E., Eyidoğan, F., Yücel, M., Öktem, H.A., 2004. Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. *Plant Growth Regulation* 42, 69-77.
8. Bartels, D., Souer, E., 2004. *Molecular responses of higher plants to dehydration*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin.
9. Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil* 39, 205-207.
10. Bor, M., Özdemir, F., Türkan, I., 2003. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. *Plant Science* 164, 77-84.
11. Campos, H., Cooper, M., Habben, J., Edmeades, G., Schussler, J., 2004. Improving drought tolerance in maize: a view from industry. *Field crops research* 90, 19-34.
12. Cavalcanti, F.R., Lima, J.P.M.S., Ferreira-Silva, S.L., Viégas, R.A., Silveira, J.A.G., 2007. Roots and leaves display contrasting oxidative response during salt stress and recovery in cowpea. *Journal of plant physiology* 164, 591-600.
13. Ceccarelli, S., Grando, S., Maatougui, M., Michael, M., Slash, M., Haghparast, R., Rahmanian, M., Taheri, A., Al-Yassin, A., Benbelkacem, A., 2010. Plant breeding and climate changes. *The Journal of Agricultural Science* 148, 627-637.
14. Chance, B., Maehly, A., 1965. [136] Assay of catalases and peroxidases. *Methods in enzymology* 2, 764-775.
15. Daryanto, S., Wang, L., Jacinthe, P.-A., 2017. Global synthesis of drought effects on cereal, legume, tuber and root crops production: A review. *Agricultural Water Management* 179, 18-33.

16. De Ronde, J., Laurie, R., Caetano, T., Greyling, M., Kerepesi, I., 2004. Comparative study between transgenic and non-transgenic soybean lines proved transgenic lines to be more drought tolerant. *Euphytica* 138, 123-132.
17. De Ronde, J., Spreeth, M., Cress, W., 2000. Effect of antisense L- Δ 1-pyrroline-5-carboxylate reductase transgenic soybean plants subjected to osmotic and drought stress. *Plant growth regulation* 32, 13-26.
18. Díaz Carrasco, H., Diaz, V., 1992. El cultivo de la soya para granos y forrajes. Ministerio de Agricultura.
19. Dogan, E., Kirnak, H., & Copur, O. , 2007. Deficit irrigations during soybean reproductive stages and CROPGRO-soybean simulations under semi-arid climatic conditions. *Field Crops Research* 103 (2), 154-159.
20. Fabro, G., Kovács, I., Pavet, V., Szabados, L., Alvarez, M.E., 2004. Proline accumulation and AtP5CS2 gene activation are induced by plant-pathogen incompatible interactions in *Arabidopsis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 17, 343-350.
21. Fehr, W., Caviness, C., Burmood, D., Pennington, J., 1971. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine Max* (L.) Merrill 1. *Crop science* 11, 929-931.
22. Filippou, P., Bouchagier, P., Skotti, E., Fotopoulos, V., 2014. Proline and reactive oxygen/nitrogen species metabolism is involved in the tolerant response of the invasive plant species *Ailanthus altissima* to drought and salinity. *Environmental and Experimental Botany* 97, 1-10.
23. Florido Bacallao, M., Bao Fundora, L., 2014. Tolerancia a estrés por déficit hídrico en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Cultivos Tropicales* 35, 70-88.
24. Foyer, C.H., Noctor, G., 2005. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant, Cell and Environment* 28, 1056-1071.
25. Gazzoni, D., 1995. Botánica. El cultivo de la soja en los tropicos mejoramiento y producción. FAO, Roma (Italia).
26. Gill, S., Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol Bioch* 48 (12), 909-930.
27. Guamán, R.A., C.; Triviño, C. , 2005. Manual del Cultivo de Soya. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias-INIAP. Estación Experimental Boliche 60.
28. Hare, P., Cress, W., 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant growth regulation* 21, 79-102.
29. Hashem A, A.A.E., Alqarawi AA, El-Didamony G, Alwhibi Mona S, Egamberdieva D, Ahmad P, 2014. Alleviation of adverse impact of salinity on faba bean (*Vicia faba* L.) by arbuscular mycorrhizal fungi. . *Pak J Bot* 46 (6), 2003–2013.
30. Heath, R.L., Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics* 125, 189-198.
31. Hozumi, K.J.T.b.m.S.-g.-z., 1989. Biomass duration in growth models. 102, 75-83.

32. Hua, X.J., Van De Cotte, B., Van Montagu, M., Verbruggen, N., 2001. The 5' untranslated region of the At-P5R gene is involved in both transcriptional and post-transcriptional regulation. *The plant journal* 26, 157-169.
33. Hunt, R., 1982. *Plant growth curves. The functional approach to plant growth analysis.* Edward Arnold Ltd.
34. Ichimura, K., Shinozaki, K., Tena, G., 2002. Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. *Trends Plant Sci* 7, 301-308.
35. Iglesias Andreu, L., 1985. Estudio de la variabilidad morfoagronómica y bioquímica en soya (*Glycine max* L. Merrill). Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias de La Habana (Cuba). Instituto
36. ITIS, 2019. Retrieved [05, 10, 2019], from the Integrated Taxonomic Information System on-line database, <http://www.itis.gov>.
37. Kira, T., Shidei, T.J.J.J.o.E., 1967. Primary production and turnover of organic matter in different forest ecosystems of the western Pacific. 17, 70-87.
38. Krasensky, J., Jonak, C., 2012. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany* 63, 1593-1608.
39. Kumar, D., Yusuf, M.A., Singh, P., Sardar, M., Sarin, N.B., 2013. Modulation of antioxidant machinery in α -tocopherol-enriched transgenic *Brassica juncea* plants tolerant to abiotic stress conditions. *Protoplasma* 250, 1079-1089.
40. Kvet, J., Ondok, J.P., 1971. Significance of biomass duration. *Photosynthetica*.
41. Liu, C., Wang, Y., Pan, K., Li, W., Zhang, L., Shen, X., Liu, L., Deng, M., 2014a. Responses of the antioxidant defense system to drought stress in the leaves of *Fargesia denudata* seedlings, the staple food of the giant panda. *Russ J Plant Physiol* 61, 374–383.
42. Liu, J., Xia, J., Fang, Y., Li, T., Liu, J., 2014b. Effects of salt-drought stress on growth and physiobiochemical characteristics of *Tamarix chinensis* seedlings. *The Scientific World Journal* 2014.
43. Liu, P., Ding, Y., Liu, H., Sun, L., Li, X., Wang, J., 2010. Toxic effects of 1-methyl-3-octylimidazolium bromide on the wheat seedlings. *Journal of Environmental Sciences* 22, 1974-1979.
44. Lobato, A., Oliveria Neto, C., Costa, R., Santos Filho, B., Silva, F., Cruz, F., Laughinghouse, I., 2008. Biochemical and Physiological Behavior of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Under Water Stress during the Vegetative Stage. *Asian Journal of Plant Sciences* 7, 44-49.
45. Maggio, A., Miyazaki, S., Veronese, P., Fujita, T., Ibeas, J.I., Damsz, B., Narasimhan, M.L., Hasegawa, P.M., Joly, R.J., Bressan, R.A., 2002. Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? *The plant journal* 31, 699-712.
46. Manavalan LP, G.S., Tran L-SP, Nguyen HT. , 2009. Physiological and molecular approaches to improve drought resistance in soybean. *Plant and Cell*
47. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 50, 1260-1276.

48. McHugh M, W.G., Walling DE, 2013. Prediction of sediment delivery to watercourses from land – phase II. Environment Agency R&D Technical Report. P2–209/TR.
49. Medrano Gil, H., Bota Salort, J., Cifre Llombart, J., Flexas Sans, J., Ribas Carbó, M., Gulías León, J., 2007. Eficiencia en el uso del agua por las plantas.
50. Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S., Mittler, R., 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant Cell Environ* 33, 453-467.
51. MINAG, 2014. Estadísticas del Ministerio de La Agricultura en Cuba Retrieved 10-9 2014.
52. Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in plant science* 7, 405-410.
53. Miyaura, T., Hozumi, K., 1993. A growth model of a single Sugi (*Cryptomeria japonica*) tree based on the dry matter budget of its aboveground parts. *Tree physiology* 13(3), 263-274.
54. Møller, I.M., 2001. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. *Annual review of plant biology* 52, 561-591.
55. Neiff, N., Trachsel, S., Valentinuz, O.R., Balbi, C.N., Andrade, F.H., 2016. High temperatures around flowering in maize: Effects on photosynthesis and grain yield in three genotypes. *Crop Science* 56, 2702-2712.
56. Nguyen HT., B.R., Blum A., 1997. Breeding for drought resistance in rice: physiology and molecular genetics considerations. *Crop Science* 37, 1426-1434.
57. Ninomiya, I., Hozumi, K., 1983. Respiration of forest Trees (II). *Journal of the Japanese Forestry Society* 65(6), 193-200.
58. Núñez Vázquez, M., Reyes Guerrero, Y., Rosabal Ayán, L., Martínez González, L., 2014. Análogos espirostánicos de brasinoesteroides y sus potencialidades de uso en la agricultura. *Cultivos Tropicales* 35, 34-42.
59. Panizzi, C., Gontijo Mandarino, J., 1995. La soja como alimento humano: calidad nutritiva, procesamiento y utilización. *El cultivo de la soja en los trópicos mejoramiento y producción*. FAO, Roma (Italia).
60. Pardo, E., Vellisce, G.R., Aguirrezabal, L., Pereyra Irujo, G., Rocha, C.M.L., García, M., Prieto Angueira, S., Welin, B., Sanchez, J., Ledesma, F., 2015. Drought Tolerance Screening Under Controlled Conditions Predicts Ranking of Water-Limited Yield of Field-Grown Soybean Genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science* 201, 95-104.
61. Parreira, J.R., Branco, D., Almeida, A.M., Czubacka, A., Agacka-Mołodoch, M., Paiva, J.A., Tavares-Cadete, F., de Sousa Araújo, S., 2016. Systems biology approaches to improve drought stress tolerance in plants: state of the art and future challenges. *Drought Stress Tolerance in Plants*, Vol 2. Springer, pp. 433-471.
62. Pereyra-Irujo, G.A., Gasco, E.D., Peirone, L.S., Aguirrezábal, L.A., 2012. GlyPh: a low-cost platform for phenotyping plant growth and water use. *Functional Plant Biology* 39, 905-913.
63. Pichardo-Riego, J.C., Escalante-Estrada, J.A.S., Díaz-Ruíz, R., Quevedo-Nolasco, A., Volke-Haller, V., Morales-Rosales, E.J., 2013. Rendimiento y eficiencia en el uso del agua de cultivares de haba (*Vicia*

- faba L.) para doble propósito. Revista Chapingo. Serie horticultura 19, 71-84.
64. Ponce, M., Ortiz, R., Fe, C., Moya, C., 2002. Estudio comparativo de nuevas variedades de soya (*Glycine max* L. Merr) para las condiciones de primavera en Cuba. Cultivos Tropicales 23.
 65. Quiroga, G., Erice, G., Aroca, R., Chaumont, F., Ruiz-Lozano, J.M., 2017. Enhanced drought stress tolerance by the arbuscular mycorrhizal symbiosis in a drought-sensitive maize cultivar is related to a broader and differential regulation of host plant aquaporins than in a drought-tolerant cultivar. *Frontiers in plant science* 8, 1056.
 66. Richards, L., 1965. Physical Condition of Water in Soil 1. *Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Properties, Including Statistics of Measurement and Sampling*, 128-152.
 67. Romero, A., Ruz, R., González, M., 2013. Evaluación de siete cultivares de soya (*Glycine max*) en las condiciones edafoclimáticas del municipio Majibacoa, Las Tunas. *Pastos y Forrajes* 36, 459-463.
 68. Royon, A., Aragüés Lafarga, R. (). , 2003. Establecimiento de nuevos índices de tolerancia de los cultivos a la salinidad: la cebada como caso de estudio. *Investigación Agraria y Producción Vegetal* 17 (3), 410- 421.
 69. Sen, A., Alikamanoglu, S., 2013. Antioxidant enzyme activities, malondialdehyde, and total phenolic content of PEG-induced hyperhydric leaves in sugar beet tissue culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 49, 396-404.
 70. Shahid., M., Balal., R., Pervez., M., Abbas., T., Aqeel., M., Javaid., M., Garcia-Sanchez., F., 2014. Exogenous proline and proline-enriched *Lolium perenne* leaf extract protects against phytotoxic effects of nickel and salinity in *Pisum sativum* by altering polyamine metabolism in leaves. *Turk J Bot* 38, 914–926.
 71. Sheokand, S., Kumari, A., Sawhney, V., 2008. Effect of nitric oxide and putrescine on antioxidative responses under NaCl stress in chickpea plants. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 14, 355-362.
 72. Singh, A., Lawrence, K., S, P., Lawrence, R., 2014. Response of leaves, stems and roots of *Whithania somnifera* to copper stress. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences* 4, 60-67.
 73. Singh, R.P., Kumar, S., Ojha, C.S.P., 1998. A critique on operational strategies for start-up of UASB reactors: effects of sludge loading rate and seed/biomass concentration. *Biochemical engineering journal* 1(2), 107-119.
 74. Smirnoff, N., Cumbes, Q.J., 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry* 28, 1057-1060.
 75. Székely, G., Ábrahám, E., Cséplő, Á., Rigó, G., Zsigmond, L., Csiszár, J., Ayaydin, F., Strizhov, N., Jásik, J., Schmelzer, E., 2008. Duplicated P5CS genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis. *The plant journal* 53, 11-28.
 76. Tezara, W., Pereyra, G., Marín, O., Villalobos, V., Irazábal, S., González, A., Colombo, R., Ulrich, R., Coronel, I., Herrera, A., 2008. Variación interespecífica en la respuesta fotosintética en diferentes formas de vida en zonas áridas y eficiencia de uso de agua en 32 accesiones de cacao.

- Memorias del Instituto de Biología Experimental. Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela, 233-236.
77. Tiwari, S., Tiwari, S., Singh, M., Singh, A., Prasad, S.M., 2017. Generation Mechanisms of Reactive Oxygen Species in the Plant Cell: An Overview. Revisiting the Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in Plants: ROS Boon Or Bane for Plants?
 78. Valladares, C., 2010. Taxonomía y Botánica de los Cultivos de Grano. Consultado el 3.
 79. Wang, Y., Zhang, H., Chen, Y., Sun, Y., Yang, F., Yu, W., Liang, J., Sun, L., Yang, X., Shi, L., 2009. LSD1 is a subunit of the NuRD complex and targets the metastasis programs in breast cancer. *Cell* 138, 660-672.
 80. Watson, D.J., 1952. The physiological basis of variation in yield. *Advances in agronomy*. Elsevier, pp. 101-145.
 81. Watson, D.J.J.A.o.b., 1947. Comparative physiological studies on the growth of field crops: I. Variation in net assimilation rate and leaf area between species and varieties, and within and between years. 11, 41-76.
 82. Yu, Q., Rengel, Z., 1999. Drought and salinity differentially influence activities of superoxide dismutases in narrow-leafed lupins. *Plant Science* 142, 1-11.
 83. Yu, X.-Z., Lin, Y.-J., Fan, W.-J., Lu, M.-R., 2017. The role of exogenous proline in amelioration of lipid peroxidation in rice seedlings exposed to Cr (VI). *International Biodeterioration & Biodegradation* 123, 106-112.
 84. Yuan, G.F., Jia, C.G., Li, Z., Sun, B., Zhang, L.P., Liu, N., 2010. Effect of brassinosteroids on drought resistance and abscisic acid concentration in tomato under water stress *Sci. Hortic.* 126, 103-108.
 85. Zandalinas, S.I., Mittler, R., Balfagón, D., Arbona, V., Gómez-Cadenas, A., 2018. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiologia plantarum* 162, 2-12.
 86. Zegaoui, Z., Planchais, S., Cabassa, C., Djebbar, R., Belbachir, O.A., Carol, P., 2017. Variation in relative water content, proline accumulation and stress gene expression in two cowpea landraces under drought. *Journal of plant physiology* 218, 26-34.