

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**CULTIVO DE CALLO IN VITRO COMO UNA
ALTERNATIVA PARA EVALUAR RESISTENCIA
A SALINIDAD Y SEQUIA EN "FRIJOL" *Phaseolus vulgaris* L.**

TESIS

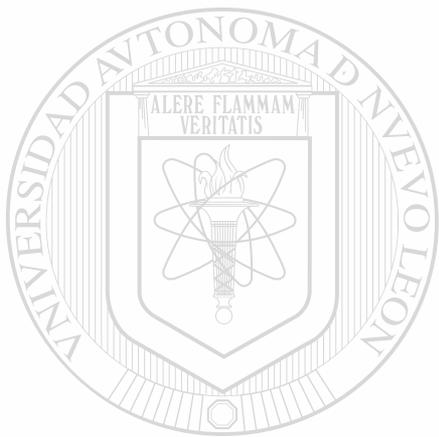
**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS CON
ESPECIALIDAD EN BOTÁNICA**

PRESENTA:

MARIA LUISA CARDENAS AVILA

MONTERREY, N. L.

JUNIO 2001.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

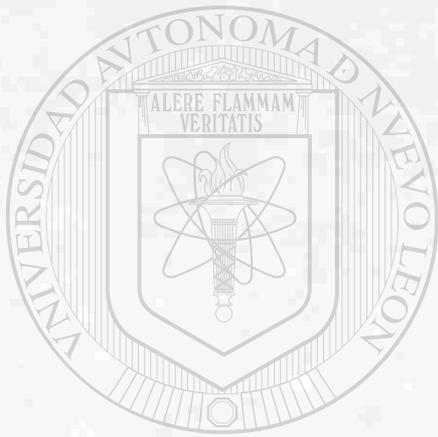
M.L.C.A.

CULTIVO DE CALLO IN VITRO COMO UNA
ALTERNATIVA PARA EVALUAR RESISTENCIA
A SALINIDAD Y SEQUÍA EN "FRÍJOL." *Phaseolus vulgaris* L.

TD
SB327
.C374
2001
c.1



1080124449



UANL

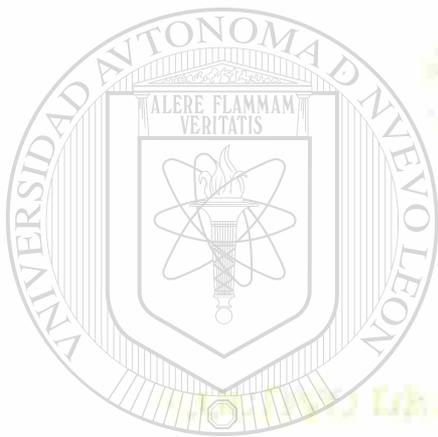
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS CON
ESPECIALIDAD EN BOTÁNICA

PRESENTA:

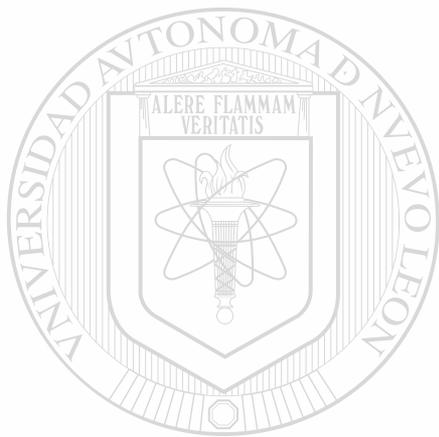
ANITA LUISA CAMPANER VERDE

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



TD
SB327
•C374
2001



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



Cultivo de callo *in vitro* como una alternativa para evaluar resistencia a salinidad y sequía en "frijol" *Phaseolus vulgaris* L.

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN BOTÁNICA

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

PRESENTA

MARIA LUISA CARDENAS AVILA

MONTERREY, N. L.

JUNIO 2001.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



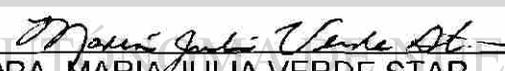
Cultivo de callo *in vitro* como una alternativa para evaluar resistencia a salinidad y sequía en "frijol" *Phaseolus vulgaris* L.

TESIS

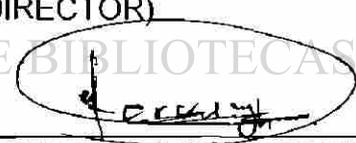
QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN BOTÁNICA
PRESENTA

MARIA LUISA CARDENAS AVILA

COMISION DE TESIS:


DRA. MARIA JULIA VERDE STAR
PRESIDENTE (DIRECTOR)


DRA. HILDA GAMEZ GONZALEZ
ASESOR (SECRETARIO)


DR. RAHIM FOROUGHBAKHCH P.
ASESOR (PRIMER VOCAL)


DR. SALOMÓN J. MARTINEZ LOZANO.
ASESOR (SEGUNDO VOCAL)


DR. MARIO R. MORALES VALLARTA
ASESOR (TERCER VOCAL)

MONTERREY, N. L

JUNIO 2001.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

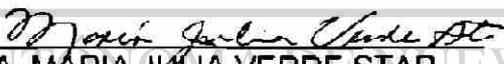


**Cultivo de callo *in vitro* como una alternativa para evaluar
resistencia a salinidad y sequía en "frijol" *Phaseolus vulgaris* L.**

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN BOTÁNICA
PRESENTA

MARIA LUISA GARDENAS AVILA


DRA. MARIA JULIA VERDE STAR
PRÉSIDENTE (DIRECTOR)

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS


DR. RATIKANTA MAITI
DIRECTOR EXTERNO

MONTERREY, N. L.

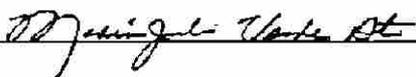
JUNIO 2001.

DIRECCIÓN DE TESIS

La presente investigación se realizó en los laboratorios de Biología Celular y Genética, Bioquímica, Botánica y Unidad de Microscopía Electrónica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Bajo la dirección de la Dra. María Julia Verde Star.



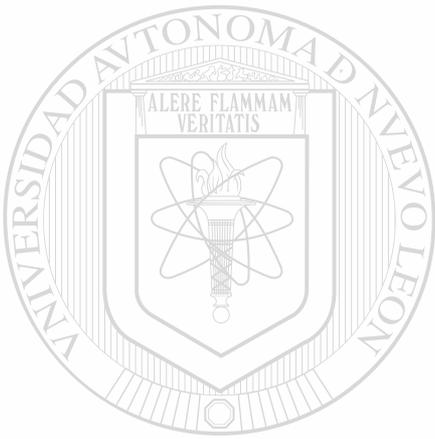

Dra. María Julia Verde Star.

Y la dirección externa del Dr. Ratikanta Maiti.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS





UANL

**“GRACIAS TE DOY SEÑOR, POR MI EXISTENCIA, POR
TODO LO QUE ME HAS BRINDADO Y POR ESTAR
CONMIGO EN TODO MOMENTO”.**

DIRECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS

DEDICATORIA

CON AMOR A LA MEMORIA DE MI PADRE:

SR. LUIS CARDENAS MATA

“ Ese Señor de las canas...”

Ejemplo de trabajo y responsabilidad, quien vive y vivirá por siempre en mi corazón.

TE QUIERO PAPÁ

A MI MADRE CON AMOR:

SRA. JUANITA AVILA DE CARDENAS

Corazón familiar. Que me inculcó lo mejores valores humanos, y quien ahora es mi Padre y Madre.

TE QUIERO DOBLEMENTE MAMÁ

A MI ESPOSO CON AMOR:

SR. GABRIEL VALERO MARTINEZ

Por compartir su vida conmigo, por su comprensión, apoyo y paciencia y sobre todo por el amor que nos une.

TE AMO

CON AMOR A MIS HIJOS:

VALERIA ALEJANDRA, GABRIELA DEYANIRA

Y LUIS GABRIEL TADEO.

Pilares de mi existencia.

Y a aquella pequeña almita, que conserva un lugar muy especial en mi corazón.

A MIS HERMANOS:

BERIA ELIA, BEATRIZ ELENA, BLANCA ESTHELA, BELINDA

ESTHER, MARIA CONCEPCIÓN, LUIS ALBERTO, JUANA MARIA

Y FRANCISCO JAVIER.

Con el cariño fraternal que nos une.

CON CARIÑO A MIS HERMANOS POLÍTICOS Y SOBRINOS,
ESPECIALMENTE A SERGIO EDUARDO.

CARIÑOSAMENTE A MIS GRANDES Y MARAVILLOSOS AMIGOS:

CONCHIS, ADRIANA, ADA, SERGIO, JORGE LUIS, LUPITO,

NANCY, ALMA Y JORGE ALBERTO.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. María Julia Verde Star, Directora de tesis, por el gran apoyo incondicional brindado para la realización de esta investigación, así como por su orientación, consejos y valiosas sugerencias.

Al Dr. Ratikanta Maiti, director externo, por su orientación y consejos durante el desarrollo del presente trabajo, así como contribuir en mi formación profesional.

Al Dr. Rahim Foroughbakhch , por su valiosa asesoría en la parte estadística, por sus sugerencias, así como por su disposición paciente y amable para llevar a buen término el presente trabajo.

A Dra. Hilda Gámez González, por la gran ayuda otorgada en la revisión del trabajo, así como por sus acertadas sugerencias y observaciones.

Al Dr. Salomón Javier Lozano Martínez , por su orientación y confianza, lo cual nos permitió trabajar conjuntamente durante el desarrollo de esta investigación así como por la revisión del escrito.

Al Dr. Mario R. Morales Vallarta, por aceptar formar parte de la comisión de tesis, por sus sugerencias, revisiones y apoyo incondicional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por las facilidades brindadas para la realización de los estudios de doctorado.

A la Dra. Graciela García Díaz, por su invaluable ayuda y asesoría en la determinación de minerales parte fundamental de este trabajo.

Dra. Ma. Magdalena Iracheta Cárdenas y al M.C. José Antonio Heredia Rojas por el apoyo, asesoría y buena disposición brindada en la realización de electroforesis.

Al Lic. José Luis Gibaja por el apoyo fotográfico recibido para los seminarios de postgrado y del presente trabajo.

A la Dra. Ma Luisa Rodríguez Tovar, Sra. Ma. del Carmen Vázquez y Ricardo por sus finas atenciones durante mi estancia en posgrado.

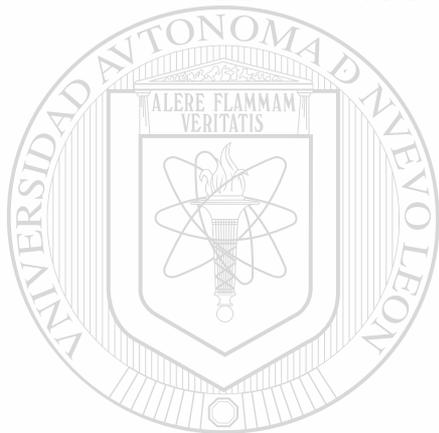
A mis amigos y compañeros de investigación: Dra. María Adriana Núñez González y M.C. Jorge Luis Hernández Piñero, por compartir sus conocimientos conmigo, por el apoyo otorgado en todas y cada una de las fases de este trabajo, pero sobre todo por su apreciable amistad.

A la M.C. María Concepción Valades Cerda, Dr. Sergio Moreno Limón, M.C. Ada Marcela Ita Garay y M.C. José Guadalupe Almanza Enríquez por el apoyo incondicional, comentarios, sugerencias así como por sus palabras de aliento y entusiasmo en los momentos difíciles. Gracias por su valiosa amistad.

A los maestros y compañeros de trabajo: M.C. Ramón Cavazos Gzz., Ma. Eufemia Morales, M.C. Jaime Fco. Treviño Neávez, Biól. Ma. Guadalupe Martínez, Dr. José Luis Gutiérrez Lobatos, Biól. Ma. Del Socorro Bácz, M.C. Jorge Verduzco, Dra. Leticia Villareal Rivera, M.C. Gerardo Guajardo, Jesús Angel de León y Dra. Diana Reséndiz por el apoyo recibido y por hacerme sentir como en casa.

Y a todas aquellas personas que de una u otra manera hicieron posible la realización de este trabajo:

MUCHAS GRACIAS Y ¡QUE DIOS LOS BENDIGA!



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CONTENIDO	PÁGINA.
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
ORIGINALIDAD Y JUSTIFICACIÓN	6
OBJETIVOS	7
REVISIÓN DE LITERATURA	8
METODOLOGÍA	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
CONCLUSIONES	84
LITERATURA CITADA	86



UANL

RESULTADOS Y DISCUSIÓN **30**

CONCLUSIONES **84**

LITERATURA CITADA **86**

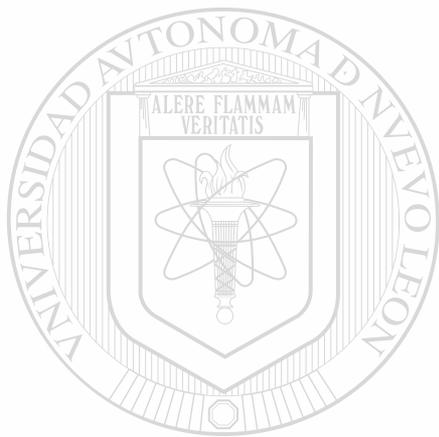
INDICE DE TABLAS

TABLA 1.	Análisis de varianza para sodio en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad.	39
TABLA 2.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para sodio en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.	39
TABLA 3.	Análisis de varianza para magnesio en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad	41
TABLA 4.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para magnesio en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.	41
TABLA 5.	Análisis de varianza para potasio en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad.	43
TABLA 6.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para potasio en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.	43
TABLA 7.	Análisis de varianza para calcio en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad.	44
TABLA 8.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para calcio en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.	45
TABLA 9.	Análisis de varianza para manganeso en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad.	46
TABLA 10.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para manganeso en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.	46
TABLA 11.	Análisis de varianza para molibdeno en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad.	48
TABLA 12.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para molibdeno en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.	48

TABLA 13.	Análisis de varianza para fierro en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad.	49
TABLA 14.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para fierro en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad. Variedades:1) pinto americano, 2) pastilla, 2) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 3) 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.	50
TABLA 15.	Análisis de varianza para cobre en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad.	51
TABLA 16.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para cobre en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad. Variedades:1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.	51
TABLA 17.	Análisis de varianza para zinc en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad.	53
TABLA 18.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para zinc en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad. Variedades:1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y3) NaCl 0.15 M.	53
TABLA 19.	Análisis de varianza para prolina libre en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad.	56
TABLA 20.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para prolina libre en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a salinidad. Variedades:1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.	56
TABLA 21.	Análisis de varianza para sodio en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía.	58
TABLA 22.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para sodio en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía. Variedades:1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10 % y 3) PEG 15 %.	58
TABLA 23.	Análisis de varianza para sodio en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía.	60
TABLA 24.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para sodio en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía. Variedades:1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10 % y PEG 15 %.	60
TABLA 25.	Análisis de varianza para potasio en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía.	62

TABLA 26.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para potasio en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10 % y PEG 15 %.	62
TABLA 27.	Análisis de varianza para calcio en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía.	64
TABLA 28.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para calcio en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 4) flor de mayo y flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10 % y 3) PEG 15 %.	64
TABLA 29.	Análisis de varianza para manganeso en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía.	66
TABLA 30.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para manganeso en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10 % y PEG 15 %.	66
TABLA 31.	Análisis de varianza para molibdeno en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía.	67
TABLA 32.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para molibdeno en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10 % y 3) PEG 15 %.	68
TABLA 33.	Análisis de varianza para hierro en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía.	69
TABLA 34.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para hierro en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10 % y 3) PEG 15 %.	70
TABLA 35.	Análisis de varianza para cobre en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía.	71
TABLA 36.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para cobre en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10 % y PEG 15 %.	72
TABLA 37.	Análisis de varianza para zinc en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía.	73
TABLA 38.	Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para zinc en callo <i>in vitro</i> de frijol estresados a sequía. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10 % y 3) PEG 15 %.	73

- TABLA 39.** Análisis de varianza para prolina libre en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía. 75
- TABLA 40.** Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para prolina libre en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10 % y PEG 15 %. 76



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

INDICE DE FIGURAS

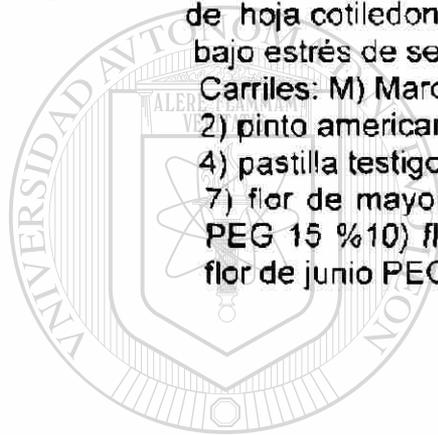
Figura 1. Plántulas asépticas de frijol de las variedades flor de mayo b) flor de junio c) pastilla y d) pinto americano	30
Figura 2. Callos <i>in vitro</i> de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. de 30 días sembrados en medio de cultivo MS con 2,4-D (mg/L): a) hipocotilo (3 mg/L), b) hoja cotiledonaria (5 mg/L) y b) c) cotiledón (10 mg/L).	32
Figura 3. Inducción de callo <i>in vitro</i> en medio MS. a) explante de hoja cotiledonaria b) callo de 15 días, c) 21 días y d) 30 días	33
Figura 4. Callo <i>in vitro</i> var. flor de mayo a) Control b) Tratamiento NaCl 0.15 M.	37
Figura 5. Callo <i>in vitro</i> var. pastilla a) Tratamiento PEG 10% b) Tratamiento PEG 15%.	37
Figura 6. Contenido de sodio en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L bajo estrés de salinidad	40
Figura 7. Contenido de sodio en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria en <i>Phaseolus vulgaris</i> L en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl .	40
Figura 8. Contenido de magnesio en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L bajo estrés de salinidad.	42
Figura 9. Contenido de magnesio en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria en <i>Phaseolus vulgaris</i> L en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl .	42
Figura 10. Contenido de potasio en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L bajo estrés de salinidad.	43
Figura 11. Contenido de potasio en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria en <i>Phaseolus vulgaris</i> L en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl .	43
Figura 12. Contenido de calcio en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L bajo estrés de salinidad.	45

Figura 13. Contenido de calcio en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria en <i>Phaseolus vulgaris</i> L en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl .	45
Figura 14. Contenido de manganeso en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L bajo estrés de salinidad.	47
Figura 15. Contenido de manganeso en callo <i>in vitro</i> de hoja Cotiledonaria en <i>Phaseolus vulgaris</i> L en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl .	47
Figura 16. Contenido de molibdeno en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L bajo estrés de salinidad.	48
Figura 17. Contenido de molibdeno en callo <i>in vitro</i> de hoja Cotiledonaria en <i>Phaseolus vulgaris</i> L en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl .	48
Figura 18. Contenido de hierro en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L bajo estrés de salinidad.	50
Figura 19. Contenido de hierro en callo <i>in vitro</i> de hoja Cotiledonaria en <i>Phaseolus vulgaris</i> L en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl .	50
Figura 20. Contenido de cobre en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L bajo estrés de salinidad.	52
Figura 21. Contenido de cobre en callo <i>in vitro</i> de hoja Cotiledonaria en <i>Phaseolus vulgaris</i> L en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl .	52
Figura 22. Contenido de zinc en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L bajo estrés de salinidad.	54
Figura 23. Contenido de zinc en callo <i>in vitro</i> de hoja Cotiledonaria en <i>Phaseolus vulgaris</i> L en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl .	54

Figura 24. Contenido de prolina en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L bajo estrés de salinidad.	56
Figura 25. Contenido de prolina en callo <i>in vitro</i> de hoja Cotiledonaria en <i>Phaseolus vulgaris</i> L en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl .	56
Figura 26. Contenido de sodio en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. bajo estrés de sequía con PEG.	59
Figura 27 Contenido de sodio en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.	59
Figura 28. Contenido de magnesio en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. bajo estrés de sequía con PEG.	61
Figura 29. Contenido de magnesio en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.	61
Figura 30. Contenido de potasio en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. bajo estrés de sequía con PEG.	63
Figura 31. Contenido de potasio en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.	63
Figura 32. Contenido de calcio en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. bajo estrés de sequía con PEG.	64
Figura 33. Contenido de calcio en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.	64

Figura 34. Contenido de manganeso en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. bajo estrés de sequía con PEG.	66
Figura 35. Contenido de manganeso en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.	66
Figura 36. Contenido de molibdeno en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. bajo estrés de sequía con PEG.	68
Figura 37. Contenido de molibdeno en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.	68
Figura 38. Contenido de fierro en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. bajo estrés de sequía con PEG.	70
Figura 39. Contenido de fierro en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.	70
Figura 40. Contenido de cobre en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. bajo estrés de sequía con PEG.	72
Figura 41. Contenido de cobre en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.	72
Figura 42. Contenido de zinc en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. bajo estrés de sequía con PEG.	74
Figura 43. Contenido de zinc en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.	74
Figura 44. Contenido de prolina en callo <i>in vitro</i> de hoja cotiledonaria de 4 var. de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. bajo estrés de sequía con PEG.	76

- Figura 45.** Contenido de prolina en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG. 76
- Figura 46.** Electroforesis en gel de poliacrilamida-sds de callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 variedades *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de salinidad. Carriles: M) Marcadores 1) pinto americano testigo 2) pinto americano NaCl 0.1 M 3) pinto americano NaCl 0.15 M 4) pastilla testigo 5) pastilla NaCl 0.1 M 6) pastilla NaCl 0.15 M 7) flor de mayo testigo 8) flor de mayo NaCl 0.1 M 9) flor de mayo NaCl 0.15 M 10) flor de junio testigo 11) flor de junio NaCl 0.1 M y 12) flor de junio NaCl 0.15 M. 78
- Figura 47.** Electroforesis en gel de poliacrilamida-sds de callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 variedades *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía. Carriles: M) Marcadores 1) pinto americano testigo 2) pinto americano PEG 10% 3) pinto americano PEG 15% 4) pastilla testigo 5) pastilla PEG 10% 6) pastilla PEG 5 % 7) flor de mayo testigo 8) flor de mayo PEG 10 % 9) flor de mayo PEG 15 % 10) flor de junio testigo 11) flor de junio PEG 10% y 12) flor de junio PEG 15%. 80



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESUMEN

La salinidad y sequía son algunas de las causas más importantes de la pérdida de tierras agrícolas y de la productividad en muchas partes del mundo, siendo la utilización de variedades resistentes de los cultivos la solución económicamente viable a este problema. En este trabajo se utiliza el cultivo de callo *in vitro* para estudiar las respuestas celulares a éstos factores de estrés; separadas de la respuesta de la planta completa. Para esto, se indujo la formación de callo *in vitro* de frijol de cuatro variedades: pinto americano, pastilla, flor de mayo y flor de junio a partir de diferentes explantes (hipocotilo, hoja cotiledonaria y cotiledón) de plántulas de frijol obtenidas asépticamente, en dos concentraciones de 2,4-D (5 y 10 mg/L) en medio de cultivo Murashige y Skoog (1962), a un fotoperíodo de 16 horas y a una temperatura de 26 ± 2 °C. Se seleccionó el explante de hoja cotiledonaria en la concentración de 5 mg/L de 2,4-D, ya que bajo estas condiciones se obtiene la mayor cantidad de callo *in vitro*. Se realizaron subcultivos de los callos *in vitro* bajo las condiciones de estrés. Para el factor salinidad se utilizaron dos concentraciones de cloruro de sodio (0.1 y 0.15 M) y para sequía dos concentraciones de polietilenglicol (10 Y 15 %). A los callos tratados y a sus respectivos testigos se les realizó un perfil de minerales por digestión vía seca. De acuerdo con el análisis de varianza y comparaciones múltiples de medias (Zar,1996) se encuentran diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) entre las variedades para Ca, Mn, Mo, Na, Fe y Cu asimismo entre los tratamientos para Na, Mg, Ca, Mn y Zn para el factor de estrés salinidad; en cuanto a sequía; hemos observado que entre las variedades

se encuentran diferencias significativas ($P < 0.01$) en Na, K, Mo, Fe, Zn, Mg, Mn y Cu; y entre tratamientos para Na, Mg, K, Mn, Fe, Cu, Zn y Mo. En la cuantificación espectrofotométrica de prolina se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las variedades y tratamientos para salinidad y sequía. En el perfil de proteínas con la técnica de gel de poliacrilamida-sds, se encontró la presencia de polipéptidos de 25, 28 y 33 kDa en las variedades pinto americano, pastilla y flor de mayo en el estrés de salinidad y en las variedades pastilla y flor de junio un polipéptido de 30 kDa en el estrés de sequía. En los estudios de ultraestructura por microscopio electrónico de transmisión, se observa sólo pared celular y escaso citoplasma en las cuatro variedades en todos los tratamientos.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

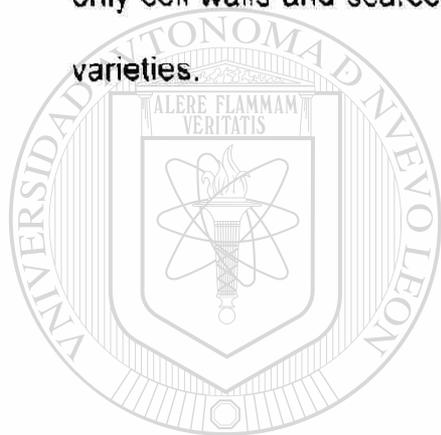


DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ABSTRACT

Salinity and drought are some of the most important reasons for the lost of cultivable land and crop yield in many areas of the world, being the utilization of resistant varieties the economical solution for this problem. In this work the *in vitro* callus culture to study the cell responses to these stress factors apart from the whole plant. For this, the formation of callus from four varieties of bean (pinto americano, pastilla, flor de mayo and flor de junio) was induced *in vitro* from different aseptically obtained seedling explants (hypocotyl, cotyledonary leaf and cotyledon) under two concentrations of 2,4-D (5 and 10 mg/L) in culture medium of Murashige and Skoog (1962) with a 16 h light photoperiod and a temperature of 26 ± 2 °C. An explant from cotyledonary leaf was selected under the 5 mg/L concentration of 2,4-D because under these conditions the highest quantity of callus *in vitro* was obtained. Subcultures of the *in vitro* callus were obtained under the stress conditions. For the salinity stress two concentrations of sodium chloride (0.1 and 0.15 M) were utilized while for the drought stress two concentration of polyethylene glycol (10 and 15%) were applied. A mineral profile was realized to the treated calli and their respective controls trough dry digestion (AOAC, 1991 by EEP-ICP). According to the analysis of variance and the multiple mean comparisson technique (Zar, 1996) highly significant differences ($p < 0.01$) were found among varieties for Ca, Mn, Mo, Na, Fe and Cu and among treatments for Na, Mg, Ca, Mn and Zn for the salinity stress factor. For the drought stress, we observed high significant differences among varieties ($p < 0.01$) for Na, K, Mo, Fe, Mg, Mn and Cu and among treatments for Na, Mg,

K, Mn, Fe, Cu, Zn and Mo. In the spectrophotometric quantification significant differences ($p < 0.05$) were observed among varieties and treatments for salinity and drought. In the polyacrilamide gel protein profile the presence of three polypeptides of 25, 28 and 33 kDa were observed in the varieties pinto americano, pastilla and flor de mayo in the salinity stress and in the varieties pastilla and flor de junio a 30 kDa polypeptide was observed in the drought stress. The ultrastructural study under the transmission electron microscope only cell walls and scarce cytoplasm were observed in all treatments of the four varieties.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

I. INTRODUCCIÓN

En el ámbito mundial el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) se encuentra entre los cultivos más importantes por su producción y aprovechamiento para el consumo humano y animal así como en la industria (Aguilera y Robles, 1975, INEGI, 1991, FAO, 1992, Foster, 1993, Maiti *et al.*, 1996, Maiti, 1997).

El establecimiento de las plántulas es uno de los principales problemas en las regiones semiáridas a causa de una serie de factores relacionados con la semilla y su ambiente. Observaciones en campo en el Noreste de México mostraron que la sequía, salinidad y altas temperaturas son los principales problemas que afectan el establecimiento inicial, de frijol y otros cultivos; por lo que es necesario el desarrollo de técnicas para la selección de genotipos resistentes a estos factores de estrés (Maiti, 1996).

Técnicas como el cultivo de tejidos se han convertido en una invaluable ayuda en el campo de la botánica experimental, pues permite el estudio de problemas básicos relacionados con el crecimiento y diferenciación bajo condiciones altamente reproducibles, en particular, la técnica de cultivo de callo *in vitro* nos brinda la oportunidad de estudiar las respuestas celulares, separadas de la respuesta de la planta completa. Debido a lo anterior se pretende utilizar esta herramienta para evaluar las respuestas de frijol a los factores de estrés salinidad y sequía.

II. ORIGINALIDAD Y JUSTIFICACION

Existe suficiente información sobre mecanismos de resistencia de frijol a salinidad y sequía a nivel de plántula, pero hay pocos estudios sobre determinación de nutrimentos, prolina libre, perfil de proteína, anatomía y ultraestructura a nivel de callo *in vitro*, esta investigación pretende establecer las bases para evaluar las respuestas que permitan en un futuro determinar los mecanismos para la resistencia a éstos factores.

III. HIPOTESIS

Las variedades de frijol difieren en respuestas bioquímicas y ultraestructurales a nivel de callo *in vitro* relacionadas con sus mecanismos de adaptación a condiciones de estrés de salinidad y sequía.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN[®]
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

IV. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar los cambios bioquímicos y ultraestructurales de frijol a nivel de callo *in vitro* y su posible relación con los mecanismos de resistencia a estrés de salinidad y sequía.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Selección del explante y establecimiento aséptico del cultivo *in vitro*.
- Determinar la concentración de 2,4-D para la inducción de callo *in vitro* de las variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.).
- Observar la respuesta de los callos de frijol obtenidos *in vitro* a los factores de estrés de salinidad y sequía.
- Evaluar los efectos de los factores de salinidad y sequía en callos de frijol, sobre nutrimentos, prolina libre, perfil de proteína y ultraestructura a nivel de callo *in vitro*.

V. REVISIÓN DE LITERATURA

SALINIDAD

En las regiones donde la precipitación pluvial es baja y las temperaturas son elevadas, existe la tendencia a la acumulación de sales solubles cerca de la superficie del suelo; en la época de lluvias las sales son arrastradas a estratos inferiores del suelo, pero el alto índice de evaporación de la época de sequía las retorna a las capas superiores (Sandoval, 1991). La salinidad es una de las causas más importantes en la pérdida de tierras agrícolas y de la productividad en muchas partes del mundo, siendo la utilización de variedades resistentes de los cultivos la solución económicamente viable a este problema (Flowers *et al.*, 1977, Yeo y Flowers, 1980).

EFFECTOS DE LA SALINIDAD SOBRE ALGUNAS FUNCIONES

FISIOLÓGICAS: Dentro de los eventos que se relacionan con la semilla se encuentran los que modifican su viabilidad, la mayoría de los trabajos mencionan una reducción en la capacidad de germinación de la semilla sometida a estrés salino (Pan, 1984, Malibari *et al.*, 1993). Se han realizado estudios sobre el efecto del NaCl (-1 MPa de presión osmótica) bajo condiciones óptimas de humedad, encontrando que es más significativo el efecto sobre crecimiento de la plántula (reducción de la acumulación de materia seca, la altura de la planta y en el desarrollo de la raíz) que sobre la tasa de germinación bajo esas condiciones (Cramer *et al.*, 1988, Venter y Van de Venter, 1988). Otros trabajos sobre el efecto de la salinidad en el crecimiento utilizando soluciones nutritivas para un mejor

control de las concentraciones salinas, han demostrado, que incrementos en la salinidad reducen la altura y longitud de la raíz, el peso específico de la hoja, el área foliar y la producción de materia seca (Mishra *et al.*, 1994). Revilla y Cañal (1999) utilizan el cultivo de tejidos como una herramienta para estudiar los efectos fisiológicos de las sales a nivel celular, evitando la complejidad fisiológica y estructural de la planta.

En un estudio, en raíz y cultivo de callo de hipocotilo de *Phaseolus vulgaris* crecido en MS el suplementado con NaCl 2 M, observaron que la salinidad del medio en oscuridad suprimió el crecimiento del tejido y reforzó la actividad de la IAA-oxidase. En subcultivos posteriores en medio de NaCl; K⁺, Na⁺ y Ca⁺⁺ aumentaron en el tejido (Komizerko *et al.*, 1988) citado por Maiti, *et al.*, (2000). Al estudiar la regulación de la homeostasis de Na⁺ y K⁺ en plantas y hongos Quintero, *et al.*, (1999) realizaron un análisis genético molecular y mencionan que tanto las células vegetales como las de hongos responden a la imposición

de un estrés salino (NaCl) restringiendo la entrada de Na⁺, mejorando la captación de K⁺ y aumentando la capacidad de acumulación de Na⁺ en la vacuola.

Broetto *et al.*, (1995) y Sawires *et al.*, (1997) citados por Maiti, *et.al.*, (2000) informaron respectivamente que en tensión-NaCl el tratamiento redujo el crecimiento relativo y el volumen de proteína, sin embargo el volumen de prolina fue aumentado y que hubo cambios bioquímicos asociados con la tensión de sal en guisante y cultivo de tejido de frijol. En cuanto a callo cultivado en medio de MS con NaCl 0 a 1.2%, indicó que ese crecimiento del

callo fue estimulado por NaCl 0.3% pero fue disminuido por niveles de salinidad más altos. También se observó que las concentraciones de sodio, los hidratos de carbono y prolina libre aumentaron con la salinidad creciente, mientras las concentraciones de K⁺ de callo disminuyeron con el nivel de NaCl. El volumen de la proteína disminuyó en callo de *P. vulgaris*.

Estudios realizados en callos de guisante y frijol muestran que el crecimiento del callo fue estimulado por NaCl 0.3% pero fue disminuido por niveles de salinidad más altos. Las concentraciones de sodio, hidratos de carbono y prolina libre generalmente aumentaron con salinidad creciente y disminuyó la concentración de K en el callo. (Sawires *et al.*, 1997) citado por Maiti, *et al.*, (2000).

EFFECTO DE ESTRÉS DE SALINIDAD SOBRE LA PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS

Existen diversas investigaciones acerca de la presencia de proteínas que intervienen en la tolerancia a la salinidad en diferentes cultivos agrícolas donde se demuestran que la salinidad promueve la síntesis de proteínas específicas de estrés de salinidad (SSSP, salt stress specific-protein) provocando un aumento (Levitt, 1972) o una disminución (Dubey, 1994) en el contenido de proteína total según la especie (Hurkman y Tanaka, 1987, Singh *et al.*, 1985, Ramagopal, 1986, Singh *et al.*, 1987, Ben-Hayyim *et al.*, 1989) estos estudios son realizados en cultivo de tejidos por la facilidad de controlar las variables, además de poder preservar una línea de células resistentes a la salinidad. Singh *et al.*, (1985)

reportaron que en cultivo de células de tabaco, el proceso de adaptación celular al estrés osmótico (estrés salino) involucra una alteración específica en la expresión génica de las células adaptadas que induce a síntesis de proteínas *de novo*, incluyendo la predominancia de una proteína de 26 kDa, llamada osmotina. Esta se considera como proteína única asociada a células de tabaco adaptadas a la salinidad (Singh *et al.*, 1987). Es interesante decir que la síntesis de la osmotina no es inducida por el choque osmótico porque comienza solo cuando las células son adaptadas a NaCl o PEG (Singh *et al.*, 1985). Se estima que el papel de la osmotina es inducir en la célula el ajuste osmótico al facilitar la acumulación de solutos o al permitir alguna alteración metabólica en la célula. Ericson y Alfinito (1987) encontraron la presencia de 2 polipéptidos (20 y 32 kDa) en forma más abundante en células de tabaco adaptadas a la salinidad que en células no adaptadas. En variedades resistentes de maíz se encontró un polipéptido con peso molecular de 26 kDa (Ramagopal, 1986).

En arroz se encontró que los patrones de proteínas de las líneas susceptibles y tolerantes, mostraron diferencias creciendo en presencia y ausencia de NaCl. Las líneas tolerantes poseían una proteína de 28 kDa en el vástago y ausente en las líneas susceptibles, la presencia de esta proteína se relacionó con la tolerancia del arroz a la salinidad (Rani, 1988).

Estudios realizados en callos de guisante y frijol observaron que el volumen de la proteína generalmente aumentó debida a salinidad en callo del guisante, pero disminuyó en *P. vulgaris* (Sawires *et al.*, 1997) citado por Maiti *et al.*, (2000).

Yang *et al.*, (1990) citado por Mir Araujo (1996) reporta que callo de sorgo crecido en MS líquido con 0.05, 0.1 y 1.5 M de NaCl, después de dos semanas el tratamiento de NaCl dio una coloración café a los callos; la relación Na^+ / K^+ fue más baja en callos de *S. halapense* que en *S. bicolor*, y el contenido de prolina aumentó. Por lo que la proporción Na^+ / K^+ en callos salinizados, puede ser utilizada como indicador de la tolerancia a la salinidad de la planta completa de *Sorghum*.

Proteínas inducidas por calor (hsp)

Se ha comprobado la síntesis de proteínas inducidas por choque térmico (hsp) en respuesta a otros factores de estrés, como: déficit hídrico, ácido abscísico, salinidad dinitrofenol, arseniato y altas concentraciones de auxinas y etileno.

Estas proteínas hsp, también conocidas como ubiquitinas, marcan a las proteínas para su degradación y el mecanismo de proteólisis depende de esta

marca. El gen que codifica para la ubiquitina, requiere para su activación los mismos elementos regulatorios de las hsp (Schlesinger, 1990).

Específicamente, en plántulas de maíz ha sido posible relacionar la presencia de una proteína hsp de 45 kDa con la tolerancia al estrés, ya que se expresa solo en la variedad resistente al calor y la sequía, y no en la variedad susceptible, bajo las mismas condiciones de evaluación (Ristic *et al.*, 1991).

ESTUDIOS ULTRAESTRUCTURALES

Olmos y Hellín, (1996) al observar a nivel ultraestructura las características de las células susceptibles a salinidad, encontraron que éstas poseían grandes

vacuolas. La vacuola central estaba rodeada por una delgada capa de citoplasma, conteniendo abundantes mitocondrias, retículo endoplásmico rugoso y plastos. Se encontraron cuerpos lipoides distribuidos en el citoplasma.

Mir Araujo, (1996) en observaciones de ultraestructura a callos *in vitro* de sorgo bajo estrés de salinidad, reporta células con altos niveles de almidón y lípidos, cloroplastos y mitocondrias abundantes y un sistema de membranas bien desarrollado, acumulación de lípidos en la periferia de la célula, comparadas con los testigos que presentan menor número de organelos y menor contenido de grasas y almidones. En células con estrés a sequía el número de organelos se reduce, aumenta el número de vacuolas y se observa una gran cantidad de vesículas o invaginaciones de la membrana y citoplasma con acumulación o concentración de materiales.

SEQUIA

La sequía es un fenómeno que limita en gran medida el cultivo y producción de las plantas. Se conocen múltiples adaptaciones fisiológicas que pueden contribuir a mejorar la tolerancia al déficit hídrico. Quizás, la adaptación que más claramente se ha asociado con la tolerancia a la sequía es el mantenimiento al turgor por ajuste osmótico. Sin embargo, su aplicación a programas de mejora es complicada debido a la falta de criterios sencillos y rápidos para identificar genotipos mantenedores del turgor, (Sánchez, *et al.*, 1999).

En los trópicos semiáridos, muchos son los cultivos que padecen largos periodos de sequía afectando su establecimiento y provocando alteraciones bioquímicas (Dubey, 1994). Por lo anterior es necesario seleccionar material tolerante a

condiciones de sequía que nos permita mejorar la producción bajo esta condición. La evaluación y selección a nivel de campo se dificulta por la variabilidad en las condiciones edafoclimáticas, sin embargo, estas pueden realizarse en condiciones controladas (Maiti, *et al.*, 1989), lo que permite un mejor manejo de las líneas, siendo este tipo de selección aceptable.

EFFECTOS DE LA SEQUÍA SOBRE ALGUNAS FUNCIONES FISIOLÓGICAS

Se ha demostrado que existen diferencias en los requerimientos de humedad del suelo para la germinación de semillas de distintas especies (Adebona y Ayisire, 1979). La sequía es un factor que inhibe marcadamente la germinación, pero para que se presenten diferencias aparentes entre los híbridos de maíz es necesario aplicar un grado de sequía más severa. Dentro de las respuestas que manifiesta el maíz está la acumulación de prolina en las hojas, factor que se puede usar como indicador de resistencia a la sequía (Grzesiak, 1991). Un método para

seleccionar genotipos, híbridos o líneas resistentes a la sequía es la capacidad de germinación en un medio hiperosmótico, las líneas seleccionadas mediante este método manifiestan ventaja sobre la población original en condiciones tanto de humedad como desfavorables en etapa de plántula (Castellanos, 1992). López-Nuño (1994), demostró que el incremento en la presión osmótica causada por soluciones de manitol, entre otras variables, provocan una disminución en el porcentaje de germinación.

Las características relacionadas con las adaptaciones de frijol en condiciones de semiaridez en Kenya fueron estudiados por Ituíya, *et al.*, (1986) seleccionando varios cultivares adaptados a tales condiciones. Se ha encontrado que el color de

la semilla, su tamaño, brillantez, hábito de crecimiento, días de floración, madurez, adaptación vegetativa y reproductiva, nodulación, daños por factores bióticos, resistencia a la sequía y tolerancia a los factores del suelo son considerados para la evaluación de los cultivares de frijol para su adaptación a tales condiciones (CIAT, 1987).

Los mecanismos de adaptación a la sequía fueron estudiados en CIAT (1988), evaluando longitud de hipocotilo, persistencia de raíz principal, fibrosis general y abundancia de raíz secundaria en 100 genotipos de frijol. El crecimiento de la raíz es mayor en todas las etapas en las líneas resistentes a la sequía comparado con las líneas susceptibles, observando que el cruzamiento entre especies mexicanas y colombianas produce poblaciones con mejores características para su adaptación a condiciones de estrés comparado con los progenitores de la misma región.

El estrés de humedad reduce severamente el índice de área foliar, peso seco, número de granos y rendimiento de frijol, pero las especies muestran alta recuperación en crecimiento y producción de vaina cuando se riegan después del tratamiento de sequía (Peña-Ramos y Muñoz-Orozco, 1988). La acumulación de ácido abscísico es indicador de la resistencia a la sequía en varios cultivos (Sindhu, *et al.*, 1990). El contenido de proteína está relacionado con la resistencia a la sequía, *P. acutifolia* se ha reportado como una especie resistente a la alta temperatura y sequía debido a que contiene un alto porcentaje de ésta (Frederici *et al.*, 1990).

Ramani, 1980 (citado por Moreno Limón, 1998) examinó la absorción y el transporte de zinc en variedades de sorgo, resistentes y susceptibles a la sequía

encontrando que no existen diferencias en ambas variables. Asimismo He *et al.*, (1993) citado por el mismo Moreno Limón, (1998) reporta acumulación de K^+ en raíces de sorgo bajo estrés osmótico inducido por PEG.

Al estudiar las respuestas en frijol *Phaseolus vulgaris* L. al estrés de sequía en etapa de plántula, Moreno Limón, (1998) reporta que en hoja y raíz, en la variedad flor de junio, los minerales Na, Mg, K, Ca, Mn, Fe y Zn se incrementan con el tratamiento de sequía; pero que en tallo el Na, K, Mn y Fe se incrementan mientras que el Mg Ca y Zn disminuyen. Para pinto americano reporta que en hoja a excepción del Na que se incrementa, el resto de los minerales se reduce; en tallo se incrementan el Na y K y disminuyen el Mg, Ca, Mn, Fe y Zn; mientras que en la raíz el Na, Mg, K y Zn se disminuyen, en cambio el Ca, Mn y Fe se incrementan.

Sánchez, *et al.*, (1999) mencionan que el mantenimiento del turgor en condiciones de estrés hídrico está influenciado tanto por el ajuste osmótico (acumulación de solutos en el interior de las células) como por la elasticidad de la pared celular; al estudiar el mantenimiento del turgor y crecimiento epicotilos de guisante en presencia de diversas concentraciones de polietilenglicol (PEG 6000). A concentraciones bajas de PEG (equivalentes a -0.1 y -0.3 MPa) no se observó ninguna influencia de la capacidad de mantener el turgor sobre el crecimiento. En condiciones de estrés más severo (equivalente a -0.6 y -1 MPa) las variedades con mayor capacidad de mantener el turgor mostraron crecimiento significativamente mayor; indican además que no parece que a estas concentraciones el PEG produzca efectos tóxicos, pues, cuando plantas después

del período de estrés, se colocaron de nuevo en presencia de agua destilada recuperaron su crecimiento.

Acumulación de prolina por efecto del estrés

La prolina, es uno de los aminoácidos contenidos en las proteínas de todos los organismos y de los tejidos de las plantas, es con frecuencia, acumulada en respuesta a varios tipos de estrés ambiental, como sequía (Naidu *et al.*, 1992; Stewart y Lee., 1974; Shing *et al.*, 1972), salinidad (Treichel, 1975), bajas temperaturas (Benko, 1986; Chu *et al.*, 1971), altas temperaturas (Oshanina,

1972) entre otros (Kathiresan, 1987). La evaluación de prolina, bajo este enfoque, se refiere al incremento de la concentración de prolina libre en el tejido, como consecuencia del estrés hídrico. Lo anterior se debe a que la incorporación de prolina en las proteínas, es inhibida durante del estrés hídrico,

por influencia de la deshidratación del tejido sobre la síntesis de proteínas, con la consiguiente acumulación de prolina libre; además, algunos productos de la proteólisis durante el estrés, como el ácido glutámico y la arginina, son utilizados para la síntesis de más prolina libre (Paleg y Aspinall, 1981).

Aunque no se conoce mucho acerca de la regulación de esta vía, se ha sugerido que la retroalimentación de prolina inhibe su propia síntesis (Ireland, 1990). Resulta interesante señalar que la habilidad de cultivos como cebada, tabaco y otros, para acumular prolina durante el estrés ha sido positivamente correlacionada con su resistencia a la sequía, por lo que, dicha acumulación de

prolina libre se recomienda como criterio de selección de plantas tolerantes al déficit hídrico (Singh *et al.*, 1972; Van Rensburg y Kruger, 1994).

Existen diversas interpretaciones al fenómeno de acumulación de prolina en las plantas como consecuencia de diferentes tipos de estrés, esto ha originado notables discrepancias en la descripción del papel funcional de dicho aminoácido en los tejidos vegetales. No obstante esta problemática, se ha puesto de manifiesto una importante utilidad en la presencia, acumulación y cuantificación de prolina en los vegetales, ya que se ha utilizado como un indicador confiable de selección de plantas (Flores, 1997).

El incremento en niveles de prolina durante estrés es único comparado con otros aminoácidos libres en el mismo tejido, pero similar a otros solutos de bajo peso molecular, como azúcares y ácidos orgánicos. El incremento en prolina está relacionado con un decremento en el potencial hídrico de la hoja y con otras medidas hídricas, como el contenido relativo de agua. (Sivaramakrishnan *et al.*,

1988). Revilla y Cañal (1999), mencionan que el concentraciones de NaCl 300 mM 300 (estrés salino) produce un enmarronamiento en callos de olivo y un incremento notable en prolina libre sobre todo en callos que proceden de un cultivo con manitol.

TÉCNICAS DE DESINFESTACIÓN

La importancia del mantenimiento de un medio ambiente estéril es fundamental durante el cultivo de tejidos vegetales para evitar la contaminación microbial, por lo cual; es necesario el uso de varias técnicas empleadas para la esterilización de cristalería, instrumentos quirúrgicos, líquidos y material vegetal. Los métodos

pueden ser clasificados como sigue: calor seco, calor húmedo (vapor bajo presión), ultrafiltración y esterilización química (Dodds y Lorin 1986).

Método de calor húmedo (vapor bajo presión: autoclave).

El vapor bajo presión es muy eficiente para destruir todas las formas de bacterias, hongos y sus esporas, y es el método más utilizado para esterilizar diferentes materiales incluyendo los medios de cultivo. Este procedimiento emplea autoclave; la olla de presión común puede ser utilizada. Para esterilizar los materiales relacionados con el cultivo de tejidos se acostumbra usar una presión de 15 libras durante 15 minutos; a esta presión la temperatura del vapor es aproximadamente 121°C (Roca y Mroginski 1991).

CULTIVO *IN VITRO* DE TEJIDOS VEGETALES

El cultivo de tejidos vegetales *in vitro* comprende, en su acepción amplia, un heterogéneo grupo de técnicas mediante las cuales un explante (parte separada de un vegetal) se cultiva asépticamente en un medio de composición química definida y se incuba en condiciones ambientales controladas (Roca y Mroginski 1991).

El callo es un tejido derivado de órganos o tejidos diferenciados, los cuales son llevados a una desdiferenciación celular, presentando una proliferación celular continua, acelerada y de apariencia desorganizada, que da origen a una masa amorfa de células. La inducción del callo a partir de una porción vegetal sucede cuando el inóculo ya estéril se pone en contacto con un medio de cultivo que induzca y mantenga su crecimiento y una división celular continua. Los reguladores de crecimiento más usados en la iniciación y mantenimiento del

cultivo de callo son el ácido indol-3-acético (AIA), ácido naftalén acético (ANA) y el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4 -D), en concentraciones que generalmente oscilan de 0.1 a 10.0 mg/L (Hurtado y Merino, 1988).

Esta masa celular puede presentar diferentes tipos morfológicos, los cuales varían según la apariencia externa, textura y composición celular (Butcher e Ingram, 1974 citado por Hurtado y Merino, 1988). La coloración de este tejido varía, aun derivando de la misma especie, el tipo y grado de pigmentación esta marcadamente influenciado por factores nutricionales y ambientales, y se manifiesta por la presencia de clorofila, carotenos, antocianinas, etc. Estudios microscópicos han demostrado que los tejidos de tipo callosa generalmente son heterogéneos en su composición celular; la diversidad celular presente en el callo depende de muchos factores como son el origen del tejido, la edad de los cultivos y la composición de los medios.

Las respuestas cualitativas y cuantitativas del crecimiento del callo en cultivo involucran un sinergismo estrecho y complejo entre el origen del tejido usado para la primera inducción, la composición del medio y las condiciones físicas que prevalecen durante esta etapa (Dodds y Lorin, 1986). Desde el punto de vista morfogénico, la característica más importante del callo es la totipotencialidad de sus células ya que en general, con un manejo adecuado de las condiciones nutricionales, hormonales y ambientales, tienen la capacidad de desarrollar brotes, raíces, embriones, etc., los cuales pueden llegar a formar plantas completas (Myerson y Krull, 1982 citado por Hurtado y Merino, 1988).

OTROS ESTUDIOS REALIZADOS A PARTIR DE CULTIVO DE CALLO *IN VITRO*

Muchos autores (Shahin y Kanenko, 1986; Phillips y Luteyn 1983; Phillips y Hubtenberg, 1987) han logrado la regeneración de plantas completas a partir de cultivo de callo. Plántulas verdes fueron regeneradas desde callo inducido a 29°C (Jia, 1987).

Estudios *in vitro* involucrando selección y 3 subcultivos de 21 días cada uno de callo embriogénicos de maíz en medio basal N6 conteniendo NaCl 85 µM seguido por la regeneración y/o selección siguiente y subcultivos en mismo medio conteniendo NaCl 125 µM. Estas plántulas fueron regeneradas en medio conteniendo NaCl mostró 4 a 20 veces incremento en tamaño de raíz comparado con otro regenerado en medio libre de sal (Lupotto *et al.*, 1988).

La sensibilidad genotípica del callo a PEG es correlacionada positivamente con sensibilidad de sequía con plantas intactas. Sensibilidad de semilla y callo a PEG

no fue correlacionada con sensibilidad a NaCl. En un estudio Mongodi *et al.*, (1988), líneas de callo derivados de embriones inmaduros de algunos genotipos no hubo éxito para supervivencia en medio conteniendo NaCl 0.05% pero las líneas F2 derivadas de la cruce de estos genotipos mostraron tolerancia a salinidad en cultivo de callo.

En otros estudios líneas de callo resistentes a NaCl fueron derivados desde 3 ciclos de subcultivo y fueron analizados para azúcares solubles y concentraciones de iones monovalentes después de 7 días de cultivo, en ambas condiciones, el testigo y en el medio con salinidad, las células sensitivas a sal contienen alta

concentración de azúcar comparado con las células resistentes a salinidad. Similarmente líneas de células estresadas con sal acumulan 1.3 veces más sodio comparado con líneas sensitivas, al contrario cambios en contenido de potasio fueron inconsistentes.

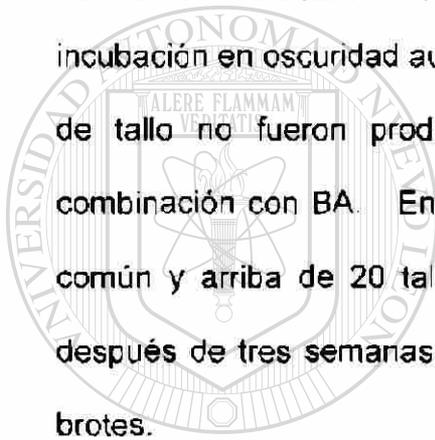
Kim y Song, (1984) estudiaron la respuesta genotípica a los requerimientos de cinetina en cultivos de callo *in vitro* de variedades de Korea de *Phaseolus vulgaris* L. Cultivos de callo de *Phaseolus vulgaris* L. fueron usados para examinar su habilidad de crecimiento en medio libre de cinetina. De 16 cultivares, ocho fueron calificadas como fenotipos completamente autónomo-cinetina y cinco fueron observados como fenotipos dependiente-cinetina.

Regeneración de plantas de callo derivado de protoplasto de mesófilo de *Phaseolus angularis* L. fue estudiada por Huang-Peiming y Ge-Koulin. (1989), los callos proliferaron por tres meses en medio MS; estos fueron transferidos a MS por otros tres meses. Brotes de tallo regenerados en MS adicionado con IAA a 0.1

mg/L , NAA 0.2 mg/L y 6 -BA 5 mg/L. En el medio anterior el brote no desarrolló. Tallos formados en un segundo medio crecieron de 3-5 cm de largo, estos fueron cortados de callo y transferidos en medio libre de hormonas o MS suplementado con IAA 1 mg/L. La formación de raíces fue inducida siete días después y posteriormente la planta completa fue obtenida.

Mohammed, *et al.*, (1992) reportan el desarrollo de un nuevo protocolo *in vitro* por inducción de brote múltiple y regeneración de plantas de explantes de ejes embrionicos de cuatro frijoles comunes (*Phaseolus vulgaris* L.) y dos líneas de frijol "tepari" (*P. acutifolius* A. Gray). Los explantes fueron preparados de dos tallos de embriones, 3 a 4 mm y 5 a 7 mm correspondientes de vainas colectadas a 15 y

25 días después de la floración respectivamente. El eje embriónico fue cultivado en medio basal Gamborg o B5 con BA 0, 5, 10 o 20 mM en combinaciones con NAA de 0,1 o 2 mM. Los cultivos de 24 a 25 °C bajo luz continua o incubados en oscuridad por 2 semanas seguida de luz continua antes de transferir a un segundo medio B5 (BA 0 a 2 mM ó BA 2 mM más GA3 4 mM). Raíces adventicias o tallos simples con raicillas formadas del explante cultivado en medio sin reguladores de crecimiento. Múltiples brotes fueron inducidos en todos los medios con BA, pero se produjeron más con 5 a 10 mM en muchas líneas. La incubación en oscuridad aumentó la iniciación de brotación múltiple. Los vástagos de tallo no fueron producidos en medio que contuviera NAA solo o en combinación con BA. En el segundo medio, 6 de 8 tallos por explante de frijol común y arriba de 20 tallos por explante del frijol "tepani" fueron observados después de tres semanas. Plantas maduras y fértiles fueron inducidas de esos brotes.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN[®]
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

VI. METODOLOGÍA

DESCRIPCIÓN DEL AREA DE TRABAJO

Esta investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Biología Celular y Genética, Química Analítica, Botánica, Bioquímica Microbiana y la Unidad de Microscopía Electrónica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

MATERIAL EXPERIMENTAL

Se utilizaron cuatro variedades comerciales de *Phaseolus vulgaris* L. "frijol" (pinto americano, pastilla, flor de mayo y flor de junio).

DESINFESTACIÓN Y GERMINACIÓN

Las semillas de frijol se desinfestaron superficialmente con alcohol etílico al 70% por 30 segundos, posteriormente se pasaron a una solución de hipoclorito de sodio comercial (NaClO) al 15 % (v/v) y unas gotas de Tween 20 (detergente no iónico) por 10 minutos. Se eliminó el agente desinfectante dentro de la campana de flujo laminar y se enjuagó el material de 3 a 5 veces con agua destilada esterilizada.

El material desinfectado se sembró en frascos con capacidad de 150 mL conteniendo como sustrato aproximadamente 30 mL de agar-agar al 0.7% esterilizado a 121^o C y 15 libras de presión por 15 minutos; dentro de la campana de flujo laminar para asegurar las condiciones asépticas del cultivo. Los cultivos se mantuvieron a fotoperíodo de 16 hrs. y a una temperatura de 26 ± 1^o C.

INDUCCIÓN DE CALLO IN VITRO

De las plántulas obtenidas *in vitro* se tomaron explantes de 1 cm de hipocotilo, hoja cotiledonaria, cotiledón y raíz, los cuales se sembraron asépticamente en recipientes de vidrio con capacidad de 120 mL con aproximadamente 30 mL de medio de cultivo MS (Murashige-Skoog 1962), complementado (en mg/L) con vitaminas, 100 mio-inositol, 1.5, 2.0, 3.0, 5.0 y 10 de 2,4-D (para la inducción de callo *in vitro*) y agar-agar al 0.7%. El pH se ajustó a 5.7 con NaOH 0.1 N ó HCl

0.1 N previa adición al agar y se llevó a esterilizar en olla de presión a una temperatura de 121 ± 1^o C y a 15 libras de presión por 15 minutos. El instrumental utilizado en la disección fue flameado constantemente para asegurar las condiciones asépticas que deben prevalecer dentro de la campana de flujo laminar. Los cultivos se mantuvieron en un fotoperíodo de 16 horas y a una temperatura de 26 ± 1^o C.

PRUEBAS DE ESTRÉS A SALINIDAD EN CALLO IN VITRO

Las concentraciones de salinidad utilizadas fueron de acuerdo a Lupotto *et al.*, (1988) y Moreno Limón (1998). Secciones de callo *in vitro* fueron subcultivados

en recipientes de vidrio de capacidad de 120 mL con aproximadamente 30 mL de medio de cultivo sólido MS (utilizado para la primera inducción), al que se le agregaron soluciones de cloruro de sodio a diferentes concentraciones (0.1 y 0.15 M) para estrés de salinidad. Cada prueba se realizó con sus respectivos testigos.

PRUEBAS DE ESTRÉS A SEQUÍA EN CALLO *IN VITRO*

1.- Las concentraciones de Polietilenglicol (PEG 6000) para producir el estrés de sequía en los subcultivos de callo *in vitro* en las cuatro variedades comerciales de frijol utilizadas en esta investigación se determinaron de la siguiente manera:

Semillas de frijol pinto americano fueron sembradas en 6 concentraciones de PEG (-0.002, -0.02, -0.2, -0.6, -1, -1.5 Mpa) según gráfica de relación entre molalidad de PEG de cuatro pesos moleculares y ψ_w (potencial hídrico) medidos por método de déficit de presión-vapor de Steuter *et al.*, (1981). Dicha siembra se realizó en

cámara bioclimática (condiciones controladas de luz y temperatura) en vasos de poliuretano de 300 ml de capacidad usando perlita como sustrato. Se les proporcionó un único riego con agua (120 mL) y a las 72 horas se les dio un riego (220 mL) con el tratamiento respectivo de PEG en medio MS líquido. Cada tratamiento constó de 6 repeticiones y dos testigos; uno con riego de agua y otro con medio líquido MS (1962) sin PEG.

Determinadas las concentraciones de PEG (10 y 15 % que equivalen aproximadamente a -0.6 y -1 Mpa respectivamente), se continuó con el desarrollo de la investigación.

2.- Secciones de callo *in vitro* fueron subcultivadas en tubos de ensaye de 18 x 150 en medio de cultivo líquido MS (utilizado para la primera inducción), con soporte de papel filtro; según Roca y Mroginsk (1991) con dos concentraciones de polietilenglicol (PEG) (10 y 15 %) para inducción de sequía. Cada prueba se realizó con sus respectivos testigos.

A los callos sometidos a estrés de salinidad y de sequía; y a sus testigos se les realizaron las siguientes pruebas:

Determinación de macro y micro nutrientes (AOAC, 1991)

Por espectrofotometría de emisión por plasma digestión vía seca en el instrumento ICAP 61E TRACE ANALYZER TERMO JARRELL ASH.

Los callos subcultivados *in vitro* sometidos a estrés de salinidad y sequía y sus respectivos testigos se secaron en estufa HS-33 RIOS ROCHA a 65 °C hasta peso constante.

Muestras de aproximadamente 1 g se carbonizaron completamente sobre un tripié con triángulo de porcelana a fuego lento con la llama azul hasta ausencia total de humo y se calcinaron en una mufla a 500 °C durante 1 h. Las cenizas se disolvieron con 15 mL de HCl 20% pasando la solución a través de un embudo de filtración rápida provisto de un papel filtro Whatman No. 41. El filtrado se colectó en matraces de aforación de 25 mL. Se preparó un blanco reactivo consistente en 5 mL de HCL 20% aforado a 25 mL con agua bidestilada. Las muestras tratadas se analizaron en un espectrofotómetro de emisión por plasma de THERMO JARREL ASH bajo condiciones ya optimizadas.

DETERMINACIÓN DE PROLINA: (Zuñiga *et al.*,1989) y Bates(1973)

Muestras de 0.5 g de callo se homogenizaron en 10 mL de una solución acuosa de ácido sulfosalicílico al 3%, posteriormente se filtró la solución en un embudo de filtración rápida utilizando papel filtro Whatman No. 2. Una alícuota (2 mL) se colocó en un tubo de ensaye al que se le agregaron 2 mL de ácido ninhídrico y 2 mL de ácido acético glacial para después colocar el tubo a una temperatura de 100° C durante una hora. Finalmente la reacción se completó en un baño de hielo. Se agregó 4 mL de tolueno y el contenido del tubo se invirtió suavemente durante 20 segundos. Posteriormente se aspiró la parte de tolueno con una pipeta, se estabilizó a temperatura ambiente y se determinó la absorbancia a 520 nm en un espectrofotómetro visible Turner Sequoia 690. Se utilizó un tubo con tolueno como blanco para calibrar el aparato.

La concentración de prolina se determinó a partir de una curva de calibración y se calculó sobre la base de peso fresco de la siguiente manera:

$$\frac{(\text{ppm de prolina de la curva}) \times \text{volumen de aforación}}{\text{g de material peso fresco}} = \text{ppm de prolina}$$

ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA SDS.-(SDS/PAGE)(Laemmli 1970)

Procesamiento de la muestra:

Medio gramo de callo fresco de cada variedad se maceró y sonicó en tubos

epperdorf (2.5 mL) con agua bidestilada y una solución desnaturalizante (buffer de lisis) (10 % de β -mercaptoetanol, SDS al 5 % (p/v), 0.01 % de azul de bromofenol, glicerol al 20 % (p/v) y Tris al 1.5 % con un pH de 6.8) en proporción 1:1 a 3 ciclos de 30 seg cada uno, con intervalos de descanso (30 seg). En los callos sometidos al estrés de sequía se probó además buffer fosfato-citrato pH 3.0 (Van Loon, 1976 citado por Van Loon, *et al.*, 1983). Posteriormente se centrifugaron a 13000g por 5 minutos. El sobrenadante se calienta en baño María a 100 °C por 3 minutos. La separación de proteína específica se realizó mediante electroforesis en geles de poliacrilamida- sds- discontinuo y en un solo sentido (unidimensional); metodología descrita por Laemmli (1970). con ligeras modificaciones. Una alícuota de 10 μ L de cada muestra y marcadores se sometió a electroforesis en un gel separador de poliacrilamida-SDS al 12 % y con un gel concentrador al 4% en una cámara Hoefer (modelo Mighty Small II SE 250/ SE 260). Se corrió el gel a 15 mA (miliampers) para el gel concentrador y 30 mA para el gel separador.

Después de la electroforesis, el gel se coloca en ácido tricloroacético al 12.5 % durante 30 minutos, se lava con agua y se mantiene en una solución colorante (azul Coomassie R-250 al 0.1 % (p/v), metanol al 50 % y ácido acético al 10%) durante 12 a 14 horas con agitación continua. Para eliminar el exceso de colorante, el gel se colocó en ácido acético al 10 %. Como marcadores de peso molecular se utilizan: (97.4 kDa Phosphorylase b, Rabbit Muscle, 66 kDa Albumin, Bovine, 45 kDa Albumin, egg, 29 kDa Carbonic Anhidrase, Bovine Erythrocytes, 24 kDa Trypsinogen, Bovine Pancreas 20 kDa Trypsin Inhibitor, Soybean 14,200 kDa α - Lactalbumin, Bovine Milk y 6,500 kDa Aprotinin, Bovine Lung) estándares

de la compañía Sigma Chemical CO.(todos los materiales utilizados son grado reactivos). Posteriormente se procedió a realizar los cálculos de peso molecular, tanto para las bandas de las muestras como para los estándares de peso molecular.

ULTRAESTRUCTURA POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN

(M.E.T) (Lux 1987).

Secciones de callo *in vitro* estresados a salinidad y sequía se fijaron en una solución de glutaraldehído (5%) preparada con Buffer fosfatos 0.1M, pH 7.2, por un lapso de 24 a 48 hrs. Las muestras se extrajeron y se lavaron con una solución de Buffer de fosfatos de 0.15 M para eliminar el exceso de glutaraldehído, luego se colocaron en una solución de tetraóxido de osmio preparada en un Buffer fosfatos 0.1 M durante 2 a 3 horas. Posteriormente las muestras se deshidrataron en concentraciones crecientes de acetona (30 -100 %). La acetona presente en el tejido se sustituyó utilizando concentraciones de Oxido de Propileno (3:1, 1:1, 1:3, acetona: óxido de propileno). Las muestras se infiltraron en resina Spurr en concentraciones crecientes. Se realizaron cortes semifinos de grosor variable (entre 0.5 y 1 μm), los cuales se tiñen con "Epoxy Tissue Stain" de Electrón Microscopy Sciences, Co U.S.A., el cual contiene fucsina básica y azul de toluidina. Estos cortes se observaron a través de microscopio óptico.

Finalmente se obtuvieron cortes ultrafinos (60-90 nm) los que se contrastaron con acetato de uranilo y citrato de plomo. Los cortes obtenidos se observaron en un microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM-9.

DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANALISIS DE DATOS

Para la inducción de callo *in vitro* y las pruebas de estrés salinidad y sequía, se aplicó un diseño de bloques completamente aleatorio con veinte repeticiones.

Para macro y micronutrientes se utilizó un diseño completamente aleatorio con tres repeticiones para cada elemento.

Los datos cuantitativos sobre el desarrollo del callo, la determinación de macro y microelementos así mismo el efecto de factores de estrés salinidad y sequía, se sometieron a un paquete statgraphics versión 7.0 donde se aplicó el análisis de varianza múltiple sobre los tratamientos y macro y micronutrientes para detectar si

existen diferencias significativas entre los factores y los tratamientos. Los valores promedio fueron comparados mediante la aplicación de comparación de medias de Tukey (Zar, 1996).

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

DESINFESTACIÓN Y GERMINACIÓN

De las semillas de frijol, de las cuatro variedades comerciales, (pinto americano, pastilla, flor de mayo y flor de junio) desinfestadas y sembradas en agar, se obtuvieron, después de siete días plántulas asépticas vigorosas y de un color verde brillante, con raíces abundantes, largas y de color blanco a crema

(figura 1)



Figura 1. Plántulas asépticas de frijol de las variedades a) flor de mayo b) flor de junio c) pastilla y d) pinto americano.

INDUCCIÓN DE CALLO *IN VITRO*

El inicio de formación de callo *in vitro* se observó en las cuatro variedades de frijol utilizadas, a los siete días del cultivo *in vitro*, siendo más notoria en las variedades pinto americano, pastilla y flor de mayo en los explantes aéreos (hipocotilo, cotiledón y hoja cotiledonaria) en las cinco concentraciones de 2,4-D utilizadas, tal como lo citan Hurtado y Merino (1988) que los reguladores de crecimiento más usados en la iniciación y mantenimiento del cultivo de callo son el ácido indol -3- acético (AIA), ácido naftalenacético (ANA) y el ácido 2,4 -dichlorofenoxiacético (2,4 -D), en concentraciones que generalmente oscilan de 0.1 a 10.0 mg/L. En el explante de raíz no se obtuvo inducción de callo *in vitro*, tal como lo mencionan Dodds y Larin, (1985) que las respuestas involucran un sinergismo entre el origen del tejido usado y la composición del medio y como lo reporta Kim y Song (1984) que clasifica cultivares de frijol completamente autónomo-cinetina, como se manifiesta entre los explantes utilizados en esta investigación. Los callos de mayor crecimiento son a los 30 días en (2,4-D); 3 mg/L en el explante de hipocotilo, en 10 mg/L en el de cotiledón y en 5 mg/L en el explante de hoja cotiledonaria (figura 2).

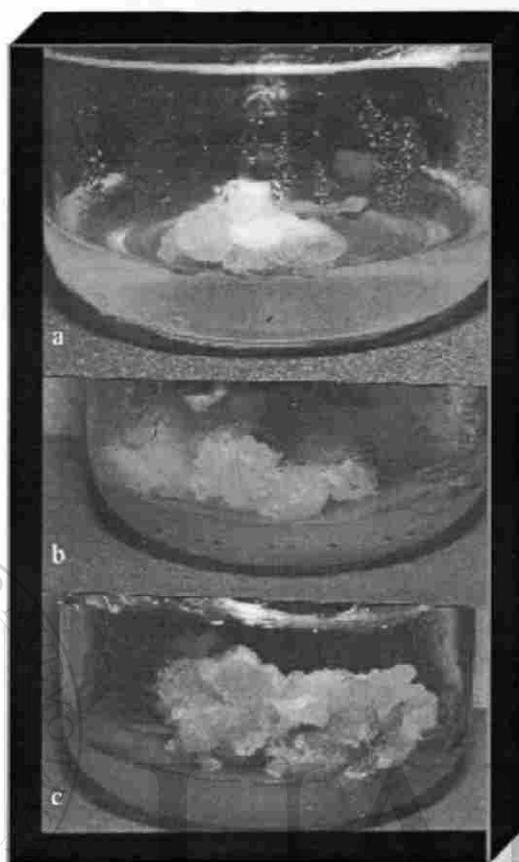


Figura 2. Callos *in vitro* de *Phaseolus vulgaris* L. de 30 días sembrados en medio de cultivo MS con 2,4-D (mg/L): a) hipocotilo (3 mg/L), b) hoja cotiledonaria (5 mg/L) y c) cotiledón (10 mg/L).

Estos callos son friables, de color blanco a amarillo claro y sin signos de oxidación. Además se observó la formación de largas raicillas (3 a 5 cm) de color blanco en callo *in vitro* en las variedades pinto americano y flor de mayo. Como el explante de hoja cotiledonaria (Fig. 3), proporciona la mayor cantidad de inóculos para la inducción del callo *in vitro* en 5 mg/L de 2,4-D y éstos son de mayor cantidad y muy buena calidad; la exposición a los estrés salinidad y

sequía; y las determinaciones bajo estas condiciones se realizaron solo en estos callos *in vitro* (ver Figura 2c).

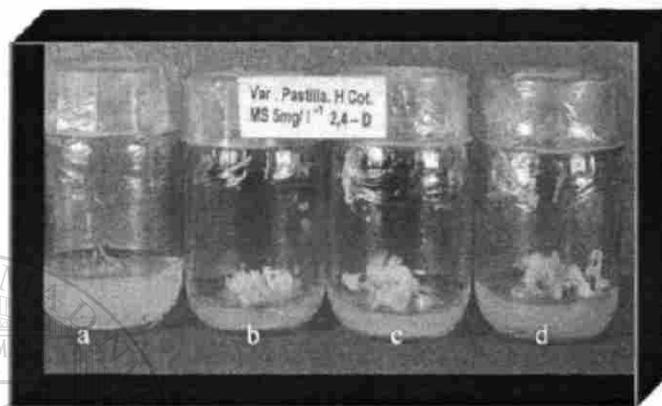


Figura 3. Inducción de callo *in vitro* en medio MS. a) explante de hoja cotiledonaria b) callo de 15 días, c) 21 días y d) 30 días.

PRUEBAS DE ESTRÉS A SALINIDAD Y SEQUÍA

Los callos *in vitro* de 30 días de hoja cotiledonaria (5 mg/L de 2,4-D) de las cuatro variedades de frijol fueron subcultivados en el medio M-S con las dos concentraciones de cloruro de sodio (0.1 y 0.15 M) para estrés de salinidad y dos concentraciones de polietilenglicol (PEG) (10 y 15 %) para inducción de sequía osmótica, después de 30 días bajo estrés, no aumentaron su tamaño, se tornaron color café claro y se volvieron menos friables (Fig. 4 y 5), lo que coincide con lo reportado por Broetto *et al.*, (1995) citados por Maiti, *et al.*, (2000) que en tensión-NaCl el tratamiento redujo crecimiento relativo en cultivo de tejidos; a su

vez Yang *et al.*, (1990) citado por Mir Araujo (1996) reportaron que callo de sorgo crecido en MS líquido con 0.05, 0.1 y 1.5 M de NaCl, después de dos semanas el tratamiento de NaCl dio una coloración café a los callos. También Revilla y Cañal (1999) mencionan que concentraciones de sal de 300 mM producen enmarronamiento en los callos de olivo cultivados en sacarosa.

En esta investigación pudimos observar que el cambio de coloración en los callos se debe a la respuesta a ambos factores de estrés ya que callos (de las cuatro variedades) sometidos a ambos estrés, se transfirieron nuevamente al medio original de inducción (M-S con 2,4-D 5 mg/L) y se observó el desarrollo de nuevo callo con las mismas características del callo de la primera inducción. Esto coincide con lo citado por Sánchez *et al.*, (1999) quienes mencionan que mismas concentraciones de PEG (-0.6 y -1 MPa) al parecer no producen efectos tóxicos, pues plantas de guisante después de ser sometidas a este estrés, se colocaron

de nuevo en presencia de agua destilada y recuperaron su crecimiento.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

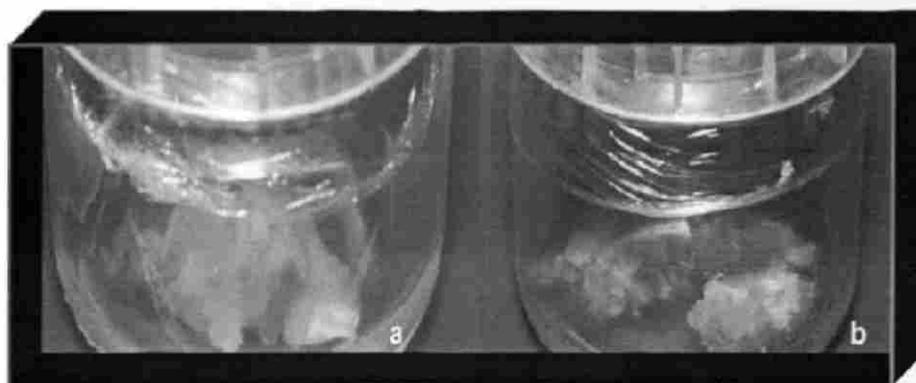


Fig. 4 Callo *in vitro* var. flor de mayo a) Control b) Tratamiento NaCl 0.15 M

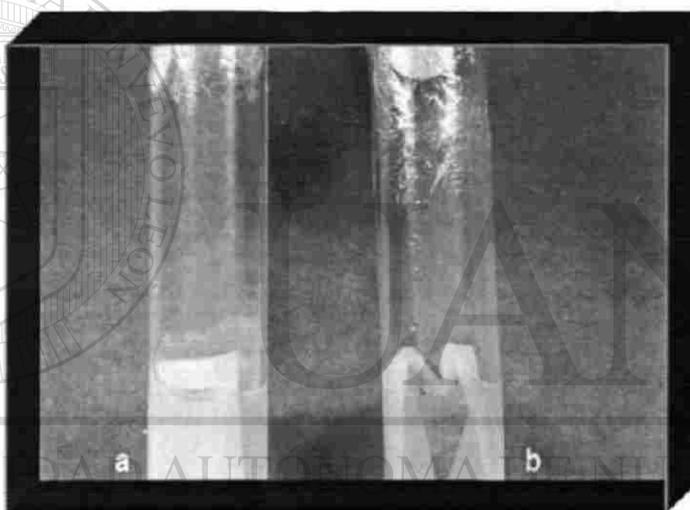


Fig. 5 Callo *in vitro* var. Pastilla a) Tratamiento PEG 10 %
b) Tratamiento PEG 15 %

DETERMINACIÓN DE MACRO Y MICRO NUTRIMENTOS EN LOS CALLOS *IN VITRO* DE *Phaseolus vulgaris* L. PARA EL ESTRÉS DE SALINIDAD

Los resultados correspondientes a macro y micronutrientes en los callos *in vitro* se sometieron a un análisis de varianza múltiple. Dicho análisis reveló diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) entre los tratamientos y entre las variedades en la mayoría de los macronutrientes y micronutrientes. Enseguida se discutirán los resultados para cada uno de los macro y micronutrientes en los callos *in vitro* de *Phaseolus vulgaris* L.

SODIO (Na). Para el sodio el análisis de varianza muestra que existen diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las variedades y ($P < 0.01$) entre los tratamientos (Tabla 1). En la comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey (Tabla 2) respecto a las variedades observamos la formación de dos grupos; en el primer grupo se encuentran las variedades pastilla, flor de junio y flor de mayo, y en el segundo grupo las variedades flor de junio, flor de mayo y pinto americano, tenemos entonces que entre las variedades pinto americano y pastilla existen diferencias estadísticamente significativas; y es la variedad pinto americano la que presenta una mayor cantidad de sodio (16616.54 ppm). Con respecto a los tratamientos se observan también dos grupos, en el primero se incluyen los tratamientos testigo y NaCl 0.1M y en el segundo grupo el tratamiento NaCl 0.15M, de esta manera observamos diferencias estadísticas entre el testigo y el NaCl 0.15 M y entre el tratamiento NaCl 0.1 M y NaCl 0.15 M. Sin embargo no se observó diferencias significativas entre el testigo y el tratamiento NaCl 0.1 M (Figuras 6 y 7). Estos resultados en

donde observamos un aumento en la concentración de Na en el tratamiento NaCl 0.15 M, coinciden con los resultados obtenidos por Komizerko *et al.*, (1988) citado por Maiti, *et al.*, (2000) quienes mencionan que en subcultivos de callo en medio con NaCl, el Na⁺ aumentó en el tejido y con Broetto *et al.*, (1995) y Sawires *et al.*, (1997) citados por Maiti, *et al.*, (2000) quienes informaron respectivamente que en tensión-NaCl, callo cultivado en medio de MS con NaCl 0-1.2% se observó que las concentraciones de sodio aumentaron con concentraciones de salinidad creciente, lo cual era lo esperado.

TABLA 1. Análisis de varianza para sodio en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	6.8E8	3	2.06E8	3.15 *	P = 0.03
TRATAMIENTO	1.78E9	2	8.93E8	13.68 **	P < 0.01

* Valores altamente significativos (P < 0.01) ** Valores significativos (P < 0.05) NS = Valor no significativo (p > 0.05).

TABLA 2. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para sodio en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos (1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.

NIVEL	PROMEDIO ± ERROR ESTÁNDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA
VARIEDAD	1 16616.54 ± 6358.61 a*	11113.13 - 22119.98
	2 5153.76 ± 800.90 b	349.65 - 10657.17
	3 12749.56 ± 2414.00 ab	7245.55 - 18253.38
	4 12450.68 ± 2267.61 ab	6947.25 - 17954.09
	Total 11742.74 ± 1803.52	
TRATAMIENTO	1 4305.80 ± 667.66 b*	-459.29 - 9072.90
	2 9715.85 ± 2253.29 b	4949.75 - 14481.95
	3 21205.56 ± 3742.51 a	16436.46 - 25971.66
	Total 11742.74 ± 1473.07	

* Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas (p < 0.05) ** Letras iguales en columnas indican diferencias no significativas (p > 0.05)

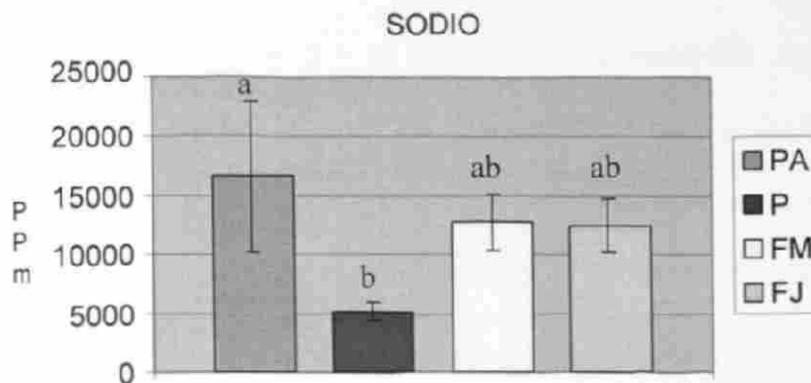


Fig. 6 Contenido de sodio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L bajo estrés de salinidad.

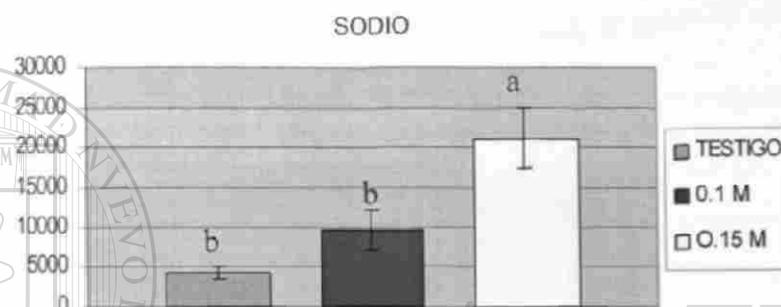


Fig. 7 Contenido de sodio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria en *Phaseolus vulgaris* L en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl.

MAGNESIO (Mg). - El contenido de Mg varía de la manera muy significativa ($P < 0.01$) entre los tratamientos pero no entre las variedades. ($P > 0.05$) como lo

indica la Tabla 3. Respecto a las variedades, la comparación múltiple de medias de Tukey (Tabla 4) muestra la formación de un solo grupo, lo que indica la ausencia de diferencias estadísticas significativas, se presenta una captación de este elemento que va de 325.35 ppm en la variedad flor de mayo hasta 666.60 ppm en la variedad flor de junio. En relación a los tratamientos se observaron dos grupos en el primer grupo se muestran los tratamientos con NaCl 0.1 M y 0.15 M; en el segundo grupo el tratamiento testigo, lo que nos indica que existe diferencia significativa entre estos tratamientos con el testigo y

no entre los tratamientos NaCl 0.15 M y 0.1 M. Se puede observar que con los tratamientos NaCl 0.15 M y 0.1 M se reduce la cantidad de Magnesio acumulado de 306.57 y 464.31 ppm en comparación con el tratamiento de control (822.14 ppm) (Fig. 8 y 9). Lo cual puede significar que se ve afectado el Mecanismo de captación de este elemento debido a la concentración de NaCl.

TABLA 3. Análisis de varianza para magnesio en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	738164.50	3	246054.83	2.20 NS	P = 0.10
TRATAMIENTO	1674894.8	2	837447.42	7.50 **	P < 0.01

** Valores altamente significativos ($p < 0.01$) * Valores significativos ($P < 0.05$) NS = Valor no significativo ($P > 0.05$).

TABLA 4. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para magnesio en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.

NIVEL	PROMEDIO ± ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
		INFERIOR	SUPERIOR
VARIEDAD	1 468.87 ± 134.55 a **	241.42	696.32
	2 663.20 ± 184.87a	435.75	890.66
	3 325.35 ± 85.67 a	97.90	552.80
	4 566.60 ± 100.65a	439.15	894.05
	Total 531.01 ± 66.02		
TRATAMIENTO	1 822.14 ± 54.64 a *	625.16	1019.12
	2 464.31 ± 158.09 b	267.33	661.29
	3 306.57 ± 54.50 b	109.59	503.55
	Total 531.01 ± 58.50		

* Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$). ** Letras iguales en columnas indican diferencias no significativas ($P > 0.05$).

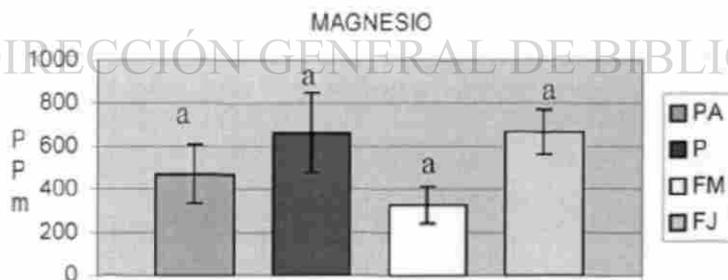


Fig. 8. Contenido de magnesio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de salinidad.

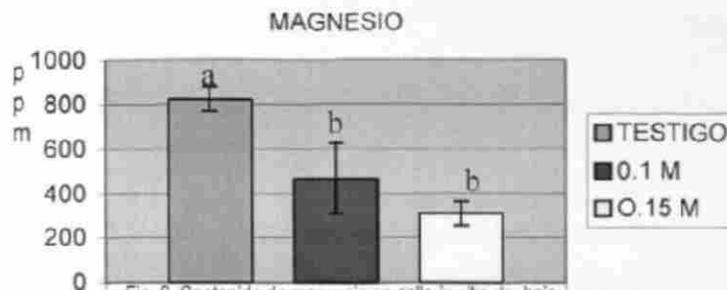


Fig. 9 Contenido de magnesio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl.

POTASIO (K).- de acuerdo al análisis de varianza no se muestran diferencias estadísticas ($p > 0.05$) entre las variedades ni entre los tratamientos (Tabla 5).

En la comparación múltiple de medias de Tukey para las variedades y los tratamientos (Tabla 6), existe la formación de un solo. Se presenta una

captación de este elemento que va de 18410.49 ppm en la variedad pinto americano, hasta 29782.76 ppm en la pastilla. Se puede observar que para pinto americano hay una interrelación entre el contenido de Na^+ y K^+ pues el Na^+ aumenta mientras que el K^+ disminuye y en la variedad pastilla se observa

una disminución de Na^+ , mientras que el K^+ se incrementa; lo cual puede ser debido al gradiente de potencial eléctrico de la membrana. En los tratamientos

NaCl 0.15 y 0.1 M se observa menor cantidad de potasio (18465.07 y 25397.74 ppm) con respecto al testigo (28139.73 ppm) como lo indican las Figuras 10 y

11. Nuestros resultados coinciden con Sawires *et al.*, (1997) citado por Maiti,

et al., (2000) que informan que la concentración de K^+ en callo disminuyó con nivel de NaCl y difiere de (Komizerko *et al.*, 1988) citado por Maiti, *et al.*, (2000)

quienes mencionan que en subcultivos de callo en medio con NaCl; el contenido de K^+ , aumenta en el tejido.

TABLA 5. Análisis de varianza para potasio en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	6.25E8	3	2.08E8	1.66 NS	P = 0.19
TRATAMIENTO	5.96E8	2	2.98E8	2.37 NS	P = 0.11

** Valores altamente significativos (P < 0.01) *valores significativos (P < 0.05) NS = Valor no significativo (P > 0.05).

TABLA 6. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para potasio en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.

NIVEL	PROMEDIO ± ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 18410.49 ± 2834.65 a **	10782.00	26038.99
	2 29782.76 ± 6939.84 a	22154.27	37411.26
	3 22356.13 ± 1297.01 a	14727.64	29984.62
	4 25454.00 ± 1644.95 a	17825.50	33082.49
	Total 24000.85 ± 1945.90		
TRATAMIENTO	1 28139.73 ± 813.06 a **	21533.26	34746.20
	2 25397.74 ± 5284.78 a	18791.27	32004.21
	3 18465.07 ± 2162.00 a	11858.80	25071.54
	Total 24000.85 ± 1922.50		

*Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas (P < 0.05) ** Letras iguales en columnas indican diferencias no significativas (P > 0.05)

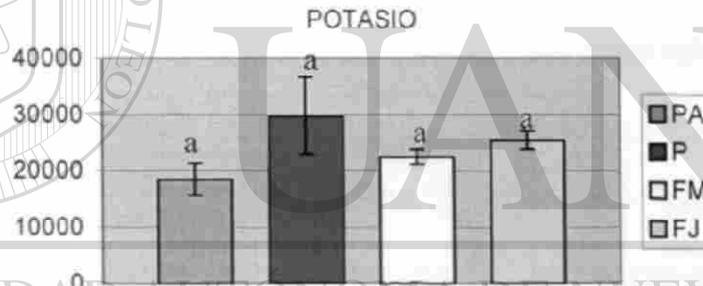
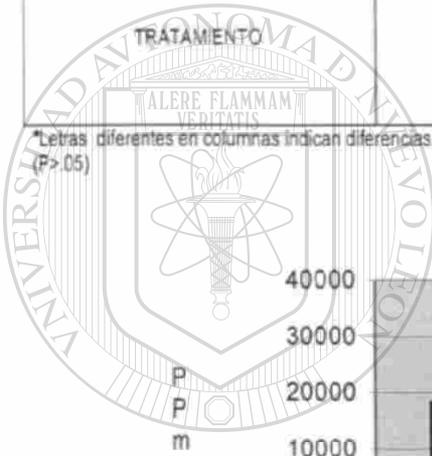


Fig. 10 Contenido de potasio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de salinidad.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

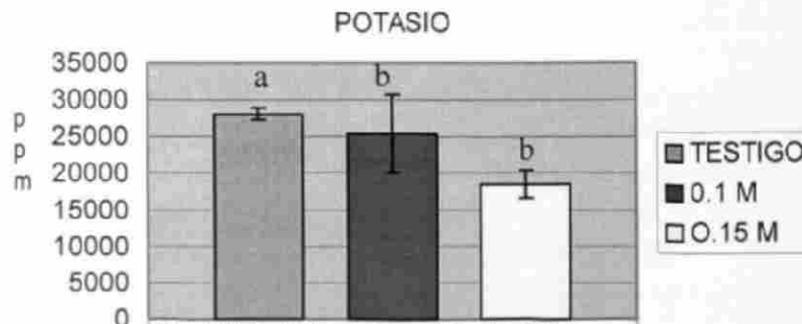


Fig. 11 Contenido de potasio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl.

CALCIO (Ca)- El contenido de Ca entre las variedades y tratamientos demostraron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) como indica la Tabla 7. Las comparaciones múltiples de medias de Tukey (Tabla 8) pone en evidencia la formación de dos grupos para las variedades, en el primero se encuentran las variedades flor de mayo y flor de junio y en el segundo grupo las variedades pinto americano y pastilla. La prueba de Tukey demuestra igualmente diferencias estadísticamente significativas entre las variedades pinto americano y pastilla con las otras variedades; donde la variedad pinto americano es la que presenta la mayor cantidad de Ca que es de 3113.55ppm mientras que la variedad flor de mayo, alcanza únicamente 853.08 ppm. Con respecto a los tratamientos se observan también dos grupos, en donde el tratamiento NaCl 0.1 M comparte ambos grupos y los tratamientos testigo y NaCl 0.15 M se encuentran en diferente grupo, por lo tanto es entre estos últimos tratamientos en donde se observan las diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$); (Figs. 12 y 13) estos resultados coinciden con los obtenidos por Komizerko *et al.*, 1988 citado por Maiti, *et al.*, (2000) quienes mencionan que en subcultivos de callo en medio de NaCl, la cantidad de Ca ^{**} aumenta en el tejido.

TABLA 7. Análisis de varianza para calcio en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad.

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	2830197	3	9433732.3	15.35 **	$P < 0.01$
TRATAMIENTO	5029798	2	4514399.0	7.35 **	$P < 0.01$

** Valores altamente significativos ($P < 0.01$) *valores significativos ($P < 0.05$) NS = Valor no significativo ($P > 0.05$).

TABLA 8. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para calcio en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.

NIVEL	PROMEDIO ± ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 3113.55 ± 373.01 a *	2580.03	3647.06
	2 2402.56 ± 439.69 a	1869.04	2936.08
	3 853.08 ± 213.57 b	319.57	1386.60
	4 1329.29 ± 55.77 b	795.78	1862.81
	Total 1924.62 ± 154.35		
TRATAMIENTO	1 1336.14 ± 80.99 b *	874.10	1798.18
	2 1877.59 ± 460.79 ab	1415.55	2339.63
	3 2560.13 ± 367.47 a	2098.10	3022.17
	Total 1924.62 ± 198.30		

*Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$) ** Letras iguales en columnas indican diferencias no significativas ($P > 0.05$)

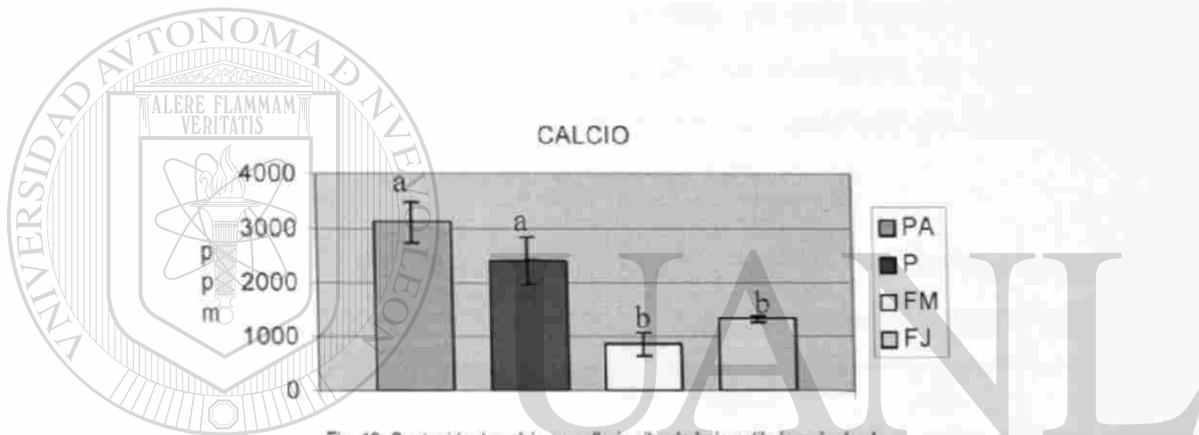


Fig. 12 Contenido de calcio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de salinidad.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

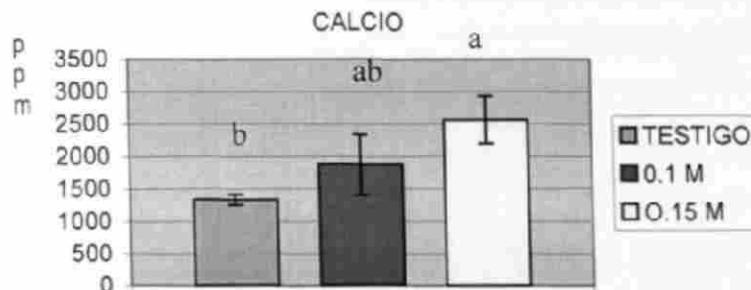


Fig. 13 Contenido de calcio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl.

MANGANESO (Mn).- Para el manganeso se presentan diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) tanto en las variedades como entre los tratamientos (Tabla 9). Con respecto a los resultados obtenidos en comparaciones múltiples de medias de Tukey (Tabla 10) podemos observar que para las variedades existe la formación de 3 grupos; en el primero se encuentran las variedades flor de mayo y flor de junio, en el segundo las variedades flor de junio y pinto americano y en el tercero las variedades pinto americano y pastilla. La mayor cantidad de Mn se encuentra en la variedad 2 con 173.90 ppm mientras que la variedad flor de mayo con 57.27 ppm registra la menor cantidad (Fig. 14). En relación a los tratamientos, se establecen diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre los 3 tratamientos, ya que esto se encuentra en grupos diferentes. La mayor cantidad de Mn se encuentra en el tratamiento testigo con 183.91 ppm mientras que la menor cantidad de 63.00 ppm se encuentra en el tratamiento NaCl 0.15 M (Fig. 15).

TABLA 9. Análisis de varianza para manganeso en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	66599.72	3	22199.90	13.85 **	$P < 0.01$
TRATAMIENTO	89680.89	2	44840.45	27.99 **	$P < 0.01$

*Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$) ** Letras iguales en columnas indican diferencias no significativas ($P > 0.05$)

TABLA 10. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para potasio en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos: 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.

NIVEL	PROMEDIO + ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 137.74 ± 20.34 ab *	110.49	164.99
	2 173.90 ± 18.67 a	146.65	201.15
	3 57.27 ± 20.35 c	30.01	84.52
	4 103.96 ± 27.12 bc	76.71	131.22
	Total 108.63 ± 8.00		
TRATAMIENTO	1 183.91 ± 9.46 a †	160.31	207.51
	2 107.74 ± 26.31 b	84.14	131.35
	3 63.00 ± 9.29 c	39.40	86.61
	Total 118.22 ± 9.82		

*Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$) ** Letras iguales en columnas indican diferencias no significativas ($P > 0.05$)

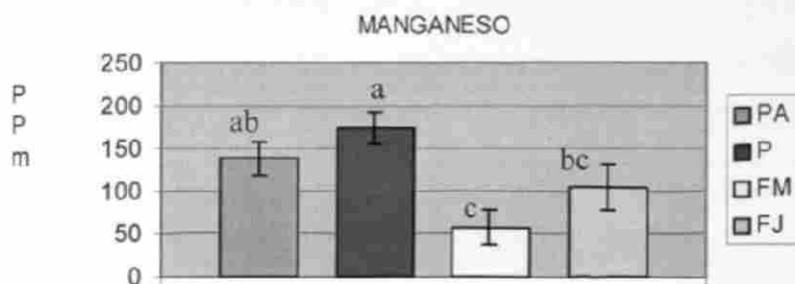


Fig. 14 Contenido de manganeso en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de salinidad.

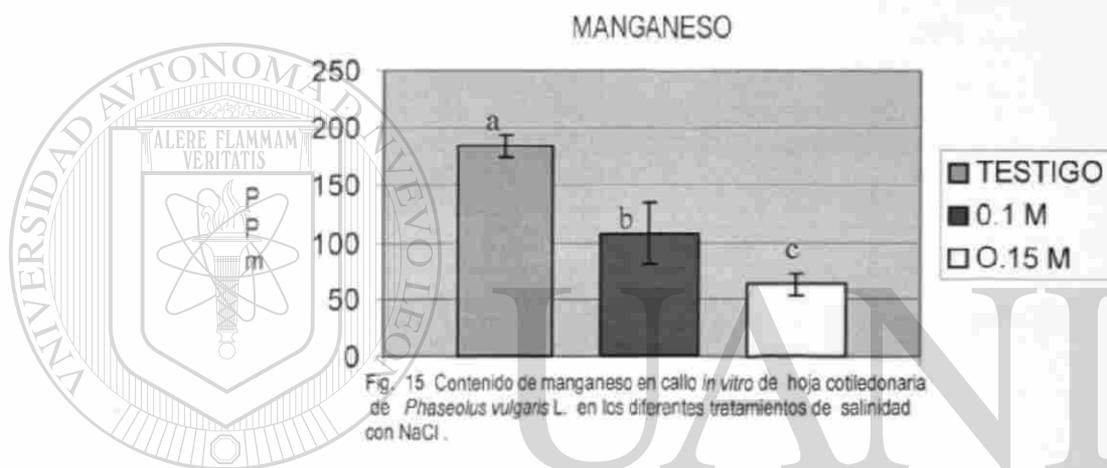


Fig. 15 Contenido de manganeso en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl.

MOLIBDENO (Mo). Con respecto al Mo solo se observaron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) entre las variedades mientras que para los tratamientos no se muestran dichas diferencias (Tabla 11). Las comparaciones múltiples de medias de Tukey (Tabla 12) para las variedades, podemos observar la formación de dos grupos en donde se encuentran las variedades flor de mayo y flor de junio en el primero y en el segundo grupo las variedades pinto americano y pastilla, por lo que tenemos que estas últimas variedades difieren estadísticamente de las variedades flor de mayo y flor de junio. Para los

tratamientos se formo un solo grupo lo que indica que no existen diferencias significativas ($P > 0.05$), (Figs. 16 y 17).

TABLA 11. Análisis de varianza para molibdeno en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	300.96	3	100.32	6.68 **	$P < 0.01$
TRATAMIENTO	34.87	2	17.43	1.16 NS	$P = 0.32$

** Valores altamente significativos ($p < 0.01$) * Valores significativos ($p < 0.05$) NS = Valor no significativo ($p > 0.05$).

TABLA 12. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para molibdeno en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.

NIVEL	PROMEDIO \pm ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 7.30 ± 1.98 a *	4.66	9.93
	2 6.86 ± 1.58 a	4.22	9.50
	3 1.37 ± 0.34 b	-1.26	4.00
	4 1.24 ± 0.40 b	-1.39	3.88
	Total 4.19 ± 0.64		
TRATAMIENTO	12.86 ± 0.02 a **	0.57	5.14
	25.20 ± 1.80 a	2.92	7.49
	34.51 ± 1.56 a	2.23	6.80
	Total 5.44 ± 0.85		

* Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$) ** Letras iguales en columnas indican diferencias no significativas ($P > 0.05$)

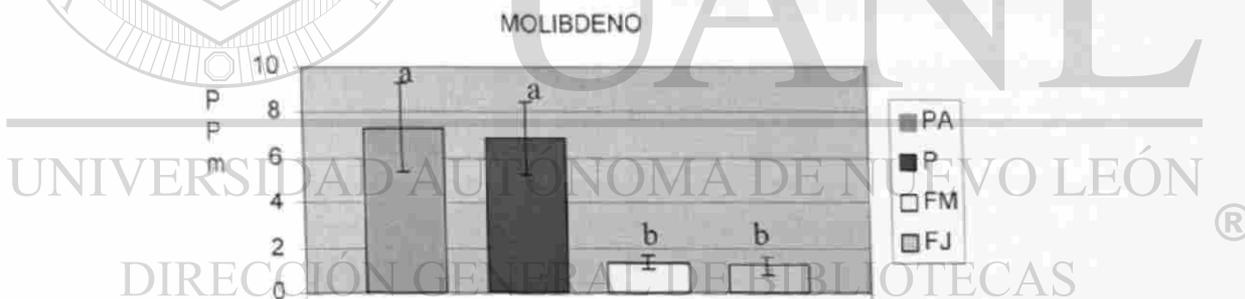


Fig. 16 Contenido de molibdeno en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de salinidad.

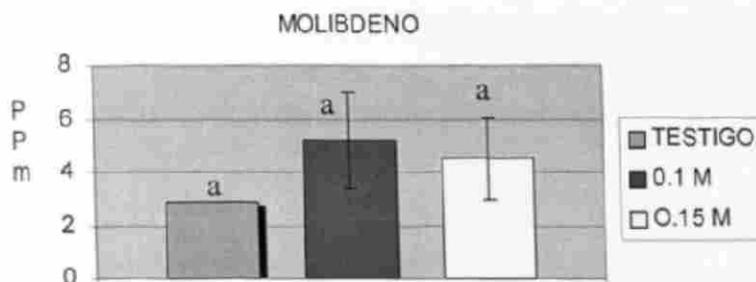


Fig. 17 Contenido de molibdeno en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl.

FIERRO (Fe).- Al igual que el molibdeno, el contenido de hierro demostró una variación altamente significativa ($P < 0.01$) entre las variedades. El análisis de varianza reveló que para los tratamientos no se detectaron diferencias significativas ($P > 0.05$) (Tabla 13). De acuerdo a los resultados obtenidos mediante las comparaciones múltiples de medias de Tukey (Tabla 14) las variedades flor de mayo y flor de junio forman un grupo en comparación con las variedades flor de junio y pastilla. Existe la presencia de un tercer grupo que corresponde a las variedades pastilla y pinto americano. De esta manera tenemos que la variedad pinto americano difiere estadísticamente de las variedades flor de mayo y flor de junio pero no de la variedad pastilla. De igual manera se observan diferencias entre las variedades pastilla y flor de mayo para el contenido de hierro. La variedad que muestra la mayor cantidad de Fe es la pinto americano con 429.56 ppm en contraste con la variedad flor de mayo que presenta solamente 119.98 ppm. Respecto a los tratamientos no se muestran diferencias estadísticas entre ellos, ya que se encuentran en un mismo grupo los valores de este análisis estadístico (Figuras 18 y 19).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

TABLA 13. Análisis de varianza para hierro en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad.

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	596042.67	3	198680.89	9.38 **	$P < 0.01$
TRATAMIENTO	53128.70	2	26564.35	1.25 NS	$P = 0.29$

** Valores altamente significativos ($P < 0.01$) * Valores significativos ($P < 0.05$) NS = Valor no significativo ($P > 0.05$).

TABLA 14. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para hierro en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad. Variedades: 1) pinto americano, 2) pasilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.

NIVEL	PROMEDIO ± ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 429.56 ± 73.84 a *	330.47	528.65
	2 406.20 ± 42.87 ab	307.10	505.29
	3 119.98 ± 32.67 c	20.88	219.07
	4 223.42 ± 34.68 bc		
	Total 294.79 ± 24.44		
TRATAMIENTO	1 334.14 ± 28.54 a **	248.32	419.96
	2 307.55 ± 73.10 a	221.73	393.37
	3 242.67 ± 56.29 a	156.86	328.49
	Total 294.79 ± 32.19		

*Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$) ** Letras iguales en columnas indican diferencias no significativas ($P > 0.05$)

FIERRO

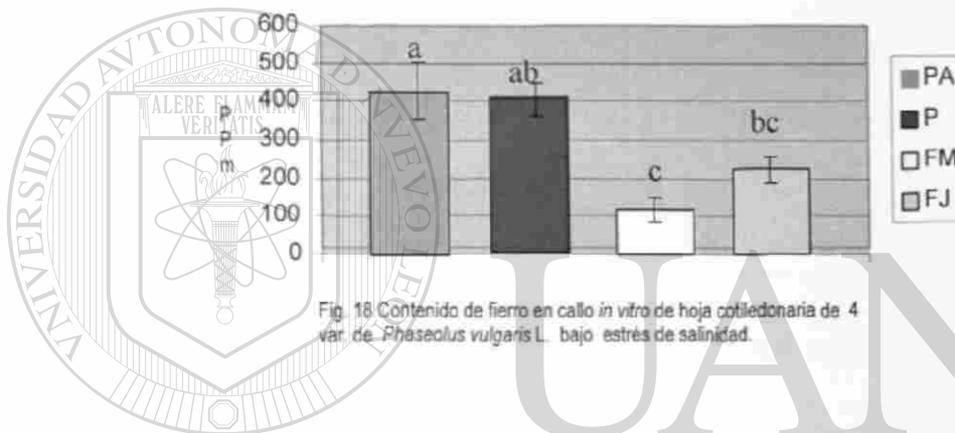


Fig. 18 Contenido de hierro en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de salinidad.

FIERRO

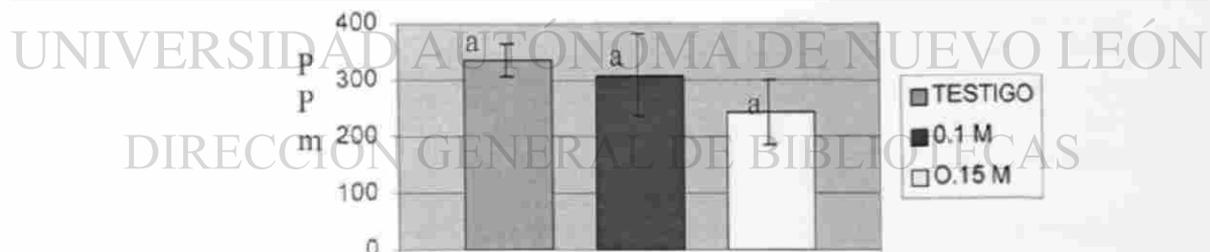


Fig. 19 Contenido de hierro en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl.

COBRE (Cu).-El cobre demostró las mismas variaciones que el fierro donde se presentan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las variedades. Sin embargo dichas diferencias para los tratamientos no fueron significativas (Tabla 15). De la comparación múltiple de medias de Tukey (Tabla 16) se establece la existencia de 2 grupos; donde, en el primer grupo están las variedades flor de mayo, flor de junio y pastilla mientras que las variedades flor de junio, pastilla y pinto americano en el segundo grupo; por lo que solo difieren estadísticamente las variedades pinto americano y flor de mayo entre ellas. La variedad pinto americano presenta la mayor cantidad de Cu (13.05ppm), mientras que la variedad flor de mayo registra la cantidad (2.53 ppm). Con respecto a los tratamientos no se observan diferencias estadísticas, ya que los valores de esta variable en los tratamientos se encuentran en un mismo grupo (Figs. 20 y 21). Sin embargo se observó mayor acumulación de Cu en los tratamientos que en el testigo.

TABLA 15. Análisis de varianza para cobre en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	754.74	3	251.58	3.97 *	$P < 0.05$
TRATAMIENTO	171.87	2	85.93	1.35 NS	$P = 0.27$

**Valores altamente significativos ($P < 0.01$) *Valores significativos ($P < 0.05$) NS = Valor no significativo ($P > 0.05$)

TABLA 16. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para cobre en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M.

NIVEL	PROMEDIO ± ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 13.05 ± 4.1 a *	7.64	18.47
	2 12.13 ± 3.55 ab	6.72	17.55
	3 2.53 ± 0.53 b	-2.88	7.95
	4 4.63 ± 0.54 ab	-0.78	10.04
	Total 8.08 ± 1.34		
TRATAMIENTO	1 5.02 ± 0.34 a **	0.33	9.71
	2 9.94 ± 3.46 a	5.25	14.63
	3 9.30 ± 2.82 a	4.61	13.99
	Total 8.08 ± 1.49		

*Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$) ** Letras iguales en columnas indican diferencias no significativas ($P > 0.05$)

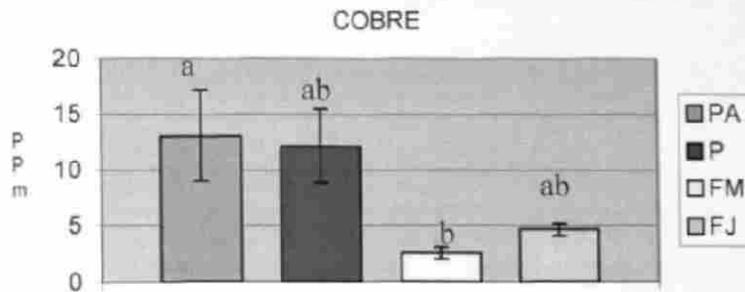


Fig. 20 Contenido de cobre en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de salinidad.

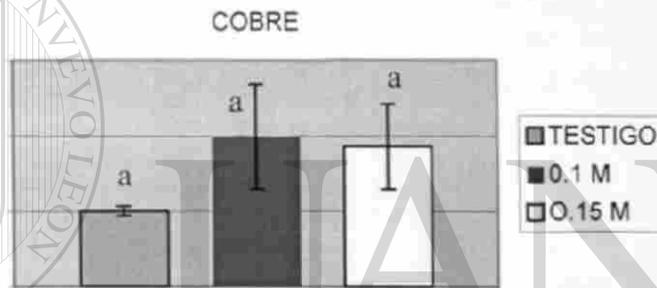
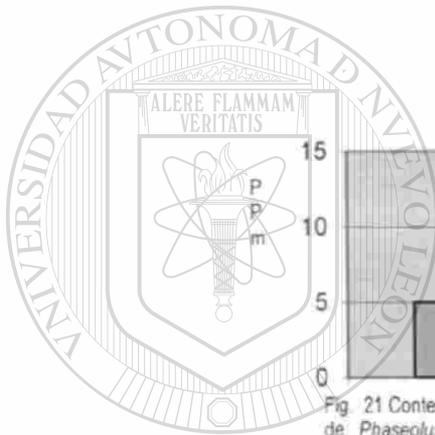


Fig. 21 Contenido de cobre en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

ZINC (Zn)- El zinc presentó comportamientos distintos que el fierro y cobre donde observamos una diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre los tratamientos. No se detectaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre las variedades (Tabla 17). Respecto a las variedades en la comparación múltiple de medias de Tukey (Tabla 18) confirma que todas quedan incluidas en un mismo grupo. Podemos observar también que para los tratamientos, se muestra la formación de dos grupos. En el primer grupo están los tratamientos NaCl 0.15 M y NaCl 0.1 M y en el segundo grupo los tratamientos testigo y NaCl 0.1M

demonstrando así, que los tratamientos testigo y NaCl 0.15 M son estadísticamente diferentes al tratamiento NaCl 0.1M ; siendo el tratamiento testigo en donde se encuentra la mayor cantidad de Zn (84.11 ppm) y el tratamiento NaCl 0.15 M presenta la menor cantidad (41.58) (Figs. 22 y 23).

TABLA 17. Análisis de varianza para zinc en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	3953.18	3	1317.72	0.89 NS	P = 0.45
TRATAMIENTO	10648.98	2	5424.49	3.68 *	P = 0.03

** Valores altamente significativos (P < 0.01); * Valores significativos (P < 0.05) NS = Valor no significativo (P > 0.05)

TABLA 18. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para zinc en callo *in vitro* de frijol estresados a salinidad. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) NaCl 0.1 M y 3) NaCl 0.15 M

N. VEL	PROMEDIO ± ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 61.37 ± 11.47 a **	35.24	87.50
	2 78.70 ± 22.05 a	52.57	104.83
	3 49.24 ± 5.07 a	23.11	75.37
	4 62.13 ± 10.97 a	36.0	88.26
	Total 62.86 ± 6.91		
TRATAMIENTO	1 84.11 ± 4.19 a *	61.48	106.74
	2 62.88 ± 16.76 ab	40.26	85.51
	3 41.58 ± 8.11 b	18.96	64.21
	Total 62.86 ± 6.91		

Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas (P < 0.05) ** Letras iguales en columnas indican diferencias no significativas (P > 0.05)

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

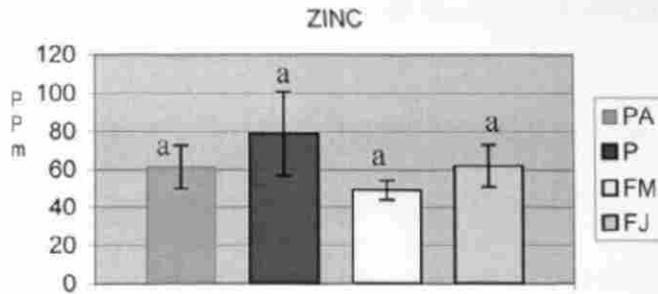


Fig.22 Contenido de zinc en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de salinidad.

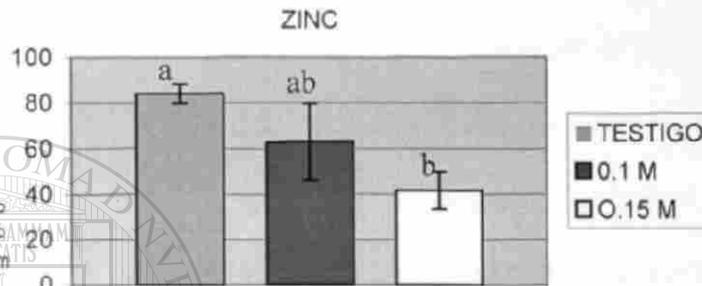
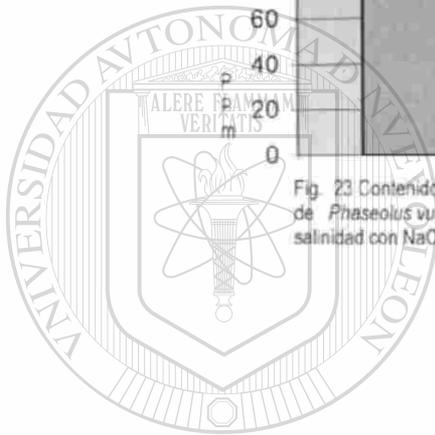


Fig. 23 Contenido de zinc en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

DETERMINACIÓN DE PROLINA LIBRE EN LOS CALLOS *IN VITRO* DE *Phaseolus vulgaris* L. PARA EL ESTRÉS DE SALINIDAD

Los resultados obtenidos en el análisis de varianza para el contenido de prolina libre muestran diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) entre las variedades y los tratamientos (Tabla 19). La comparación múltiple de medias de Tukey (Tabla 20) para las variedades muestra la formación de tres grupos, incluyendo en el primero a las variedades flor de mayo y flor de junio, en el segundo a la variedad pastilla y en el tercero la variedad pinto americano. De esta manera tenemos que la variedad pinto americano presenta diferencias estadísticas significativas con las otras variedades y que la variedad pastilla la presenta con las variedades flor de mayo y flor de junio. En general la mayor concentración de prolina libre se presenta en la variedad pinto americano (0.160 ppm) mientras que la menor concentración la presenta la variedad flor de mayo con 0.034 ppm. (Fig. 24). Respecto a los tratamientos tenemos que en un primer grupo se encuentran los

tratamientos NaCl 0.1 y 0.15 M y en un segundo grupo los tratamientos NaCl 0.1 y el testigo; tenemos entonces que las diferencias significativas se presentan entre los tratamientos testigo y NaCl 0.15 M, con una disminución en el contenido de prolina en los dos tratamientos con respecto al testigo (Fig. 25) lo que difiere de lo mencionado por Sawires *et al.*, (1997) citado por Maiti *et al.*, (2000) que reportan que la prolina libre generalmente aumenta con salinidad creciente y también difiere de lo descrito por Sivaramakrishnan, *et al.*, (1988) y Revilla y Cañal (1999), que el estrés salino produce en callos de olivo un incremento notable en prolina libre; sobre todo en callos que proceden de un cultivo con

manitol.

TABLA 19. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA PROLINA LIBRE EN CALLO IN VITRO DE FRIJOL ESTRESADOS A SALINIDAD..

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	0.092	3	0.030	12.37 **	P < 0.01
TRATAMIENTO	0.025	2	0.012	5.13 **	P = 0.01

** Valores altamente significativos (P < 0.01) * Valores significativos (P < 0.05). NS = Valor no significativo (P > 0.05)

TABLA 20. COMPARACIONES MULTIPLES DE MEDIAS MEDIANTE LA PRUEBA DE TUKEY PARA PROLINA LIBRE EN CALLO *IN VITRO* DE FRIJOL ESTRESADOS A SALINIDAD.

Varietades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) 0.1 M de NaCl y 3) 0.15 M de NaCl

NIVEL	PROMEDIO ± ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 0.160 ± 0.026 a *	0.12	0.19
	2 0.087 ± 0.023 b	0.05	0.12
	3 0.034 ± 0.005 c	0.0001	0.06
	4 0.038 ± 0.011 c	0.04	0.07
	Total 0.080 ± 0.009		
TRATAMIENTO	1 0.112 ± 0.021 a	0.08	0.14
	2 0.080 ± 0.027 ab	0.05	0.11
	3 0.047 ± 0.008 b	0.01	0.07
	Total 0.080 ± 0.011		

* Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas (p < 0.05).

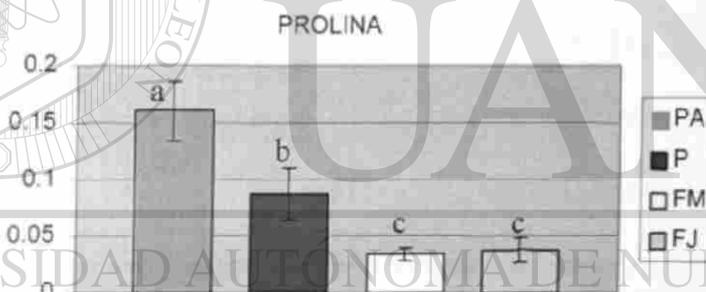


Fig. 24 Contenido de prolina libre en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de salinidad.

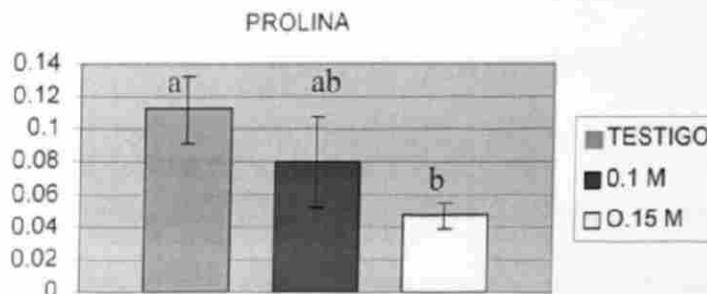


Fig. 25 Contenido de prolina libre en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de salinidad con NaCl.

DETERMINACIÓN DE MACRO Y MICRONUTRIMENTOS EN LOS CALLOS *IN VITRO* DE *Phaseolus vulgaris* L. PARA EL ESTRÉS DE SEQUÍA

Al igual que para el factor salinidad, los resultados correspondientes a macro y micronutrientes en los callos *in vitro* estresados a sequía fueron sometidos a un análisis de varianza múltiple. Dicho análisis reveló diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) entre los tratamientos y entre las variedades en la mayoría de los macronutrientes y micronutrientes. Enseguida se discutirán los resultados para cada uno de los macro y micronutrientes en los callos *in vitro* de *Phaseolus vulgaris* L.

SODIO.- Para la determinación del sodio el análisis de varianza pone en evidencia la existencia de diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) entre las variedades, asimismo entre los tratamientos (Tabla 21). En la comparación múltiple de medias de Tukey (Tabla 22) se observa la formación de dos grupos para las variedades; en el primer grupo están las variedades pastilla, flor de mayo y flor de junio y la variedad pinto americano en el otro grupo. De esta manera tenemos que la variedad pinto americano difiere estadísticamente de las otras 3 variedades. Esto se refleja en la cantidad de sodio ya que los valores van desde 3478.05 ppm en la variedad pinto americano; y de 1484.07 ppm en la variedad flor de junio. Podemos observar también que para los tratamientos la comparación múltiple de medias de Tukey mostró la formación de dos grupos, un primer grupo que corresponde a los tratamientos PEG 10 y 15 % y en el segundo el tratamiento testigo demostrando esta agrupación que existen diferencias estadísticamente significantes entre estos grupos. Siendo

en el tratamiento testigo mayor la cantidad de este elemento al registrar 4306.80 ppm, en comparación con 739 ppm que se captan con el tratamiento PEG 15% (Figs. 26 y 27). Esto difiere con lo citado por Moreno Limón (1998) que menciona que en variedades de frijol flor de junio y pinto americano en tallo y hoja hay un aumento de sodio al estresar plántulas de frijol a sequía.

Tabla 21. Análisis de varianza para sodio en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía.

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	24983322	3	8327774	6.33 **	P < 0.01
TRATAMIENTO	92985495	2	46492747	35.34 **	P < 0.01

** Valores altamente significativos (P < 0.01); * Valores significativos (P < 0.05); NS = Valor no significativo (P > 0.05)

TABLA 22. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para sodio en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10% y 3) PEG 15%.

NIVEL	PROMEDIO ± ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 3478.05 ± 1168.67 a *	2697.12	4258.98
	2 1701.32 ± 253.48 b	930.39	2482.25
	3 1506.91 ± 402.31 b	725.98	2287.84
	4 1484.07 ± 494.49 b	703.14	2265.00
	Total 2042.59 ± 339.07		
TRATAMIENTO	1 4306.80 ± 667.66 a *	3630.49	4983.10
	2 739.02 ± 32.75 b	62.71	1415.32
	3 1081.94 ± 203.37 b	405.64	1758.25
	Total 2042.59 ± 232.90		

* Letras diferentes en columnas indicar diferencias significativas (P < 0.05) ** Letras iguales indican diferencias no significativas (P > 0.05)

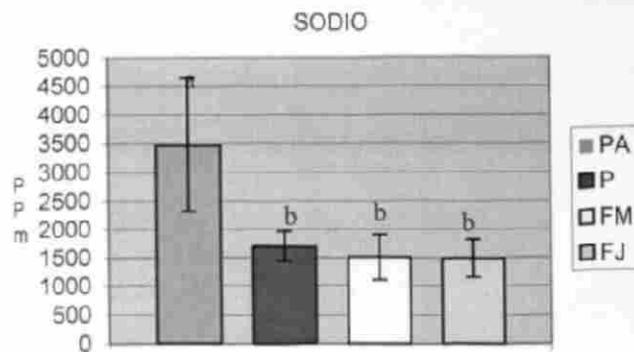


Fig. 26 Contenido de sodio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.

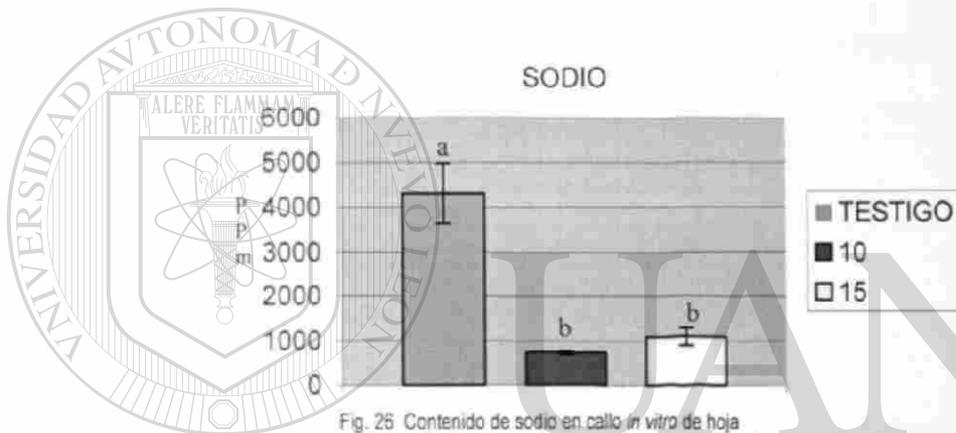


Fig. 26 Contenido de sodio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

MAGNESIO (Mg).- El magnesio tuvo una variación tanto entre las variedades ($P < 0.05$) como entre los tratamientos aplicados ($P < 0.01$). (Tabla 23) Respecto a las variedades; las comparaciones múltiples de medias de Tukey (Tabla 24) muestran dos grupos, un primer grupo que corresponde a las variedades flor de mayo, pastilla y pinto americano y un segundo a las variedades pinto americano y flor de junio. En relación a los tratamientos se formaron también dos grupos, en el primero se encuentran los tratamientos PEG 15% y 10% y el segundo corresponde al tratamiento testigo por lo cual se desprende que hay

diferencias significativas solo entre el tratamiento testigo con el resto de ellos. Se puede observar al respecto que cuando los callos son tratados con los tratamientos PEG 15% y 10% se reduce la cantidad de Mg (573.88 y 523.59 ppm) en comparación con el tratamiento testigo (822.17) (Figs. 28 y 29). Moreno Limón (1998) al respecto menciona que a dicho estrés aumenta la cantidad de Mg en hoja y raíz de frijol flor de junio y disminuye en pinto americano en hoja, raíz y tallo.

TABLA 23. Análisis de varianza para magnesio en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	174673.45	3	58224	3.69 *	P = 0.02
TRATAMIENTO	513307.98	2	306653.79	19.45 **	P < 0.01

* Valores altamente significativos (P < 0.01) ** Valores significativos (P < 0.05) NS = Valor no significativo (P > 0.05)

TABLA 24. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para magnesio en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía. Variedades: 1) pinto americano, 2) pestiña, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10% y 3) PEG 15%

NIVEL	PROMEDIO + ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 671.14 ± 69.56 ab*	585.65	756.62
	2 600.44 ± 34.55 b	514.96	685.92
	3 552.20 ± 50.88 b	466.72	637.68
	4 735.73 ± 80.51 a	650.25	821.21
	Total 639.88 ± 39.70		
TRATAMIENTO	1 822.17 ± 54.65 a*	748.14	896.20
	2 523.59 ± 18.62 b	449.56	597.61
	3 573.88 ± 39.67 b	499.85	647.91
	Total 639.88 ± 23.34		

* Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas (P < 0.05). ** Letras iguales indican diferencias no significativas (P > 0.05)

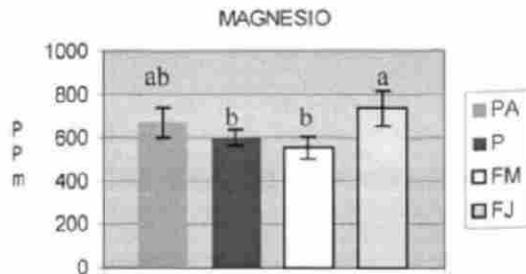


Fig. 28 Contenido de magnesio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.

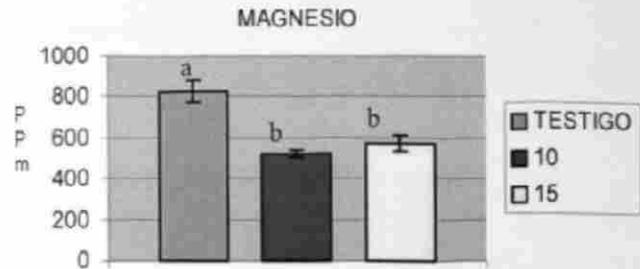


Fig. 29 Contenido de magnesio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria, de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.

POTASIO (K). Para el potasio existen diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) entre las variedades y entre los tratamientos. (Tabla 25). La comparación múltiple de medias muestra que las variedades flor de mayo y

pinto americano forman un grupo mientras que las variedades pastilla y flor de junio corresponden a un segundo grupo. La mayor cantidad de K está en las variedades pastilla y flor de junio con 15623.89 y 16332.78 ppm respectivamente (Tabla 26 y Fig. 30). Respecto a los tratamientos en el primer grupo se encuentran PEG 10 y 15% y en el segundo el tratamiento testigo. (Fig. 31). Observando que existe una diferencia estadísticamente significativa entre tratamiento testigo y los otros dos tratamientos. Mostrando de esta manera que ambos tratamientos PEG 10 y 15% disminuyen la capacidad de absorción de K al pasar de 28139.73 ppm en el testigo a 7383.53 y 7945.73 ppm en los

tratamientos 2 y 3 respectivamente. Lo cual coincide con Moreno Limón, (1998) quien reporta para este elemento una reducción, a nivel de raíz en la variedad pinto americano; pero se reporta un aumento a nivel de hoja y tallo al estrés de sequía; también difiere del mismo autor en que en la variedad flor de junio en general registra un aumento al someterse a dicho tratamiento.

TABLA 25. Análisis de varianza para potasio en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	8.29E7	3	2.76E7	10.65 **	P < 0.01
TRATAMIENTO	3.35E9	2	1.67E9	646.49 **	P < 0.01

Valores altamente significativos (P < 0.01). * Valores significativos (P < 0.05) NS = Valor no significativo (P > 0.05)

TABLA 26. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para potasio en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos: 1) testigo, 2) PEG 10 % y 3) PEG 15 %.

NIVEL	PROMEDIO ± ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA
VARIEDAD	1 13222.69 ± 2905.84 b*	12125.72 14319.65
	2 15623.89 ± 3357.07 a	14526.93 16720.86
	3 12778.94 ± 3542.61 b	11681.974 13875.90
	4 16332.78 ± 3927.50 a	15235.81 17429.74
	Total 14489.57 ± 1726.43	
TRATAMIENTO	1 28139.73 ± 813.06 a*	27189.73 29089.73
	2 7383.53 ± 314.58 b	6433.53 8333.53
	3 7945.46 ± 675.85 b	6995.46 8895.46
	Total 14489.57 ± 357.90	

Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas (P < 0.05). **Letras iguales indican diferencias no significativas (P > 0.05)

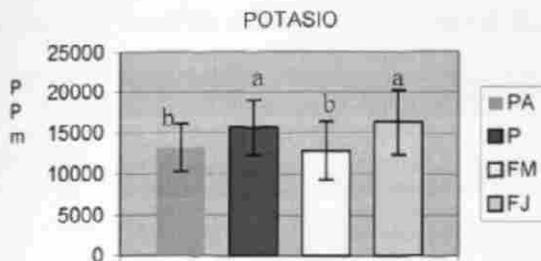


Fig. 30 Contenido de potasio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.

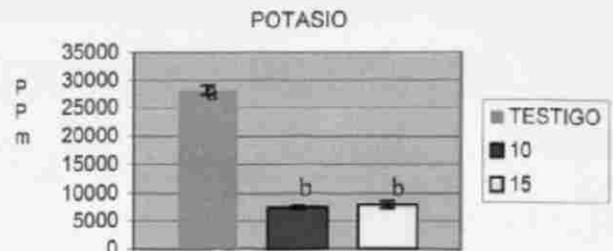


Fig. 31 Contenido de potasio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.

CALCIO (Ca).- De acuerdo con el análisis de varianza el contenido de calcio mostró que tanto para las variedades como para los tratamientos no existen diferencias significativas ($P > 0.05$) (Tabla 27). La comparación múltiple de

medias (Tabla 28) indica la formación de dos grupos; uno formado por las variedades pastilla, flor de junio y flor de mayo y otro por las variedades flor de

junio, pastilla y pinto americano, por lo tanto es entre las variedades pinto americano y pastilla en donde se presentan las diferencias estadísticamente

significativas y es en la variedad pinto americano donde se presenta la mayor cantidad de Ca que es de 1445.15 ppm y la menor de 1111.51 ppm en la variedad pastilla (Figs. 32 y 33). Con respecto a los tratamientos no se

muestran diferencias estadísticas entre ellos ya que se observan en un mismo grupo los valores obtenidos para este análisis comparativo. Sin embargo

Moreno Limón (1998) cita al respecto que el Ca se incrementa en las

variedades pinto americano y flor de junio en hoja, mientras que en tallo disminuyen.

TABLA 27. Análisis de varianza para calcio en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	541606.15	3	180535.38	1.65 NS	P = 0.19
TRATAMIENTO	418946.15	2	209473.07	1.92 NS	P = 0.16

** Valores altamente significativos ($p < 0.01$) * Valores significativos ($p < 0.05$) NS = Valor no significativo ($p > 0.05$)

TABLA 28. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para calcio en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10% y 3) PEG 15%.

NIVEL	PROMEDIO \pm ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 1445.15 \pm 60.74 a*	1220.43	1669.87
	2 1111.51 \pm 77.77 b	886.79	1336.24
	3 1250.83 \pm 37.41 ab	1026.11	1475.55
	4 1195.97 \pm 200.15 ab	971.25	1420.69
	Total 1250.87 \pm 56.56		
TRATAMIENTO	1 1336.14 \pm 80.99 a**	1141.52	1530.75
	2 1317.79 \pm 79.87 a	1123.17	1512.40
	3 1096.67 \pm 126.15 a	904.06	1293.29
	Total 1250.87 \pm 56.62		

*Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$) **Letras iguales indican diferencias no significativas ($P > 0.05$)

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

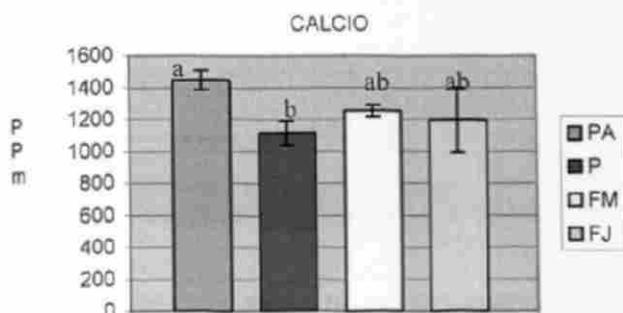


Fig. 32 Contenido de calcio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.

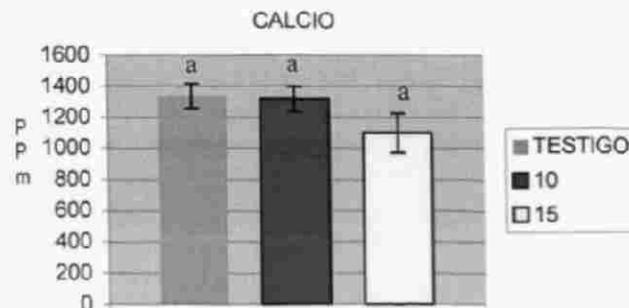


Fig. 33 Contenido de calcio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG

MANGANESO (Mn).- El análisis de varianza pone en evidencia que tanto entre las variedades como entre los tratamientos existen diferencias significativas con una probabilidad inferior al 5 % como lo indica la (Tabla 29). La comparación múltiple de medias (Tabla 30) revela que la variedad pinto americano con 118.71 ppm difiere de las variedades flor de mayo y flor de junio 84.03 y 91.48 ppm. de Mn respectivamente pero no de la variedad pastilla, ya que se muestra la formación de dos grupos; un grupo que abarca a las variedades flor de mayo, flor de junio y pastilla, un segundo grupo corresponde a las variedades pastilla y pinto americano. En lo que respecta a los tratamientos se presentó la formación de 2 grupos. Los tratamientos PEG 15 y 10 % se encuentran en un grupo y el tratamiento testigo en otro; observando que al estresar los callos con los tratamientos PEG 15 y 10 % la cantidad de Mn disminuye a 52.55 y 60.67 ppm respectivamente de 183.91 ppm del testigo(Figs. 34 y 35).

TABLA 29. Análisis de varianza para manganeso en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	6100.76	3	2033.58	3.62 *	P = 0.02
TRATAMIENTO	130027.93	2	65013.96	115.77**	P < 0.01

** Valores altamente significativos (P < 0.01) * Valores significativos (p < 0.05) NS = Valor no significativo (P > 0.05).

TABLA 30. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para manganeso en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10% y 3) PEG 15%.

NIVEL	PROMEDIO ± ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 118.71 ± 23.77 a*	102.57	134.85
	2 101.96 ± 18.68 ab	85.82	118.09
	3 84.03 ± 13.45 b	67.89	100.16
	4 91.48 ± 30.72 b	75.35	107.62
	Total 99.04 ± 11.29		
TRATAMIENTO	1 183.91 ± 9.46 a*	169.93	197.88
	2 60.67 ± 1.95 b	46.70	74.65
	3 52.55 ± 8.96 b	38.58	66.53
	Total 99.04 ± 4.39		

*Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$). **Letras iguales indican diferencias no significativas ($p > 0.05$).

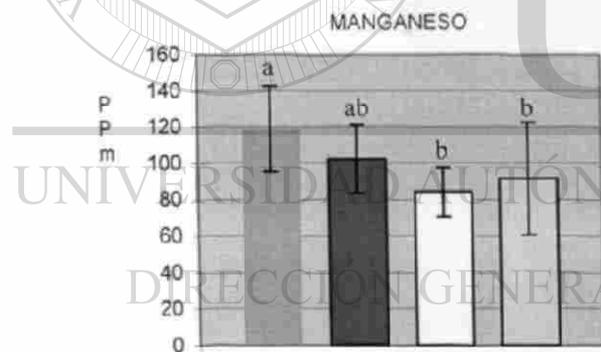


Fig. 34 Contenido de manganeso en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.

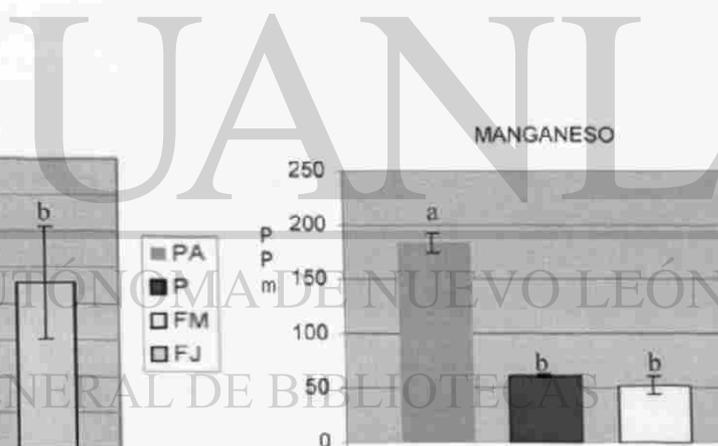


Fig. 35 Contenido de manganeso *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.

MOLIBDENO (Mo).- con respecto a este elemento el ANOVA presentó la existencia de diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) entre las variedades y los tratamientos (Tabla 31). Se muestra la formación de dos grupos para este elemento en la comparación múltiple de medias de Tukey; (Tabla 32) las variedades pinto americano, flor de junio y flor de mayo se encuentran en el primer grupo, y únicamente la variedad pastilla en el segundo grupo, por lo que se desprende que es la variedad pastilla la que difiere estadísticamente del resto de las variedades. Entre los tratamientos se observan también dos grupos; en donde el testigo y 10% PEG van en un grupo y los tratamientos PEG 15 y 10 % en otro, por lo que se indica que los tratamientos PEG 15% y testigo difieren estadísticamente. Se puede observar que cuando los callos son sometidos a los tratamientos PEG 10 y 15% aumenta la concentración de Mo a 7.32 y 9.84 ppm en comparación con el testigo donde encontramos 2.86 ppm (Figs. 36 y 37).

TABLA 31. Análisis de varianza para molibdeno en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	1680.43	3	560.14	17.63 **	$P < 0.01$
TRATAMIENTO	299.74	2	149.87	4.71 *	$P = 0.01$

** Valores altamente significativos ($P < 0.01$) * Valores significativos ($P < 0.05$) NS = Valor no significativo ($P > 0.05$).

TABLA 32. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para molibdeno en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10 % y 3) PEG 15 %.

NIVEL	PROMEDIO ± ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 2.55 ± 0.13 b*	-1.28	6.39
	2 18.50 ± 4.15 a	14.66	22.34
	3 3.01 ± 0.19 b	-0.82	6.85
	4 2.62 ± 0.32 b	-1.21	6.46
	Total 6.67 ± 1.04		
TRATAMIENTO	1 2.86 ± 0.02 b*	-0.46	6.18
	2 7.32 ± 2.40 ab	3.99	10.64
	3 9.84 ± 3.76 a	6.51	13.16
	Total 6.67 ± 1.48		

*Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$). **Letras iguales indican diferencias no significativas ($P > 0.05$)

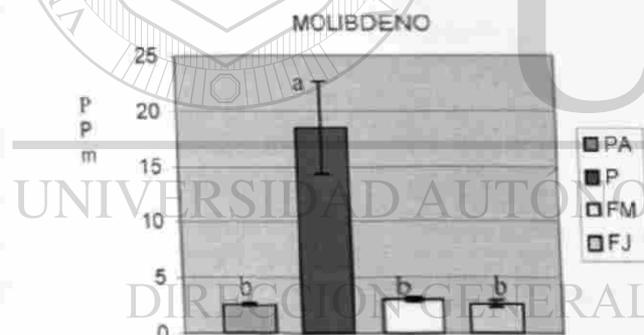
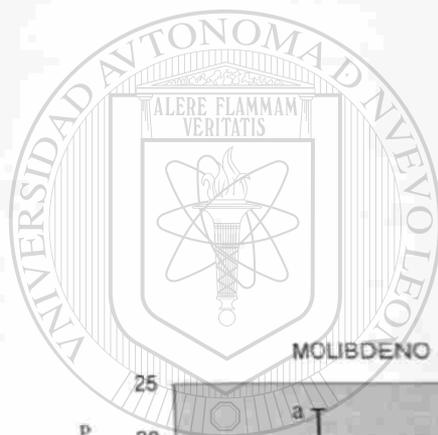


Fig. 36 Contenido de molibdeno en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.

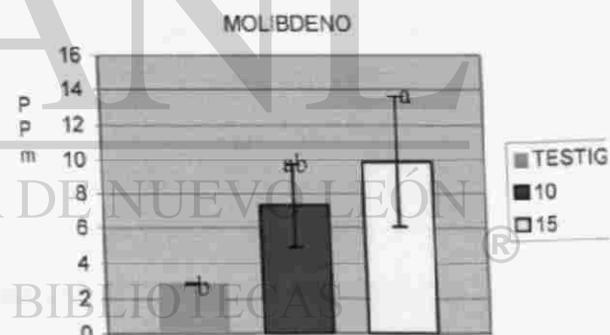


Fig. 37 Contenido de molibdeno en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.

FIERRO (Fe).- Para el fierro existen diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) entre las variedades así como entre los tratamientos (Tabla 33). En la comparación múltiple de medias (Tabla 34) se observa la formación de 2 grupos; en donde se encuentran las variedades flor de mayo, flor de junio y pastilla y la variedad pinto americano en otro, lo que nos indica que la variedad pinto americano, donde se presenta la menor cantidad de Fe (274.05 ppm) difiere estadísticamente con el resto de las variedades; y que es en la variedad flor de mayo donde se presenta la mayor cantidad de este (160.59 ppm). En los tratamientos se tienen también dos grupos; en el primero están los tratamientos PEG 15 y 10 % que difieren del segundo grupo formado por el tratamiento testigo. Se observa al respecto que en los tratamientos de estrés 3 y 2 se reduce la cantidad de Fe con 136.68 y 142.50 ppm respectivamente en comparación con la cantidad de Fe presente en el tratamiento testigo con 334.14 ppm (Figs 38 y 39).

TABLA 33. Análisis de varianza para fierro en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	65841.58	3	21947.19	5.68 **	$P < 0.01$
TRATAMIENTO	303007.37	2	151503.68	39.23 **	$P < 0.01$

** Valores altamente significativos ($P < 0.01$) * Valores significativos ($P < 0.05$) NS = Valor no significativo ($P > 0.05$).

TABLA 34. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para hierro en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10 % y 3) PEG 15 %.

NIVEL	PROMEDIO ± ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 274.05 ± 51.64 a*	231.74	316.36
	2 201.95 ± 20.27 b	159.64	244.26
	3 160.59 ± 17.36 b	118.27	202.90
	4 181.18 ± 49.36 b	138.87	223.49
	Total 204.44 ± 19.06		
TRATAMIENTO	1 334.14 ± 28.54 a*	297.50	370.78
	2 142.50 ± 5.18 b	105.86	179.15
	3 136.68 ± 23.11 b	100.03	173.32
	Total 204.44 ± 12.36		

*Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$). **Letras iguales indican diferencias no significativas ($P > 0.05$).



FIERRO

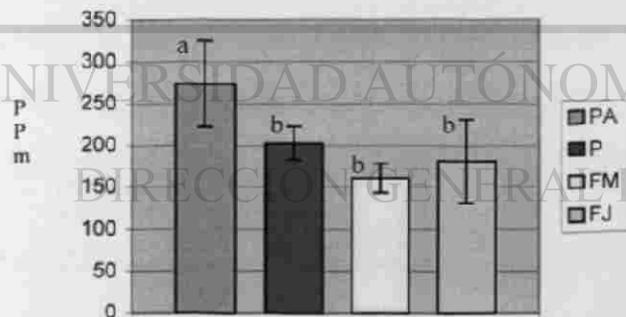


Fig. 38. Contenido de hierro en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.

UANL

FIERRO

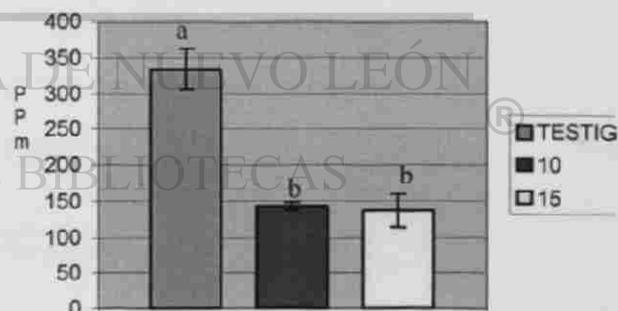


Fig. 39. Contenido de hierro en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.

COBRE (Cu). - El análisis de varianza efectuado sobre el contenido de cobre demostró diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las variedades y altamente significativas ($P < 0.01$) entre los tratamientos (Tabla 35). En la comparación múltiple de medias de Tukey se puede observar la formación de dos grupos para este elemento; las variedades pastilla y flor de mayo se incluyen en uno de ellos, y las variedades flor de mayo, pinto americano y flor de junio en el otro grupo, por lo que se tiene que la variedad pastilla es la que difiere estadísticamente de las variedades pinto americano y flor de junio, pero no de la flor de mayo ya que esta variedad comparte ambos grupos. (Tabla 36). En los tratamientos se forman dos grupos y es en el primer grupo donde están los tratamientos de estrés PEG 10 y 15% y es ahí donde se presentan valores más bajos de Cu con 2.84 y 3.34 ppm respectivamente. En el segundo grupo se encuentra solamente el tratamiento testigo el cual difiere estadísticamente de los tratamientos PEG 10 y 15%; y es en este tratamiento testigo donde se presenta el mayor contenido de Cu que es de 5.02 ppm (Figs. 40 y 41).

TABLA 35. Análisis de varianza para cobre en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
VARIEDAD	12.40	3	4.13	2.97 *	P = 0.04
TRATAMIENTO	31.15	2	15.57	11.19 **	P < 0.01

** Valores altamente significativos ($P < 0.01$) * Valores significativos ($p < 0.05$) NS = Valor no significativo ($P > 0.05$).

TABLA 36. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para cobre en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía. Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos: 1) testigo, 2) PEG 10 % y 3) PEG 15 %.

NIVEL	PROMEDIO ± ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 4.05 ± 0.48 a*	3.25	4.85
	2 2.82 ± 0.43 b	2.01	3.62
	3 3.77 ± 0.24 ab	2.87	4.48
	4 4.39 ± 0.72 a	3.59	5.20
	Total 3.73 ± 0.25		
TRATAMIENTO	1 5.02 ± 0.34 a*	4.32	5.71
	2 2.84 ± 0.38 b	2.14	3.54
	3 3.34 ± 0.37 b	2.65	4.04
	Total 3.73 ± 0.21		

*Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$). **Letras iguales indican diferencias no significativas ($P > 0.05$).

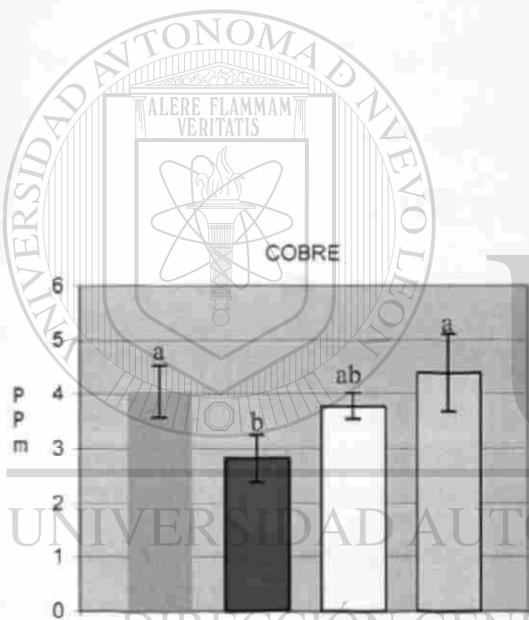


Fig. 40 Contenido de cobre en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.

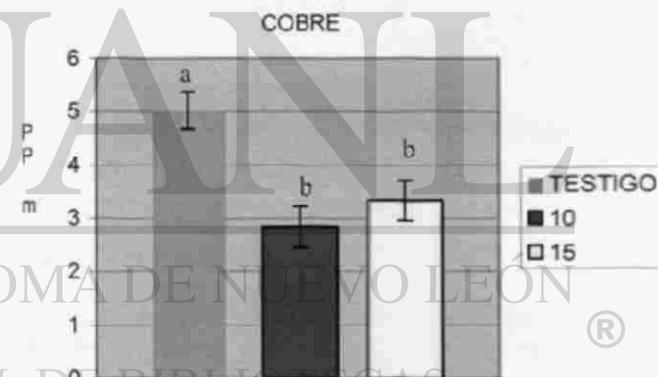


Fig. 41 Contenido de cobre en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.

ZINC (Zn).- El valor de zinc de acuerdo con el análisis de varianza presentó diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) entre los tratamientos, sin embargo dicha diferencia no fue significativa para las variedades ($p > 0.05$). (Tabla 37). La comparación múltiple de medias muestra que los valores para esta variable se encuentran en un mismo grupo. (Tabla 38 y Figs. 2 y 43). Con respecto a los tratamientos se presenta la formación de tres grupos, en los que en cada uno de ellos se encuentra solo un tratamiento, por lo que se muestra que los tres tratamientos difieren estadísticamente entre sí. Se puede observar que la cantidad de Zn se reduce en los callos *in vitro* al ser sometidos a los tratamientos de estrés ya que tenemos un valor de 15.99 y 26.54 ppm en los tratamientos PEG 10 y 15% y un mayor valor (84.02 ppm) en el tratamiento testigo.

TABLA 37. Análisis de varianza para zinc en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía

ELEMENTO	FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
ZINC	VARIEDAD	399.37	3	133.12	1.03 NS	P = 0.39
	TRATAMIENTO	32175.92	2	16087.96	125.04 **	P < 0.01

** Valores altamente significativos ($P < 0.01$). * Valores significativos ($P < 0.05$). NS = Valor no significativo ($P > 0.05$).

TABLA 38. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey para zinc en callo *in vitro* de frijol estresados a sequía Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) PEG 10 % y 3) PEG 15 %.

NIVEL	PROMEDIO ± ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 40.12 ± 12.24 a**	32.40	47.84
	2 41.11 ± 8.99 a	33.38	48.83
	3 39.63 ± 7.40 a	31.91	47.36
	4 47.88 ± 14.65 a	40.16	55.60
	Total 42.19 ± 5.59		
TRATAMIENTO	1 84.02 ± 4.22 a*	77.34	90.71
	2 15.99 ± 2.72 c	9.30	22.88
	3 26.54 ± 2.65 b	19.65	33.23
	Total 42.19 ± 1.89		

*Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$). **Letras iguales indican diferencias no significativas ($P > 0.05$).

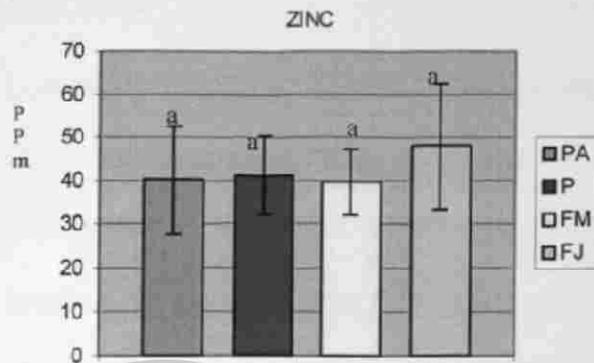


Fig. 42 Contenido de zinc en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.

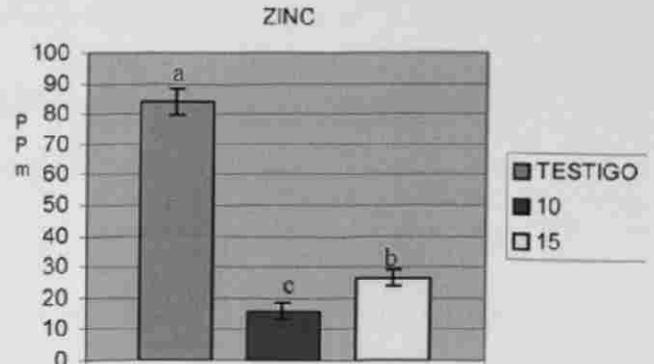


Fig. 43 Contenido de zinc en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

DETERMINACIÓN DE PROLINA LIBRE EN LOS CALLOS *IN VITRO* DE *Phaseolus vulgaris* L. PARA EL ESTRÉS DE SEQUÍA

Los resultados obtenidos en el análisis de varianza para el contenido de prolina libre muestran que existen diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) entre las variedades y entre los tratamientos (Tabla 39). La comparación múltiple de medias de Tukey (Tabla 39) indica para las variedades la formación de cuatro grupos distintos. En cambio para los tratamientos solo se observa la formación de dos grupos; donde en un grupo se encuentran los tratamientos testigo y PEG 15 %, y en otro grupo el tratamiento PEG 10%, lo que nos indica que es el tratamiento PEG 10% el que difiere de los tratamientos testigo y PEG 15%, teniendo la mayor concentración de prolina libre (0.124 ppm) se obtuvo en el tratamiento PEG 15%, comparado a los tratamientos PEG 10% y testigo con 0.06 y 0.112 ppm de prolina libre respectivamente (Figs. 44 y 45). Nuestros resultados coinciden con lo reportado por Sivaramakrishnan, *et al.*, (1988) a nivel de planta que: el incremento de prolina está relacionado con un decremento en el potencial hídrico de la hoja y con otras medidas hídricas, como el contenido relativo de agua.

TABLA 39. ANALISIS DE VARIANZA PARA PROLINA LIBRE EN CALLO *IN VITRO* DE FRIJOL ESTRESADOS A SEQUÍA.

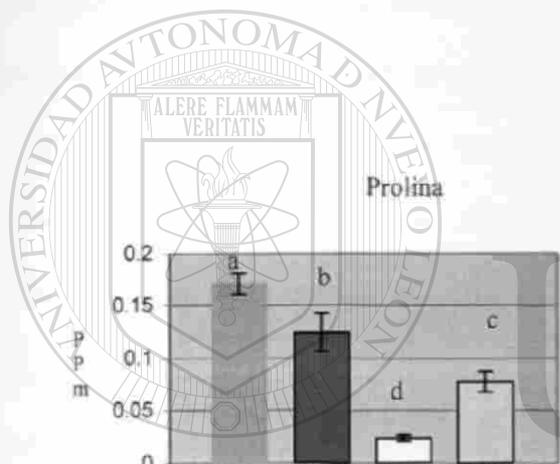
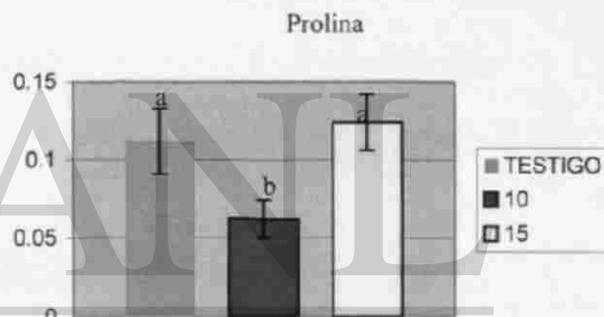
ELEMENTO	FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
PROLINA	VARIEDAD	0.108	3	0.036	66.47 **	$P < 0.01$
	TRATAMIENTO	0.025	2	0.012	23.87 **	$P < 0.01$

** Valores altamente significativos ($P < 0.01$) * Valores significativos ($P < 0.05$) NS = Valor no significativo ($P > 0.05$)

TABLA 40. COMPARACIONES MÚLTIPLES DE MEDIAS MEDIANTE LA PRUEBA DE TUKEY PARA PROLINA LIBRE EN CALLO *IN VITRO* DE FRIJOL ESTRESADOS A SEQUÍA.

Variedades: 1) pinto americano, 2) pastilla, 3) flor de mayo y 4) flor de junio. Tratamientos 1) testigo, 2) 10% PEG y 3) 15% PEG.

ELEMENTO	NIVEL	PROMEDIO ± ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
PROLINA	VARIEDAD	1 0.171 ± 0.010 a*	0.156	0.187
		2 0.124 ± 0.018 b	0.108	0.140
		3 0.024 ± 0.003 d	0.08	0.039
		4 0.077 ± 0.010 c	0.61	0.093
		Total 0.099 ± 0.006		
	TRATAMIENTO	1 0.112 ± 0.021 a*	0.098	0.126
		2 0.062 ± 0.012 b	0.048	0.075
		3 0.124 ± 0.018 a	0.110	0.137
		Total 0.099 ± 0.010		

* Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).Fig. 44 Contenido de prolina en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.Fig. 45 Contenido de prolina en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA-SDS : SALINIDAD

Los resultados obtenidos en la electroforesis, para la determinación de proteínas específicas como respuesta al estrés de salinidad, nos permite observar la presencia de un polipéptido de 33 kDa en la variedad pinto americano en los dos tratamientos con NaCl (0.1 y 0.15 M), polipéptidos de 25 y 28 kDa en la variedad pastilla en los tratamientos de 0.15 y 0.1M de NaCl respectivamente, y un polipéptido de 28 kDa en la variedad flor de mayo en los dos tratamientos con NaCl (0.1 y 0.15 M) (Fig. 46). Dichos resultados son reforzados por las observaciones realizadas por diversas investigaciones acerca de la presencia de proteínas que intervienen en la tolerancia a la salinidad en diferentes cultivos agrícolas y cultivo *in vitro* (Hurkman y Tanaka, 1987, Singh *et al.*, 1985, Ramagopal, 1986, Singh *et al.*, 1987, Ben-Hayyim *et al.*, 1989) donde se demuestran que la salinidad promueve la síntesis de proteínas específicas (15-30, 20, 28, 25, 26 y 32 kDa) de estrés de salinidad (SSSP, salt stress specific-protein); al igual que en esta investigación, estos estudios son realizados en cultivo de tejidos por la facilidad de controlar las variables, además de poder preservar una línea de células resistentes a la salinidad. Además; Rani (1988), encontró que los patrones de proteínas de las líneas susceptibles y tolerantes, mostraron diferencias creciendo en presencia y ausencia de NaCl. Las líneas tolerantes poseían una proteína de 28 kD en el vástago y ausente en las líneas susceptibles, la presencia de esta proteína se relacionó con la tolerancia del arroz a la salinidad.

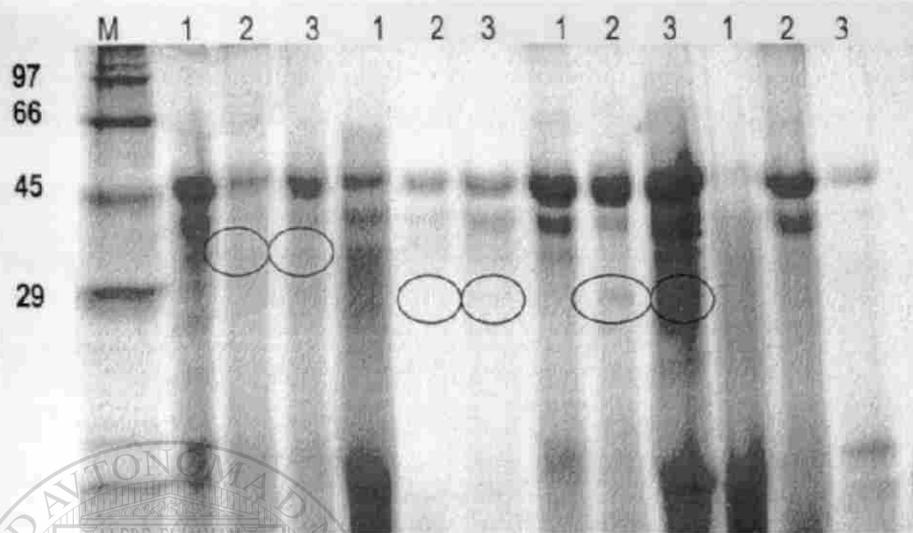


Fig. 46 Electroforesis en gel de poliacrilamida-sds de callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 variedades *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de salinidad.

Carriles: M) Marcadores 1) pinto americano testigo 2) pinto americano NaCl 0.1 M 3) pinto americano NaCl 0.15 M 4) pastilla testigo 5) pastilla NaCl 0.1 M 6) pastilla NaCl 0.15 M 7) flor de mayo testigo 8) flor de mayo NaCl 0.1 M 9) flor de mayo NaCl 0.15 M 10) flor de junio testigo 11) flor de junio NaCl 0.1 M y 12) flor de junio NaCl 0.15 M

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN[®]
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA-SDS : SEQUÍA

Los resultados obtenidos en los corrimientos para la determinación de proteínas específicas como respuesta al estrés de sequía en los callos *in vitro* de frijol en los tres buffer de extracción utilizados, nos muestra la presencia de un polipéptido 30 kDa en la variedad pastilla en los tratamientos de 10 y 15 % de PEG y de 30 kDa en ambos tratamientos en la variedad flor de junio (Fig 47). Estos resultados coinciden con Singh *et al.*, (1985) que reportan, que en cultivo de células de tabaco, el proceso de adaptación celular al estrés osmótico induce la síntesis de proteínas *de novo*, incluyendo la predominancia de una proteína de 26 kD, llamada osmotina. Es interesante decir que la síntesis de la osmotina no es inducida por el choque osmótico porque comienza solo cuando las células son adaptadas a NaCl o PEG (Singh *et al.*, 1985). Se estima que el papel de la osmotina sea inducir en la célula el ajuste osmótico al facilitar la acumulación de solutos o al permitir alguna alteración metabólica en la célula.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

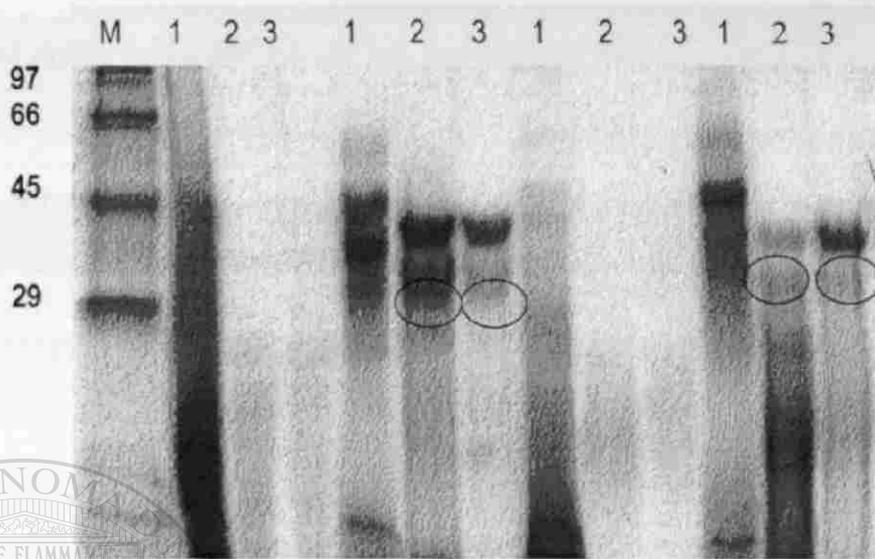


Fig. 47 Electroforesis en gel de poliacrilamida-sds de callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 variedades *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía.

Carriles: M) Marcadores 1) pinto americano testigo 2) pinto americano PEG 10% 3) pinto americano PEG 15% 4) pastilla testigo 5) pastilla PEG 10% 6) pastilla PEG 15% 7) flor de mayo testigo 8) flor de mayo PEG 10% 9) flor de mayo PEG 15% 10) flor de junio testigo 11) flor de junio PEG 10% y 12) flor de junio PEG 15%.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

En general es la variedad pinto americano la que presenta una mayor acumulación de macro y micronutrientes, el más alto contenido de prolina libre, así como la presencia de un polipéptido de respuesta de 33 kDa; en los callos *in vitro* estresados a salinidad. En el estrés de sequía, presenta el mismo comportamiento en cuanto a la acumulación de nutrientes excepto para el molibdeno que bajo este estrés se observa una disminución muy marcada con respecto al otro estrés y no se presenta ningún polipéptido con respecto a su testigo.

La variedad pastilla muestra una mayor acumulación de los nutrientes en los callos *in vitro* estresados a salinidad, excepto para el sodio y una mayor cantidad de prolina libre comparada con las variedades flor de mayo y flor de junio. Además en esta variedad se observa la presencia de un polipéptido de 28 kDa como respuesta al estrés de salinidad. En el factor sequía el

comportamiento de esta variedad es muy similar ya que además de presentar mayor acumulación de nutrientes se presenta una proteína de respuesta al estrés con un peso molecular de 30 kDa.

La variedad flor de mayo solo presenta mayor acumulación de potasio en ambos factores de estrés y la presencia de un polipéptido de 28 kDa como respuesta al estrés de salinidad.

La variedad flor de junio presenta en general buena acumulación de los nutrientes comparada con la variedad flor de mayo. Observamos además la

presencia de un polipéptido de 30 kDa sólo en los callos *in vitro* sometidos al estrés de sequía.

ULTRAESTRUCTURA POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN.

En los cortes semifinos, tanto para salinidad como para sequía, se observan células de diferentes formas y tamaños desde circulares hasta alargadas.

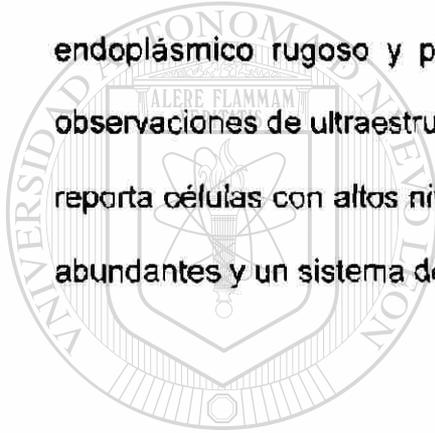
Algunas áreas presentan un arreglo ordenado con células de forma homogénea, bien sea todas delgadas o circulares, o compactas y apiladas dejando poco espacio extracelular, mientras que otras áreas de una misma muestra, el arreglo es más bien desordenado y con amplios espacios extracelulares sin contenido aparente; como lo citan Hurtado y Merino (1987) quienes mencionan que estudios microscópicos han demostrado que los tejidos

de tipo calloso generalmente son heterogéneos en su composición celular; que la diversidad celular presente en el callo depende de muchos factores como son el origen del tejido, la edad de los cultivos y la composición de los medios.

Las células en general contienen una gran vacuola central que ocupa casi la totalidad de la célula y muy escaso citoplasma, disponiéndose como una fina capa adosada a la pared celular, sin que se observen organelos, esto le da un aspecto a la célula como si estuviese vacía.

En cortes ultrafinos; en algunas células se observan depósitos de material proteico relleno el citoplasma y extendiéndose en algunos casos como acúmulos granulares hacia las partes más internas de la célula o

espacios vacuolares. Sin embargo, la mayor parte de las células, contienen solo una delgada película citoplasmática. En estos cortes se observan predominantemente paredes celulares, las cuales son delgadas y miden 0.18µm en promedio, esto coincide con lo reportado por Oñmos y Hellin (1996) quienes reportan que al observar a nivel ultraestructura las características de las células susceptibles a salinidad, encontraron que éstas poseían grandes vacuolas. La vacuola central estaba rodeada por una delgada capa de citoplasma; no así en que reportan abundantes mitocondrias, retículo endoplásmico rugoso y plastos y diferimos de Mir Araujo (1996), que en observaciones de ultraestructura en callos *in vitro* de sorgo estresados a salinidad, reporta células con altos niveles de almidón y lípidos, cloroplastos y mitocondrias abundantes y un sistema de membranas bien desarrollado.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

VIII. CONCLUSIONES

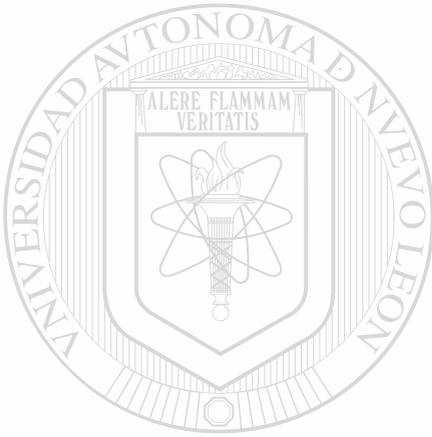
Con base en los resultados obtenidos y conforme a las condiciones experimentales en las que se llevó a cabo la presente investigación, se efectúan las siguientes conclusiones:

La técnica de desinfección que consistió en alcohol etílico al 70% e hipoclorito de sodio comercial (NaClO) al 15 % (v/v) durante 10 minutos fue apropiada para lograr el establecimiento aséptico del cultivo *in vitro* de las variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) pinto americano, pastilla, flor de mayo y flor de junio.

Las concentraciones de 2,4-D 3, 5 y 10 mg/L en los explantes de hipocotilo, hoja cotiledonaria y cotiledón, respectivamente son los adecuados para lograr la inducción del callo *in vitro* en las variedades estudiadas.

En general son las variedades pinto americano y pastilla las que presentan una mayor acumulación de macro y micronutrientes, la mayor acumulación de prolina libre, así como la presencia de un polipéptido de respuesta de 33 kDa; en pinto americano para el estrés salinidad y de 20 y 30 kDa en la var. pastilla para salinidad y sequía respectivamente en los callos *in vitro*, por lo que podemos considerar a estas variedades como tolerantes a estos factores de estrés.

Por lo anterior y dado a que las respuestas a las determinaciones realizadas se pueden observar claramente a nivel de callo , podemos considerar al cultivo de callo *in vitro* como una herramienta importante para evaluar y seleccionar variedades resistentes a diferentes factores de estrés, con la ventaja de que podemos conservar completas las plantas donadoras de explantes además de mantener al cultivo de callo *in vitro* mediante subcultivos y conservar las líneas celulares.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN[®]
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

IX. LITERATURA CITADA

- Adebona, A.C. y B.E. Ayisire. 1979.** Effect of polyethylene glycol induced Moisture stress on the germination of some tropical seeds. Turrialba, 29(4):318-320.
- Aguilera U., J. Y R. Robles S. 1975.** Cultivo de sorgo (grano y/o forraje). Sorgo (Sorghum vulgare Pers.). En: Producción de granos y forrajes. R. Robles. LIMUSA México, pp 1-140.
- A.O. A. C. 1991.** Official Methods of Analysis of the A.O.A.C. 4th Ed. Association Official Analytical Chemist Washington, D. C.
- Bates , L. 1973.** Rapid determination of free proline of water stress studies. Plant Soil. 39:205-207.
- Benko, A. 1986.** The content of some aminoacids in young apple shots in relation to frost resistance. Biología Pl. II:334-337.
- Ben-Hayyim, G., Y. Vaddia And B.G. Williams. 1989.** Protein associated with salt adaptation in citrus and cell tomatoes: Involvement 26 kD polypeptids. Physiology Plantarum. 77:332.
- Castellanos, R. J. Z. 1992.** La fijación del nitrógeno en frijol bajo condiciones de sequía. Tesis Doctoral. C.I.N.V.E.S.T.A.V. Irapuato, Guanajuato, México.
- CIAT, Cali, Colombia. 1987.** Centro Internacional de Agricultura Tropical. Abstracts on Field Beans. 16(1):90.
- CIAT, Cali, Colombia. 1988.** Annual Report. Centro Internacional de Agricultura Tropical. 398 pp.

Cramer, G.R., E. Epstein, and A. Lauchli. 1988. Kinetics of root elongation of maize in response to short-term exposure to NaCl and elevated calcium ζ concentration. *J. Exp. Bot.*, 39(208):1513-1522.

Chu, M. T., D. Aspinall and G.L. Paleg. 1974. Stress metabolism. VI. Temperature stress and the accumulation of proline in barley and radish. *Aust. Jour. Plant Physiol.* 1:87-97.

Dodds, H. J. & W. R. Lorin. 1986. Experiments in Plant Tissue Culture. Cambridge University Press. London England. 2a. Ed. pp.21-31, 46-47.

Dubey, R.S. 1994. Protein synthesis by plants under stressful conditions. In Pessaraki, M. *Handbook of Plant and Crop Stress.* Marcel Dekker, Inc. ζ New York, N.Y. p. 277-299.

Ericson, M.C. And S.H. Alfinito. 1987. Proteins produced during salt stress in tobacco cell culture. *Plant physiology*, 74:506.

FAO. 1992. Anuario de producción. Vol. 46.

Flores H. A. 1997. Características Bioquímicas relacionadas con el estrés por calor en nopal (*Opuntia spp*). Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados. Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Montecillo, México.

Flowers, T.J., P. F. Troke y A.R. Yeo. 1977. The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annual Review of Plant Physiology*, 28:89-121.

Foster, S. 1993. Maize production, drought and AIDS in Monze District, Zambia. *Health Policy and Planning*, 8(3):247-254.

Frederici, C.T.; B. Ehdai y J.G. Waines. 1990. Domesticated and Wild tepary bean: field performance with and without drought-stress. *Agron.* 82:896-900.

González Flores L. M. E. (1990). Caracterización fisicoquímica e implicaciones nutricias de las lectinas de frijol tepari y sus híbridos. Tesis . Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzado del Instituto Politécnico Nacional Unidad Irapuato.

Grzesiak, S. 1991. Ecological and physiological factors of drought resistance in different genotypes of maize (*Zea mays* L.). *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczejim. H. Kollatajaw Krakowie, Rozprawa Habilitacyjna*, 158:119 pp.

Hames, B. D. 1981. An introduction to polyacrylamide gel electrophoresis. In *Gel electrophoresis of proteins* ed. Hames, B. D. & Ricwood, D. Washington, DC:IRL Press. pp. 1-91.

Huang-Peiming; Ge-Koulin 1989. *Acta-Agriculturac-Shangahi (China)*. V.5(1) p. 31-36.

Hurtado D. V. y M. E. Merino M. 1988. Cultivo de Tejidos Vegetales, Ed. Trillas.® 1a. Edición. pp. 94-97.

Hurkman, W.J. and C. K. Tanaka. 1987. The effects of salt on the pattern of protein synthesis in barley roots. *Plant Physiology* 83 :517.

Igartua, A., M.P. García y J.M. Lasa. 1994. Characterization and genetic control of germination-emergence responses of grain sorghum to salinity. *Euphytica*, 76(3):185-193

INEGI. 1991. VII Censo agropecuario.

Ireland, R. 1990. Aminoacid and ureide biosíntesis. In: Plant Physiology, biochemistry and molecular biology. Dennis, D. T. and Turpin, D. H. (Eds.) Longman. pp 408-420.

Itulya, F. M.; C..L. Coulson y H.A. Dsourza. 1986. Bean-Cowpes CRSP (Collaborative Research Support Programme) Progress Report 1985. Nairobi Univ. (Kenya). Dept. Of Crop Science.

Jia , X., 1987. The effect of temperature on maize anther culture. Scientia Agricultura Sinica 20 (3):95-96.

Kathiresan, K. 1987. Role of proline in plants under stress conditions. Indian Review of Life Sciences. 7:203-220.

Kim, S. G.; Song, J. H. 1984. Korean- Journal-of-Botany. v. 27(3) p.173-178.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227.681-685.

Levitt, J. 1972. Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, New York.

López-Nuño, N.L. 1994. Efecto de la sequía simulada sobre la germinación de maiz, y su relación con el comportamiento de la planta en maceta bajo condiciones de sequía. Tesis de Maestría. I.T.E.S.M.

Lupotto, E; M. Mongodi, and M.C. Lusardi. 1988. Salt tolerance: *in vitro* selection with regard to the regenerative potential. Maize Genet. Cooperation Newsletter, 62:30-31.

Lux Alexander, 1987. Manual de Microscopia Electrónica, Ultraestructura y Citología Vegetal. F.C.B. U.A.N.L. pp 19-52.

Maiti R.K., P.S. Raju, B.V.S. Reddy and J.M. Peacock. 1989. Evaluation of techniques to screen for drought resistance in sorghum seedlings.

Turrialba, 39(1): 106-110.

Maiti, R.K. 1996. Sorghum Science. xv + 352 pp. Science Publisher, Inc.

Lebanon, NH, USA.

Maiti, R.K. 1997. Maize Science. First Edition Science Publishers, INC. U.S.A.

Maiti, R.K. 1997. Bean Science. First Edition. Science Publishers. USA. pp 15.

Maiti R.K., A. Nuñez González, P. Wesche Ebeling, S. Moreno Limón, M. L.

Cárdenas Ávila, J.L. Hernández Piñero, J. Verde-Star. 2000. Proline and protein profile as indicators of resistance to biotic and abiotic stresses in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Legume Research. En Prensa.

Maiti, R. K., L. E. Delgado-Amaya, S. Ibarra-Cardona, A. M. Ontiveros-Dimas, M. de la Rosa-Ibarra, and H. De León-Castillo. 1996. Genotypic variability in maize cultivars (*Zea mays* L.) for resistance to drought and salinity at the

seedling stage. J. Plant Physiol., 148(6): 741-744.

Maiti, R.K., M.L. Cárdenas Ávila, M. J Verde-Star, M. A. Nuñez González y J.L. Hernández Piñero (2000). Tissue Culture And Its Application In

Crop Improvement Programme In *Phaseolus* Bean. Journal Agril Reviews (en prensa).

Malibari, A. A., M.A. Zidan, M.M. Heikal y S. El-Shamary. 1993. Effect of salinity on germination and growth of alfalfa, sunflower and sorghum. Pakistan J.

Bot., 25(2):156-160

Maliwal, G.L., and K.V. Paliwal. 1984. Salt tolerance of some paddy, maize, sorghum, cotton and tobacco varieties at germination and early growth stage. *Agricultural Science Digest, India* 4: 3, 147-149.

Mir Araujo Irene (1996). Estudios de la respuesta de cuatro genotipos de Sorgo "Glossy" y uno "No- Glossy" a factores de estrés: Salinidad, Sequía y Exposición a un herbicida en desarrollo de Plántula y Callo. Tesis Doctoral I.T.E.S.M. pp 33-34, 93.

Mishra, P.K., A.S. Mehta, and A.K. Srivastava. 1994. Effect of salt stress on the physiology of 15-day old seedlings of maize. *Neo-Botanica*. 1994, 2: 1, 49-51.

Mohammed M. F.; Read, P.E.; Coyne, D. P. 1992. *Journal of the American Society for Horticultural Science (USA)*. V. 117 (2).

Mongodi, M; M.C. Lusardi, and E. Lupotto 1988. *Regeneration in salt tolerant callus cultures of maize (Zea mays)*. Importance of genotype and

somaclonal variation in the scheme of selection *Genetica Agraria* 42:1,85.

Moreno Limón Sergio. 1998. *Respuestas morfofisiológicas, bioquímicas y ultraestructurales en frijol (Phaseolus vulgaris L). al estrés de salinidad, altas temperaturas y sequía.* Tesis Doctoral, F.C.B., División de Estudios de Postgrado. U. A. N. L., Monterrey, Nuevo León.

Murashige, T. & F. Skoog 1962. A Revised Medium For Rapid Growth and Bioassays With Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plantarum* 15:473-497.

Naidu, P.B., D. Aspinall and G. L. Paleg. 1992. Variability in proline accumulating ability of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars induced by vapor pressure deficit. *Plant Physiol.* 98:716-722.

- Neumann, D., M. Emmermann, J.M. Thierfelder, U. Nieden-zur, M. Clericus, H.P. Braun, L. Nover, U.K. Schmitz, and U. Zur-Nieden. 1993.** HSP68 - a DnaK-like heat-stress protein of plant mitochondria. *Planta* 190: 1, 32-43.
- Olmos, E. and Hellin. 1996.** Cellular adaptation from a salt-tolerant cell line of *Pisum sativum*. *J. Plant Physiol.* 148:727-734.
- Oshanina, N.P. 1972.** Nitrogen exchange of plants in the south-western kyzilkum. In: *Ecophysiological fundation of ecosystems and productivity in arid zones.* Inter. Symp. U. S. S. R.
- Paleg, L. G. and D. Aspinall. 1981.** Drought resistance in plants. Academic Press. Pp 243-369.
- Pan, S. M. 1984.** Studies of salt tolerance in maize, *Zea mays* L. 1. Screening for salt tolerant lines and determination of acid phosphatase. *J. Agric. Association of China*, 127:58-67.
- Peña-Ramos, A. Y A. Muñoz-Orozco. 1988.** Respuesta de tres especies cultivadas a condiciones deficientes de humedad edáfica. *Agrociencia*. 74:231-2243.
- Phillips, C. G. & J. F. Hubsterberg. 1987.** Plant Regeneration *in vitro* of Selected *Allium* Species and Interspecific Hybrids. *Hort Science*. 22(1):124-125.
- Phillips, G. R. & K. L. Luteyn. 1983.** Efeccts of picloram and other auxins on onion tissue culture. *J.Amer.Soc.Hort.Sci.* 84:250-260.
- Quintero F. J. , I. Mendoza, J. M. Rodríguez Galán, A. Hernández, M. T. Ruiz y J. M. Pardo (1999).** Regulación de la homeostasis de Na⁺ y K⁺ en plantas y hongos. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. XIII Reunión Nacional de la

Sociedad Española de Fisiología Vegetal. VI Congreso Hispano-Luso de Fisiología Vegetal. 19-22 Septiembre.

Rani, M. 1988. *Influence of salinity on metabolic status of proteins and amino acid during germination and early seedling stages of rice.* Ph. D. Thesis submitted to Banaras Hindu University, India, pp 180-199.

Ramagopal, S. 1986. Protein synthesis in maize callus exposed to NaCl and Manitol. *Plant Cell Rep* 5: 430.

Revilla M.A. y Cañal M.J. 1999. Respuestas a estrés salino de callos de olivo. Departamento de Biología de organismos y Sistemas. Fac. de Biología. Univ. De Oviedo. XIII Reunión Nacional de la Sociedad Española de Fisiología Vegetal. VI Congreso Hispano-Luso de Fisiología Vegetal. 19-22 Septiembre.

Ristic, Z. and D.D. Cass. 1991. Chloroplast structure after water and high temperature stress in two lines of maize that differ in endogenous levels of abscisic acid. *International Journal of Plant Science.* 153(2):186-196.

Roca, W. Y M. Mroginsk. 1991. Cultivo de tejidos en la Agricultura, Fundamentos y Aplicaciones. CIAT. Centro Internacional de Agricultura Tropical. pp 13-22 y 80-93.

Sánchez, G.P., and C.A. Carballo. 1983. Efecto del tamaño de semilla y de la profundidad de siembra en el rendimiento y características agronómicas del maíz. *Rev. Chapingo*, 8(40):60-64.

Sánchez, F. J. , E. F. De Andrés, A. Hervella, J. L. Tenorio y L. Ayerbe (1999). *Mantenimiento del turgor y crecimiento en epicotilos de guisante sometidos a estrés hidrico.* Centro de Recursos Fitogenéticos-INIA. . XIII Reunión

Nacional de la Sociedad Española de Fisiología Vegetal. VI Congreso Hispano-Luso de Fisiología Vegetal. 19-22 Septiembre.

Sandoval, G. N. D. 1991. Evaluación y selección de líneas de sorgo "glossy" [*Sorghum bicolor* (L.) Moench.] para su tolerancia a diferentes factores de estrés en etapa de plántula. Tesis de Licenciatura. F.C.B. U.A.N.L. México

Schlesinger, J. M. 1990. Heat shock proteins. Jour of Biol. Chem. Vol. 265, No. 21: 12111-12114.

Shahin, E. A. & K. Kanenko. 1986. Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Callus Cultures of Nonbulbing Onions. Hort Science 21(2):294-295.

Sindhu, R.K.; D.H. Griffin y D.C. Walton. 1990. Abscisic aldehyde is an intermediate in the enzymatic conversion of xanthoxin to abscisic acid in *Phaseolus vulgaris* L. Leaves. Plant Physiol. 93:689-694.

Singh, T. N. D. Aspinall and L. G. Paleg. 1972. Proline accumulation and varietal adaptability to drough in barley: A potential metabolic measure of drough resistance. Nature (London) New Biol. 236: 188-190.

Shing, N.K., A.K. Handa, P. M. Hasegawa And R.A. Bressan. 1985. Proteins associated with adaptation of cultured tobacco cells to NaCl. Plant Physiology 79:126.

Singh, N.K., C.A. Braker, P.M. Hasegawa, A.K. Handa, S. Buckel, M.A.

Hermodson, E. Pfankoch, F.E. Regnier and R.A. Bressan. 1987.

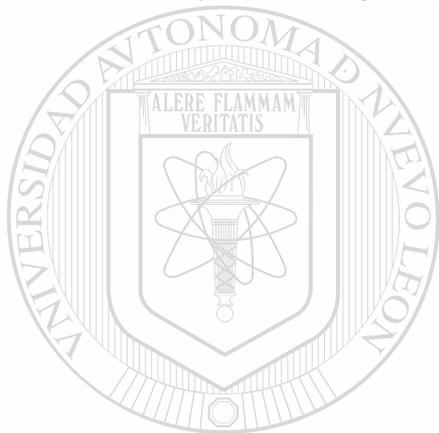
Characterization of osmotin, a thoumatin-like protein associated with osmotic adaptation in plant cells. Plant Physiology 85: 529.

- Sivaramakrishnan S, Patell V.Z., Flower D.J., Peacock J.M. 1988.** Physiology Plantarum. V.74. Copenhagen. pp. 418 - 426
- Steel, R. G. D. y J. H. Torrie. 1986.** Bioestadística. Principios y Procedimientos. Ed. Mc. Graw-Hill 2a. Ed. 132-142; 177-179.
- Steuter Allen A., Ahmad Mozafar and Joe R. Goodin (1981).** Water Potential of Aqueous Polyethylene Glycol . Plant Physiol 67, 64-67.
- Stewart, C. R. and J.A. Lee. 1974.** The role of proline accumulation in halophytes. Planta. 120:279-289.
- Treichel, S. 1975.** The effect of NaCl on the concentration of proline in different halophytes. Z. Pflanzenphysiol. 76:56-68.
- Van Loon, L.C. , S. Gianinazzi, R.F., R.F. White, Y. Abu-Jawdah, P. Ahl, J.F. Antoniwi, T.Boller, A. Camacho-Henriquez, V.Conejero, J.C. Coussirat, R.N. Goodman, E. Maiss, P. Redolfi and T.M.A. Wilson (1983).** Electrophoretic and serological comparisons of pathogenesis – related (b) proteins from different plant species. Neth. J. Pl. Path. 89: 293-303.
- Van Rensburg, L. V. And G. H. J. Kruger. 1994.** Aplicability of abscisic acid and (or) proline accumulation as selection criteria for drought tolerance in *Nicotiana tabacum* Can J. of Bot. 72: 1535-40.
- Venter, H. A. Van-de, and H. A. Van-de-Venter. 1988.** Relative response of maize (*Zea mays* L.) seed lots to different stress conditions. Seed Sci. and Technol., 16(1):19-28.
- Vianello, I., y M.A. Sobrado. 1991.** Respuestas contrastantes del maíz tropical ante la sequía en el período vegetativo o reproductivo. Turrialba, 3(41):403-411.

Yeo, A.R. y T.J. Flowers, 1980. Salt tolerance in the halophyte *Suaeda maritima* L. Dum.: Evaluation of the effect of salinity on growth. *Journal of experimental Botany*, 31(123):1171-1183.

Zar, J. H. 1996. *Biostatistical Analysis*. Tercera edición. Prentice Hall Inc. N.Y. 718p.

Zuñiga, G. E. V. H. Argandona, y L. J. Corcuera, 1989. Distribution of glycine, betaine and proline in water stress and un stress barley leaves. *Phytochemistry*. 28(2).419-420.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CURRÍCULUM VITAE
MC MARIA LUISA CARDENAS AVILA

DATOS PERSONALES

NOMBRE: MARIA LUISA CÁRDENAS ÁVILA
DIRECCIÓN: CHIHUAHUA # 863. COL. INDEPENDENCIA MONTERREY NUEVO LEÓN.
TEL. Y FAX: 83-59-81-58
CORREO ELECTRÓNICO: CARDENASAVILA@YAHOO.COM
LUGAR Y FECHA DE NACIMIENTO: MONTERREY NUEVO LEÓN. 21 DE ENERO DE 1959.
NACIONALIDAD: MEXICANA
ESTADO CIVIL: CASADA

ESTUDIOS REALIZADOS

PROFESIONAL: BIÓLOGO. FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS U.A.N.L. CD. UNIVERSITARIA
MONTERREY NUEVO LEÓN. 1976-1981.
POSTGRADO: MAESTRIA EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN BOTÁNICA. FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS U.A.N.L. CD. UNIVERSITARIA MONTERREY NUEVO LEÓN. OBTENCIÓN DEL
GRADO JULIO DE 1996.
ACTA DE EXAMEN PREDOCTORAL 17 DE NOV. DE 2000.

EXPERIENCIA LABORAL (INVESTIGACION)

NOMBRAMIENTO: INVESTIGADOR DE TIEMPO COMPLETO
AÑO DE INICIO: 01/1996
LINEA DE INVESTIGACIÓN: CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES
LUGAR: UANL. FCB.

NOMBRAMIENTO: PROFESIONAL NO DOCENTE DE TIEMPO COMPLETO
FECHA DE INICIO: 04/1995
FECHA EN QUE TERMINO: 01/1996
LINEA DE INVESTIGACIÓN: CULTIVO DE TEJIDOS (PROYECTOS DE INVESTIGACION)
LUGAR: UANL. FCB.

NOMBRAMIENTO: PROFESIONAL NO DOCENTE MEDIO TIEMPO.
FECHA DE INICIO: 04/1994
FECHA EN QUE TERMINO: 04/1995
LINEA DE INVESTIGACIÓN: CULTIVO DE TEJIDOS (PROYECTOS DE INVESTIGACION)
LUGAR: UANL. FCB.

NOMBRAMIENTO: INSTRUCTOR DE LABORATORIO.
FECHA DE INICIO: 02/1981
FECHA EN QUE TERMINO: 04/1984
LINEA DE INVESTIGACIÓN: BIOLOGIA DEL DESARROLLO.
LUGAR: UANL. FCB.

NOMBRAMIENTO: AUXILIAR DE LABORATORIO
FECHA DE INICIO: 08/1980
FECHA EN QUE TERMINO: 02/1981
LINEA DE INVESTIGACIÓN: BIOLOGIA DEL DESARROLLO.
LUGAR: UANL. FCB.

DISTINCIONES

- 2000 - "RECONOCIMIENTO DE LA FACULTAD DE CIENCIA BIOLÓGICAS" UANL. FCB. VERANO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA DE LA UANL. DEL 10 DE JULIO AL 11 DE AGOSTO DE 2000.
- 1998 - "MENCIÓN HONORÍFICA EN EL AREA DE DESARROLLO AGROPECUARIO" SEP-CONACYT. DELEGACIÓN REGIONAL NORESTE. 29 DE MAYO DE 1998.
- 1998 - "DESIGNACIÓN COMO COORDINADOR ACADEMICO-ADMINISTRATIVO DEL LABORATORIO DE BIOLOGÍA FCB UANL." UANL. FCB. 2 FEBRERO DE 1998
- 1995 - "MENCIÓN HONORÍFICA POR BRILLANTE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN Y DEFENSA DE SU TESIS" DE MAESTRIA. UANL. DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO. 25 DE JULIO DE 1995.

PUBLICACIONES

AUTORES: MARIA LUISA CARDENAS AVILA, A. JULIA VERDE STAR, JORGE VILLARREAL, MA. CONCEPCION VALADES C., R. K. MAITI & MARJO MORALES V.
TITULO: IN VITRO TISSUE CULTURE OF WILD CHILI "CHILE PIQUIN" (CAPSICUM & ESBAUGH): AN ALTERNATIVE METHOD FOR PROPAGATION.
REVISTA: REVISTA INTERNACIONAL DE BOTANICA EXPERIMENTAL OYTON
ESTADO ACTUAL: PUBLICADO
OBJETIVO: INVESTIGACIÓN PÁGS. 99-102
PAIS: ARGENTINA AÑO: 1997
CITAS: MARIA LUISA CARDENAS AVILA TESIS: CULTIVO IN VITRO DE BROTES DE <<AJO>> ALLIUM SATIVUM L. DE TRES VARIEDADES OBTENIDAS EN MARIN N. L., MEXICO. MESTRIA 1995.

AUTORES: MARIA LUISA CARDENAS AVILA, M. E. CARDENAS CERDA, T. E. TORRES CEPEDA, R. MERCADO HERNÁNDEZ.
TITULO: CULTIVO IN VITRO DE BROTES DE TRES VARIEDADES DE AJO (ALLIUM SATIVUM L.)
REVISTA: REVISTA INTERNACIONAL DE BOTANICA EXPERIMENTAL.
ESTADO ACTUAL: PUBLICADO
OBJETIVO: INVESTIGACIÓN PÁGS. 31-35
PAIS: ARGENTINA AÑO: 1997

AUTORES: BIOL. MA. EUFEMIA MORALES RUBIO, M.E.S. LIBERTAD LEAL LOAZANO, M.C. JOSE IGNACIO GONZALEZ ROJAS, M.C. MARIA LUISA CARDENAS AVILA.
TITULO: MANUAL DE PRACTICAS. CONCEPTOS DE BOTANICA.
REVISTA: DEPTO. DE BIOLOGIA CELULAR Y GENETICA.
ESTADO ACTUAL: PUBLICADO
OBJETIVO: DOCENCIA
PAIS: MEXICO AÑO: 1998

AUTORES: R. K. MAITI, J. G. ALMANZA, J. L. HERNANDEZ PINERO, SALOMON MARTINEZ LOZANO, LETICIA VILLARREAL RIVERA, MA. CONCEPCION VALADES CERDA AND MARIA LUISA CARDENAS

TITULO: SOME ASPECTS OF THE MORPHOLOGY AND ANATOMY OF THE WILD CHILI "CHILE PIQUIN" (*CAPSICUM ANNUUM* L., VAR. *AVICULARE* D. & E. SOLANACEAE) IN NUEVO LEON, MEXICO.

REVISTA: BIOTAM

ESTADO ACTUAL: ACEPTADO

OBJETIVO: INVESTIGACIÓN

PAIS: MEXICO AÑO: 1999

AUTORES: MARIA LUISA CARDENAS AVILA

TITULO: VARIABILITY IN CALLUS INDUCTION IN VITRO OF FOUR VARIETIES OF *PHASEOLUS VULGARIS* L.

REVISTA: REVISTA INTERNACIONAL DE BOTANICA EXPERIMENTAL OYTON.

ESTADO ACTUAL: ACEPTADO

OBJETIVO: INVESTIGACIÓN

PAIS: ARGENTINA AÑO: 2000

AUTORES: ADRIANA NUÑEZ GONZALEZ, MARIA LUISA CARDENAS AVILA, R. K. MAITI, JULIA VERDE STAR, RAHIM FOROUGHBAKCH, J. L. HERNANDEZ PIÑERO, S. MORENO LIMON & G. GARCIA DIAZ.

TITULO: VARIABILITY IN MINERAL PROFILE IN SEVEN VARIETIES OF BEAN (*PHASEOLUS VULGARIS* L.) ADAPTED IN NORTH EAST OF MEXICO.

REVISTA: AGRIL REVIEWS

ESTADO ACTUAL: ACEPTADO

OBJETIVO: INVESTIGACIÓN

PAIS: INDIA AÑO: 2000

AUTORES: R. K. MAITI, MARIA LUISA CARDENAS AVILA, JULIA VERDE-STAR, J. L. HERNANDEZ PIÑERO & MA. ADRIANA NUÑEZ GZZ.

TITULO: ISSUE CULTURE AND ITS APPLICATION IN CROP IMPROVEMENT PROGRAMME IN *PHASEOLUS* BEAN.

REVISTA: AGRIL RESEARCH

ESTADO ACTUAL: ACEPTADO

OBJETIVO: INVESTIGACIÓN

PAIS: INDIA AÑO: 2000

AUTORES: NUNEZ GONZALEZ, A., HEREDIA ROJAS N. L., MAITI, R. K. & VERDE STAR J., MORENO LIMON S., ALVAREZ OJEDA. M. C., CARDENAS AVILA MARIA LUISA, HERNANDEZ PIÑERO J. L.

TITULO: COMPARISON OF THE PROTEIN PROFILES OF FOUR BEAN CULTIVARS (*PHASEOLUS VULGARIS* L.) SUBJECTED TO LOW NUTRIENT LEVEL: A PRELIMINARY STUDY.

REVISTA: LEGUME RESEARCH

ESTADO ACTUAL: ACEPTADO

OBJETIVO: INVESTIGACIÓN AÑO: 2000

PAIS: INDIA

AUTORES: R. K. MAITI, PEDRO WESCHE-EBELING, ADRIANA- NUÑEZ GZZ, S. MORENO-LIMON, J. L. HERNANDEZ-PIÑERO Y MARIA LUISA CARDENAS AVILA.

TITULO: SOME BIOTIC AND ABIOTIC FACTORS AFFECTING CHLOROPLAST STRUCTURE AND CHLOROPHYLL CONTENT IN BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.) A. REVIEW.

REVISTA: AGRIL RESEARCH
ESTADO ACTUAL: ACEPTADO
OBJETIVO: INVESTIGACION
PAIS: INDIA AÑO: 2000

AUTORES: RATIKANTA MAITI, JOSE LUIS GUTIERREZ LOBATOS, MARIA LUISA CARDENAS AVILA, JOSEFINA GALINDO RODRIGUEZ.

TITULO: PLANTAS MEDICINALES DE NUEVO LEON CONTRIBUCION A SU CONOCIMIENTO PARTE I.
REVISTA: DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO. UANL. FCB. DEPARTAMENTO DE BOTANICA.

ESTADO ACTUAL: PUBLICADO OBJETIVO: DOCENCIA PÁGS. 1-34 PAIS: MEXICO
AUTORES: BIOL. MA. EUFEMIA MORALES RUBIO, M.E.S. LIBERTAD LEAL LOAZANO,
M.C. JOSE IGNACIO GONZALEZ ROJAS, M.C. MARIA LUISA CARDENAS AVILA.

TITULO: MANUAL DE PRACTICAS. CONCEPTOS DE BIOLOGIA.

REVISTA: DEPTO. DE BIOLOGIA CELULAR Y GENETICA.
ESTADO ACTUAL: PUBLICADO
OBJETIVO: DOCENCIA PÁGS. 1-49
PAIS: MEXICO

TESIS EN PROCESO (ASESOR)

NOMBRE: SRITA. SONIA CRISTINA IRIGOYEN ARANDA (ESTUDIANTE DE BIOLOGO)

TITULO: INDUCCION DE CALLO IN VITRO DE 2 VARIEDADES COMERCIALES DE P. VULGARIS L. "FRIJOL"
Y NIVELES DE PROLINA LIBRE BAJO CONDICIONES DE SEQUIA

INSTITUCIÓN: UANL. FCB

NOMBRE: SRITA. ALMA CITLALLY MUNDO MEDINA (ESTUDIANTE DE BIOLOGO)

TITULO: CULTIVO DE CALLO IN VITRO DE 2 VARIEDADES COMERCIALES DE P. VULGARIS L. "FRIJOL" Y
SU PATRON ELECTROFORETICO DE PROTEINAS BAJO CONDICIONES DE SALINIDAD.

INSTITUCIÓN: UANL. FCB

FORMACIÓN DE GRUPOS

PARTICIPANTES: BIOL. MARIA EUFEMIA MORALES RUBIO, BIOL. JAIME FCO. TREVIÑO NEAVEZ
BIOL. JORGE VERDUZCO MARTINEZ, M.C. MARIA LUISA CARDENAS AVILA
M.C. MARIA TERESA TORRES CEPEDA

IMPACTO: MANTENIMIENTO Y CONSERVACION EN LABORATORIO DE CACTACEAS DE LA REGION
INSTITUCIÓN: UANL. FCB AÑO: 1996

"PROYECTO PAICYT CLAVE CNI50-99"

PARTICIPANTES: M.C. MARIA LUISA CARDENAS AVILA, M.C. MARIA ADRIANA NUÑEZ GONZALEZ, M.C.
JORGE LUIS HERNANDEZ PIÑERO, DR. SERGIO MORENO LIMON, M.C. GRACIELA
GARCIA DIAZ, DR. JULIA VERDE STAR, DR. RAHIM FOROUGHBAKHCH P. ESTUDIANTE

SONIA CRISTINA IRIGOYEN ARANDA (TESISTA)

IMPACTO: PROYECTO PAICYT CN 150-99

ESTABLECER LAS BASES TÉCNICAS Y CIENTÍFICAS PARA EVALUAR LAS RESPUESTAS QUE PERMITAN EN UN FUTURO DETERMINAR LOS MECANISMOS DE RESPUESTA A LOS FACTORES DE ESTRÉS CONSIDERANDO AL CULTIVO DE TEJIDOS COMO UNA ALTERNATIVA VIABLE PARA LA SELECCIÓN DE GEOTIPOS RESISTENTES A FACTORES DE ESTRÉS Y CONSERVACIÓN DE GERMOPLASTA. INSTITUCIÓN: UANL. FCB. AÑO: 1999

"PROYECTO PAICYT CLAVE CN 149-99"

PARTICIPANTES: M.C. MARIA ADRIANA NUÑEZ GZZ., M.C. MARIA LUISA CARDENAS AVILA,

DR. SERGIO LIMON, M.C. JORGE LUIS HERNANDEZ, M.C. GRACIELA GARCIA DIAZ, DR. JULIA VERDE STAR, DR. RAHIM FOROUGHBAKHCH.

IMPACTO: 1.- INTEGRAR UN EQUIPO DE INVESTIGACIÓN MULTIDISCIPLINARIA QUE ABORDE A FONDO EL PROBLEMA DE BAJOS NIVELES DE NUTRIMENTOS QUE POSEE LA ZONA NORESTE DE LA REPUBLICA CON EL FIN DE APROVECHAR LAS GRANDES EXTENSIONES DE SUELO POTENCIALMENTE FERTILES CON EL USO DE CULTIVARES TOLERANTES A DIVERSOS FACTORES DE ESTRÉS.

2.- FORMAR RECURSOS HUMANOS CON CONCIENCIA EMPRENDEDORA Y VISION AL FUTURO.

3.- DIFUNDIR LAS EXPERIENCIAS ADQUIRIDAS MEDIANTE ARTICULOS CIENTIFICOS, PONENCIAS, ETC. INSTITUCIÓN: UANL. FCB. AÑO: 1999

"PROYECTO PAICYT CLAVE CN 178-99 "

PARTICIPANTES: M.C. MARIA LUISA CARDENAS AVILA

IMPACTO: CONOCIMIENTO SOBRE EL CULTIVO DE TEJIDOS EN EL CURSO DE TECNOLOGIA QUIMICA IMPARTIDA EN EL INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE MONTERREY INSTITUCIÓN: UANL. FCB. AÑO: 1998

CONTINUACION "PROYECTO PAICYT CN 150-99"

PARTICIPANTES: M.C. MARIA LUISA CARDENAS AVILA, M.C. MARIA ADRIANA NUÑEZ GONZALEZ, M.C. JORGE LUIS HERNANDEZ PIÑERO, DR. SERGIO MORENO LIMON, M.C. GRACIELA GARCIA DIAZ, DR. JULIA VERDE STAR, DR. RAHIM FOROUGHBAKHCH P., ESTUDIANTE ALMA CITLALLY MUNDO MEDINA (TESISTA).

IMPACTO: CONTINUACION DEL PROYECTO PAICYT CN 150-99

ESTABLECER LAS BASES TÉCNICAS Y CIENTÍFICAS PARA EVALUAR LAS RESPUESTAS QUE PERMITAN EN UN FUTURO DETERMINAR LOS MECANISMOS DE RESPUESTA A LOS FACTORES DE ESTRÉS CONSIDERANDO AL CULTIVO DE TEJIDOS COMO UNA ALTERNATIVA VIABLE PARA LA SELECCIÓN DE GEOTIPOS RESISTENTES A FACTORES DE ESTRÉS Y CONSERVACIÓN DE GERMOPLASMA. INSTITUCIÓN: UANL. FCB. AÑO: 2000

CONTINUACION "PROYECTO PAICYT CN 149-99"

PARTICIPANTES: M.C. MARIA ADRIANA NUÑEZ GZZ., M.C. MARIA LUISA CARDENAS AVILA, DR. SERGIO MORENO LIMON, M.C. JORGE LUIS HERNANDEZ PIÑERO, DR. JULIA VERDE STAR, DR. RAHIM FOROUGHBAKHCH P.

IMPACTO: CONTINUACION DEL PROYECTO PAICYT CN 149-99

1.- INTEGRAR UN EQUIPO DE INVESTIGACIÓN MULTIDISCIPLINARIA QUE ABORDE A FONDO EL PROBLEMA DE BAJOS NIVELES DE NUTRIMENTOS QUE POSEE LA ZONA NORESTE DE LA REPUBLICA CON EL FIN DE APROVECHAR LAS GRANDES EXTENSIONES DE SUELO POTENCIALMENTE FERTILES CON EL USO DE CULTIVARES TOLERANTES A DIVERSOS FACTORES DE ESTRÉS.

2.- FORMAR RECURSOS HUMANOS CON CONCIENCIA EMPRENDEDORA Y VISION AL FUTURO.

3.- DIFUNDIR LAS EXPERIENCIAS ADQUIRIDAS MEDIANTE ARTICULOS CIENTIFICOS, PONENCIAS, ETC. INSTITUCIÓN: UANL. FCB. AÑO: 2000

"PROYECTO PAICYT CLAVE CA400-40"

PARTICIPANTES: M. C. JORGE LUIS HERNANDEZ PIÑERO, M.C. MARJA LUISA CARDENAS AVILA, DR. RAHIM FOROUGHBAKHCH P., DR. JULIA VERDE STAR, M.C. GRACIELA GARCIA DIAZ, DR. SERGIO MORENO LIMON, M.C. MARIA ADRIANA NUÑEZ GZZ.

IMPACTO: DETERMINAR SUS MECANISMOS DE TOLERANCIA PARA ASI ESTABLECER SU POTENCIALIDAD COMO ESPECIE FITORRENDIDORA DE SUELOS CONTAMINADOS CON METALES PESADOS. INSTITUCIÓN: UANL. FCB. AÑO: 2000

PARTICIPANTES: MUNDO MEDINA ALMA CYTLALLI. SERVICIO SOCIAL.

IMPACTO: CONSIDERAR AL CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES COMO UNA ALTERNATIVA VIABLE PARA LA SELECCION DE GENOTIPOS RESISTENTES A FACTORES DE ESTRES Y CONSERVACION DE GERMOPLASMA APLICADO A PLANTAS DE IMPORTANCIA ALIMENTICIA PARA EL HOMBRE.

INSTITUCIÓN: UANL. FCB. AÑO: 2000

PARTICIPANTES: RAQUEL CORTEZ PEREZ

IMPACTO: CONSIDERAR AL CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES COMO UNA ALTERNATIVA VIABLE PARA LA CONSERVACION DE GERMOPLASMA DE PLANTAS CON IMPORTANCIA ECONOMICA PARA EL HOMBRE. INSTITUCIÓN: UANL. FCB. AÑO: 2001

DESARROLLOS TECNOLÓGICOS

"PROYECTO PAICYT CLAVE CN150-99"

AUTORES: M.C. MARIA LUISA CARDENAS AVILA, M.C. MARIA ADRIANA NUÑEZ GONZALEZ, M.C. JORGE LUIS HERNANDEZ PIÑERO, DR. SERGIO MORENO LIMON, M.C. GRACIELA GARCIA DIAZ, DR. JULIA VERDE STAR, DR. RAHIM FOROUGHBAKHCH P. ESTUDIANTE SONIA CRISTINA IRIGOYEN ARANDA (TESISTA)

NOMBRE: RESPUESTA A ESTRES DE SALINIDAD Y SEQUIA EN LINEAS DE PHASEOLUS VULGARIS L. "FRIJOL" A NIVEL DE CALLO IN VITRO.

DESCRIPCIÓN: RESULTADOS DE PROYECTO PAICYT CN 150-99

ORGANISMO: FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

PAIS: MEXICO, 1999

EXPERIENCIA ACADÉMICA

1998 - PLATICAS SOBRE "USO Y MANEJO DEL MICROSCOPIO OPTICO Y OBSERVACION DE ESTRUCTURAS UNICELULARES" ALUMNOS DE 5 GRADO DE LA PRIMARIA DE PROFRA. ROMALIA FERNANDEZ E.

1998 - PLATICAS SOBRE "USO DEL MICROSCOPIO OPTICO" Y "OBSERVACION DE ESTRUCTURAS CELULARES" A ALUMNOS DE 6TO. GRADO DE LA PRIMARIA PROFRA. FELIPE ANGELES - C. C. T. 19DR00070

1997 - CURSO CONCEPTO DE BIOLOGIA. UANL. FCB. DURACION 1 SEMESTRE (LICENCIATURA)

1997 - "TALLER DE BIOLOGIA" ALUMNOS DE TERCER GRADO. INSTITUTO MATER 1983 - MAESTRA POR HORAS POR CONTRATO. MATERIA "BIOLOGIA". PERIODO FEB 1983 - ENERO 1984. UANL. PREPARATORIA NO. 15.

1994 - CURSO DE BIOLOGIA GENERAL. UANL. FCB. DURACIÓN 54 HORAS ()

1993 - CURSO TEORICO-PRACTICO "CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES" DURACION 12 HRS. 1983 - MAESTRA POR HONORARIOS EN EL PERIODO SEP 1983 - ABRIL 1986. UNIVERSIDAD REGIOMONTANA DIVISION BACHILLERATO.

1988 - EXPLICACIONES PRACTICAS SOBRE "LOS EFECTOS DE LA TESTOSTERONA EN AVES". ALUMNOS DE BIOFISICA Y ANATOMIA HUMANA. UNIVERSIDAD REGIOMONTANA DIVISION DE BACHILLERATO UNIDAD MATAMOROS.

CURSOS DE ACTUALIZACION

- 1982 - "OPERACION DE PLANTAS DE TRATAMIENTO" CENTRO DE ESTUDIOS PARA LA REALIZACION DEL AGUA. SARH. DEL 23 DE AGO. AL 3 DE SEP. DURACION 45 HORAS.
- 1982 - "CONTROL DE CALIDAD" CENTRO DE ESTUDIOS PARA LA REALIZACION DEL AGUA. SARH. DEL 22 AL 24 DE SEP. DURACION 15 HRS.
- 1984 - "ORIENTACION PEDAGOGICA NIVEL I". UNIVERSIDAD REGIONMONTANA. 27 DE OCT DE 1984.
- 1984 - "ORIENTACION PEDAGOGICA NIVEL II" - UNIVERSIDAD REGIONMONTANA. 13 DE DIC DE 1984.
- 1989 - "ANATOMIA VEGETAL APLICADA" - UANL-FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. DEL 10 AL 21 DE JULIO.
- 1991 - "CULTIVO DE TEJIDOS CURSO DE ACTUALIZACION ". UANL-FACULTAD DE AGRONOMIA SEM FEB-JUL DE 1991. CREDITOS 6. CALIFICACION 98.
- 1993 - "PLANTAS DE IMPORTANCIA ECONOMICA Y METODOLOGIA DE INVESTIGACIÓN APOYO LOGISTICO" - UANL-FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. DEL 3 JUNIO AL 23 DE JULIO. DURACION 25 HORAS.
- 1993 - DIPLOMADO "PLANTAS DE IMPORTANCIA ECONOMICA Y METODOLOGÍA (ASISTENCIA)" MODULO II PLANTAS MEDICINALES. INVESTIGACION DIVISION DE EDUCACION CONTINUA. UANL-FCB. DURACION 25 HORAS. DEL 3 JUNIO AL 23 DE JULIO.
- 1995 - "PLAN DE ESTUDIOS DE MAESTRIA EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN BOTANICA" - UANL-FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. 11 DE JULIO. CALIFICACION 90.
- 1996 - "METODOLOGIA DE LA ENSEÑANZA DE LA EDUCACION AMBIENTAL" - ESCUELA NORMAL SUPERIOR "PROFR. MOISES SAENZ GARZA". AÑO ESCOLAR 1995-1996 DURACION 45 HRS.
- 1996 - "MICROTECNIA VERGETAL" - UANL-FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. 12 DE JULIO. CREDITOS 9 CALIFICACION 100.
- 1998 - "MICROSCOPIA BASICA" - UANL-FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. 29 DE ENE DURACION 8 HORAS
- 1998 - "FISIOLOGIA DE CULTIVOS" - UANL-FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. 21 DE ENERO. CREDITOS 9. CALIFICACION 96.
- 1998 - "SEMINARIO" - UANL-FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. ENERO 1998. ACREDITADO. CREDITOS 2.
- 2001 - " 5º CURSO INTERNACIONAL TEORICO-PRACTICO DE BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA. - UANL-FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. DEL 26 DE FEBRERO AL 2 DE MARZO DEL 2001.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

IDIOMA INGLES (BASICO)

- 1998 - "INGLES I" - ESCUELA SUPERIOR DE NUEVO LEON "PROFR. MOISES SAENZ GARZA" CENTRO DE IDIOMAS. DURACION 40 HORAS. TEORICO PRACTICO. CALIFICACION 95
- 1999 - "INGLES II" - ESCUELA SUPERIOR DE NUEVO LEON "PROFR. MOISES SAENZ GARZA" CENTRO DE IDIOMAS. DURACION 40 HORAS. TEORICO PRACTICO. CALIFICACION 98
- 1999 - "INGLES III" - ESCUELA SUPERIOR DE NUEVO LEON "PROFR. MOISES SAENZ GARZA" CENTRO DE IDIOMAS. DURACION 40 HORAS. TEORICO PRACTICO. CALIFICACION 100
- 1999 - "INGLES IV" - ESCUELA SUPERIOR DE NUEVO LEON "PROFR. MOISES SAENZ GARZA" CENTRO DE IDIOMAS. DURACION 40 HORAS. TEORICO PRACTICO. CALIFICACION 88
- 1999 - "INGLES V" - ESCUELA SUPERIOR DE NUEVO LEON "PROFR. MOISES SAENZ GARZA" CENTRO DE IDIOMAS. DURACION 40 HORAS. TEORICO PRACTICO. CALIFICACION 98
- 2000 - "INGLES VI" - ESCUELA SUPERIOR DE NUEVO LEON "PROFR. MOISES SAENZ GARZA" CENTRO DE IDIOMAS. DURACION 40 HORAS. TEORICO PRACTICO. CALIFICACION 92.
- 2000 - "INGLES VII" - ESCUELA SUPERIOR DE NUEVO LEON "PROFR. MOISES SAENZ GARZA" CENTRO DE IDIOMAS. DURACION 40 HORAS. TEORICO PRACTICO. CALIFICACION 86.
- 2000 - "INGLES VIII" - ESCUELA SUPERIOR DE NUEVO LEON "PROFR. MOISES SAENZ GARZA" CENTRO DE IDIOMAS. DURACION 40 HORAS. TEORICO PRACTICO. CALIFICACION 80.

COMPUTACION

- 1989 - "AREA DE COMPUTACION" - UANL-FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. DURACION 45 HRS.
1990 - "PROFESIONAL WRITE" - UANL COMISION ACADEMICA DEL H. CONSEJO UNIVERSITARIO. DEL 9 AL 13 DE JULIO. DURACION 15 HRS.
1990 - "MS DOS" - UANL. COMISION ACADEMICA DEL H. CONSEJO UNIVERSITARIO. DEL 29 DE OCT AL 2 DE NOV. DURACION 15 HORAS.
1998 - "WINDOWS 95" - UANL-BIBLIOTECA MAGNA UNIVERSITARIA "RAUL RANGEL FRIAS". DEL 16 AL 20 DE MARZO.
1999 - "INTERNET" - UANL-BIBLIOTECA UNIVERSITARIA RAUL RANGEL FRIAS. DEL 8 AL 12 DE FEB.
1999 - "POWER POINT 7.0" - UANL-BIBLIOTECA MAGNA UNIVERSITARIA RAUL RANGEL FRIAS. DEL 22 AL 26 DE FEBRERO.
1999 - "EXCEL 7.0" - UANL-BIBLIOTECA UNIVERSITARIA RAUL RANGEL FARIAS. DEL 1 AL 5 DE MARZO.

PONENCIA EN CONGRESOS

- 1988 - IV CONGRESO REGIONAL DE ESTUDIANTES DE QUÍMICA
"ESTUDIOS PRELIMINARES PARA LA INDUCCION DE BROTE "IN VITRO" DE PITAYA HYLOCEREUS UNDATUS (HAWORTH) BRITTON Y ROSE." SOCIEDAD QUIMICA DE MEXICO, SECCION NUEVO LEON, UANL, FCB, FCQ. 21 Y 22 DE MAYO.
- 1994 - 1994 CONGRESS ON CELL AND TISSUE CULTURE.
"BULBLET FORMATION FROM THREE VARIETIES OF ALLIUM SATIVUM IN VITRO" RESEARCH TRIANGLE PARK, NC. DEL 4 AL 7 DE JUNIO.
- 1995 - II CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA AGROPECUARIA Y FORESTAL.
"CULTIVO IN VITRO DE BROTES DE TRES VARIEDADES DE "AJO" (ALLIUM SATIVUM L.)" ASOCIACIÓN NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA AGROPECUARIA Y FORESTAL, A. C. DEL 20 AL 24 DE NOVIEMBRE.
- 1997 - I CONGRESO NACIONAL SOBRE APROVECHAMIENTO Y MANEJO INTEGRAL DE RECURSOS DE ZONAS ARIDAS. "GERMINACION Y CRECIMIENTO DE HYLOCEREUS UNDATUS (HAWORTH) BRITTON Y ROSS, BAJO TRATAMIENTO DE ESTRÉS HÍDRICO" SOCIEDAD MEXICANA PARA EL APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE LOS RECURSOS DE ZONAS ARIDAS A. C. 22 DE SEPTIEMBRE.
- 1998 - IV CONGRESO REGIONAL DE ESTUDIANTES DE QUÍMICA.
"LA CANDELILLA (EUPHORBIA ANTISYPHILITICA ZUCC) SU PROPAGACIÓN IN VITRO" SOCIEDAD QUÍMICA DE MEXICO, SECCION NUEVO LEON, FCB Y FCQ. 21 Y 22 DE MAYO.
- 1998 - IV CONGRESO NACIONAL DE ESTUDIANTES DE QUÍMICA.
"ESTUDIOS PRELIMINARES PARA LA INDUCCIÓN DE BROTE "IN VITRO" DE PITAYA HYLOCEREUS UNDATUS (HAWORTH) BRITTON Y ROSE" SOCIEDAD QUÍMICA DE MEXICO, SECCION NUEVO LEON, FCB Y FCQ. 21 Y 22 DE MAYO.
- 1998 - ELECTRON MICROSCOPY 1998 ICEM14
"SCANNING ELECTRON MICROSCOPY OF PHASEOLUS BEAN AND ITS POSSIBLE RELATION TO FOOD QUALITY " ICEM14, CANCÚN, MEXICO, DEL 31 DE AGOSTO AL 4 DE SEPTIEMBRE.
- 1998 - XVII CONGRESO DE FITOGENÉTICA.
"INDUCCIÓN DE CALLO IN VITRO DE FRJOL COMÚN "PHASEOLUS VULGARIS L. VAR. PINTO AMERICANO" SOCIEDAD MEXICANA DE FITOGENETICA, A. C. UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUERRERO. DEL 5 AL 9 DE OCTUBRE.
- 1998 - XVII CONGRESO DE FITOGENÉTICA.
"REGENERACION Y PROPAGACIÓN IN VITRO DE LA CANDELILLA (EUPHORBIA ANTISYPHILITICA ZUCC)" SOCIEDAD MEXICANA DE FITOGENETICA, A. C. UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUERRERO. DEL 5 AL 9 DE OCTUBRE.
- 1999 - I CONGRESO REGIONAL ESTUDIANTIL DE CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS.
"EL CHILE PIQUIN (CAPSICUM ANNUUM L. VAR. AVICULARE DIERB) D & E: UN ESTUDIO ETNOBOTANICO" ASOCIACIÓN NACIONAL DE TECNÓLOGOS EN ALIMENTOS DE MEXICO A. C. DELEGACION NUEVO LEON. 23 Y 24 DE SEPTIEMBRE.
- 1999 - I CONGRESO REGIONAL ESTUDIANTIL DE CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS.

- "CULTIVO IN VITRO DE PITHAYA DE MAYO" ASOCIACIÓN NACIONAL DE TECNÓLOGOS EN ALIMENTOS DE MEXICO A. C. DELEGACIÓN NUEVO LEON. 23 Y 24 DE SEPTIEMBRE.
- 1999 - I CONGRESO REGIONAL ESTUDIANTIL DE CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS.
"MICROPROPAGACIÓN DE CACTÁCEAS COMESTIBLES" ASOCIACIÓN NACIONAL DE TECNÓLOGOS EN ALIMENTOS DE MEXICO A. C. DELEGACIÓN NUEVO LEON. 23 Y 24 DE SEP.
- 1999 - I CONGRESO REGIONAL ESTUDIANTIL DE CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS.
"PÉPTIDO DE 48 KDALTON COMO RESPUESTA DE ESTRÉS NUTRIMENTAL EN FRIJOL" ASOCIACIÓN NACIONAL DE TECNÓLOGOS EN ALIMENTOS DE MEXICO A. C. DELEGACIÓN NUEVO LEON. 23 Y 24 DE SEPTIEMBRE.
- 1999 - I CONGRESO REGIONAL ESTUDIANTIL DE CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS.
"INDUCCIÓN DE CALLO IN VITRO DE FRIJOL (PHASEOLUS VULGARIS L. VAR PINTO AMERICANO)" ASOCIACIÓN NACIONAL DE TECNÓLOGOS EN ALIMENTOS DE MEXICO A. C. DELEGACIÓN NUEVO LEON. 23 Y 24 DE SEPTIEMBRE.
- 1999 - I CONGRESO REGIONAL ESTUDIANTIL DE CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS.
"PERFIL DE MINERALES EN CALLO IN VITRO DE FRIJOL (PHASEOLUS VULGARIS L. VAR PINTO AMERICANO)" ASOCIACIÓN NACIONAL DE TECNÓLOGOS EN ALIMENTOS DE MEXICO A. C. DELEGACIÓN NUEVO LEON. 23 Y 24 DE SEPTIEMBRE.
- 1999 - I CONGRESO REGIONAL ESTUDIANTIL DE CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS.
"PERFIL DE MINERALES EN CULTIVARES DE FRIJOL (PHASEOLUS VULGARIS L.)" ASOCIACIÓN NACIONAL DE TECNÓLOGOS EN ALIMENTOS DE MEXICO A. C. DELEGACIÓN NUEVO LEON. 23 Y 24 DE SEPTIEMBRE.
- 1999 - XXV ANIVERSARIO PREPARATORIA No. 15 UNIDAD MADERO UANL.
"ARTÍCULOS DE DIVULGACIÓN CIENTÍFICA" UANL. PREPARATORIA No. 1115 UNIDAD MADERO. DICIEMBRE
- 2000 - V CONGRESO REGIONAL DE ESTUDIANTES DE QUÍMICA.
"LOS REGULADORES DE CRECIMIENTO COMO MODULADORES DE LA MORFOGÉNESIS VEGETAL IN VITRO" SOCIEDAD QUÍMICA DE MEXICO, SECCION NUEVO LEON, FCQ Y FCB. 11 Y 12 DE MAYO
- 2000 - V CONGRESO REGIONAL DE ESTUDIANTES DE QUÍMICA.
"ACUMULACIÓN DE PROLINA COMO RESPUESTA AL ESTRÉS NUTRIMENTAL EN PHASEOLUS VULGARIS L." SOCIEDAD QUÍMICA DE MEXICO, SECCION NUEVO LEON, FCQ Y FCB. 11 Y 12 DE MAYO
- 2000 - V CONGRESO NACIONAL DE CIENCIAS AMBIENTALES
I FORO NACIONAL DE EMPRESARIOS AMBIENTALISTAS.
"ESTRATEGIA DE EDUCACION AMBIENTAL APLICADA EN EL PROGRAMA DE BIOLOGÍA DEL NIVEL MEDIO SUPERIOR" UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUERRERO, ACADEMIA DE CIENCIAS AMBIENTALISTAS. DEL 7 AL 9 DE JUNIO.
- 2000 - XXXV CONGRESO MEXICANO DE QUÍMICA.
"LA INFLUENCIA DE LOS REGULADORES DEL CRECIMIENTO SOBRE LA MORFOGÉNESIS "IN VITRO" DE LA PITHAYA OREJONA" SOCIEDAD QUÍMICA DE MEXICO A. C. DEL 24 AL 28 DE SEPTIEMBRE.

PONENCIA EN SIMPOSIOS

- 1998 - III SIMPOSIO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA. SEP. CONACYT. ANICYT. DELEGACION NOROESTE.
"PRELIMINARES SOBRE INDUCCION DE CALLO IN VITRO EN DOS TIPOS DE EXPLANTES DE FRIJOL (PHASEOLUS VULGARIS L. VAR. PINTO AMERICANO)" CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA. ANICYT. SEP-CONACYT. UANL. 28 Y 29 DE MAYO.
- 1999 - IV SIMPOSIO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA. SEP. CONACYT. ANICYT.
"INDUCCION DE CALLO IN VITRO DE FRIJOL "PHASEOLUS VULGARIS L. VAR. PINTO AMERICANO" Y SU PERFIL DE MINERALES" CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA. ANICYT DELEGACIÓN NOROESTE. 24 Y 25 DE MAYO
- 1999 - IV SIMPOSIO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA. SEP. CONACYT. ANICYT.
"SELECCION DE PLANTAS POTENCIALMENTE UTILES EN FITORREMEDIACION DE SUELOS

- CONTAMINADOS CON METALES PESADOS" CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA. ANICYT DELEGACIÓN NÓRESTE. 24 Y 25 DE MAYO
- 1999 - IV SIMPOSIO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA. SEP. CONACYT. ANICYT.
"PERFIL DE PROTEINAS DE 4 CULTIVARES DE FRIJOL (PHASEOLUS VULGARIS L.) SOMETIDOS A BAJOS NIVELES DE NUTRIMENTOS" CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA. ANICYT DELEGACIÓN NÓRESTE. 24 Y 25 DE MAYO
- 1999 - IV SIMPOSIO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA. SEP. CONACYT. ANICYT.
"PRELIMINARES SOBRE EL CULTIVO "IN VITRO" DE STENOCEREUS GRISEUS (HAWORTH)" CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA. ANICYT DELEGACIÓN NÓRESTE. 24 Y 25 DE MAYO.
- 2001 - 6° SIMPOSIO DEL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA.
" DETERMINACION DE PROLINA LIBRE COMO RESPUESTA AL ESTRÉS SALINO EN CALLOS DE FRIJOL".
- 2001 - 6° SIMPOSIO DEL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA.
"ACUMULACIÓN DE MINERALES COMO RESPUESTA AL ESTRÉS SALINO EN CALLOS DE FRIJOL"

PONENCIA EN SEMINARIOS

- 1997 - III FORO DE SEMINARIOS DE POSTGRADO OTOÑO 1997.
"RESPUESTA A LOS FACTORES DE ESTRÉS SALINIDAD Y SEQUIA EN LINEAS RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES DE PHASEOLUS VULGARIS L. A NIVEL DE CALLO IN VITRO" FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO. DEL 24 AL 27 DE NOVIEMBRE.
- 1998 - IV FORO DE SEMINARIOS DE POSTGRADO PRIMAVERA 1998.
"RESPUESTA A LOS FACTORES DE ESTRÉS SALINIDAD Y SEQUIA EN LINEAS RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES DE PHASEOLUS VULGARIS L. A NIVEL DE CALLO IN VITRO" FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO. DEL 25 AL 27 DE NOVIEMBRE.
- 1998 - V FORO DE SEMINARIOS DE POSTGRADO OTOÑO 1998.
"RESPUESTA A LOS FACTORES DE ESTRÉS SALINIDAD Y SEQUIA EN LINEAS RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES DE PHASEOLUS VULGARIS L. A NIVEL DE CALLO IN VITRO" FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. SUBDIRECCION DE POSTGRADO. DEL 16 AL 18 DE NOVIEMBRE.
- 1999 - VI FORO DE SEMINARIOS DE POSTGRADO PRIMAVERA 1999.
"RESPUESTA A LOS FACTORES DE ESTRÉS SALINIDAD Y SEQUIA EN LINEAS RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES DE PHASEOLUS VULGARIS L. A NIVEL DE CALLO IN VITRO" FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. SUBDIRECCION DE POSTGRADO. DEL 26 AL 28 DE MAYO.
- 1999 - VII FORO DE SEMINARIOS DE POSTGRADO OTOÑO 1999.
"RESPUESTA A LOS FACTORES DE ESTRÉS SALINIDAD Y SEQUIA EN LINEAS RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES DE PHASEOLUS VULGARIS L. A NIVEL DE CALLO IN VITRO" FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. SUBDIRECCION DE POSTGRADO. DEL 22 AL 24 DE NOVIEMBRE.
- 2000 - VIII FORO DE SEMINARIOS DE POSTGRADO PRIMAVERA 2000.
"RESPUESTA A LOS FACTORES DE ESTRÉS SALINIDAD Y SEQUIA EN LINEAS RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES DE PHASEOLUS VULGARIS L. A NIVEL DE CALLO IN VITRO" FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. SUBDIRECCION DE POSTGRADO. DEL 29 AL 31 DE MAYO.

ASISTENCIA A CONGRESOS

- 1995 - II CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA AGROPECUARIA Y FORESTAL. ASOCIACION NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA AGROPECUARIA Y FORESTAL, A. C. AGS, AGS, MEXICO.
- 1998 - IV CONGRESO REGIONAL DE ESTUDIANTES DE QUIMICA. SOCIEDAD QUIMICA DE MEXICO, SECCION NUEVO LEON.
- 1999 - I CONGRESO REGIONAL ESTUDIANTIL DE CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS. ASOCIACION NACIONAL DE TECNOLOGOS DE ALIMENTOS DE MEXICO, A. C. DELEGACION NUEVO LEON.
- 2000 - V CONGRESO REGIONAL DE ESTUDIANTES DE QUIMICA. SOCIEDAD QUIMICA DE MEXICO.

SECCION NUEVO LEON, FCQ Y FCB.

ASISTENCIA A SIMPOSIOS

- 1995 - II SIMPOSIO AMERICANO DE LA ANABAF. II CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA AGROPECUARIA Y FORESTAL. AGS, AGS MEXICO. DEL 20 AL 24 DE NOY.
- 1996 - I SIMPOSIO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA MONTERREY 400. CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA. DEL 22 AL 23 DE MAYO.
- 1997 - II SIMPOSIO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA. CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA. DEL 29 AL 30 DE MAYO.
- 1998 - III SIMPOSIO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA. CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA. DEL 28 AL 29 DE MAYO.
- 1999 - SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE BIOTECNOLOGIA Y BIOETICA. UANL. SOCIEDAD DE EXBECARIOS MEXICANOS DEL DAAD. DEL 24 AL 26 DE MARZO DURACION 20 HRS.
- 1999 - IV SIMPOSIO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA. CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA. DEL 24 AL 25 DE MAYO.
- 2000 - V SIMPOSIO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA. CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA. DEL 17 AL 18 DE MAYO.
- 2000 - SIMPOSIUM INTERNACIONAL. LA BIOTECNOLOGIA Y EL ESTRES DE LAS PLANTAS. SAGAR. INFAP. MIAC. UANL.

ASISTENCIA A SEMINARIOS

- 1998 - IV FORO DE SEMINARIOS DE POSTGRADO. FCB DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO. DEL 25 AL 27 DE MAYO.
- 2000 - VIII FORO DE SEMINARIOS DE POSTGRADO. UANL FCB SUBDIRECCION DE POSTGRADO. DEL 29 AL 31 DE MAYO.

ASISTENCIA A CONFERENCIAS

- 1997 - CICLO DE CONFERENCIAS SOBRE EL ORIGEN DE LA VIDA. IMPARTIDO POR DR. LYNN MARGULIS, DR. ANTONIO LAZCANO ARAUJO, DR. MARK MCMENAMIN. UANL. FCB. 2 DE JUNIO.
- 1999 - CONFERENCIAS: "CONSERVACION Y CIENCIAS BIOLÓGICAS", "CARACTERÍSTICAS DE LA PUNGENCIA DEL CHILE", "CAMPYLOBACTER: UN RETO A VENCER EN MICROBIOLOGIA". UANL. FCB. 29 DE SEP.
- 2001.- CICLO DE CONFERENCIAS " PALEONTOLOGÍA APLICADA A LA INDUSTRIA PETROLERA, SU APORTACIÓN EN LA EXPLOTACIÓN DE LA CUENCA DE BURGOS" UANL. F.C.B. 16 DE FEBRERO/2001
2001. - CICLO DE CONFERENCIAS "EL ESTUDIO DE LOS HONGOS EN MEXICO. TRADICIONES, DESARROLLO Y APLICACIONES EN LA INDUSTRIA QUÍMICO FARMACEUTICA, DE ALIMENTOS, MEDICINA Y AGRICULTURA" UANL FCB 16 DE FEBRERO DEL 2001.

PARTICIPACION EN EVENTOS DE INFORMACION PROFESIONAL

- 1996 - PARTICIPACION EN EL PROGRAMA DE ACTIVIDADES DE LA SEMANA CULTURAL. 43 ANIVERSARIO FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS UANL. DEL 9 AL 13 DE SEPTIEMBRE.
- 1996 - "EL FENOMENO BIOLÓGICO Y LA FORMACION CIENTIFICA" SEMANA NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA. UANL. FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. DEL 23 AL 28 DE OCTUBRE
- 1997 - EN PREPARATORIAS 1, 7, 13, 15, 21, 23 Y TECNICA ALVARO OBREGON DE LA UANL. Y PREPARATORIA EMILIANO ZAPATA
- 1998 - EN PREPARATORIAS 1, 7, 13, 15, 21, 23 Y TECNICA ALVARO OBREGON DE LA UANL. Y

PREPARATORIA EMILIANO ZAPATA.

1999 - EXPOSICION DE ACTIVIDADES ACADÉMICAS. XLVII ANIVERSARIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UANL. 29 DE SEPTIEMBRE.

OTROS EVENTOS

- 1995 - INIFAP. LABORATORIO DE PATOLOGÍA MOLECULAR DEL CONVENIO INIFAP-UANL.
"USO DE MARCADORES MOLECULARES EN EL MEJORAMIENTO GENÉTICO DE PLANTAS
DICTADO POR DRA. JUNE KILPATRICK SIMPSON WILLIAMSON" LABORATORIO DE PATOLOGÍA
MOLECULAR DEL CONVENIO INIFAP-UANL.
- 1995 - SEMANA NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA.
"EL FENÓMENO BIOLÓGICO Y LA FORMACIÓN CIENTÍFICA" UANL. FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS. DEL 23 AL 28 DE OCTUBRE.
- 1996 - SEMANA NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA, CONACYT DE N.L.
"STAND MONTADO POR LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS" UANL. FCB. CONACYT DE
NUEVO LEÓN. DEL 21 AL 26 DE OCTUBRE.
- 1998 - V SEMANA NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA 1998. CONACYT DE N.L.
STAND MONTADO POR LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. UANL. FCB. CONACYT DE
NUEVO LEÓN. DEL 26 DE OCTUBRE AL 1 DE NOVIEMBRE.
- 1998 - V SEMANA NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA.
"TALLER DE MICROSCOPIA Y BOTÁNICA" SECUNDARIA NO. 31 "LIBERTAD" ALUMNOS (1er.
GRADO) UANL. FCB. 27 DE NOVIEMBRE.
- 1999 - XXV ANIVERSARIO DE LA PREPARATORIA NO. 15 UNIDAD MADERO.
"CALLO IN VITRO DE PHASEOLUS VULGARIS L. "FRÍJOL" BAJO ESTRÉS DE SALINIDAD Y SU
PERFIL DE MINERALES"

OTRAS DISTINCIONES

- 1994 - "DIPLOMA A LA EDUCACIÓN AMBIENTAL APLICADA PREMIO OXXO A LA ECOLOGÍA
SOLIDARIDAD FORESTAL" CADENA COMERCIAL OXXO. SEDESOL. SUBSECRETARÍA DE
ECOLOGÍA. JUNIO 1994
- 1996 - "RECONOCIMIENTO DE LA ACADEMIA DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA A. C." ACADEMIA DE
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA A. C. OLIMPIADAS DE LA CIENCIA. OLIMPIADA ESTATAL DE
BIOLOGÍA. NUEVO LEÓN. 25 DE MAYO DE 1996.
- 1997 - "CONSTANCIA DE LA UANL Y LA ACADEMIA MEXICANA DE CIENCIAS" VII OLIMPIADA ESTATAL
DE BIOLOGÍA. UANL. ACADEMIA MEXICANA DE CIENCIAS. 24 DE MAYO DE 1997.
- 1997 - "RECONOCIMIENTO DE LA ACADEMIA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA A.C." ACADEMIA DE
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA A. C. OLIMPIADAS DE LA CIENCIA. OLIMPIADA ESTATAL DE
BIOLOGÍA. NUEVO LEÓN. 24 DE MAYO DE 1997.
- 1998 - "RECONOCIMIENTO DE SANEAMIENTO AMBIENTAL. INTEGRAL PERMANENTE. PROGRAMA
VICTORIA A.C." SANEAMIENTO INTEGRAL PERMANENTE. PROGRAMA VICTORIA. VII JORNADA
DE SALUD AMBIENTAL EN LA COLONIA VICTORIA. JUNIO DE 1998.
- 1998 - "CONSTANCIA DE LA UANL Y LA ACADEMIA MEXICANA DE CIENCIAS" UANL. ACADEMIA
MEXICANA DE CIENCIAS. 14 DE NOVIEMBRE DE 1998.
- 1999 - "CONSTANCIA DE LA ACADEMIA DE CIENCIAS" ACADEMIA MEXICANA DE CIENCIAS.
OLIMPIADAS DE LA CIENCIA. OLIMPIADA ESTATAL DE BIOLOGÍA. NUEVO LEÓN. 12 DE
FEBRERO DE 1999.
- 1999 - "CONSTANCIA DE LA ACADEMIA MEXICANA DE CIENCIAS" ACADEMIA MEXICANA DE CIENCIAS.
OLIMPIADAS DE LA CIENCIA. OLIMPIADA ESTATAL DE BIOLOGÍA. NUEVO LEÓN. 30 DE JUNIO
DE 1999.

ATENTAMENTE
MONTERREY, N. L. JUNIO DE 2001

M.C. MARIA LUISA CARDENAS AVILA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Subdirección de Postgrado



ACTA DE EXAMEN PREDOCTORAL

El día 17 de Noviembre del 2000, en una de las aulas de la División de Estudios de Postgrado de la Facultad de Ciencias Biológicas de la U.A.N.L., siendo las 10:00 horas, se celebró el examen predoctoral en su modalidad oral, de la M.C. MA. LUISA CARDENAS AVILA, alumna del Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas con especialidad en Botánica.

Los miembros de este jurado predoctoral: DR. SALOMON MARTINEZ LOZANO, DRA. AZUCENA ORANDAY CARDENAS, DR. ROBERTO MERCADO HERNANDEZ, DR. HUGO A. LUNA OLVERA, DR. MARIO MORALES VALLARTA procedieron a interrogar al alumno sobre diferentes aspectos, de acuerdo a lo estipulado en el Reglamento de Exámenes Predoctorales de esta División dando por terminado el interrogatorio a las 11:45, después de deliberar en privado, se comunicó a la alumna Cárdenas Avila, que resultó APROBADA en su examen predoctoral.

Siendo las 12:10 se dió por terminado el acto.

“ALERE FLAMMAM VERITATIS”

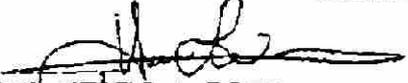
NOVIEMBRE 17 DEL 2000

JURADO PREDOCTORAL


DR. SALOMÓN MARTÍNEZ LOZANO


DRA. AZUCENA ORANDAY C.


DR. ROBERTO MERCADO HERNANDEZ


DR. HUGO A. LUNA OLVERA


DR. MARIO MORALES VALLARTA

process one can obtain by subculture new vigorous calli, practically identical with the original culture.

Among the 2,4-D concentrations and types of explants tested, the best results were (in increasing order): 3 mg/l with hypocotyl explant; 10 mg/l with cotyledon explant and 5 mg/l with cotyledonary leaf explant. No calli were obtained from root explants.

The figure shows the calli of the four varieties of *Phaseolus* sp.

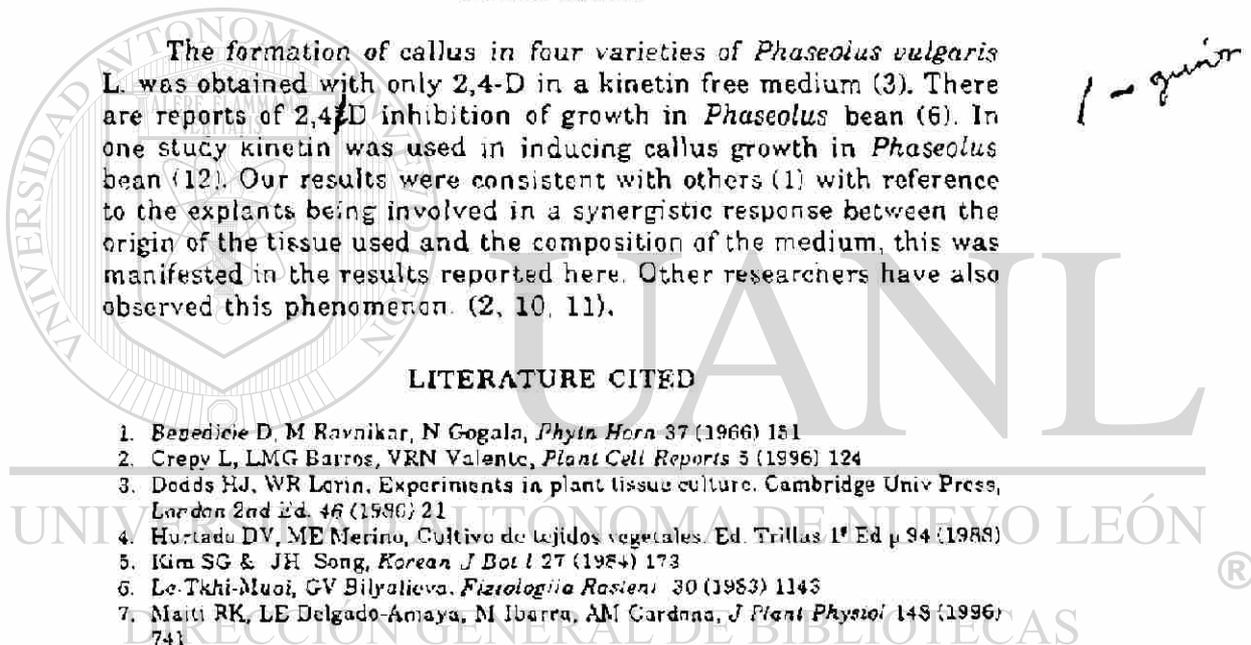
DISCUSSION

The formation of callus in four varieties of *Phaseolus vulgaris* L. was obtained with only 2,4-D in a kinetin free medium (3). There are reports of 2,4-D inhibition of growth in *Phaseolus* bean (6). In one study kinetin was used in inducing callus growth in *Phaseolus* bean (12). Our results were consistent with others (1) with reference to the explants being involved in a synergistic response between the origin of the tissue used and the composition of the medium, this was manifested in the results reported here. Other researchers have also observed this phenomenon. (2, 10, 11).

LITERATURE CITED

1. Begeedie D, M Ravnikar, N Gogala, *Phytn Horn* 37 (1966) 151
2. Crepy L, LMG Barros, VRN Valente, *Plant Cell Reports* 5 (1996) 124
3. Dodds HJ, WR Lorin, Experiments in plant tissue culture. Cambridge Univ Press, London 2nd Ed. 46 (1986) 21
4. Hurtado DV, ME Merino, Cultivo de tejidos vegetales. Ed. Trillas 1ª Ed p 94 (1988)
5. Kim SG & JH Song, *Korean J Bot* 27 (1984) 173
6. Le-Tkhi-Muoi, GV Bilyalieva, *Fiziologiya Rasteni* 30 (1983) 1143
7. Maiti RK, LE Delgado-Amaya, M Ibarra, AM Cardona, *J Plant Physiol* 148 (1996) 741
8. Martins IS, MR Soudhi, *J Plant Physiol* 115 (1984) 205
9. Murashige T, F Skoog, *Physiol Plantarum* 15 (1962) 473
10. Rubino A, KK Kartha, *Plant Physiol* 119 (1983) 425
11. Sziraki I, E Balazs, Tissue-culture techniques in studying virus resistance of various bean cultivars. In "Induced mutations for disease resistance in crop plants" II, 217. Atom Ener Ag. Res Inst Plant Protec. Dept Plant Pathol. Budapest (1983)
12. Westhuizen A-van-der, EG Graenewald, AJ Van-dier-Weshuizen. *South African J Bot* 56 (1990) 271
13. Zagorska NA, NP Savova, AI Atanasov, *Comptes-Rendus de l' Academie Bulgare des Sciences* 35 (1982) 989
14. Zambre MA, J-de Clercq, E Vranova, M-van Montagu, G Angenou, W Dillen, J De-Clercq, M van-Montagu, *Plant Cell Reports* 1

1 - quin



J. Schick

Rogamos corregir cuidadosamente y devolver
a la mayor brevedad posible a

Revista Internacional de
BOTANICA
EXPERIMENTAL

ΦΥΤΟΝ

International Journal of
EXPERIMENTAL
BOTANY

Fundada en 1951 por Miguel Raggio & Nora Mora-Raggio
Founded 1951 by Miguel Raggio & Nora Mora-Raggio
Editor: Dr. Miguel Raggio

FUNDACION ROMULO RAGGIO

Gaspar Campos 861, 1638 Vicente López (BA), Argentina

49° ANIVERSARIO

68 (2000) 2-7

49th ANNIVERSARY

**Variability *in vitro* callus induction in four bean
(*Phaseolus vulgaris* L.) varieties**
(with 1 figure)

Cárdenas-Avila María L, María J Verde-Star, RK Maiti¹,
Rahim Foroughbakhchi², Hilda Gámez-González,
Salomón J Lozano-Martínez, María A Núñez-González,
JL Hernández-Piñero¹.

Abstract. A comparative study in callus induction *in vitro* is reported utilizing explants of hypocotyl, cotyledon, cotyledonary leaf and root (excised from seedlings of four bean varieties) and sown on a modified basal Murasige & Skoog agar medium, plus one of five 2,4-D concentrations. The best results (in increasing order) were obtained in all varieties from hypocotyl, cotyledon and cotyledonary leaf explants treated with 3, 10 and 5 mg/l of 2,4-D, respectively.

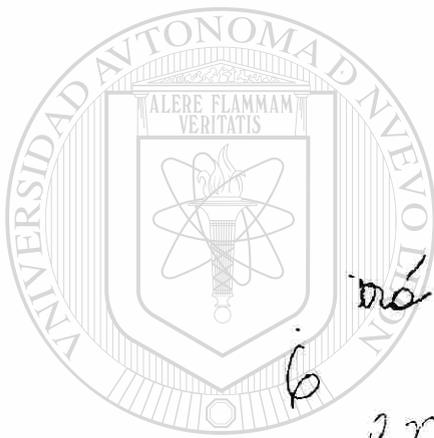
Phaseolus bean, a basic food of high nutritional value is very important in Latin America. The productivity of bean and in *Phaseolus* roots; its results are reproducible and reliable. The qualitative and quantitative responses of calli induction and growth involve synergism and other complex factors, such as composition of the medium, physical conditions and their interactions (3). From the point of view of morphogenesis, what matters most is the totipotentiality of callus cells (depending on nutritional, hormonal and environmental conditions) for developing buds, roots, embryos and complete plants (4).

Different researchers (5) have studied genotypic response to kinetin requirement in the *in vitro* tissue culture of 16 varieties of *Phaseolus* bean, eight of which were classified as completely

1. División de Estudios de Postgrado, Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L., Apdo. Postal F-2, C.P. 66450, San Nicolás de los Garza, N.L., México (correspondence address)

2. Universidad de las Américas, Dpto. de Química y Biología, Santa Catarina Martir, C.P. 72820 Puebla, México

Received 21.VI.2000; accepted 04.VII.2000



b
2r
trá en colores?
de la universidad

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

1 of four

Fig. 1.- Comparative growth of callus of four varieties of *Phaseolus vulgaris* L varieties
a) pinto americano, b) pastilla, c) flor de mayo and d) flor de junio.

phenotypic and kinetin-autonomous and five as phenotypic and kinetin-dependent. Very little variation in callus production from leaf protoplasts was observed among cultivars (2). Differences in callus and root formation were observed in tissue cultures of several varieties of *P. vulgaris* in a study of virus resistance (11). Inhibition of growth of *P. vulgaris* callus tissue by 2,4-D has been reported (6). Cultivars varied in callus formation in *in vitro* cultures of shoot apical meristem of *P. coccineus* (10). Multiple shoots formation originate from shoot apex cultures of *P. vulgaris* (8); callus induction and regeneration was obtained from unripe embryos of the same species (13).

Callus growth and root formation was obtained with kinetin or adenine and AMP (12). Plant regeneration was obtained from meristem cultures of *P. vulgaris* (1) and from embryo-derived calli of *P. vulgaris* and *P. acutifolius* (14).

The objective of the present study was to develop techniques for callus induction from different organs, select the best source organ and assess response variability to induction among *Phaseolus* cultivars.

MATERIALS & METHODS

Seeds of four varieties of *Phaseolus vulgaris* L. Pinto Americano, Pastilla, Flor de Mayo and Flor de Junio, were disinfected in 70% ethanol and sodium hypochlorite (15% w/v) for 10 min and immediately sown under aseptic conditions on sterilized 0.7% agar as substrate and maintained under laminar flow chamber. The inocula for calli induction were 1 (one) cm segments of hypocotyl, cotyledon, cotyledonary leaf and root of seven day old aseptically cultivated seedlings. We have achieved 12 experimental units of each explant in basal MS (1962) medium plus vitamins, myo-inositol, and 0 (control), 1.6, 2.0, 3.0, 5.0 and 10 mg/l of 2,4-D, plus 0.7% agar; pH 5.7. The experiments were run at $26 \pm 1^\circ\text{C}$ and 16 h photoperiod.

RESULTS

Seven days after sowing on the various MS media, callus growth started vigorously. Fifteen days after callus initiation, Pastilla and Flor de Mayo formed minute white rootlets. Callus formation was late in Flor de Mayo, but after 30 days callus growth in quality was at par with the other varieties. The color of the abundant and friable callus was white or cream. The most vigorous calli were seen in Pinto Americano and Pastilla. After 30 days the color of the calli changed to coffee, yellowish, and finally dark. Thirty days after initiating the

CROP RESEARCH

(An International Journal)

Ref. No. : ARIC-2001/CR/2655/1040

Dated : April 03, 2001

Subject : Acceptance of paper

Dear Dr. Gonzalez

It is to inform you that your following paper/article has been reviewed by the expert referees and accepted for publication as **short communication** in **CROP RESEARCH** Journal
Vol.....22..... No.....2.....(September), 2001.

"In-vitro induction of calli in bean, *Phaseolus vulgaris* L. var. Pinto Americano and its mineral profile - M.L. Cardenas - Avila, R.K. Maiti, M.J. Verde-Star, R. Foroughbakhch, M.A. Nunez-Gonzalez, G. Garcia-Diaz and J.L.H. Pinero"

Please read the following :

1. The above article will cover 5 printed pages of the journal including tables and 3 coloured photographs
2. Copies of reprint will not be supplied to authors.
3. A copy of the journal in which paper has been published will be supplied to author free of cost.

Yours Sincerely


(Managing Editor)

The Gaurav Society of

AGRICULTURAL RESEARCH INFORMATION CENTRE

G/o Systematic Printers, Udaipuria Street, Video Market
Hisar-125001, Haryana (INDIA)

AGRICULTURAL RESEARCH INFORMATION CENTRE

(Registered as Gaurev Society)

C/o Systematic Printers, Udaypuria Street, Near Video Market,

HISAR-126001, Haryana, INDIA

Ref. No.: ARIC-2001/CR/2655/1040

Dated : April 03, 2001

Dr. J. Maiti
Universidad de las Americas
Departamento de Quimica Y Biologia
Santa Catarina Martir, Cholula A.P. 78
P. 72920 Puebla, MEXICO

Dear Dr. Maiti

We feel pleasure to inform you that your paper/article No. CR- 2000/2655 has been accepted for publication in CROP RESEARCH journal. The acceptance letter is enclosed herewith for your records. Please read the following:

1. Author/s whose paper/s accepted for publication is/are required to pay page printing charges of the paper/s.
2. You are required to remit US \$ 250.00 through Bank Draft/Cheque/IMO/UNESCO Coupons payable to the "Agricultural Research Information Centre, Hisar" latest by 30.04.2001 towards the page printing charges of 5 pages of journal (US \$ 100) and printing of three coloured photographs (US \$ 150) at the rate of US \$ 50.00 per photograph.
3. No paper will be sent to press for publication only after the receipt of the aforesaid payment.

Page Printing Charges

Number of printed pages

	1 - 3	4 - 6	7 - 9	10 - 12	> 12
Rs.	500 (50)	1000 (100)	1500 (150)	2000 (200)	250 (15)
		+ 150 = (250)			per page

Figures in parenthesis are US dollars for countries other than India Nepal and Bhutan.

Thanking you in anticipation

Encl: as above

Sincerely Yours,

(Managing Editor)
CROP RESEARCH

ARIC C/o Systematic Printers
Mohalla Udaypuria, Near Video Market
HISAR-126001, India

INDUCCION DE CALLO *IN VITRO* DE FRIJOL “ *Phaseolus vulgaris* L. var. pinto americano” Y SU PERFIL DE MINERALES.

“INDUCTION OF CALLI IN BEAN, *Phaseolus Vulgaris* L. VAR. PINTO AMERICANO AND ITS MINERAL PROFILE”

M. L. Cardenas-Avila*, R. K. Maiti, M.J. Verde-Star*, R Foroughbakhch ., M. A. Nuñez-Gzz, G. García Díaz and J. L. H. Piñero.

SUMMARY. The objective of the present research is the induction of calli *in vitro* from the explants of hypocotyle, cotyledon, cotyledonary leaves and roots of bean (*Phaseolus vulgaris* L. var. pinto americano) obtained *in vitro*. The disinfection of the seeds were realized in alcohol and sodium hypochlorite and were sown in agar medium. The inoculum were obtained from the seedlings *in vitro* and sown in a modified basal Murashige-Skoog medium and with five concentrations of 2,4-D. The better results were obtained in the explants of hypocotyle (3 mg/l⁻¹), cotyledons (10 mg/l⁻¹) and cotyledonary leaves (5 mg/l⁻¹) of 2,4-D. The accumulation of macro and micronutrients varied markedly between explants as well as between concentrations.

Key words: bean, callus, *in vitro*, explants, 2,4-D.

RESUMEN. El objetivo de la presente investigación es la inducción de callo *in vitro* de explantes de hipocotilo, cotiledón hoja cotiledonaria y de raíz de plantulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L. var. pinto americano) obtenidas *in vitro*. La desinfección de las semillas fue realizada en alcohol e hipoclorito de sodio y fueron sembradas en medio de agar. Los inóculos fueron obtenidos de plántulas *in vitro* y sembradas en medio basal (MS) suplementado con cinco concentraciones de 2,4-D. Los mejores resultados fueron obtenidos en explantes de hipocotilo (3 mg/l⁻¹), cotiledón (10 mg/l⁻¹) y hoja cotiledonaria (5mg/l⁻¹) de 2,4-D. La acumulación de macro y micronutrientes varió marcadamente entre los explantes así como entre las concentraciones de 2,4-D. Utilizadas.

Palabras clave: frijol, callos, *in vitro*, explants, 2,4-D.

1.División de Estudios de Postgrado, Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L., Apdo. Postal F-16, C.P. 66450, San Nicolás de los Garza, N.L., México.

INTRODUCCION. El frijol es uno de los cultivos de mayor importancia como alimento básico en casi todos los países de América Latina. Observaciones en campo en el nordeste de México mostraron que la sequía, salinidad y altas temperaturas son los principales problemas que afectan el establecimiento inicial de maíz, frijol y otros cultivos (3). Las técnicas de cultivo de tejidos permiten el estudio de problemas básicos relacionados con el crecimiento y diferenciación bajo condiciones altamente reproducibles; en particular el cultivo *in vitro* de callo nos brinda la oportunidad de estudiar las respuestas celulares separadas de la respuesta de la planta completa (4). Las respuestas cualitativas y cuantitativas del crecimiento del callo en cultivo involucran un sinergismo estrecho y complejo entre el origen del tejido usado para la primera inducción, la composición del medio y las condiciones físicas que prevalecen durante esta etapa (1). Otros investigadores (2) estudiaron la respuesta genotípica a los requerimientos de cinetina en cultivo de callo *in vitro* de variedades de frijol; de 16 cultivares, ocho fueron calificadas como fenotípicos completamente autónomos-cinetina y cinco fueron observados como fenotipos dependiente-cinetina. Los objetivos del trabajo son determinar el tipo de explante y concentración de 2,4-D para la inducción de callo *in vitro* de *Phaseolus vulgaris* L. var. pinto americano y su perfil de minerales para conocer si existe variación en la absorción de minerales según el explante y concentración de 2,4-D utilizados.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



MATERIALES Y METODOS. El material biológico utilizado fue semilla comercial de *Phaseolus vulgaris* L. var. pinto americano. La desinfestación de las semillas se llevó a cabo en etanol 70%, hipoclorito de sodio comercial (15% v/v) como agente desinfestante mas tween 20, por 10 min. Se sembraron bajo condiciones asépticas en agar al 0.7% esterilizado como sustrato y se mantuvieron a luz y temperatura ambiente. Los inóculos para la inducción de callo consistieron de un cm. de hipocotilo, cotiledón, hoja cotiledonaria y de raíz de las plántulas obtenidas *in vitro* a los siete días. Se realizaron doce unidades experimentales de cada explante en medio basal MS (1962)(5), suplementado (mg/l^{-1}) con vitaminas, 100 mioinositol, 1.5, 2.0, 3.0, 5.0 y 10 de 2,4-D, agar 0.7% a un pH 5.7. Los cultivos se mantuvieron a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ y 16 horas luz. Los callos (de 60 días) de explantes de cotiledón y de hoja cotiledonaria (con 5 y 10 mg/l^{-1}) se secaron a 65°C por 3-5 días, las muestras de peso seco (0.5gr), se carbonizaron a fuego lento con la llama azul hasta

ausencia de humo y se calcinaron en una mufla a 500°C durante 3 hrs. Las cenizas se disuelven con 15 ml. de HCl 20% y se filtran con papel Whatman No 41 libre de cenizas. El filtrado se colectó en matraces de aforación de 25 ml. El blanco reactivo consiste en 5 ml HCl 20% (AOAC, 1991). Las muestras tratadas se analizaron en un espectrofotómetro de emisión por plasma Thermo Jarrel Ash, bajo condiciones optimizadas para determinar el contenido de Mg, Na, K, Ca, Mn, Fe, Cu y Zn. Los resultados se analizaron mediante un Análisis de varianza, utilizando el paquete SPSS.

RESULTADOS Y DISCUSIONES. De las semillas desinfestadas y sembradas, se originaron plántulas vigorosas y de color verde brillante (a los siete días), de las cuales se obtuvieron los explantes. El inicio de formación de callo se observó a los siete días en los explantes aéreos en las cinco concentraciones de 2,4-D utilizadas no así en el explante de raíz donde no se obtuvo inducción de callo, tal como lo cita (1) que las respuestas involucran un sinergismo entre el origen del tejido usado y la composición del medio y como lo reporta (1) que clasifica cultivares de frijol completamente autónomos-cinetina, como se manifiesta entre los explantes utilizados en esta investigación. Los callos de mayor crecimiento son a los 30 días en (2,4-D) 3mg/l en el explante de hipocotilo, en 10 mg/l⁻¹ en el de cotiledón y en 5 mg/l⁻¹ en el explante de hoja cotiledonaria (Fig. 1). Estos callos son friables, de color blanco y sin signos de oxidación. En lo concerniente al perfil de minerales los resultados obtenidos muestran que existe diferencia altamente significativa (p= 0.01) entre los explantes y los tratamientos. En general se observa mayor contenido en los macro y micronutrientes en el explante de cotiledón con 5 mg/l⁻¹ de 2,4-D por otra parte, en el explante de hoja cotiledonaria se observa mayor contenido de macronutrientes en el tratamiento de 5 mg/l⁻¹ de 2,4-D, y mayor acumulación de micronutrientes en el tratamiento de 10 mg/l⁻¹ (Fig. 2).

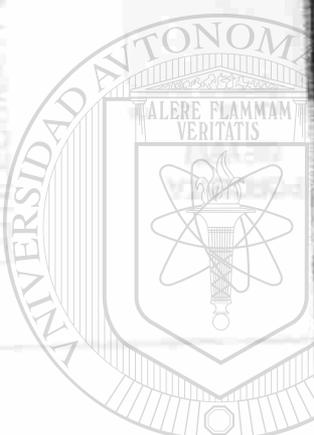
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

MACROCELLMENTS IN CALLUS FROM
COTYLEDONARY LEAF VAR. PIMTO AMERICANO

18-400-87240
18-400-87240

18-400-87240
18-400-87240

18-400-87240
18-400-87240

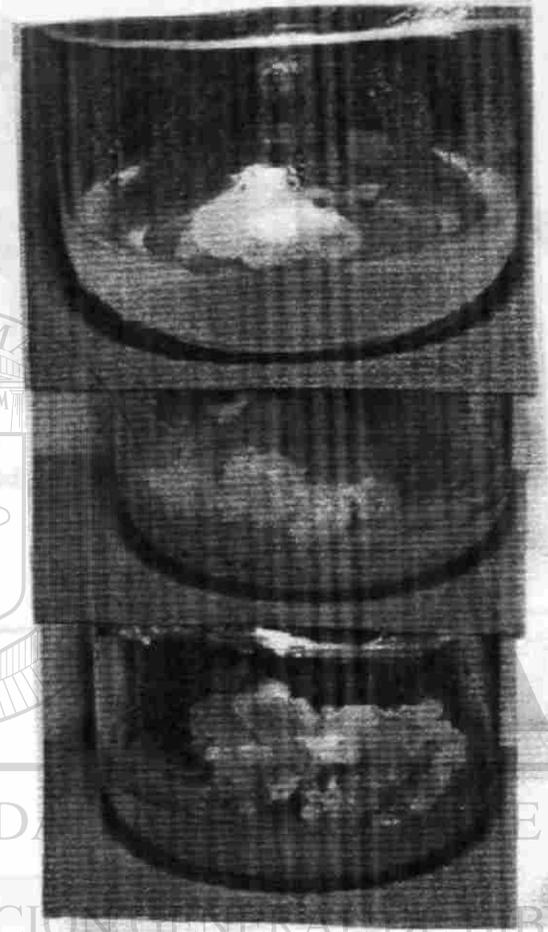


NL

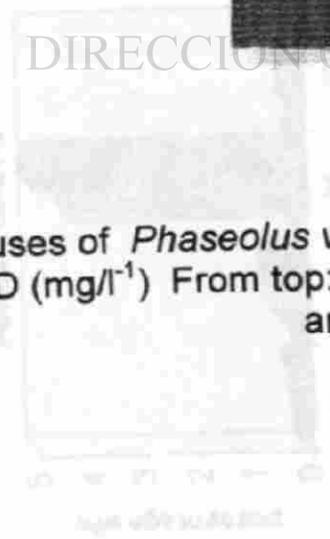
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS



MACROCELLMENTS IN CALLUS FROM
COTYLEDONARY LEAF VAR. PIMTO AMERICANO



Calluses of *Phaseolus vulgaris* L after 30 days cultivation in MS with 2,4-D (mg/l^{-1}) From top: hypocotyl (3 mg), cotyledonary leaf (5mg) and cotyledon (10 mg).

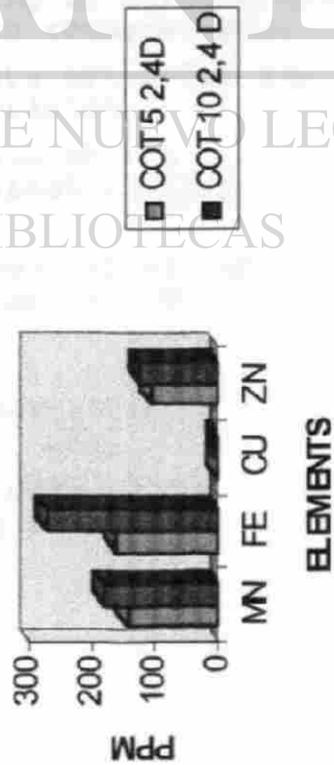
MICROCELLMENTS IN CALLUS FROM
COTYLEDONARY LEAF VAR. PIMTO AMERICANO

18-400-87240
18-400-87240

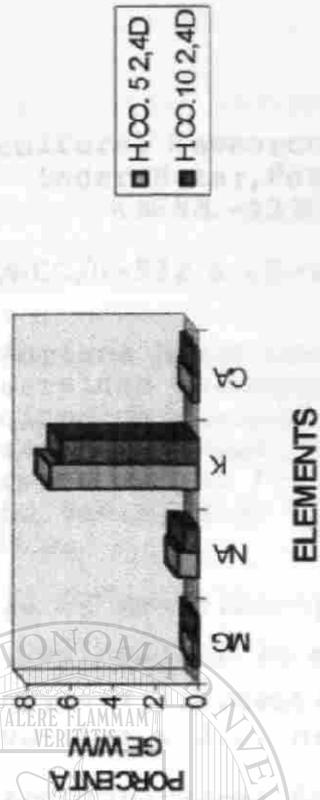
**MACROELEMENTS IN CALLUS FROM
COTYLEDON VAR. PINTO
AMERICANO**



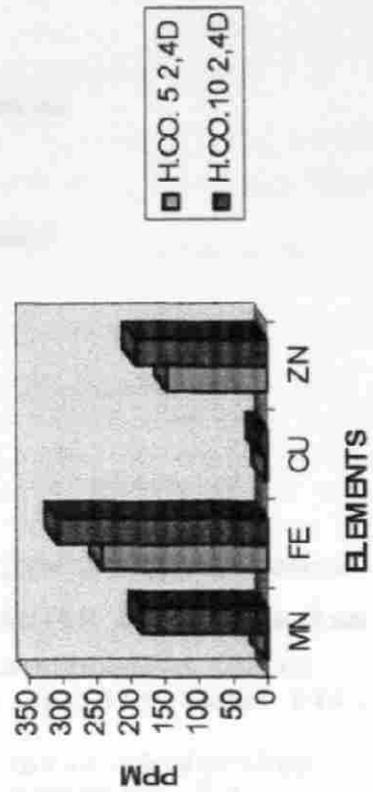
**MICROELEMENTS IN CALLUS FROM
COTYLEDON VAR. PINTO AMERICANO**



**MACROELEMENTS IN CALLUS FROM
COTYLEDONARY LEAF VAR. PINTO AMERICANO.**



**MICROELEMENTS IN CALLUS FROM
COTYLEDONARY LEAF VAR. PINTO
AMERICANO**



Agricultural Research Communication Centre
Sadar Bazar, Post Office Lane,
KARNAL-132001, Haryana, India.

No. ACC/R-532 & LR-1602 Dated 5.6.2000

Dr. Adriana Nunez Gonzalez
Universidad Autonoma de Nuevo Leon
Facultad de Ciencias Biologicas
Division de Estudios de Postgrado
Apartado Postal F-16
66450 San Nicolas de los Garza NL
MEXICO.

Title of Articles:-(1) Tissue culture.. in phaseolus bean
(2) Variability in mineral profile... North East of Mexico

Authors:-1) R.K. Maiti, Marie Luisa Cardenas-Avila, Julia Verde-Star & J.L. Hernandez-Pinero, Ma Adriana Nunez Gzz.

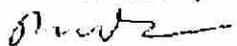
(2) Adriana Nunez Gonzalez, R.K. Maiti, Julia Verde-Star, Maria Luisa Cardenas Avila, Rahim Foroughbakch, J.L. Hernandez-Pinero, S. Moreno Limon and G. Garcia Diaz.

Dear sir,

1. It is to acknowledge the receipt of your above mentioned two articles for printing in our journals Agril. Reviews and Legume Research respectively.
2. For any correspondence, please quote Nos. R-532 and LR-1602 respectively for these articles.
3. Please remit U.S. Dollars 20-00 towards the processing charges for these articles @ U.S. \$ 10-00 for each article.
4. The further necessary action on your above two articles will be taken by us on receipt of your reply of the above points.

With kind regards,

Yours sincerely



(R.D. Goel)
Managing Editor

P.S:- Please send one copy of each article. more.

TISSUE CULTURE AND ITS APPLICATION IN CROP IMPROVEMENT PROGRAMME IN *Phaseolus* Bean.

R.K. Maiti^{*}, María Luisa Cárdenas-Avila, Julia Verde-Star & J.L. Hernández-Piñero, Ma. Adriana Núñez Gzz.

Postgraduate Division, Facultad de Ciencias Biológicas, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Apartado Postal F-16, C.P. 66450, N.L., Mexico

(*Correspondence)

ABSTRACT

The paper gives a review on the research results in *Phaseolus* bean. Tissue culture techniques have been used both in basic and applied science. Techniques have been developed to in vitro callus induction using different organs including protoplast, meristem, shoot, root, anther, embryo culture etc. The paper discusses several biochemical changes occurring during callus growth. Tissue culture techniques have used to select cultivars resistant to several biotic and abiotic stress factors as well in crop improvement through genetics and biotechnology.

Key Words: In vitro callus, protoplast culture, organogenesis, biochemistry, biotic, abiotic stress resistance, crop improvement

Bean is one of the very food important crop in all the countries in Latin America. The productivity of bean, maize and other crops is affected by several biotic and abiotic factors such as drought, salinity and high temperatures (Maiti, 1996). Evaluation and selection of genotypes for resistance to abiotic stress factors in the field is not highly reliable due to fluctuating edaphic and climatic conditions.

Tissue culture technique has been an important tool in the field of experimental Botany in the study of basic problems related with the growth and differentiation under aseptic highly reproducible conditions. The qualitative and quantitative responses of the callus growth involve a wide synergism and the complexity derived from the origin of the tissue used for induction, the composition of the medium and the physical conditions prevailing in this stage (Dodds and Roberts, 1982).

From the stand point of morphogenesis, the important characteristic of the callus is the totipotentiality of its cells under adequate management of nutritional, hormonal and environmental conditions and its capacity in the development of buds, roots, embryos, shoots etc. finally leading to the formation of a complete plant (Hurtado and Merino, 1988).

Tissue culture has been employed in the crop improvement of legumes involving callus, cell-suspension, protoplast, anther, embryo, ovule and shoot apical meristem culture and somatic hybridization between legume-legume and legume-nonlegume combination (Mroginski and Kartha, 1984). In order to obtain protoplast isolation, fusion and culture, calluses were obtained from plants of economic plants including beans in Puerto Rico (Delmestre, 1988).

Kim et al. (1984) showed genotypic variability in the requirements of kinetin in tissue culture *in vitro*, in Korean varieties of *Phaseolus vulgaris* L.; in order to determine its growth habit in a kinetin free medium. They classified the genotypes on the basis of response of 16 cultivars, eight were classified as completely autonomous-kinetin phenotype and five as kinetin-dependent phenotype.

The objective of the present paper is to make a review of the research results on tissue culture in *Phaseolus* bean and discuss its utility both in the basic and applied science.

ORGANOGENESIS

Protoplast culture

A simple and rapid procedure was developed to obtain nucleated protoplasts from plant materials using a high concentrations (0.7 M) of magnesium sulphate as osmotic stabilizer for plasmolysis and cell wall degradation. The floating proplast has a purity of > 90% and is enriched in nuclease protoplasts (80%) (Wichers et al. 1984). In another study, Kim et al. (1986) was successful in the isolation and culture of protoplasts from hypocotyl-derived callus of *Phaseolus* showing maximum production from 13-day-old fresh callus after 6 h digestion in enzyme solution. Elimination of mannitol from the the medium stimulated cell cluster formation. A high yields of viable protoplasts were obtained by enzymatic treatment of cotyledonary leaves od several bean cultivars. Protoplasts formed cell colonies in liquid medium from which subcultures were obtained within 10 days (Crepy et al. 1986).

Kakoniova and Liskova (1990) reported that primary calluses were not suitable for protoplast isolation for which calluses were subcultured on basal medium before use. Good callus growth and protoplast were obtained with medium containing 0.2 mg 2,4-D, 0.3 mg IAA and 1.0 mg BAP/litre. 2,4-D was essential for good growth. Saunders et al. (1987) reported morphogenetic effects of 2,4-D on pinto bean leaf explants. Roots, callus and/ or globular structures were produced on MS with 0.01 to 80 mg 2,4-D and 0 or 1.0 mg kinetin/litre.

Meristem culture

Martins and Sondahl (1984 a) reported early stages of somatic embryo differentiation obtained from shoot apices of 36 cultivars. Callus was induced in MS in presence of kinetin (10 M), 2, 4-D (5 M) and IAA (10 M) giving maximum proliferation in 14 cultivars. In another study they obtained multiple shoot formations from the shoot apex of *Phaseolus vulgaris* in Gamborg's B5 medium in the presence of BA (0.5 M). In another study, Rubio and Kartha (1985) reported that shoot apical meristem of *P. vulgaris* showed a better response in shoot regeneration than those *P. coccineus* in MS medium supplemented with 10 M each of BA and either IAA or IBA at 26 C. Calluses were induced from meristem, epicotyle and hypocotyle explants of seedlings of *Phaseolus vulgaris* and *P. coccineus* in MS with added B5 vitamins and various growth regulators. The medium with added NAA alone or with NAA and benzyladenine (BA) gave high callus production, while that with NAA alone or with NAA and kinetin was best for *P. cocineus* (Ruiz et al. 1986).

In vitro meristematic organogenesis was obtained in several Brazilian cultivars of *Phaseolus vulgaris* using shoot explants on MS medium containing 80 M de benzyladenine leading to the regeneration of shoots tha rooted succesfully in transferring in soil (Moda-Cirino et al. 1995). Benedicic et al (1997) examined the growth and development of *Phaseolus vulgaris* in MS media supplemented with 0.1-10 M/litre benzyladenine or with 1-10 M/litre 2iP or NAA. The regeneration of plants was achieved when meristems were isolated on MS supplemented with 1 and 5 M/litre benzyladenine or 2iP or with 20 M/litre benzyladenine and 1.4 M/litre GA.

Shoot culture

Renenerated shoots were highest when nodal tissues were prepared from seedling germinated in darkness, being optimum in medium containing 5 M BA. The number of shoots was 2-5 times higher on explants cultured on medium with 0.25-1.0 M forchlorfenuron (CPPU) or thidiazuron (TDZ) (Mohamed et al. 1992). Variability in the capacity of regeneration of *P. acutifolius* was reported by Dillen et al. 1996). suggesting the possible application of this trait in the wild species for the genetic improvement of cultivated species.

Jasmonic acid reduced callus formation at a concentration at >0.1 M obtained from bean meristems after 4 weeks (Ravnikar et al. 1990).

Growth of *Phaseolus* callus was stimulated with dosage of <20 Gy while doses above 50 Gy inhibited growth (Hlinkova, 1989).

Increasing dilution of the kelp concentrate (*Macrocystis integrifolia* and *Ecklonia maxima*) reduced the callus growth of *P. vulgaris* antagonist to the growth promoting or cytokinin-like activity (Temple et al. 1989). 100 M ABA enhanced the growth of callus (Reed et al. 1984).

BIOCHEMICAL CHANGES DURING CALLUS INDUCTION AND GROWTH

A series of biochemical changes occur during in vitro induction and callus growth.

Cytokinin oxidase increased when solutions of cytokinin were added to the callus surface. This increase was inhibited with the pretreatment of the tissue with cordycepin or cycloheximide. This suggests the involvement of RNA and protein synthesis in the response. All cytokinin-active compounds except the substrates of cytokinin oxidase and thidiazuron increased the activity of the enzyme (Chatfield and Armstrong, 1986). In other study, cytokinin oxidase from *Phaseolus vulgaris* callus tissues enhanced in vitro activity of the enzyme in the presence of copper-imidazole complexes (Chatfield, 1987; Chatfield and Armstrong, 1987). In another study cytokinin oxidase activity from *P. vulgaris* callus cultures showed affinity for the lectin concanavalin A. It appears that most of the cytokinin oxidase activity exists in the form of a glycoprotein (Chatfield and Armstrong, 1988).

Nissen (1988) reported that *Phaseolus lunatus* calluses were highly sensitive to dose responses of cytokinins. Kattinek and Armstrong (1990) reported genotypic variation in cytokinin oxidase in *Phaseolus* callus cultures. It was suggested that variation in cytokinin oxidase might play a role in the regulation of cytokinin degradation. Lee et al 1985 studied cytokinin metabolism showing genetic difference and the occurrence of novel zeatin metabolism in the embryos of *P. phaseolus*. The genetic differences may be considered embryo-specific and potentially useful in the studies of the possible relationship between abnormal interspecific hybrid embryo growth and hormonal imbalance in *Phaseolus*. It may provide an opportunity to understand the problem of differential expression of genes regulating cytokinin metabolism during plant development.

Alpha-aminoisobutyric acid (AIB) uptake by the callus tissue of *P. vulgaris* was greater than that by root, hypocotyle and epicotyle segments or leaf discs in the presence of Knap (potassium naphenates or cyclohexanecarboxylic acid (CHCA). Knap is an inhibitor of AIB uptake (Findysz, 1982). Jasmonic acid occurs in bean has its effects on cell growth and callus growth (Ueda, 1991).

Rhizobium-infected tissue cultures produced 2-5 more ethylene than infected culture of *Phaseolus vulgaris* and some legumes. It was suggested that this production of additional ethylene by the infected cultures was associated with exogenous acetylene reduction by nitrogenase activity of *Rhizobium* bacteria (Kaladzhyan and Oganyan, 1985).

Borrebaeck and Linsefors (1985) reported hormonal control of the lectin biosynthesis in the callus cultures of *Phaseolus vulgaris*. It was assessed that lectin levels in *P. vulgaris* callus cultures were associated with the levels of 2,4-D and kinetin in the culture medium and also related to the cell growth rate and highest in the log growth phase.

Using the *Phaseolus vulgaris* phaseolin gene and its cDNA counterpart, a mutant gene was constructed which lacked the 5 introns but retained the natural 5' and 3' regulatory sequences. This mini gene was introduced into tobacco via *Agrobacterium*. Full length phaseolin mRNA was

detected in tobacco callus using RNA-DNA hybridization and S1 nuclease mapping technique (Chee et al. 1986). Rether et al. (1993) developed a quick procedure for the isolation of polysaccharide-free DNA from cell suspensions and callus cultures of *Phaseolus* and other crops. They used a mixture of glycoside hydrolases after phenol and chloroform extraction in the isolation of pure DNA without polysaccharide contamination. The highly purified DNA was used for DNA analysis by HPLC.

Immunoanalysis of nuclear fractions indicated that the enzyme zeatin-xylosyltransferase was associated with the nucleus as well as in the cytoplasm. Western blot analysis also revealed the presence of the enzyme in the nuclei of the cotyledons and endosperm callus. This suggests that the enzyme may be involved in the nuclear-cytoplasmic transport of cytokinins (Martin et al. 1993). Broetto et al. (1997) reported isoenzymic polymorphism and peroxidase activity in *Phaseolus* bean. Varieties varied in specific enzymatic band and peroxidase activity. The peroxidase activity increased with an increase in salt concentrations (NaCl).

Primary callus tissue obtained from the hypocotyls of etiolated *Phaseolus vulgaris* showed the dynamics of membrane-bound Ca observed with chlorochlorotetracycline. It was observed that membrane-bound Ca showed a major peak at 8 d and a lower one at 12 d. (Oreshkina and Zlotnikov, 1991).

Northcote et al. (1989) used antisera of rabbits to localise callose, xylan and arabinogalactan in the cell plate, primary and secondary walls of plant cells. Arabinogalactans were present in the cell plate and primary walls but not in secondary thickening. Xylan was present in the primary wall but not in the cell plate. Callose was present in the cell plate. Membrane carying polymers containing L-arabinofuranose were also observed in layers under the plasma membrane.

Fungal elicitor-inducible chalcone isomerase was present in suspension cultured cells of *Phaseolus vulgaris* (Dixon et al. 1988).

USE OF TISSUE CULTURE IN STRESS RESISTANCE

Biotic stress

Disease.

Sziraki and Balazcs (1983) adopted tissue-culture techniques in studying virus resistance of several bean cultivars. Ramachandran and Mishra (1989) studied the effect of callusing on infection of some legume plants. Callus cultures of different seed parts of *Phaseolus vulgaris* infected with bean mosaic polyvirus supported virus conc. higher than those in green house plants.

Hartman et al. (1985) studied response of bean calli to filtrate from *Pseudomonas syringe* pv. *Phaseolicola* and the disease reaction. Callus were tested for response to toxic filtrate. It was suggested that this callus screening system could identify cultivars with resistance to the pathogen. Miklas et al. (1992) developed a reliable method to identify bean germplasm showing physiological resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*, used pathogen filtrate to differentiate physiological resistance of dry bean to white mold disease. Callus fresh weight under infected condition is considered an indicator of resistance. The callus-weight assay may provide a way to differentiate bean germplasm for partial physiological resistance to *S. sclerotiorum*.

Herbicide.

The compound 2,6-dichlorobenzonitrile (DCB) inhibits cellulose biosynthesis and high toxicity to bean cell cultures with 150 of 0.1 M. Tolerant cells had a different form in bean cultures grown in

vitro in 4 M of DCB. The mechanism of tolerance depended on the pectic fraction (Encina et al. 1997). Saker and Luhne (1998) were successful in the production of transgenic kidney bean shoot by electroporation of intact cells with the plasmid Pdp165 containing the bar (bifluroxymifos resistance conferring herbicide resistance to plants).

Heavy metals.

Obata et al. (1994) reported cadmium tolerance of calli induced from roots of plants showing differences in cadmium tolerance. Espino et al. (1995) reported the effects on *in vitro* tissue cultures of *Phaseolus vulgaris*. In a study aluminium (Al) toxicity has been simulated *in vitro* in *Phaseolus vulgaris* calli for the purpose gene expression induced by Al ions. The results suggests that Al does not affect gene expression (Espino et al. 1997).

Abiotic stress.

Osmotic stress.

Subculture of the calluses from hypocotyls and epicotyls of *Phaseolus vulgaris* cultivars cultured on B5 medium enriched with 2 mg 2,4-D and 1 mg kinetin/litre, were placed on B5 medium containing 0-17% mannitol in Petri dishes. The results showed differences in reactions to mannitol-induced stress between less sensitive and more sensitive genotypes (Gomes-Juhász et al. (1993). In a study callus cultures of 26 varieties of *Phaseolus vulgaris* grown in various concentrations of mannitol indicated that non-ionic osmotic stress inhibited growth. The relative growth rate was lower and DM higher in stress sensitive calli than in resistant calli. Osmotic stress caused changes in the amino acid and polyamine synthesis. The stress increased total free amino acids in the sensitive calli (Gesmesne-Juhász et al. 1995). In another study Juhász et al. (1996) studied the response of callus growth to mannitol-induced stress (8-9%). Stress sensitive cultivars showed a significant decrease in callus compared to the tolerant one. Callus DM content increased with increasing osmotic stress. Osmotic treatment increased total amino acid contents in callus derived from osmotically sensitive seedlings than the tolerant ones. Shoot, root weight and root:shoot ration decreased to a great extent in sensitive plants than the tolerant ones in mannitol-induced stress. Mannitol treatments increased the contents of amino acids in calluses and leaves of seedlings to a greater extent in tolerant than in sensitive cultivars.

Nonami et al. (1996) reported that negative pressure in the apoplast of elongating tissue induces water uptake for cell elongation in tissue-cultured plants. Callus was induced from embryo. Water potential of culture media ranged from -0.02 to -0.94. Water potential gradient was linearly correlated with growth rate under nutrient deficiency, salt stress, low and high temperature conditions. The results revealed that cell expansion rates were regulated by the the capacity of water uptake by elongating cells. Therefore, the driving force for the water uptake in the elongating cells was the negative pressure in the apoplast in the elongating tissue.

Salinity stress.

In a study, root and hypocotyl callus tissues of *Phaseolus vulgaris* were grown on MS medium supplemente with 2 M NaCl or without it. The salinity of the medium in darkness suppressed tissue growth and enhanced the activity of IAA-oxidase. The pattern of Cl-accumulation was similar to that of the level of the enzyme activities. On subculturing on NaCl medium increased K⁺, Na⁺ and Ca⁺ content in the tissue (Komizerko et al. 1988).

Broetto et al. (1995) reported that salt stress-NaCl treatment reduced relative growth and protein content but increased proline content and peroxidase activity. Sawires et al. (1997) studied biochemical changes associated with salt stress in pea and bean tissue culture. Callus cultured in

MS medium with 0-1.2% NaCl indicated that callus growth was stimulated by 0.3% NaCl but decreased by higher salinity levels. It was also observed that concentrations of sodium, carbohydrates and free proline increased with increasing salinity, while K concentrations of callus decreased with NaCl level. Protein content decreased in *P. vulgaris* callus.

Tissue culture in genetics and biotechnology

Frisch et al. (1995) stated that chromosomal integration is required for spatial regulation of expression in callus cultures from the beta-phaseolin promoter. They evaluated spatial expression of phaseolin, the storage protein of bean using stable and transient transformation techniques. Genga et al. (1990) obtained genetic transformation of bean by *Agrobacterium tumefaciens*. Tumour formation following inoculation with several wild-type *A. tumefaciens* strains was assessed in *Phaseolus vulgaris* genotype and *P. coccineus* in vivo. There was a genotype-specific response in the frequency of tumour formations. Engineered *A. tumefaciens* strains carrying the gene for kanamycin resistance were used in leaf disc cultivation. Callus disc obtained from the suculture of the leaf disc contained kanamycin.

Franklin et al (1993) succeeded in the genetic transformations of green bean callus via *Agrobacterium* mediated DNA transfer. Kanamycin resistant callus was produced from leaf disc or hypocotyl explants of *Phaseolus* plants when cultured on callus culture containing 50mg kanamycin /litre after four days of co-cultivation with *Agrobacterium tumefaciens* strain EH101 containing the binary vector Pkylx71GUS., Southern blot border analysis confirmed the integration of the foreign DNA. Bean callus cultures were also transformed with a bean chalcone synthase promoter-GUS fusion. The cultures treated with the elicitor glutathione showed higher levels of GUS expression than the unelicited callus clumps. Dillen et al. (1997) obtained *Agrobacterium*-mediated transformation of *Phaseolus acutifolius*. Renovation-competent callus was obtained from bud explants of green plants co-cultivated with *Agrobacterium tumefaciens* C58C1RifR (Pmp90) harbouring a binary vector with neomycine phosphotransferase II (nptII) and beta-glucoronidase (uid A) marker genes. Transgenic genic callus lines of three genotypes were established on geneticin-containing medium. A transgenic had been transformed with a binary plasmid which in addition to the marker genes, contained a genomic fragment encoding the *Phaseolus vulgaris* arcelin-5a protein. The seed storage protein confer resistance to the insect *Zabrotes subfasciatus*. The introduce genes segregated as a single locus. This indicates the possibility of using *P. acutifolius* as a bridging species to introduce transgenes into economically important species *P. vulgaris*.

Guo et al (1994) studied the inheritance of RLF markers in the interspecific hybrids of *Phaseolus vulgaris* and *P. coccineus*. Of 280 cDNA probes used, 70-85% revealed polymorphism between species. The markers were mapped to nine linkage groups. The results explain the distribution of phenotypic traits following interspecific hybridization.

REFERENCES

- Alfonso, A. and Capote, A. (1987). *Ciencias de la Agricultura* 30:16-19.
- Benedicic, D., Ravnikar, M. and Gogala, N. (1997). *Phyton-Horn*. 17:151-160.
- Borreback, C.A.K. and Linsefors. (1985). *Plant Physiol*. 79:659-662.

Breuer, R., Kysely, W. and Jacobsen, H.J. (1985). Recent results on somatic embryogenesis in pea and bean. In Genetic manipulation in plant breeding. Proc. International symposium organized by Eucarpia, Sept 8-13, 1985. Berlin, West Germany, 8ed. W. Horn, C.J. Jensen, W. Odenbach, O. Schieder, O. 279-281.

Broetto, F., Casa, A.M., Malavolta, E. And Lopes, C.R. (1997). *Scientia Agrícola* 54:128-132.

Broetto, F., Lima, G.P.P. and Brasil, O.G. (1995). *Scientia Agrícola* 52:164-166.

Chatfield, J.M. (1987). Cytokinin oxidase activity from *Phaseolus vulgaris* L. cv. Great Northern callus tissues. Dissertation Abstracts International, B-Sciences and Engineering 47:4392.

Chatfield, J.M. and Armstrong, D.J. (1986). *Plant Physiol.* 80: 493-499.

Chatfield, J.M. and Armstrong, D.J. (1987). *Plant Physiol.* 84:726-731.

Chatfield, J.M. and Armstrong, D.J. 1988. *Plant Physiol.* 88:245-247.

Crepy, L., Barros, L.M.G. and Valente, V.R.N. (1986). *Plant Cell Reports* 5:124-126.

Delmestre, M.H. (1988). *Plant Physiology and Biochemistry*, France 25(2):211.

Dillen, W., Clercq-J-de, Goossens, A., Zambre, M., Montagu, M-van, Angenon, G., De-Clercq, J. and Van-Montagu, M. (1997). Mededelingen Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, *Universiteit Gent* 62:1397-1402.

Dillen, W., De-Clercq, J., Montagu, M-van, Angenon, G. and Van-Montagu, M. (1996). *Plant Science-Limerick* 118:81-88.

Dodds, H. J. and W. R. Lorin (1996). Experiments in Plant Tissue Culture. Cambridge University Press. London England 2^a. Ed. pp. 21-31, 46-47.

Chee, P.P., Klassy, R.C. and Slightom, J.L. (1986). *Gene* 41:47-57.

Diaz-Cacho, M.P., Garcia, M.C., Encina, A.E., Negro, A., Alvarez, J.M. and Acebes, J.L. (1997). Isolation of bean (*Phaseolus vulgaris*) cell cultures tolerant to lethal concentrations of isoxaben. Proc. The 1997 Congress of the Spanish Weed Science Society, Valencia, Spain, 24-26.

Dillen, W., Clercq, J-de, Goossens, A., Montagu, M-van, Angenon, G., De-Clercq, J. and Van-Montagu, M. (1997). *Theoretical and Applied Genetics* 94:151-158.

Dixon, R.A., Blyden, E.R., Robbins, M.P., Tunen, A.J.-van, Mol, J.N. and Van-Tunen, A.J. (1988). *Phytochemistry* 27:2801-2808.

Encina, A.E., Moral, R.M., Acebes, J.L. and Alvarez, J.M. (1997). Proc. 1997 Congress of the Spanish Weed Science Society, Valencia, Spain, 24-26, November 1997, 101-104.

Espino, F.J., Gonzalez-Jean, M.T., Ibanez, J., Sendino, A.M. and Vazquez, A.M. (1997). *Protoplasma* 201:85-91.

Espino, F.J., Gonzalez-Jaen, M.T., Ibáñez, J., Sendino, A.M., Vazquez, A.M., Vasquez, A.M., Terzi, M. (ed.), Celia, R. (ed.), Falavigna, A. (1994). Aluminium effects on *in vitro* tissue cultures of *Phaseolus vulgaris*. Current tissues in plant molecular and cellular biology. Proc. The 8th International Congress on Plant Tissue and Cell Culture, Florence, Italy, 12-17 June, 1994, 1995, 545-549.

Findysz, L.M. (1982). Effects of naphthenates on the uptake of alpha-aminoisobutyric acid by *Phaseolus vulgaris* L. Dissertation Abstracts Intl, B, 42: 3900.

Findysz, L.M., Seversen, J.G. Jr. and Hillman, R.E. (1983). *Phyton*, Argentina 43:193-205.

Frisch, D.A., Geest, AHM-Van-der, Dias, K., May, T.C. and Van-der-Geest, A.H.M. (1995). *Plant Journal* 7:503-512.

Genes-Juhász, A., Nagy, J. and Velich, I. (1993). *Zöldsegetermesztési Kutató Intézet Bulletinje*. 25: 49-56.

Gemesne-Juhász, A., Simon-Sarkadi, L., Velich, I. And Varro, P. 1995. The effect of non-ionic osmotic stress on bean callus cultures. *Horticultural Science* 27(3-4):7-14.

Genga, A., Allavena, A., Cerriotti, A. And Bollini, R. (1990). *Acta Horticulturae* 280:527-536.

Gorlanov, N.A., Gushchina, V.N. and Trapeznikova, S.G. (1983). Effect of gamma-radiation on protein content in tissues of *Phaseolus vulgaris* cuttings establishing roots. *Transport veshchetv i bioelektrogenez u rastenii* [edited by Opritov, V.A.] 73-78.

Guo, M., Mok, M.C. and Mok, D.W.S. (1994). *J. Heredity* 85: 174-178.

Hartman, C.L., Secor, G.A., Venette, J.R. and Albaugh, D.A. (1986). *Physiological and Molecular Plant Pathology* 28: 353-358.

Hlinkova, E. (1989). *Genetica* 20:13-21.

Hurtado D. V. Y M. E. Merino M. (1988). Cultivo de Tejidos Vegetales. Ed. Trillas 1^a Edición pp. 94-97.

Ionescu, A., Tanasescu, M. Suta, E., Tanasescu, C. Ionescu, C. And Poncu, J. (1989). *Cercetari de Genetica Vegetala si Animala* 1:237-245.

Jacobsen, H.J. and Kysely, W. (1986). Induction of *in vitro*-regeneration via somatic embryogenesis in pea (*Pisum sativum*) and bean (*Phaseolus vulgaris*). In Genetic manipulation in plant breeding. Proc. International symposium organized by Eucarpia, Sept 8-13, 1985. Berlin, West Germany, 8ed. W. Horn, C.J. Jensen, W. Odenbach, O. Schieder, O. 445-448.

Juhász, G.A., Simon-Sarkadi, L., Velich, I., Varro, P., Altman, A (ed.) Ziv, M. (1997). Proc. Third international ISHS symposium on *in vitro* culture and horticultural breeding, Jerusalem, Israel, 16-21 June, 1996. *Acta Horticulturae* 447:455-456.

Kaladzhyan, N.L. and Oganyan, E.E. (1985). *Doklady Akademii Nauk Armynskoi SSR*. **80**:139-141.

Kaminek, M. and Armstrong, D.J. (1990). *Plant Physiol.* **93**:1530-1538.

Kim, S.G.; Song, J. H. (1984). *Korean J. Bot.* **27**: 173-178.

Kini, S.G. et. (1983). *Kor. J. Bot.* **26**:191-196.

Komizerko, E.L., Oreshkina, N-Ya and Gus'kov, A.V. (1988). *Fiziologiya Rastenii* **35**:165-174.

Lee, Y.H., Mok, M.C., Mok, D.W.S., Griffin, D.A. and Shaw, G. (1985). *Plant Physiol.* **77**:635-641.

Le-Tkhi-Moi and Bilyalieva, G.A. (1983). *Fiziologiya Rastenii im.* **30**:1143-1347.

Marti R. K., L.E. Delgado Amaya, S.Ibarra- Cardona, A.M. Ontiveros-Dimas, M. De la Rosa Ibarra, and H. De León-Castillo. (1996). *J. Plant Physiol.* **148** : 741-744.

Martins, I.S. and Sondahl, M.R. (1984). *J. Plant Physiol.* **117**:97-103.

Martins, I.S. and Sondahl, M.R. (1984). *J. Plant Physiol.* **115**:205-208.

McClean, P., Chee, P., Held, B., Simental, J., Drong, R.F. and Slightom, J. (1991). *Plant Cell Tissue and Organ Culture* **24**:131-138.

Moda-Cirino, V., Nicolodi, C., Chichirico, G. And Mariotti, D. Murashige, T. and F. Skoog. (1962). *Physiol. Plantarum* **15**:473-497.

Moda-Cirini, V., Nicolodi, C., Chichirico, G. and Mariotti, D. (1995). *J. Genetics and Breeding* **49**:133-137.

Mohamed, Read, P.E. and Coyne, D.P. (1992). *J. American Society of Horticultural Science* **11**: 668-672.

Mohamed, M.F., Coyne, D.P. and Read, P.E. (1993). *J. American Society for Horticultural Science* **118**:158-162.

Mohamed, M.F., Coyne, D.P. and Read, P.E. (1996). *PGRSA Quarterly* **24**:97-103.

Mroginski, L.A. and Kartha, K.K. (1984). *Plant Breeding Reviews* **2**:215-264.

Nissen, P. (1988). *Physiologia Planterum* **74**:450-456.

Nonami, H., Hashimoto, Y., Tozai, K. (ed.) Kubota, C. (ed.) Ibaraki, Y. Sase, S. (1996). Negative pressure in the apoplast of elongating tissue induces water uptake for cell elongation in tissue-cultured plants. International symposium on plant production in closed ecosystems. Automation, culture and environment, August 26-29, 1996, Narita, Japan. *Acta Horticulturae* **440**:594-599.

Northcote, D.H., Davey, R. and Lay, J. (1989). *Planta* 178:353-366.

Obato, H., Inone, N., Imai, K. and Umebayashi, M. (1994). *Soil Sci. and Plant Nutrition* 40:351-354.

Oliveira, P.D.-de, Pasqual, M., Lopes, P. A. and De-Oliveira, P. D. (1994). *Revista Ceres* 41:651-657.

Oresshkina, N.-Ya and Zlotnikova, I.F. (1991). *Doklady, Botanical Sciences* 316-318: 50-60.

Ramachandran, P. and Mishra, M.D. (1989). *Indian J. Virology* 5:67-72.

Reed, B.M., Marsden, K. and Armstrong, D.J. (1984). *Plant Physiol.* 75: Supplement 83.

Rubluo, A. and Kartha, K.K. (1985). *J. Plant Physiol.* 119:425-433.

Ruiz, M.L., Pelaez, M.I., Rueda, J., Espino, F.J. and Vazquez, A.M. (1985). A comparative study of callus formation and plant regeneration from different explants of *Phaseolus vulgaris* and *P. coccineus*. In Genetic manipulation in plant breeding. Proc. International symposium organized by Eucarpia, Sept 8-13, 1985. Berlin, West Germany, 8ed. W. Horn, C.J. Jensen, W. Odenbach, O. Schieder, O. 495-497.

Sachs, T., Roberts, K. (ed.) Coen, E. (ed.), Dean, C. (ed.), Jones, J. (ed.), Chater, K. (ed.), Flavel, R. (ed.), Wilkins, A. and Holder, N. (1991). Cell polarity and tissue patterning in plants. Molecular and cellular basis of pattern formation 83-93.

Saker, M.M. and Kuhne, T. (1998). *Biologia Planterum* 40: 507-514.

Sawires, E.S., Saker, M.M. and El-Bahr, M.K. (1997). *Egyptian J. Horticulture* 24:161-173.

Savova, N. and Zagorska, N. (1987). *Genetika I Seleksiya* 20:448-453.

Sziraki, I. and Balazs, E. (1983). Induced mutations for disease resistance in crop plants II. 217. Viena, Austria, International Atomic Energy Agency.

Temple, W.D., Bomke, A.A., Radley, R.A. and Holl, F.B. (1989). *Plant and Soil* 117:75-83.

Ueda, J. (1991). *Chemical Regulation of Plants* 26:173-189.

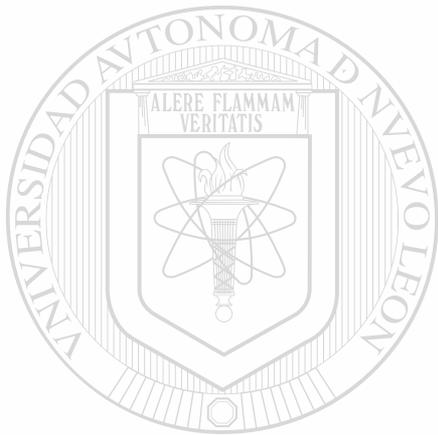
Westhuizen, A.J.-van-der, Groenewald, E.G. and Van-der-Westhuizen, A.J. (1990). *South African J. Bot.* 56:271-273.

Wichers, H.J., Kate, J.-ten, Buys, C.H.C.M. and Huizing, H.J. 1984. A simple and rapid procedure to obtain nucleated protoplasts from plant material. *Cytologia* 49(3):529-535.

Zagorska, N.A., Savova, N.P. and Atanasov, A.I. (1982). *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences* 35:989-992.

Zambre, M.A., Clerq-J.-de, Vranova, E., Montagu, M.-van, Angenon, G., Dillen, W., De-Clerq, J. And Van-Montagu, M. (1998). *Plant Cell Reports* 17:626-630.

Zavala, M.E. and Sussex, I.M. (1986). *J. Plant Physiol.* **122**:193-197.

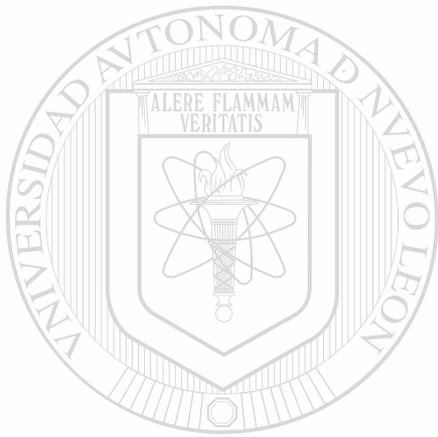


UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



