

EVALUACIÓN DE LA TOLERANCIA A LA SALINIDAD EN FRIJOL CAUPÍ A PARTIR DE VARIABLES RELACIONADAS CON LA NODULACIÓN Y LA ACUMULACIÓN DE NITRÓGENO FOLIAR

Evaluation of salinity tolerance in cowpea bean using variables related with nodulation and foliar nitrogen accumulation

Ernesto J. Gómez Padilla[✉], Leandris Argente Martínez, Carlos Ávila Amador, Beatriz Ruiz-Díez, Mercedes Fernández-Pascual, Katia Alarcón Barrero, Bettina Eichler-Loebermann y Raúl López Sánchez

ABSTRACT. With the aim to evaluate the salt stress tolerance of 12 cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) varieties by using some variables relative to nodule formation, aerial dry mass and its nitrogen content, two simultaneous experiences in saline and not saline soils were carried out. A completely randomized block design with three repetitions was used in both experiences. The aerial and roots dry mass, number of nodules per plants, number of effective nodules, nodules dry mass and nitrogen content in aerial mass were evaluated at 40 days after sowing. Using the measured results the tolerance index to salinity in all varieties was calculated, which were classified using a Cluster analysis of Complete Linkage, based on Euclidian distance. The results evidenced the affectation of all varieties sowed on saline soil when the nodules number, its dry mass, as well as the aerial dry mass and its nitrogen content were evaluated, but the main differences among genotypes, and the tendency to saline tolerance were found by using the cluster analysis, through which varieties were classified in two different groups. Into the first group, eight genotypes with marked tolerance characteristic to saline stress were located, while the others four varieties were categorized as susceptible, being situated into the second group.

RESUMEN. Se determinó la tolerancia a la salinidad de 12 variedades de frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp) a partir de la evaluación de variables relacionadas con la nodulación, la masa seca aérea y su contenido de nitrógeno. Las variedades fueron sembradas de manera simultánea en dos suelos diferentes, uno salinizado y otro no salinizado, y distribuidas en un diseño en bloques al azar con tres réplicas, sin empleo de inoculante. En floración fueron evaluadas la masa seca aérea y de la raíz, formación de nódulos, efectividad y masa seca de los mismos, así como el contenido de nitrógeno en la masa seca aérea. A partir de los datos obtenidos de cada una de las variables se realizó la prueba de t de Student para comparar los resultados de las variables de suelo salinizado en relación con el no salinizado. Se determinó el índice de tolerancia a la salinidad de los 12 genotipos a través de un análisis multivariado de Conglomerado Jerárquico de Ligamiento Completo que permitió establecer agrupamientos de acuerdo al grado de tolerancia de las variedades al estrés. Los resultados demostraron que existieron afectaciones en las variables evaluadas para la mayoría de los genotipos establecidos en el suelo salinizado, aunque las diferencias entre estos se evidenciaron al evaluar el dendograma formado, el cual realizó dos agrupamientos de acuerdo al grado de tolerancia a las sales. En el grupo I con características marcadas de tolerancia, se ubicaron ocho variedades, mientras que en el grupo II se encontraron las cuatro susceptibles.

Key words: bean, nitrogen fixation, nodulation, salinity, tolerance

Palabras clave: frijol, fijación del nitrógeno, nodulación, salinidad, tolerancia

M.Sc. Ernesto J. Gómez Padilla, Aspirante Investigador, Profesor Asistente; M.Sc. Leandris Argente Martínez, Profesor Auxiliar; Carlos Ávila Amador, Profesor Asistente; M.Sc. Katia Alarcón Marrero, Profesor Asistente y Dr.C. Raúl López Sánchez, Investigador Agregado, Profesor Titular del Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Granma, Cuba; Dra.C. Beatriz Ruiz-Díez, Investigadora Contratada y Dra.C. Mercedes Fernández-Pascual, Investigadora Científica, Instituto de Ciencias Agrarias, Madrid, España; Dra.C. Bettina Eichler-Loebermann, Dr. Hab. Investigador, Universidad de Rostock, Facultad de Ciencias Agrícolas y Ambientales, Rostock, Alemania.

✉ egomez@udg.co.cu; largentelm@udg.co.cu; cavilaa@udg.co.cu; beatriz.ruiz@ica.csic.es; mfernandezp@ccma.csic.es; k.alarcon@udg.co.cu; bettina.eichler@uni-rostock.de; rlopezs@udg.co.cu

INTRODUCCIÓN

Más de 800 millones de hectáreas alrededor del mundo están afectadas por sales y de las áreas cultivadas más del 4 % tienen esta problemática, por lo cual, la salinización de los suelos es uno de los retos más importantes a los cuales se enfrenta la agricultura a nivel internacional (1).

Cuba no está exenta de esta situación, existiendo más de un millón de hectáreas afectadas en el país, y de ellas alrededor del 14 % son de interés agrícola (2). Una de las zonas representativas de esta problemática se encuentra en la provincia Granma, con alrededor de 228 mil hectáreas, estimándose que cerca del 28 y 11 % clasifican como fuertemente y muy fuertemente salinizadas, respectivamente. Sin embargo, el 61 % de ellas son débilmente salinas, lo cual expresa el potencial crecimiento de este fenómeno en los próximos años (3).

La salinidad puede dañar directamente a los cultivos desde las primeras etapas del desarrollo hasta la culminación de su ciclo biológico, afectando sus rendimientos e incluso provocando la muerte en las especies más susceptibles (4). Algunos de los efectos más comunes y perjudiciales provocados por la salinidad tienen relación con el incremento de la toxicidad específica, normalmente asociada a la absorción excesiva de Na^+ y de Cl^- ; un desequilibrio nutricional debido a la interferencia de los iones salinos con los nutrientes esenciales, el efecto osmótico y la combinación de los efectos antes mencionados (1).

La salinidad también afecta la simbiosis rizobio-leguminosa (5). Se ha reportado que las poblaciones de rizobios del suelo disminuyen al igual que la capacidad de las plantas para formar nódulos (6), se afecta de manera directa el proceso de fijación simbiótica de nitrógeno por la disminución de la actividad de la enzima nitrogenasa y disminuyen los niveles de leghemoglobina en el interior de los nódulos formados, por solo citar algunos (7).

Aunque el frijol caupí se ha reportado como de fácil adaptación a diferentes condiciones estresantes (8), la alta variabilidad genética que existe entre los cultivares de la especie hace que las manifestaciones de tolerancia entre estos sean diferentes (9, 10).

Por otra parte, la mayoría de los reportes sobre estudios de tolerancia en esta leguminosa al estrés por sales, se han basado fundamentalmente en la evaluación de variables relacionadas con la germinación, acumulación de iones, rendimiento del cultivo, entre otros (11, 12).

Sin embargo, variables relacionadas con la fijación simbiótica de nitrógeno como la formación de nódulos, su masa seca y efectividad, así como acumulación de materia seca y contenido de nitrógeno en la biomasa, son pocas veces tomadas en cuenta.

Por tal motivo, el objetivo de nuestra investigación estuvo encaminado a evaluar la tolerancia a la salinidad de 12 genotipos de frijol caupí, a partir del análisis de variables relacionadas con la nodulación, acumulación de masa seca aérea y su contenido de nitrógeno, en suelos afectados por sales.

MATERIALES Y MÉTODOS

La experiencia se desarrolló en el período enero-mayo durante los años 2006 y 2007, en el municipio Jiguaní, específicamente en la Granja San José, de la Empresa Genética y Cría «Manuel Fajardo», provincia Granma, Cuba. La etapa se caracterizó por presentar temperaturas medias que oscilaron entre 22,9 y 24,73°C. En tanto, la humedad relativa mostró valores medios entre 74,9 y 77,3%. Las precipitaciones fueron escasas, con rangos que estuvieron entre 5,36 a 16,7 mm, caracterizándose el período como seco.

Los experimentos se establecieron en dos suelos diferentes, uno salinizado y otro con un contenido de sales normal (Tabla I). En cada suelo fueron sembradas, sin utilizar inóculos, 12 variedades de frijol Caupí (IT 86 D-715, Trópico Yarey, Cubanita-666, IITA-Precoz, IT 86 D-510, IT 86-D 792, IT 86 D-389, IT 82 E-9, Viñales-144, IT 86 D-386, Cancarro e IT 86 D-719) procedentes del Instituto de Investigaciones Agropecuarias «Jorge Dimitrov», que fueron distribuidas en un diseño de bloques al azar con tres réplicas en parcelas de 2,10 x 4,00 m.

La siembra se realizó a una distancia de 0,70 x 0,10 m. Las labores agrotécnicas del cultivo se realizaron de acuerdo con lo recomendado por la tecnología¹.

A los 40 días de establecido el experimento, a inicios de la floración, se tomaron 10 plantas por parcela experimental con el objetivo de realizar las determinaciones: número de nódulos por planta (NNPL) y número de nódulos efectivos según determinación visual (NNRo). Las raíces y la parte aérea de las plantas por separado, al igual que los nódulos radicales recolectados, fueron secados en estufa a una temperatura de 70°C hasta alcanzar peso constante.

¹Díaz, M. Avance de las investigaciones en el cultivo de frijol carita. En 90 años de la Estación Agronómica de Santiago de las Vegas. Editorial Academia. 1994, p. 71-90.

Tabla I. Composición de sales de los suelos donde fueron establecidos los experimentos (0-25 cm de profundidad)

Suelos	Cationes y aniones solubles (cmol (+) kg ⁻¹)							CE (dS.m ⁻¹)	
	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Na ⁺	K ⁺	CO ₃ ⁻²	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻		SO ₄ ⁻²
No salinizado	1,20	0,20	0,10	0,08	0,0	0,20	0,52	0,31	1,30
Salinizado	1,25	1,22	7,20	0,08	0,10	0,32	7,90	1,60	5,80

Luego fue determinada la masa seca aérea (MSA) y de la raíz (MSR), masa seca de los nódulos (MSN) y el contenido de nitrógeno de la masa seca aérea (N), (13).

Se evaluaron las diferencias de las variables utilizadas en el suelo salino en relación con el suelo no salinizado para todos los genotipos, mediante la prueba t de *Student*. Con los datos recopilados de ambos suelos se determinó el índice de tolerancia a la salinidad (ITS) de cada una de estas variables².

$$ITS = [(Yc)(Ys)] / (Yc)^2$$

donde:

Yc-tratamiento no salino

Ys-tratamiento salino

El índice de tolerancia fue utilizado para realizar un análisis de Conglomerado Jerárquico de Ligamiento Completo sobre la base de la distancia euclidiana, con el objetivo de establecer agrupamientos de variedades de acuerdo a su nivel de tolerancia. Los datos fueron procesados con el paquete *Statistica* para *Windows* 8³ (versión) .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

EVALUACIÓN DE LA NODULACIÓN NATURAL, ACUMULACIÓN DE MASA SECA AÉREA Y SU CONTENIDO DE NITRÓGENO

Los resultados indican la existencia de cepas nativas, tanto en el suelo no salinizado, como en el afectado por sales, ya que todas las variedades lograron nodular sin haber sido inoculadas (Tabla II). Aunque el número de nódulos por planta (NNPL) en el suelo no

salinizado por lo general fue significativamente superior, algunas variedades como la IT 86 D-715, IT 86 D-510, IT 82 E-9 y Cancarro, lograron formar cantidades similares en el suelo afectado por sales.

La masa seca de los nódulos (MSN) (Tabla II), también experimentó una reducción importante en todas las variedades en condiciones de salinidad.

No obstante, en los nódulos encontrados prevaleció la coloración rosada (NNRo) independientemente del suelo donde se desarrollaron las plantas (Tabla II), lo que demuestra que eran activos. Solo en IT 86 D-510, IT 86 D-389, Viñales-144, IT 86D-719, se afectó significativamente esta variable en condiciones de estrés.

Aunque la salinidad también ejerció un efecto negativo sobre la masa seca de las raíces (MSR) y la masa seca aérea (MSA), en genotipos como IT 86 D-715, IT 86 D-510 e IT 82 E-9, estas variables no sufrieron afectaciones. Por su parte, el contenido de nitrógeno de la masa aérea si disminuyó en el suelo salinizado de manera significativa en todas las variedades (Tabla III).

Los resultados de estos experimentos coinciden con otros reportes realizados en suelos afectados por sales para el cultivo del caupí (8, 11). Sin embargo, en la provincia Granma no existen referencias anteriores sobre la capacidad de nodulación de esta leguminosa en suelos salinizados.

La limitación de la nodulación en estas áreas puede estar condicionada por los efectos perjudiciales que ejerce la salinidad sobre las poblaciones de rizobios nativos (5, 14), el daño que ocurre directamente sobre la planta (7) y sobre algunos de los procesos que tienen relación con la infección y establecimiento de estas bacterias en las raíces de la leguminosa (8).

²Fernández, G. C. J. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. *En*: Kuo, C. G. eds. Adaptation of food crops to temperature and water stress. Proceeding of an International Symposium (1992: Taiwan). p. 257-270.

³StatSoft, Inc. STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. 2007.

Tabla II. Comportamiento de la nodulación natural de variedades de frijol caupí desarrolladas en dos tipos de suelos, salinizado y no salinizado

Variedades	NNPL		NNRo		MSN (mg.planta ⁻¹)	
	No salinizado	Salinizado	No salinizado	Salinizado	No salinizado	Salinizado
IT 86 D-715	8(±2,01)	7(±1,82)ns	7(±1,71)	6(±1,71)ns	331,8(±2,23)	303,00(±6,32)***
Trópico Yarey	12(±1,22)	8(±1,21)**	7(±0,86)	7(±0,68)ns	370,53(±8,55)	235,20(±1,60)***
Cubanita-666	14(±0,18)	9(±0,21)***	8(±1,03)	7(±0,92)ns	337,00(±1,73)	219,00(±6,00)***
IITA-Precoz	11(±1,49)	4(±0,85)***	6(±2,09)	4(±0,85)ns	367,55(±4,53)	179,20(±3,09)***
IT 86 D-510	12(±1,87)	11(±1,63)ns	7(±0,18)	7(±0,16)*	344,39(±12,26)	311,97(±7,51)*
IT 86-D 792	13(±1,86)	8(±1,28)*	8(±1,31)	8(±1,27)ns	353,73(±1,62)	226,8(±5,6)***
IT 86 D-389	10(±1,65)	6(±1,02)*	6(±0,05)	6(±0,06)***	344,40(±5,60)	212,80(±5,58)***
IT 82 E-9	7(±0,70)	6(±0,64)ns	5(±0,54)	5(±0,57)ns	319,11(±5,59)	287,93(±3,71)**
Viñales-144	12(±1,57)	4(±0,55)***	8(±1,07)	4(±0,18)**	395,50(±4,67)	196,00(±4,00)***
IT 86 D-386	12(±1,35)	5(±1,08)**	5(±1,32)	4(±1,36)ns	370,53(±6,50)	199,73(±5,19)**
Cancarro	11(±2,00)	11(±1,91)ns	7(±0,55)	6(±0,45)ns	312,30(±4,91)	285,00(±4,36)**
IT 86-D 719	11(±1,48)	5(±0,49)**	5(±0,33)	4(±0,24)*	382,67(±5,83)	188,53(±4,69)***

*, ** y *** indican significación para p≤0,05; p≤0,01 y p≤0,001 respectivamente, al aplicar la prueba t de *Student*

Los números entre paréntesis representan la desviación estándar de la media de tres réplicas por tratamiento

NNPL: número de nódulos por planta; NNRo: número de nódulos rosados; MSN: masa seca de los nódulos

En estos experimentos, aun cuando la nodulación se produjo en todos los genotipos utilizados, y la mayoría de los nódulos presentaron una coloración rosada, lo cual es un indicador cualitativo de su eficiencia simbiótica (5), la disminución del número de estas estructuras, así como la reducción de su masa seca en algunos de los genotipos, demuestra que la interacción planta-microorganismo en ellos no se comportó de manera similar, probablemente debido a que los mecanismos o vías de respuesta utilizados frente al factor estresante no fueron los mismos (15).

A esto se suma las diferencias observadas en la masa seca de raíces y hojas, así como su contenido de nitrógeno.

En este caso, el Análisis de Conglomerado Jerárquico permitió establecer agrupamientos de variedades, de acuerdo a su nivel de tolerancia a la salinidad, basado en las variables evaluadas.

EVALUACIÓN DE LA TOLERANCIA A LA SALINIDAD

El análisis de Conglomerado Jerárquico de Ligamiento Completo en base a la distancia euclidiana, facilitó la formación de dos grandes grupos de variedades, de acuerdo a su nivel de tolerancia, que resumen la tendencia en el comportamiento de todas las variables en los genotipos utilizados (Figura 1).

Tabla III. Comportamiento de la masa seca de la raíz, masa seca aérea y contenido de nitrógeno de plantas del frijol caupí, desarrolladas en dos tipos de suelos (salinizado y no salinizado)

Variedades	MSR (g.planta ⁻¹)		MSA (g.planta ⁻¹)		N (mg.planta ⁻¹)	
	No salinizado	Salinizado	No salinizado	Salinizado	No salinizado	Salinizado
IT 86 D-715	3,69(±0,36)	3,42(±0,30)ns	32,14(±3,71)	29,25(±3,25)ns	375,20(±5,05)	325,80(±10,76)**
Trópico Yarey	4,23(±0,24)	2,66(±0,11)**	25,84(±3,75)	16,66(±2,78)*	414,40(±7,41)	258,30(±5,62)**
Cubanita-666	6,27(±0,80)	4,34(±0,80)*	27,64(±0,06)	18,05(±0,71)***	328,53(±1,89)	212,40(±2,62)***
IITA-Precoz	3,57(±0,50)	1,63(±0,43)**	22,68(±1,38)	11,18(±0,65)***	335,07(±0,83)	162,00(±2,40)***
IT 86 D-510	4,02(±0,91)	3,73(±0,85)ns	29,30(±1,64)	26,58(±1,84)ns	349,69(±2,43)	311,53(±6,36)***
IT 86-D 792	4,33(±0,37)	2,80(±0,33)**	24,87(±0,75)	16,28(±0,43)***	345,33(±8,55)	216,90(±4,12)***
IT 86 D-389	4,16(±0,04)	2,65(±0,08)**	25,1(±0,42)	15,98(±0,23)***	333,20(±5,60)	204,30(±6,79)***
IT 82 E-9	2,46(±0,36)	2,30(±0,31)ns	13,99(±0,80)	12,68(±0,68)ns	220,27(±7,64)	195,10(±4,35)**
Viñales-144	3,83(±0,71)	1,68(±0,19)**	22,46(±1,39)	10,12(±0,97)***	325,73(±4,03)	140,40(±2,70)***
IT 86 D-386	3,78(±0,38)	2,22(±0,23)**	23,82(±1,78)	12,55(±1,13)***	323,87(±9,83)	159,30(±5,40)***
Cancarro	2,97(±0,05)	2,72(±0,04)**	27,68(±3,29)	24,89(±3,06)ns	440,00(±4,45)	395,16(±5,22)***
IT 86-D 719	4,11(±0,12)	1,82(±0,05)**	26,46(±0,42)	13,93(±0,37)***	394,80(±5,20)	183,60(±5,40)***

*, ** y *** indican significación para p≤0,05; p≤0,01 y p≤0,001 respectivamente, al aplicar la prueba t de Student. Los números entre paréntesis representan la desviación estándar de la media de tres réplicas por tratamiento. MSR: masa seca de la raíz; MSA: masa seca aérea; N: contenido de nitrógeno en la masa seca aérea

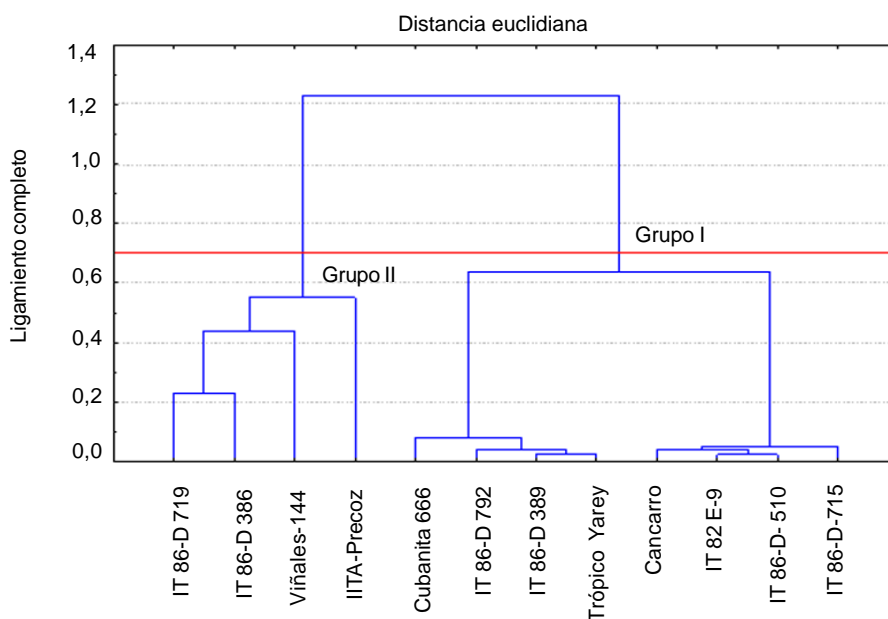


Figura 1. Agrupamiento de variedades de acuerdo a la tolerancia a la salinidad calculada a partir de variables relacionadas con la nodulación, contenido de nitrógeno en la masa seca aérea, crecimiento y desarrollo

El grupo I fue conformado por ocho genotipos, IT 86 D-715, IT 86 D-510, IT 82 E-9, Cancarro, Trópico Yarey, Cubanita-666, IT 86 D-389 e IT 86 D-792 (Figura 1). Estas variedades presentaron los mayores aportes promedios, y por ende las características de mayor tolerancia (Tabla VI). El grupo II, estuvo formado por los cuatro genotipos restantes, IITA-Precoz, Viñales-144, IT 86 D-386 e IT 86 D-719, los cuales clasificaron como susceptibles con los menores valores promedio para todas las variables.

Estos resultados confirman el hecho de que, aunque todas las variables relacionadas con la nodulación y fijación de nitrógeno sufrieron afectaciones por la presencia de sales, la mayoría de los genotipos mostraron marcadas características de tolerancia por ubicarse en el grupo I del dendograma formado.

Tabla VI. Valores promedio de los índices de tolerancia a la salinidad sobre la base de variables relacionadas con la nodulación, masa seca de raíz y parte aérea de la planta, así como su contenido de nitrógeno

Grupos	Valores promedio por grupos de variedades					
	NNPL	NNRo	MSN	MSR	MSA	N
I	0,78	0,93	0,77	0,79	0,78	0,76
II	0,40	0,66	0,50	0,48	0,50	0,57

NNPL: número de nódulos por planta; NNRo: número de nódulos rosados; MSN: masa seca de los nódulos; MSR: masa seca de la raíz; MSA: masa seca aérea; N: contenido de nitrógeno en la masa seca aérea

Este grupo presentó los mayores aportes promedio de cada una de sus variables. Por otro lado, sugiere que es posible, para las condiciones de suelos salinizados, realizar evaluaciones y clasificación de genotipos tolerantes a partir de variables como la nodulación, masa seca de los nódulos, masa seca aérea de la planta y su contenido de nitrógeno.

La manifestación de tolerancia o susceptibilidad del frijol caupí está relacionada con la utilización de mecanismos para compartimentar o excluir los iones tóxicos de Na^+ y Cl^- (16, 17). Se ha demostrado que en los genotipos más tolerantes a la salinidad, estos iones se acumulan mayormente en las raíces, mientras que en los más susceptibles las mayores cantidades aparecen en las hojas (11). Simultáneamente, las plantas tolerantes incrementan la acumulación de iones compatibles como el K^+ y el Ca^{2+} en las hojas (18, 19).

Por su parte, los rizobios también han creado mecanismos para poder adaptarse a condiciones de estrés por sales. Se ha demostrado que el aumento de la concentración salina en el interior del nódulo, desencadena una serie de señales bioquímicas que contribuyen a la acumulación de solutos compatibles como la síntesis de glutamato, trealosa y betaina, así como el contenido de azúcares (20, 21). En otros casos, se producen cambios a nivel ultra-estructural que no permiten que los iones

tóxicos penetren al interior del nódulo y dañen la actividad de la enzima nitrogenasa, como es el caso del aumento del tamaño de la corteza externa de los nódulos, y el incremento del espacio peribacteroidal (22, 23).

De esta forma, si ambos simbiontes logran desarrollar mecanismos específicos para evitar los efectos perjudiciales de la salinidad, las probabilidades de formación de nódulos se incrementan, y con ello, la capacidad de la planta para fijar dinitrógeno atmosférico con los consiguientes beneficios que se producen en el desarrollo y rendimiento, en relación con aquellas en las que no se logra establecer la simbiosis (24, 25). Razón por la cual, es necesario tener en cuenta estas variables como criterio para evaluar la tolerancia de esta especie a las condiciones de estrés por sales.

Los resultados de esta investigación demuestran que en el suelo afectado por sales existen rizobios nativos capaces de formar nódulos en las raíces de la leguminosa y que aunque las variables evaluadas son afectadas en presencia de sales, existen diferencias en cuanto al comportamiento de los genotipos en estas condiciones, encontrándose ocho de ellos con marcadas características de tolerancia.

Otro aspecto importante a resaltar en esta investigación, es que a partir de las poblaciones de rizobios presentes en estos suelos se pueden aislar cepas mejor adaptadas a estas condiciones, lo que permitiría obtener biopreparados que podrían ser usados no solo con el objetivo de sustituir la fertilización nitrogenada, sino también conferirle a la leguminosa mayores características de tolerancia a la salinidad, a partir de la optimización del proceso de fijación biológica del nitrógeno. De igual forma, permitiría realizar estudios sobre las relaciones macro-microsimbionte, en función de determinar el grado de influencia que ejerce la interacción de ambos a estas manifestaciones de tolerancia.

REFERENCIAS

1. Munns, R. y Tester, M. Mechanisms of Salinity Tolerance. *The Annu. Rev. of Plant Biol. Revi.*, 2008, vol. 59, p. 651-681.
2. López, S. R.; Samson, R.; Vandamme, P.; Eichler-Loberman, B. y Gómez, P. E. Respuesta de combinaciones *Rhizobium-Clitoria ternata* en condiciones de estrés salino en el Valle del Cauto en Cuba. *Revi. Mexi. Cien. Pecu.*, 2011, vol. 2, no. 2, p. 199-207.
3. González-Núñez, M. y Tóth, D. T. García. Integrate management for the sustainable use of salt-affected soils in Cuba. *Univ. Cien.*, 2004, vol. 20, no. 40, p. 85-102.
4. Hussain, K.; Farrukh, M.; Majeed, A.; Nawaz, K.; Hayat, K.; Afghan, S. y Shahazad, Z. S. What molecular mechanism is adapted by plants during salt stress tolerance?. *Afric. J. Biotech.*, 2010, vol. 9, no. 4, p. 416-422.
5. Coba de la Peña, T. y Pueyo, J. J. Legumes in the reclamation of marginal soils, from cultivar and inoculant selection to transgenic approaches. *Agro. Sustai. Develop.*, 2012, vol. 32, p. 65-91.

6. Manchanda, G. y Garg, N. Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiol. Plant.*, 2008, vol. 30, p. 595-618.
7. Bolaños, L.; Martín, M.; El-Hamdaoui, A.; Rivilla, R. y Bonilla, I. Nitrogenase inhibition in nodules from pea plants grown under salt stress occurs at the physiological level and can be alleviated by B and Ca. *Plant Soil*, 2006, vol. 280, p. 135-142.
8. Sprent, J. I.; Odee, W. D. y Dakora, D. F. African legumes: a vital but under-utilized resource. *J. Experi. Bot.*, 2010, vol. 61, no. 5, p. 1257-1265.
9. Appunu, C.; N'Zoue, A.; Moulin, L.; Depret, G. y Laguerre, G. *Vigna mungo*, *V. radiata* and *V. unguiculata* plants sampled in different agronomical-ecological-climatic regions of India are nodulated by *Bradyrhizobium yuanningense*. *System. Appli. Micro.*, 2009, vol. 32, p. 460-470.
10. Al-Garni. Increased heavy metal tolerance of cowpea plants by dual inoculation of an arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen-fixer *Rhizobium bacterium*. *Afric. J. Biotech.*, 2006, vol. 5, no. 2, p. 133-142.
11. Murillo, A. B.; Troyo-Diequez, E.; Garcia-Hernández, J. L.; López-Aguilar, R.; Ávila-Serrano, N. Y.; Zamora, S. S.; Rueda-Puente, E. O. y Kaya, C. Effect of NaCl salinity in the genotypic variation of cowpea (*Vigna unguiculata*) during early vegetative growth. *Scientia Horticult.*, 2006, vol. 108, no. 4, p. 423-431.
12. González, L. M.; Zamora, A. y Céspedes, N. Análisis de la tolerancia a la salinidad en variedades de *Vigna unguiculata* (L) sobre la base de caracteres agronómicos, la acumulación de iones y el contenido de proteína. *Cultivos Tropicales*, 2000, vol. 21, no. 1, p. 47-52.
13. Paneque, P. V. M.; Calaña, N. J. M.; Calderón, V. M.; Borges, B. Y.; Hernández, G. T. C. y Caruncho, C. M. Manual de Técnicas analíticas para Análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA): Ediciones_INCA, 2010. 153 p. ISBN: 978-959-7023-51-7.
14. Cuadrado, B.; Rubio, G. y Santos, W. Caracterización de cepas de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* (con habilidad de nodulación) seleccionados de los cultivos de frijol Caupí (*Vigna unguiculata*) como potenciales bioinóculos. *Revi. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, 2009, vol. 38, no. 1, p. 78-104.
15. Florentino, L. A.; De Sousa, P. M.; Savana, J.; Barroso, K. S. y De Souza, F. M. Diversity and efficiency of *Bradyrhizobium* strains isolated from soil samples collected from around *Sesbania virgata* roots using cowpea as trap species. *Rev. Bras. Cienc. Solo.*, 2010, vol. 34, p. 1113-1123.
16. Praxedes, S. C.; de Lacerda, C. F.; DaMatta, F. M.; Prisco, J. T. y Gomes-Felho, E. Salt tolerance is associated with differences in ion accumulation, biomass allocation and photosynthesis in cowpea cultivars. *J. Agron. Crop Sci.*, 2010, vol. 196, p. 193-204.
17. Praxedes, S. C.; Feitosa, C. L.; Montoril, T. F.; Tarquinio, J. P.; Murilo F. D. y Gomes-Filho, E. Salt tolerance is unrelated to carbohydrate metabolism in cowpea cultivars. *Acta Physiol. Plantar.*, 2011, vol. 33, p. 887-896.
18. Shabala, S. y Cuin, T. A. Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiol. Plantarum*, 2008, vol. 133, p. 651-669.
19. Cavalcanti, F. R.; Lima, J. P. M. S.; Silva, S. L. F.; Viégas, R. A. y Silveira, J. A. G. Roots and leaves display contrasting oxidative response during salt stress and recovery in cowpea. *J. Plant Physiol.*, 2007, vol. 164, no. 5, p. 591-600.
20. Bartels, D. y Sunkar, R. Drought and salt tolerance in plants. *Crit. Rev. Plant. Sci.*, 2005, vol. 24, p. 23-58.
21. Edson, Z. J.; Valisheski, R. R.; Rodrigues, F. F.; Prata, N. M. C. y Gouvêa, N. R. Assessment of cowpea *Rhizobium* diversity in Cerrado areas of northeastern Brazil. *J. Microbiol.*, 2004, vol. 35, no. 4
22. Trinchant, J. C.; Biscari, A.; Spennato, G.; Van de Sype, G. y Lerudulier, D. Proline betaine accumulation and metabolism in alfalfa plants under sodium chloride stress. Exploring its compartmentalization in nodules. *Plant Physiol.*, 2004, vol. 135, p. 1583-1594.
23. Ruiz-Díez, B.; Fajardo, S.; Puertas-Mejía, M. A.; Rosario de Felipe, M. y Fernández-Pascual, M. Stress tolerance, genetic analysis and symbiotic properties of root-nodulating bacteria isolated from Mediterranean leguminous shrubs in Central Spain. *Arch. Microbiol.*, 2009, vol. 191, p. 35-46.
24. Ruiz-Díez, B.; Fajardo, S.; de Felipe, M. y Fernández-Pascual, M. Characterization of rhizobia from legumes of agronomic interest grown in semi-arid areas of Central Spain relates genetic differences to soil properties. *J. Basic Microbiol.*, 2011, vol. 51, p. 1-13.
25. Ruiz-Díez, B.; Fajardo, S.; de Felipe, M. y Fernández-Pascual, M. Selection of Rhizobia from agronomic legumes grown in semiarid soils to be employed as bioinoculants. *Agrono. Journal.*, 2012, vol. 104, p. 550-559.

Recibido: 9 de noviembre de 2011

Aceptado: 28 de enero de 2013

¿Cómo citar?

Gómez Padilla, Ernesto J.; Argente Martínez, Leandris; Ávila Amador, Carlos; Ruiz-Díez, Beatriz; Fernández-Pascual, Mercedes; Alarcón Barrero, Katia; Eichler-Loebermann, Bettina y López Sánchez, Raúl. Evaluación de la tolerancia a la salinidad en frijol caupí a partir de variables relacionadas con la nodulación y la acumulación de nitrógeno foliar. *Cultivos Tropicales*, 2013, vol. 34, no. 3, p. 11-16.