



00381
13

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS**

FACULTAD DE CIENCIAS

**EFFECTO DE LA DOMESTICACIÓN DE *Phaseolus
vulgaris* L. SOBRE LA RESPUESTA
ANATÓMICA AL DÉFICIT HÍDRICO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS (BIOLOGÍA)**

P R E S E N T A

CARLOS RAFAEL NAVEA TOVAR

**DIRECTOR DE TESIS: Dr. ALFONSO DELGADO SALINAS
CODIRECTOR DE TESIS: Dr. PORFIRIO RAMIREZ VALLEJO**

MÉXICO, D.F.

ENERO, 2003

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

A



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PAGINACIÓN DISCONTINUA

**Todo cuanto hay en la naturaleza
es producto de un orden casual necesario**

Demócrito (460?-370 aC)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Este trabajo fue realizado con beca de la Universidad de Los Andes (Venezuela) bajo la tutoría del Dr. Porfirio Ramírez Vallejo del Programa de Mejoramiento del Frijol del Instituto de Recursos Genéticos y Productividad del Colegio de Postgraduados de Chapingo (México).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Teresa Terrazas y el Ing. Serafin Cruz Izquierdo por el constante, diligente y generoso apoyo, cuyos conocimientos, experiencia e infraestructuras oportunos, recibiera. A los Dres. Porfirio Ramirez Vallejo, Alfonso Delgado Salinas, Sergio Cevallos Ferriz, Teresa Terrazas (una vez más), Margarita Collazo Ortega, Guillermo Ángeles Álvarez y Carlos Trejo López por sus revisiones y valiosas sugerencias.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONTENIDO

	Pág.
Resumen	VI
Primera Parte	
I Importancia de las leguminosas	1
II Adaptación vegetal a la domesticación	3
III El género <i>Phaseolus</i> . Centros de origen y domesticación	5
IV El frijol común (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	7
V Distribución geográfica de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. silvestre y razas asociadas	12
Segunda parte	
I Introducción	14
II Antecedentes	15
III Materiales y métodos	19
Material vegetal	19
Suelo	20
Tratamientos hídricos	21
Cultivo	22
Anatomía foliar	24
Anatomía caulinar	24
Estadísticos	25
IV Resultados y discusión	26
Área foliar	26
Células epidérmicas	30
Grosor Foliar	33
Parénquimas	34
Estomas	37
Pubescencia	43
Tallo y xilema secundario	46
Vasos	51
Vasos solitarios	53
Diámetro del lumen de vaso	54
Densidad de vasos	56
Conductividad relativa	58
Vulnerabilidad	59
V Conclusiones	65
VI Bibliografía	66

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Cuadros, figuras y anexos

	Pág.
Cuadro 1. Lista de genotipos utilizados	20
Cuadro 2. Atributos foliares	26
Cuadro 3. Atributos epidérmicos	30
Cuadro 4. Atributos caulinares	48
Figura 1a. Peso de las macetas	21
Figura 1b. Curva de retención de humedad del suelo	22
Figuras 2-3. Invernadero	23
Figura 4. Efecto de los tratamientos	27
Figura 5. Área foliar de los genotipos	28
Figura 6. Anatomía foliar	29
Figura 7. Área de células epidérmicas adaxiales de los genotipos	31
Figura 8. Área de células epidérmicas abaxiales de los genotipos	31
Figura 9. Grosor foliar de los genotipos	33
Figura 10. Parénquima en empalizada de los genotipos	35
Figura 11. Parénquima esponjoso de los genotipos	35
Figura 12. Relación de parénquimas en los genotipos	37
Figura 13. Índice estomático adaxial de los genotipos	38
Figura 14. Densidad estomática adaxial de los genotipos	38
Figura 15. Índice de aborto estomático adaxial de los genotipos	40
Figura 16. Índice estomático abaxial de los genotipos	41
Figura 17. Densidad estomática abaxial de los genotipos	41
Figura 18. Índice de aborto estomático abaxial de los genotipos	43
Figura 19. Índice de pubescencia adaxial de los genotipos	44
Figura 20. Densidad de tricomas adaxial de los genotipos	44
Figura 21. Índice de pubescencia abaxial de los genotipos	45
Figura 22. Sección transversal del tallo de los genotipos	47
Figura 23. Área del tallo de los genotipos	49
Figura 24. Proporción de xilema en tallos de los genotipos	50
Figura 25. Área relativa de conductividad de los genotipos	51
Figura 26. Número de vasos de los genotipos	52
Figura 27. Proporción de vasos solitarios de los genotipos	53
Figura 28. Diámetro de los vasos de los genotipos	55
Figura 29. Frecuencia de diámetros en vasos de los genotipos	55
Figura 30. Densidad de vasos de los genotipos	57
Figura 31. Conductividad relativa de los genotipos	58
Figura 32. Índice de Vulnerabilidad del xilema de los genotipos	60
Anexo 1. Efecto de la procedencia de las poblaciones sobre atributos foliares y caulinares	61
Anexo 2. Efecto de la procedencia de las poblaciones sobre atributos epidérmicos	62
Anexo 3. Efecto de la procedencia de las poblaciones sobre atributos del xilema	62

RESUMEN

Las formas cultivadas y silvestres actuales de *Phaseolus vulgaris* difieren no solo morfológicamente, también muestran diferencias relacionadas con fotosíntesis y transpiración. Con el fin de detectar diferencias anatómicas relacionadas con el uso del agua, fueron evaluados genotipos silvestres y cultivados procedentes de tres diferentes regiones geográficas de México, en dos tratamientos de humedad del suelo, uno con riego y otro con riego deficitario. Para el estudio de la anatomía foliar se usó el foliolo terminal de hojas jóvenes totalmente desplegadas y para el xilema secundario, se usó la porción basal de los tallos. Se midió el área y el grosor foliar; el grosor de los parénquimas del mesófilo; la densidad de estomas, de tricomas y de células epidérmicas; el área en sección transversal de tallo, corteza, xilema y médula; el diámetro y la densidad de los vasos. Se estimó la relación de parénquimas (empalizada / esponjoso); los índices de estomas y pubescencia; la proporción de xilema secundario; la frecuencia de vasos por diámetro; el valor de Huber; la conductividad relativa y la vulnerabilidad del xilema. Se encontró que el área foliar fue mayor en las formas cultivadas que en las silvestres y que existe un efecto significativo debido a la procedencia de los genotipos, siendo mayor el área foliar en los genotipos procedentes de regiones más cálidas y húmedas que el de regiones más secas y frescas. Se observaron diferencias significativas para grosor foliar entre formas silvestres y cultivadas. En el mesófilo de la forma cultivada, contrario a lo observado en la forma silvestre, predominó el parénquima en empalizada sobre el esponjoso. Bajo estrés hídrico se produjo aborto estomático, principalmente en la epidermis abaxial, en ambas formas, el cual fue mayor en la cultivada. El área del xilema, la densidad y el diámetro de los vasos, con notable influencia sobre el flujo de agua, fueron mayores en la forma silvestre; en la cultivada la frecuencia de diámetros de los vasos se restringió a una amplitud menor que en la silvestre; la capacidad de modificar el número de vasos solitarios entre tratamientos fue mayor en la silvestre. Se concluyó que hay diferencias anatómicas foliares y caulinares entre las formas silvestre y cultivada de *P. vulgaris* procedentes de México. Los resultados sugieren que la domesticación podría haber conducido a poblaciones hojas con mayor proporción de parénquima en empalizada y mayor aborto estomático como mecanismo adicional de control de la transpiración bajo condiciones de estrés hídrico, así como una menor plasticidad del cámbium vascular, reflejada en la reducción del xilema y de la plasticidad de algunos de sus rasgos anatómicos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ABSTRACT

The current wild and cultivated forms of *Phaseolus vulgaris* L. differ not only morphologically but also in traits related with their photosynthesis and transpiration processes. In order to detect anatomical differences related with the use of water, wild and cultivated genotypes coming from three different geographical regions of Mexico were evaluated, all in well-watered and water-stressed conditions. Full-deployed end leaflets and basal portions of stems were used for leaf sections and secondary xylem anatomy, respectively. Leaf area and thickness, spongy and palisade parenchyma thickness, stomata and trichomes densities, epidermal cells number, cross section area of the steam, bark, xylem and pith, vessel diameter and density were measured. Parenchyma ratio (palisade / spongy), stomata and trichomes indexes, secondary xylem proportion, vessels diameter frequency, Huber value, xylem relative conductivity and vulnerability were also estimated. Leaf area was higher in the cultivated form than in the wild one. A significant effect of provenance of the genotypes was showed, being bigger the leaf area in genotypes from warmer and humid regions than those from drier and fresher ones. Significant differences were observed on leaf thickness between wild and cultivated forms. In the cultivars mesophyll, the palisade parenchyma prevailed upon the spongy one. Under water stress, stomatal abortion took place, mainly in the abaxial epidermis, in both wild and cultivated forms, although slightly higher in the latter. Xylem area, vessels density and vessels diameter, notably important on water flow, was higher in the wild plants. In the cultivated plants, diameter frequency of vessels was limited to ones with smaller width, smaller than in the wild ones. The capacity to modify the number of solitary vessels among the different treatments was superior in the wild forms. We concluded that there are differences in leaf and xylem anatomy between wild and cultivated forms of *P. vulgaris* originating in Mexico. Results suggested also that domestication of the common bean could have led to plants with leaves having higher proportion of palisade parenchyma and a higher capacity of stomatal abortion. Both, as further features and mechanisms of water loss control under water stress conditions. In addition to, a smaller plasticity of the vascular cambium, exposed upon the reduction of the xylem; as well as in the plasticity of some of its anatomical features.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

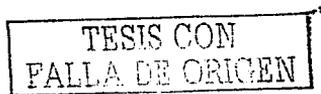
PRIMERA PARTE

1) IMPORTANCIA DE LAS LEGUMINOSAS

En épocas relativamente recientes, el hombre abandonó el hábito nómada; posiblemente sus actividades y experiencias como recolector le brindaron tal nivel de conocimientos botánicos de las especies usadas que en un momento dado se encontró lo suficientemente preparado para sembrarlas y cuidarlas, como de hecho ha venido haciendo desde hace milenios; el cultivo implicó la transformación de la naturaleza y significó el control de la disponibilidad de los recursos (Braidwood, 1960; citado en Casas *et al.* 1997). Con la agricultura, el hombre no sólo fundó la civilización y logró independizarse en gran medida del mundo natural, sino que dio origen a poblaciones cultivadas de especies que hasta entonces solo existían en forma silvestre (Harlan, 1992).

Las gramíneas y las leguminosas han sido esenciales para el hombre; las primeras por suministrar alimentos ricos en energía, tanto para él como para sus animales, y las segundas por su aporte de nitrógeno a los suelos cultivables y de proteínas para la dieta. De las evidencias arqueológicas se desprende que la dependencia del hombre de ambas parece haber sido un hecho simultáneo, al igual que su domesticación, debido a que ciertas leguminosas y gramíneas fueron específicas de algún centro agrícola primitivo, como *Glycine* y *Oryza* en Asia, *Pisum* y *Lens* con *Triticum* y *Hordeum* en el mediterráneo, *Phaseolus* y *Zea* en América y *Sorghum* y *Vigna* en África (Isely, 1982).

Se desconoce cuándo el hombre notó que los cultivos crecían mejor en suelos habitados simultánea o previamente por leguminosas; sin embargo, se sabe que los romanos practicaban la rotación de cultivos; pero a medida que la agricultura se extendía hacia el norte de Europa, el uso de leguminosas fue menos exitoso, al menos en sus primeros tiempos, probablemente a causa de la ausencia de cepas adecuadas de *Rhizobium*. En la época feudal se volvió a practicar la rotación de cultivos (con el uso de *Medicago* y *Trifolium*) con el doble propósito de mejorar el suelo y alimentar a los animales; también se sabe que en América precolombina, en los altiplanos mesoamericanos y andinos, el frijol y el maíz se cultivaban simultáneamente (Isely, 1982).



Eco (1999), reflexionando sobre los grandes acontecimientos del milenio y la pobreza nutricional que aquejó a Europa entorno al siglo X d.C., concluye que "...cuando en el siglo X se empezó a extender el cultivo de legumbres, tuvo un efecto profundo en toda Europa. Los trabajadores pudieron comer más proteínas; como resultado, se hicieron más robustos, vivieron más años, criaron más hijos y repoblaron el continente". Y no sólo de Europa, ya que siglos más tarde, los europeos se extendieron por el resto del mundo. Así, a la pregunta "¿qué pasa con los no europeos?" responde acertadamente que "...la historia de esos continentes habría sido distinta, de igual forma que la historia comercial de Europa no habría sido la misma sin la seda de China y las especias indias". Según este pensador, la civilización actual tiene una deuda enorme y antigua con las leguminosas.

Las leguminosas constituyen un grupo cosmopolita cuya característica más evidente es el gineceo unicarpelar con óvulos parietales que, una vez desarrollado, forma una legumbre generalmente dehiscente. El fruto subterráneo e indehiscente de *Arachis* o el de *Melilotus* que es casi un aquenio, son algunas entre muchas excepciones. Un gran número de ellas se caracteriza por presentar flores papilionadas y es notorio su simbiosis con la bacteria del género *Rhizobium*, fenómeno muy común en la familia (Isely, 1982).

De acuerdo con Smartt (1990) las leguminosas abarcan tres sub-familias: i) *Caesalpinioideae*, presumiblemente la más primitiva y diversificada, constituidas principalmente por especies leñosas tropicales, cuyas flores presentan la corola bien desarrollada, regular o irregular (sin llegar a ser papilionada); muchas de ellas no son fijadoras de nitrógeno, aunque esta innovación parece haberse originado en este grupo; ii) *Mimosoideae*, posiblemente derivada de la anterior; las flores individuales se reducen y se agregan en pequeñas cabezuelas o espigas compactas observables a simple vista y de las cuales destacan los estambres filamentosos que, junto con las hojas bipinnadas, caracteriza al grupo. Entre ellas el número de fijadoras de nitrógeno es mucho mayor que en el anterior y siguen siendo en su mayoría leñosas tropicales y iii) *Papilionoideae*, constituye el gran éxito en la historia evolutiva de las leguminosas; probablemente también tuvo su origen en las *Caesalpinioideae*; sus miembros más primitivos son leñosos tropicales, de flores casi regulares o sub-papilionadas. No obstante, estos tres grupos son tratados por algunos autores separadamente como familias (Cronquist, 1981 y Dahlgren, 1983; citados en Judd *et al.*, 1999).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El nombre de papilionadas data de 1561 (citado en Isely, 1982), cuando Cordus comparó la forma de la flor con la de una mariposa: un pétalo dorsal o estandarte, dos pétalos laterales o alas y dos ventrales, fusionados o casi, que conforman la quilla; 10 estambres libres en las más primitivas o fusionados en forma de vaina alrededor del pistilo (monadelphos) o con el superior libre (diadelphos); la organización de la flor facilita la polinización cruzada, favorecida por insectos (Isely, 1982). Las Papilionoideae son muy prolíficas en hábitos, de leñosas a herbáceas o de perennes a anuales; también es exitoso en ambientes ecológicamente diversos y, aunque preferentemente se distribuye en regiones tropicales, ha irradiado hacia zonas templadas y climas áridos, de tal forma que se encuentra en la mayoría de los ambientes. Casi todas las especies cultivadas de este grupo son herbáceas y la mayoría tiende a la formación de nódulos fijadores de nitrógeno, convirtiéndose en el más importante agente biológico de fijación (Allen, 1973; citado en Isely, 1982; Judd *et al.*, 1999).

De las especies de leguminosas domesticadas, las que han experimentado mayor modificación son, sin duda, las que producen semillas comestibles: *Cicer arietinum*, *Lens culinaris*, *Pisum sativum*, *Vicia faba* y *Lathyrus sativus*, en el Mediterráneo y el cercano oriente; *Phaseolus coccineus*, *P. lunatus*, *P. acutifolius*, *P. polyanthus*, *P. vulgaris* y *Arachis hypogea*, en América; *Vigna unguiculata* y *V. subterranea* se cree fueron domesticadas en África; *V. radiata*, *V. mungo* y *V. aconitifolia* en India y *V. angularis* y *V. umbellata* en el lejano oriente. La concentración de especies domesticadas no parece ser un hecho fortuito ni restringido a un área geográfica determinada (Smartt, 1990).

II) ADAPTACIONES DE LAS PLANTAS A LA DOMESTICACIÓN

La domesticación es un proceso mediante el cual el hombre selecciona y adecua organismos de origen silvestre a un conjunto de condiciones "artificiales" de crecimiento y desarrollo. En todo este proceso el hombre determina y selecciona los rasgos deseables que deben poseer. Harlan (1992) sugiere que el mayor tamaño de las semillas es una entre las adaptaciones de las plantas cultivadas. Muchas de las diferencias entre formas silvestres y cultivadas ocurren con sorprendente rapidez y son aceleradas por el incremento en la frecuencia de los fenotipos con valor antropocéntrico, proceso que difícilmente ocurriría en la naturaleza. Dado el amplio espectro de especies vegetales sometidas al proceso de domesticación y para tan diversos usos (alimenticio, mecánico, textil, medicinal, esencial, ornamental, etc.) conviene delimitar este

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

apartado al primero de los satisfactores del hombre: alimento. Y de ellos, a los granos, entre los que tanto cereales como legumbres tienen una posición de primera importancia, por el papel que han jugado aportando carbohidratos y proteínas a la dieta del hombre y de sus animales.

Uno de los rasgos más sobresalientes que distinguen a las formas domesticadas de sus ancestros silvestres ha sido la supresión de los mecanismos de dispersión de las semillas, característica que representa un indicio de domesticación claro (Harlan, 1992). En las leguminosas el proceso tiene sus implicaciones anatómicas, asociadas a diferencias en la orientación y el grado de lignificación de las fibras de las suturas de la legumbre, que la convirtieron en indehisciente (Smartt, 1990). Sin embargo, la retención de la semilla en cereales (y también en leguminosas) parece ser un mecanismo simple que está bajo el control de uno o dos genes y que se da con cierta frecuencia en la naturaleza (Harlan, 1992), así que la domesticación sólo aumentó la frecuencia de los genotipos con dicha característica.

Harlan (1992) y Smartt (1990) hacen una lista de cambios que, aunque referidos a cereales y leguminosas, pueden ser aplicables a otras plantas cultivadas. De las diferencias morfológicas entre formas silvestres y cultivadas que fueron acentuadas por la domesticación, destaca el "gigantismo" que se observa en las poblaciones domesticadas, como consecuencia del interés que el hombre puso desde un principio en semillas y frutos más grandes; estos rasgos traen consigo otros, como tallos más robustos para poder soportar aquellos, lo mismo que para soportar láminas foliares más amplias que incrementan el volumen de fotosintatos: es decir, hay cambios adicionales que no necesariamente estaban en la mente de los domesticadores y que son el resultado de una tendencia a mantener una correlación alométrica. Otra de las diferencias morfológicas entre las formas silvestres y cultivadas que ambos autores mencionan, es la forma de crecimiento. En las formas cultivadas el número de ramificaciones es menor y predomina el hábito de crecimiento y desarrollo determinado; también se acentúan las diferencias en la forma de vida, puesto que los domesticados (herbáceas) pasan de ser perennes (o semiperennes) a anuales; además, para fines de una agricultura extensiva y mecanizada, se acortan los ciclos de vida ejerciendo una presión de selección sobre los ritmos fenológicos, conduciendo a poblaciones cuyos procesos reproductivos sean cada vez más sincronizados.

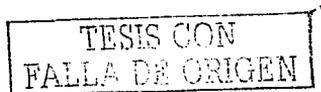
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Fisiológicamente, la presión de selección generada por la domesticación apunta hacia la mayor producción de materia seca dirigida hacia semillas y/o frutos, más que hacia otras formas de acumulación o reserva o tejido vegetativo cuando estas son las estructuras de interés antropocéntrico, ya que si se tratara de bulbos, tubérculos, hojas, fibras o celulosa, la domesticación apuntaría en otra dirección. Ese parece ser el rasgo fisiológico más distintivo entre formas silvestres y cultivadas. Sin embargo, el proceso de domesticación también ha acentuado otras diferencias fisiológicas entre ambas formas; una de ellas es la reducción o supresión de los procesos relacionados con la latencia de la semilla, característica que es muy importante en la homogenización de los ciclos de cultivo y cosecha; en este sentido, lo señalado por Harlan (1992) resulta interesante e ilustrativo del significado adaptativo de esta característica, ya que en un campo de cultivo, las primeras semillas en germinar producirán plántulas que tendrán menos competidores por la luz, y si éstas provienen de semillas grandes, su desarrollo inicial será más vigoroso; de tal manera que serán éstas y no las tardías las que tengan mayores oportunidades de pasar sus características (genes) a la siguiente generación. Otra de las diferencias está relacionada con la independencia, en general, del fotoperiodo, lo cual tiene un particular interés en especies que han sido introducidas en latitudes distantes de sus centros de origen, lo que ha sido bastante común.

No siempre una misma especie es seleccionada con idénticos propósitos o por las mismas preferencias. Se puede dar mayor importancia al color del grano, o el sabor, la textura o alguna otra propiedad, y en el proceso los rasgos asociados con las características de mayor interés serán también seleccionadas de forma indirecta. Reducir el fenómeno de la domesticación en una u otra dirección sería ignorar la riqueza de matices y direcciones que puede seguir el proceso.

III) EL GÉNERO *Phaseolus*. CENTROS DE ORIGEN Y DOMESTICACIÓN

El género *Phaseolus* L. es el más grande (cerca de 50 spp.) y económicamente más importante de la subtribu *Phaseolinae* en el nuevo mundo, a pesar de que la lista de especies en el género había sido abultada en el pasado al incluir en ella especies cultivadas y miembros de otros géneros. En América su distribución se centra en el altiplano mexicano y se extiende desde el norte de Argentina hasta el sur de Arizona central, Nuevo México y el oeste de Texas (Mercado-Ruaro y Delgado-Salinas, 1998).



El género es relativamente joven en términos evolutivos y posiblemente sus miembros comparten una constitución genética básica, así como una capacidad similar para responder a la selección por domesticación; además, mantienen una cierta capacidad de producir híbridos interespecíficos, mecanismo que ofrece muchas posibilidades para la generación de poblaciones con alta variabilidad genética. Sin embargo, no todos los taxa se encuentran expuestos a la presión de selección con fines de domesticación. De esta manera las especies geográficamente más remotas, teniendo probablemente las mismas potencialidades de domesticación, evidentemente han corrido con otra suerte y algunas especies con potencialidades para ser domesticadas, por accidentes fitogeográficos, quedaron relegadas (Smartt, 1990).

El conocimiento de los centros de origen resulta de interés, entre otras cosas, porque éstos constituyen un vínculo posible entre las formas cultivadas y silvestres de una misma especie, permitiendo la conservación de una potencial fuente de genes útiles que eventualmente llegan a perderse durante la domesticación. Las especies domesticadas se encuentran en la sección *Phaseolus*; ellas son (en orden de importancia): *P. vulgaris* (frijol común), *P. lunatus* (frijol lima), *P. coccineus* (frijol ayocote), *P. acutifolius* (frijol tépari) y *P. polyanthus* (frijol acalete) (Smartt, 1990; Gepts, 1996). Estas especies pertenecen a un mismo grupo monofilético, salvo *P. lunatus*, perteneciente a una rama vinculada a Sudamérica (Delgado-Salinas *et al.*, 1999).

En cuanto al origen de las formas domesticadas, en 1928 Ivanov (citado en Sousa y Delgado, 1979) propuso como centro de domesticación de *Phaseolus acutifolius* el suroeste de Estados Unidos de Norteamérica y el noroeste de México, donde coexisten las formas silvestres y cultivadas; sin embargo los restos arqueológicos más antiguos fueron encontrados en el área de Tehuacán, donde se cree que desapareció la forma silvestre por la acción de herbívoros domésticos. En 1943 Mackie (citado en Sousa y Delgado, 1979) basado en el tamaño de las semillas y en la presencia de formas menos seleccionadas, llegó a la conclusión de que *Phaseolus lunatus* era originario de Guatemala, pero los restos arqueológicos provenientes de Perú, donde las semillas encontradas en las ruinas más antiguas son de un tamaño bastante mayor que las correspondientes a las formas silvestres de las mismas localidades, sirvieron de apoyo a Allard, en 1960 (citado en Sousa y Delgado, 1979) para designar a esta región

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

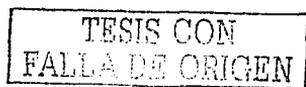
sudamericana como lugar de origen de la especie. En 1965 Kaplan (citado en Miranda, 1979) estableció que *P. lunatus* tuvo dos grandes centros de domesticación: Perú y México. Posteriormente, Brücher (1989) estableció que *P. lunatus* se comenzó a cultivar hace unos 2000 a 3000 años y propuso tres centros de domesticación independientes: el sureste de USA, Mesoamérica y la cordillera de Los Andes. Caicedo *et al.* (1999), señalan la existencia de dos pozos génicos para la forma silvestre de *P. lunatus*, uno entre Ecuador y Perú y otro entre Centroamérica y las tierras bajas de los trópicos sudamericanos.

Smartt (1990) indica que *Phaseolus polyanthus* tuvo dos centros de domesticación, uno en México y otro en Colombia; sin embargo, un estudio de variabilidad de proteína total en materiales silvestres, escapados y domesticados, sugiere que esta especie fue domesticada en Guatemala a partir de un ancestro aún presente en la región y que, posteriormente, fue introducido en el norte de Los Andes (Schmit y Debouck, 1991). El origen mexicano de *Phaseolus coccineus* es el menos discutido (Smartt, 1990), puesto que los restos arqueológicos coinciden con las áreas de los progenitores silvestres, que también son las zonas de mayor diversidad genética, es decir, la zona templada de México en una altura de ~2000 msnm.

IV) EL FRIJOL COMÚN (*Phaseolus vulgaris* L.)

Vavilov, en la tercera década del siglo XX, señaló a Mesoamérica como centro de origen de *Phaseolus vulgaris* debido a la gran variedad de poblaciones cultivadas presentes en dicha región; sin embargo, pese a muchos esfuerzos, no logró colectar la forma silvestre (o antecesor) para fundamentar su hipótesis (Gentry, 1969). Años más tarde comenzaron los reportes acerca de las poblaciones silvestres, primero en Sudamérica y posteriormente en la región de Guatemala. Con estos hallazgos, el origen americano del frijol común quedó finalmente aclarado (Gepts *et al.* 1986). Muy pronto se observó que entre las poblaciones silvestres Mesoamericanas y Andinas había diferencias fenológicas y morfológicas notorias (Vanderborght, 1983) que plantearon una nueva interrogante: ¿Dónde exactamente había ocurrido la domesticación del frijol común? y, como era de esperar, las hipótesis comenzaron a surgir casi con cada nuevo aporte o descubrimiento.

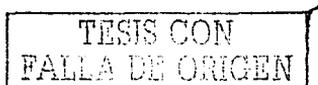
Según Miranda (1967, citado por Kaplan, 1981) al menos un grupo de poblaciones cultivadas de frijol se originó en la región de México y Guatemala; Gentry (1969) señaló que la



domesticación del frijol había ocurrido en México y que de allí habría sido llevado a Sudamérica. Sin embargo, para Berglund-Brücher y Brücher (1976, citado en Gepts *et al.*, 1986) el frijol pudo haber sido domesticado independientemente también en Sudamérica. Con el reporte de los primeros registros arqueológicos, que incluían hallazgos de antigüedad similar en Tehuacán (México) y el Callejón de Huaylas (Perú) (Kaplan, 1967; Kaplan *et al.* 1973), se inició el ordenamiento de este cultivo.

Evans (1976), anticipándose a muchos trabajos y autores, sugirió dos centros de domesticación, uno mesoamericano con cultivares de semillas pequeñas y otro sudamericano con cultivares de semillas más grandes. Sin embargo, Kaplan (1981), sobre la base de hallazgos arqueológicos más recientes y de otras consideraciones, apuntó hacia la hipótesis de una domesticación sudamericana que posteriormente se difundió hacia el norte, hacia Mesoamérica. Según él, las poblaciones silvestres presentes actualmente en Mesoamérica serían el resultado de una regresión temprana al medio silvestre de ancestros domesticados.

Por esos años se iniciaba la aplicación de nuevas técnicas en la solución de problemas filogenéticos, las cuales también fueron usadas en frijol. El análisis de los patrones electroforéticos de la faseolina, la principal proteína de la semilla (Ma y Bliss, 1978; Brown *et al.*, 1982), reveló la presencia de diversos tipos ("T", "S" y "C") entre cultivares de frijol, en los que los fenotipos "T" y "S" resultaron ser distintos entre sí y no presentaban polipéptidos comunes, mientras que el fenotipo "C" parecía ser un tipo de recombinante de los anteriores, con los que compartía similitudes. Esto condujo a Gepts *et al.* (1986) a comparar los patrones electroforéticos de faseolina entre las formas silvestre y cultivada, encontrando que: i) había gran variabilidad en la forma silvestre mesoamericana; ii) esta gran variabilidad no se encontró en la contraparte andina, la cual sólo presentó el patrón tipo "T"; iii) la forma cultivada mostraba patrones geográficos en los que el tipo "S" era predominantemente mesoamericano, mientras que el tipo "T" era característico de Sudamérica; y finalmente iv) había una estrecha relación entre el tamaño de la semilla y el tipo de patrón en la forma cultivada, relacionándose "T" con semillas grandes y "S" con semillas pequeñas. Estos resultados reforzaron la hipótesis de la domesticación independiente en las dos regiones, planteada por Evans (1976) y también pusieron en relieve la posible existencia de un ancestro común de ambos grupos de frijol.



Colombia, por su situación geográfica y antecedentes culturales, comenzó a verse como una zona de posible encuentro y contacto entre estos dos, y cada vez más aceptados, centros de domesticación y acervos genéticos; las costas atlántica y pacífica, los grandes ríos navegables, las antiguas civilizaciones, hacían de esta región un cruce de caminos y un lugar de contactos natural y cultural obligados entre el norte y el sur del continente (Bernal y Riechel-Dolmatoff, 1953, 1965; citados en Gepts y Bliss, 1986). Además, diversos autores habían reportado la presencia de poblaciones silvestres en la región oriental de los Andes colombianos (Gepts y Bliss, 1986).

Los patrones electroforéticos de faseolina de materiales provenientes de esta región del norte de Sudamérica, revelaron que a medida que se avanzaba hacia el sur, el tipo de faseolina "S" (asociado a la semilla pequeña mesoamericana) se hacía menos frecuente, hasta desaparecer; mientras que el tipo "T" (asociado a la semilla grande andina) se incrementaba. Pero los patrones electroforéticos de la faseolina revelaron algo aún más interesante. Entre las formas cultivada y silvestre colombianas se encontraron patrones tipo "B" y "CH" no encontrados en materiales provenientes de otras zonas geográficas, sugiriendo a Colombia como un nuevo centro de domesticación para el frijol (Gepts y Bliss, 1986).

Los estudios hechos con la faseolina de materiales silvestres y cultivados revelaron, en primer lugar, que era posible distinguir las poblaciones silvestres de cualquier lugar de procedencia con base en sus tipos de faseolina ("S" y "M" en Mesoamérica, "B" y "CH" en Colombia y "T" al sur de los Andes), lo mismo ocurría para las poblaciones cultivadas relacionadas; en segundo lugar, era casi un hecho que la domesticación del frijol había sido múltiple (al menos en dos áreas principales, una en Mesoamérica y otra en el sur de los Andes, y una menor en Colombia). También se puso de manifiesto que el proceso de domesticación estaba acompañado de una reducción en la diversidad genética en la forma cultivada, en comparación con la de poblaciones silvestres relacionadas (Koenig *et al.*, 1990; Sonnante *et al.*, 1994).

La presencia de una mayor diversidad de poblaciones en Mesoamérica (Delgado, 1985) hizo retomar la idea original de Vavilov de considerar a esta región como centro de origen tanto del género como de la especie *Phaseolus vulgaris*, y que su posterior dispersión hacia los Andes explicaba la reducción, hoy notoria, de la diversidad genética en aquella región de adopción.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Sin embargo, esto suscitó nuevas consideraciones y la polémica continuó abierta; ya que las diferencias en diversidad genética podrían obedecer a otras razones.

Para Koenig *et al.* (1990), debido a que las poblaciones silvestres sudamericanas habían sido localizadas en ambientes cerrados (bosques mesotérmicos desde Venezuela hasta Argentina), habría ocurrido una fuerte presión de selección hacia semillas más grandes capaces de producir plántulas vigorosas, mientras que las mesoamericanas, asociadas más bien con vegetación secundaria o de tipo arbustivo y mucho más abierta, habrían dirigido la selección hacia semillas más pequeñas. Adicionalmente, la región Andina probablemente ofreció una menor diversidad ambiental y, por lo tanto, una menor diversidad en la selección que la que pudo haber ofrecido la región mesoamericana.

Los análisis de isoenzimas (Koenig y Gepts, 1989; Singh *et al.* 1991a) realizados para complementar los estudios de diversidad de faseolina, confirmaron el panorama de la organización de la diversidad genética del frijol, revelando de nuevo la existencia de dos grandes grupos: uno desde México hasta Perú y otro desde allí hasta Argentina y confirmaron la mayor diversidad mesoamericana en comparación con la del acervo genético andino. También se puso de relieve la presencia de una zona geográfica de transición (Colombia-Perú) entre los dos grandes grupos mesoamericano y andino, que nuevamente sugirió considerar a esa región como un centro menor de diversidad y domesticación de la especie.

Debouck *et al.* (1993) realizaron un estudio detallado de diversidad genética y distribución ecológica de la región noroccidental sudamericana, para lo cual contaron con materiales no estudiados ni reportados previamente, producto de nuevas colecciones hechas en la región. Encontraron que la distribución del frijol constaba de tres sub-regiones discontinuas (desde Venezuela hasta Perú), correlacionadas con ambientes secos y temperaturas intermedias, conocidos como "bosques secos montanos". También encontraron que las variedades de origen andino eran cultivadas a mayor altitud que las de origen mesoamericano, con lo que se concluiría que las variedades andinas habían sido adaptadas a temperaturas más frescas.

Los análisis de isoenzimas y faseolinas de esos materiales mostraron que algunas poblaciones silvestres de Ecuador y del norte de Perú podrían ser intermedias entre los dos grandes grupos, sugiriendo que podrían constituir híbridos entre ambos acervos genéticos o que podrían

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

representar relictos de un ancestro común del que se habrían separado en tiempos pre-agrícolas las dos grandes ramas actuales (Debouck *et al.* 1993). Previamente Khairallah *et al.* (1990) habían encontrado, en materiales de esta misma región, una mayor diversidad de ADN mitocondrial (mtADN) en comparación con los pertenecientes a los dos grandes grupos.

Adicionalmente, se ha sugerido que el frijol se encuentra en una fase de especiación que podría culminar con la generación de barreras en el flujo genético entre los dos grandes acervos. Un fuerte argumento en este sentido ha sido la presencia de letalidad F1 en algunos híbridos entre fenotipos mesoamericanos y andinos (Gepts y Bliss, 1986), cuyo mecanismo tiene un control genético sencillo y que consta de dos genes complementarios, los cuales al unirse impiden un desarrollo radicular normal (Gepts, 1994).

Luego de largos años de trabajo y muchos datos a favor, pudiera ser que la doble domesticación del frijol común haya quedado bien establecida (Debouck, 1996), no obstante, quedarían todavía por aclararse los detalles del proceso dentro de cada región, para lo cual se requiere establecer las ubicaciones de las regiones de domesticación para cada acervo (Gepts, 1994).

También, permanece sin respuesta lo relacionado con la génesis u origen del frijol. Al respecto, Debouck (1996) plantea dos hipótesis: 1) uno de los acervos genéticos deriva del otro, o 2) los dos provienen de un tercero, que vendría a ser ancestral para ambos. Este autor se inclina por la segunda hipótesis, basándose en nuevos datos sobre las faseolinas. En la región de Ecuador y Perú se han encontrado poblaciones con faseolina tipo "I" que es de menor complejidad que las "S" y "T", que son características de los dos grandes grupos y por lo tanto la secuencia de nucleótidos responsables de la faseolina "I" debería ser considerada como primitiva o ancestral. Por otro lado, la estructura secundaria de esta proteína es muy similar a una globulina que se encuentra presente en *Phaseolus polyanthus*, por lo que se podría especular que pertenecen al mismo linaje. Los análisis de ADN de cloroplastos (cpADN) muestran estrechas relaciones entre *P. vulgaris* de Ecuador y *P. polyanthus* centroamericano. Además, se considera que *P. vulgaris*, *P. polyanthus* y *P. coccineus* constituyen un grupo capaz de producir híbridos, probablemente junto con *P. costaricensis* Freytag & Debouck, recientemente descrito (Freytag y Debouck, 1996).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Con todas las evidencias acumuladas también se podría especular que el actual *Phaseolus vulgaris* evolucionó en la región comprendida entre Guatemala y norte de Perú, de donde migró hacia los paralelos tropicales posteriormente (Debouck, 1996). La existencia de una ligera superioridad en diversidad genética en los frijoles mesoamericanos con respecto a los andinos es el argumento esgrimido para establecer un origen mesoamericano de la especie; pero esta diferencia en la diversidad, de acuerdo con Debouck (1996), puede obedecer a dos razones: una, que el hábitat ocupado en Centroamérica y México es mucho más amplio que el ocupado en Los Andes; dos, que todo parece indicar que *P. vulgaris* en su migración al norte, antes de ser la especie actual, lo hizo en compañía de otras especies con las que comparte secuencias de ADN mitocondrial o cloroplástico, mientras que su migración al sur pudo ser más solitaria.

Un análisis filogenético del género basado en características morfológicas y moleculares reveló la existencia de una estrecha relación entre genotipos provenientes de Perú y Ecuador, que son considerados como ancestros de *Phaseolus vulgaris*, sin embargo, dicho análisis no detectó la existencia de los acervos génicos Mesoamericano y Andino descritos para la especie (Delgado-Salinas *et al.*, 1999). Por otro lado, la aplicación de nuevas técnicas de datación de objetos arqueológicos sugiere la ausencia de frijol domesticado de los centros agrícolas mesoamericanos hasta hace ~2300 años y en Los Andes ~2000 años más antigua (Kaplan y Lynch, 1999). Al parecer, no se ha dicho todavía la última palabra en este sentido.

V) DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LA FORMA SILVESTRE

DE *Phaseolus vulgaris* Y RAZAS ASOCIADAS

El conocimiento actual de *Phaseolus vulgaris* establece que la especie se encuentra distribuida desde el norte de México (~30° N) hasta el noroeste de Argentina (~35° S) en una amplitud altitudinal que abarca desde los 500 a los 2000 msnm y en una pluviosidad desde 500 hasta 1800 mm (Gepts, 1998). Las poblaciones abundan en México, y son menos frecuentes en Centroamérica. Se presentan, en Los Andes, desde el occidente venezolano hasta la región central de Colombia. Luego de un aparente vacío en el suroeste colombiano, reaparecen en Ecuador a lo largo de la vertiente pacífica de la cordillera hasta Perú, donde toman la vertiente oriental a través de Bolivia y finalizan en San Luis, Argentina. Esta amplitud geográfica de

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

distribución sin duda habrá posibilitado distintos tipos de presiones de selección, introduciendo, inevitablemente, gran variabilidad genética en la especie (Debouck, 1996).

La forma silvestre *Phaseolus vulgaris* está ampliamente distribuida en México desde las regiones semiáridas (~350 mm de pluviosidad anual) al norte, hasta las regiones subtropicales al sur (~2000 mm de pluviosidad anual), a lo largo de la Sierra Madre occidental y en el eje neovolcánico central de México, en un rango altitudinal de 800 a 2200 msnm, colonizando diversos ambientes, usualmente hábitat perturbados con vegetación secundaria (Acosta-Gallegos *et al.*, 1998).

Con base en el análisis de patrones isoenzimáticos, tipos de faseolina y de ciertos caracteres morfológicos y fenológicos, se ha propuesto la existencia de razas relacionadas con las poblaciones cultivadas actuales (Singh *et al.*, 1991b). La raza *Mesoamérica*: de zonas cálidas y húmedas de Mesoamérica y las partes de baja altitud de Sudamérica, de hábito de crecimiento variado, de folíolos grandes y entrenudos cortos, de ciclo largo e insensibles al fotoperiodo. La raza *Durango*: de zonas secas y frescas del norte de México, de crecimiento indeterminado, postrado o semitrepador, de hojas pequeñas y entrenudos largos, con ciclo corto. La raza *Jalisco*: de regiones altas y húmedas del sur de México, Centroamérica y norte de Los Andes, de hojas de medianas a grandes, de crecimiento indeterminado, fuerte habilidad trepadora y de crecimiento vigoroso. La raza *Nueva Granada*: de las alturas intermedias del norte de los Andes, de hojas grandes, entrenudos medianos, insensible al fotoperiodo y forma de crecimiento variable. La raza *Perú*: de zonas andinas más elevadas (>2000m), de hojas grandes y lanceoladas, de largos entrenudos, de crecimiento variable y muy sensible al fotoperiodo. La raza *Chile*: de Los Andes meridionales y ambientes secos, de hojas pequeñas, entrenudos cortos y de crecimiento indeterminado.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

SEGUNDA PARTE

1) INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) se cultiva ampliamente en todo el mundo a causa del valor nutricional de sus semillas y frutos; de acuerdo a los datos manejados por la FAO (1997; citados por Gepts, 1998) algunos países del continente americano (Brasil, México y USA) ocupan los primeros lugares de producción de granos, mientras que Europa (Turquía, España e Italia) encabeza la producción de frutos verdes comestibles. A pesar de la evidente importancia nutricional y económica de este cultivo, el rendimiento de frijol (650 kg/ha) se encuentra bastante rezagado en comparación con su rendimiento potencial (4000-5000 kg/ha), lo cual obedece, entre otras posibles razones, al desaprovechamiento de los recursos genéticos en el incremento de la resistencia a factores bióticos y abióticos que impiden la expresión de dicho rendimiento potencial (Gepts, 1994).

Después de las enfermedades, la disponibilidad de agua es el factor que mayor incidencia tiene en el rendimiento del frijol (Schneider *et al.*, 1997); es considerado como el principal causante de las fluctuaciones en las cosechas y reconocido como una de las primeras causas mundiales de su baja productividad (Ramírez, 1992). La disponibilidad de agua limita la productividad, afectando principalmente el crecimiento foliar y radical, la conductancia estomática, la fotosíntesis y la acumulación de materia seca (Blum, 1997; citado en Pimentel *et al.*, 1999). Siendo la sequía el factor ambiental que más influencia tiene sobre el crecimiento y el desarrollo vegetal, todo conocimiento acerca de las respuestas de las plantas a dicho factor, y de los posibles mecanismos de resistencia, contribuye al entendimiento de las adaptaciones vegetales a ambientes extremos y tiene relevancia desde el punto de vista del manejo y la productividad (Schulze *et al.* 1987).

En general, estos mecanismos de resistencia tienden a reducir el consumo de agua y contribuyen a retardar la desecación. Los conocimientos actuales acerca de la plasticidad fenotípica han permitido entender que en organismos sésiles como las plantas, sometidos a las fluctuaciones ambientales, las respuestas a los cambios en el ambiente inmediato son particularmente plásticas debido a que pueden variar el número y tamaño de sus partes y pueden distribuir y redistribuir recursos hacia varios tejidos (Sultan, 1995). Si esto es válido

para especies ecológicamente restringidas a ambientes muy particulares, cuanto más lo será para especies con una distribución más amplia que potencialmente ofrece la ocupación de un mayor número de nichos.

En México existen poblaciones silvestres geográficamente relacionadas con tres de las razas cultivadas descritas para la especie: *Mesoamérica*, distribuida en las zonas de baja altitud, cálidas y húmedas; *Jalisco*, distribuida en las regiones altas y húmedas del sur; y *Durango*, presente en las zonas altas, secas y frescas del norte (Singh *et al.*, 1991b; Acosta-Gallegos *et al.*, 1998). Esta amplia distribución geográfica hace suponer la existencia de gradientes ambientales tanto latitudinal como altitudinalmente, que posibilitan diversos mecanismos de presión y de selección y, en consecuencia, generan variabilidad genética en la especie. Esta variabilidad resulta evidente en la morfología de las poblaciones de *Phaseolus vulgaris*, tanto silvestres como domesticadas y con base en ella, así como en características fisiológicas y moleculares, se ha propuesto la agrupación de los diversos genotipos en un total de seis razas pertenecientes a los acervos genéticos mesoamericano y andino (Singh *et al.*, 1991b).

En este trabajo se parte de la hipótesis que la domesticación de *Phaseolus vulgaris*, siendo un proceso dirigido a incrementar el rendimiento de granos, también pudo haber conducido al incremento, la reducción o incluso a la pérdida de ciertos rasgos anatómicos valiosos para la resistencia a condiciones hídricas adversas, mismos que podrían estar presentes en las poblaciones silvestres actuales. Enmarcados en este escenario, se evaluó la anatomía foliar y caulinar de genotipos silvestres de *Phaseolus vulgaris* provenientes de tres regiones distintivas de México y se comparó con genotipos cultivados asociados (Singh *et al.*, 1991b) en individuos desarrollados bajo condiciones contrastantes de disponibilidad de agua, con el objeto de documentar la variabilidad de los atributos estructurales de la especie.

II) ANTECEDENTES

Cualquier cambio ambiental que resulte en una respuesta de la planta menor a la óptima, puede ser considerado estresante (Salisbury y Ross, 1994). Levitt (1972; citado en Salisbury y Ross, 1994) introdujo el término estrés biológico para designar a toda alteración del ambiente que reduzca el crecimiento o desarrollo de la planta, es decir, que produzca una deformación. Este concepto resulta útil ya que distingue entre la causa (estrés) y el efecto (deformación).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

aún cuando los factores de estrés, por lo general, no se presentan solos y las respuestas suelen ser complejas (Larcher *et al.*, 1990; citado en Salisbury y Ross, 1994). Para los fines de este trabajo resulta interesante el enfoque dinámico de la respuesta al estrés, propuesto por Salisbury y Ross (1994) en virtud del cual la función de interés pasa por un estado de alarma en que se aleja de la norma, seguida de un estado de resistencia, mediante un reajuste o adaptación; finalmente, si el factor estresante persiste o aumenta, se llega a un estado de agotamiento, dado por un nuevo alejamiento de la norma que a la postre, puede conducir a la muerte.

Muchos autores coinciden en que la disponibilidad de agua es el factor ambiental que más influye tanto en la distribución como en el crecimiento y el desarrollo de las plantas (Kramer, 1969; Hsiao, 1973; Begg, 1980; Carlquist, 1980; Baas, 1986). Dependiendo de la disponibilidad hídrica y del conjunto de sus efectos, las plantas han sido agrupadas en hidrófitas, mesófitas y xerófitas. Dado que la mayoría de las plantas cultivadas pertenecen al grupo de las mesófitas, la mayoría de los estudios sobre estrés hídrico han sido realizados dentro de este grupo vegetal (Salisbury y Ross, 1994). La tensión, estrés o déficit hídrico en las plantas, se refiere a situaciones en las que las células y tejidos no están plenamente turgentes debido a una pérdida excesiva de agua o a una absorción inadecuada (Salisbury y Ross, 1994; Kramer, 1969). Sin embargo, dado que aún las plantas que crecen en suelos húmedos llegan a presentar síntomas de marchitez en días calurosos y soleados, se considera que la pérdida de agua por transpiración es la causa fundamental del déficit hídrico en las plantas. Aunque la transpiración explica el déficit hídrico momentáneo, la reducción de la disponibilidad de agua del suelo es la causa de los más graves y prolongados estados de estrés hídrico en las plantas (Kramer, 1969).

Slatyer (1967; citado en Kramer, 1969) analizó los cambios producidos en una planta que transpira a medida que se reduce la disponibilidad de agua del suelo al que se le ha suspendido el riego; él encontró un ciclo diario de potenciales hídricos en la planta como consecuencia del desfase entre la absorción y la transpiración; mientras que la disponibilidad de agua es lo suficientemente alta, la planta equilibra su potencial hídrico con el del suelo durante la noche, lo cual puede repetirse durante algunos días hasta que la disponibilidad de agua ha disminuido tanto que el equilibrio ya no es posible y se produce la marchitez permanente de la planta.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El cierre estomático y el cese del crecimiento celular son de los primeros efectos de la pérdida de turgencia a causa del déficit hídrico (Kramer, 1969; Hsiao, 1973). Posiblemente a ello obedece que se haya puesto tanto énfasis en los mecanismos de regulación de la apertura y cierre de los estomas, tanto a nivel fisiológico como bioquímico, como respuesta a la sequía o a situaciones temporales de estrés hídrico (Turner y Kramer, 1980; Schulze *et al.*; 1987; Barradas *et al.*, 1994). Incluso muchos estudios y evidencias apuntan en la dirección de que tanto el cierre estomático como la reducción del crecimiento foliar podrían ser inducidos por la desecación del suelo antes de que haya síntomas mensurables de deficiencias hídricas en el vástago. Muchos trabajos se han dirigido a la identificación de una "señal química" que, originada en las raíces, viajaría hasta la parte aérea como una señal de alarma (Trejo y Davies, 1991), aunque otros autores sugieren que la señal es de naturaleza hidráulica (Canny, 1995; Malone, 1992). Lo que sí parece quedar claro es que la disponibilidad de agua, al determinar el desarrollo y las dimensiones de la hoja, afecta la superficie fotosintética y transpiracional; en otras palabras, hay un consenso general en que los bajos potenciales hídricos en los tejidos limitan la fotosíntesis y el crecimiento vegetal (Tsuda y Tyree, 2000).

Según Kramer (1969) el término "resistencia a la sequía" se relaciona con los distintos medios por los cuales las plantas sobreviven a periodos de tensión hídrica ambiental, bien sea porque el protoplasma de sus células sobreleve la deshidratación sin daños permanentes o porque posean características estructurales o fisiológicas que les permiten el aplazamiento o evasión de niveles letales de desecación. Esto plantea un conflicto antropocéntrico en el caso de las plantas cultivadas puesto que el interés se centra, más que en la sobrevivencia de la progenie, en el rendimiento (acumulación de materia, semillas, etc.) en el que la reducción se inicia mucho antes de cualquier riesgo de muerte por desecación. En el caso particular de *Phaseolus vulgaris*, por ejemplo, se consideran genotipos resistentes a la sequía a los que logran mantener un alto rendimiento y tasa de crecimiento de semillas por fruto, el amarre de vainas y el contenido de humedad foliar, entre otros (Ramírez, 1992). En las mesófitas, en general, los mecanismos de resistencia a la sequía están relacionados con el aplazamiento o la evasión de la tensión hídrica, los cuales pueden ser agrupados en tres categorías: a) ajuste del ciclo de vida a las condiciones hídricas más favorables; b) el desarrollo de un sistema de raíces profundo, ramificado y extendido; y c) reducción de la transpiración mediante el cierre estomático o la cutinización de las epidermis o el desprendimiento de las hojas (Kramer,

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1969); asimismo la reducción del tamaño y la modificación de la orientación foliar también parecen ser mecanismos comunes y efectivos de adaptación a situaciones de estrés hídrico (Begg, 1980).

Rasgos como potencial hídrico foliar, resistencia de la difusión foliar, patrón de enraizado y densidad estomática han sido asociados con incrementos de la tolerancia a la sequía y a la eficiencia del uso del agua; sin embargo, es posible que ciertos rasgos anatómicos de adaptación a la sequía, no se correspondan con la eficiencia en el uso del agua (February *et al.* 1995). Curiosamente, siendo los caracteres estructurales los que más contribuyen en la conformación de las estrategias adaptativas de resistencia a la sequía entre las mesófitas (Turner y Kramer, 1980) éstos han sido muy poco documentados (Arnold y Mauseth, 1999).

Desde la publicación de "Ecological Strategies of Xylem Evolution" (Carlquist, 1975), la diversidad anatómica del xilema ha sido reinterpretada como resultado de una evolución funcionalmente adaptativa. Algunas tendencias como la reducción del diámetro de los vasos o el incremento en densidad de los mismos debido a incrementos de la sequía, han sido bien establecidos en términos de seguridad en la conducción del agua (Carlquist, 1980; Baas, 1986; Sperry y Sullivan, 1992). El transporte hídrico y la resistencia mecánica, son interpretados funcionalmente al correlacionarlos con factores ambientales (Baas, 1982). También se ha sugerido que muchos de los efectos del estrés hídrico tales como la marchitez, el cierre estomático, la reducción del crecimiento, podrían ser interpretados como respuestas a señales originadas por incrementos en la tensión hídrica del xilema (Canny, 1995). Todo esto habla de cambios a nivel fisiológico o morfológico, y también a nivel estructural, como respuesta al estrés hídrico.

La resistencia al estrés hídrico se considera como una característica multigénica y en el caso de *Phaseolus vulgaris* se mencionan dos mecanismos de adaptación a este estrés, representados por control estomático y desarrollo radical (Laffray y Loguet, 1990; Kuruvadi y Aguilera, 1990; citados por Pimentel *et al.*, 1999). De esta manera se ha encontrado que en *P. vulgaris* el cierre estomático es más rápido que la apertura, lo cual resultaría estratégicamente ventajoso en relación al uso eficiente del agua (Barradas *et al.*, 1994); por otro lado, los movimientos parahelionásticos que impiden el sobrecalentamiento foliar y las pérdidas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

excesivas de agua, constituyen otro importante mecanismo foliar de resistencia a la sequía, pese a que no se presentan en todos los genotipos de *P. vulgaris* (Moreno *et al.*, 1993; Ramírez, 1992; Velázquez, 1986). La expansión foliar es bastante sensible a los cambios en la presión de turgencia (Kim y Lee-Standelmann, 1984; Pardossi *et al.*, 1994; Schneider *et al.*, 1997), por lo que la reducción del tamaño de las hojas, aunque no es una respuesta activa, tendría valor adaptativo bajo condiciones de estrés hídrico. Debido a la diversidad genética y plástica de la especie, al carácter multigénico de los mecanismos de resistencia a la sequía y a la diversidad y plasticidad de las respuestas, no se ha logrado establecer correlaciones claras entre tolerancia a la sequía y morfología (Pimentel *et al.*, 1999; Ramírez, 1992; Rodríguez, 1996; Schneider *et al.*, 1997); sobre todo porque esta última está determinada en su mayor parte por caracteres génicos simples.

Al igual que en otras mesófitas (Delgado *et al.*, 1992; Kebede *et al.*, 1994; Nautiyal *et al.*, 1994; Navea, 1990, 1993), en *Phaseolus vulgaris* han sido observadas diferencias en grosor foliar, proporción de tejidos del mesófilo, índices de estomas y de pubescencia, diámetro y frecuencia de vasos entre genotipos sensibles y resistentes a sequía, lo cual sugiere la existencia de alguna relación entre la tolerancia a sequía y el linaje (origen génico) de *P. vulgaris* (Navea, 1997). También se ha reportado variación genética en parámetros fisiológicos relacionados con la fotosíntesis entre poblaciones silvestres de *P. vulgaris* provenientes de diferentes regiones de origen (Lynch *et al.*, 1992), así como entre formas cultivada y silvestre dentro y entre los dos grandes grupos genéticos y sitios de origen (González *et al.*, 1995), lo que sugeriría variación de los atributos anatómicos relacionados con esos rasgos fisiológicos.

III) MATERIALES Y METODOS

Material vegetal: Las semillas de *Phaseolus vulgaris* utilizadas en este trabajo provienen del Programa de Botánica del Colegio de Postgraduados (Cuadro 1). A estas semillas se les aplicó una prueba de germinación para evaluar su viabilidad; para ello, 10 semillas de cada genotipo fueron esterilizadas con hipoclorito de sodio al 6%, escarificadas y envueltas en papel húmedo suavemente enrollado, a modo de tubo, y colocados en bolsas plásticas; las bolsas se llevaron a cámara de cultivo a 25° C y se hizo un conteo de germinación cada 24 horas hasta las 72 horas transcurridas. Con base en: a) las agrupaciones en razas sugeridas por Singh *et al.* (1991b), b) el origen de los materiales y c) los resultados de la prueba de germinación de los

materiales disponibles, se hizo una selección de tres genotipos silvestres y tres cultivados procedentes de tres regiones geográficamente distintivas de México (Cuadro 1) que en lo sucesivo se denominarán Mesoamérica, Jalisco y Durango, de acuerdo con Singh *et al.* (1991b).

Cuadro 1. Genotipos disponibles de *Phaseolus vulgaris* silvestres (S) y cultivados (C), cortesía del Programa de Botánica del Colegio de Postgraduados; la elección de los genotipos (en negritas) se fundamentó en la raza, la altitud y la latitud, en los silvestres; en los cultivados por asociación con la procedencia de los primeros. Hábitos de crecimiento: determinado arbustivo (I), indeterminado arbustivo (II), indeterminado postrado (III) e indeterminado trepador (IV) (por comparación con Ospina, 1980 y Singh *et al.*, 1991b).

Nominación	Habito de Crecimiento	Forma	Raza	Procedencia	Localidad	Altitud msnm	Viabilidad (% a 72 h)
Pinto Nacional		C	Durango	F.I. Madero, Durango		80	
Bayo Baranda	II - III	C	Durango	Calera, Durango	- 23°48'N, 104°17'W	100	100
JAG-113	III	S	Durango	Durango	24°00'N, 104°44'W	1860	100
JAG-104		S	Durango	N. de Dios, Durango	24°02'N, 104°00'W	1850	80
Puebla 152	II	C	Jalisco	Puebla	- 19°03'N, 98°12'W	100	100
Flor de Mayo		C	Jalisco			90	
G10019A	IV	S	Jalisco	Jungapeo, Michoacán	19°28'N, 100°29'W	1250	70
G12963		S	Jalisco	Juanacallán, Jalisco	20°32'N, 103°11'W	1524	70
Frijol de Suelo	I	C	Mesoamérica	Nicolás Ruíz, Chiapas	-16°24'N, 92°31'W	90	90
Veracruz-98		C	Mesoamérica	Veracruz		100	
Chitamá	III	S	Mesoamérica	V. Carranza, Chiapas	16°19'N, 92°27'W	775	80
Teopisca		S	Mesoamérica	Ejido Teopisca, Chiapas	16°28'N, 92°32'W	1150	70

Suelo: Se usó una mezcla de suelo agrícola y orgánico con arena en una proporción de 2:1:1. La mezcla fue esterilizada con bromuro de metilo (0.5 kg.m⁻³) cubierta durante 48 horas y aireada durante otras 24. El contenido de humedad a capacidad de campo de la mezcla fue de 31.6%. Este valor se estimó mediante la diferencia de pesos fresco y seco (una muestra de 100 g de suelo saturado de humedad -peso fresco- desecada durante 48 horas a 75° C; el peso seco fue 68.4 g). Las plantas utilizadas fueron cultivadas en macetas plásticas (~15 cm de radio x 35 cm de alto) con un contenido de 14 kg de suelo saturado de agua. En el fondo de cada maceta se aplicaron perforaciones discretas para garantizar un buen drenaje del exceso de agua. Dado que el contenido de humedad del suelo fue de 31.6%, para los efectos del ensayo se consideró equivalente a ~ 4.4 litros de agua (valor variable) y ~ 9.6 kg de suelo (valor fijo).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tratamientos hídricos: Se aplicaron dos tratamientos hídricos denominados, para fines prácticos, como de *Riego* y de *Sequia*. En adelante, el tratamiento denominado *Riego* deberá ser entendido como un suministro de agua hasta capacidad de campo (~ 4 veces por semana, 730 ± 269 ml cada dosis); mientras que el denominado *Sequia* será entendido como aquel en el que el suministro de agua fue suspendido hasta alcanzar -y mantenerse- entre valores de 10.5 – 11.5 kg por maceta, equivalentes a un contenido de humedad entre 20% y 40% del contenido inicial de humedad. Una vez alcanzados esos valores, controlados por un riguroso monitoreo del peso de las macetas antes de compensar el agua consumida (Figura 1A), se aplicó riego deficitario (~ 4 veces por semana, 124 ± 78 ml cada dosis) dentro del intervalo establecido como *Sequia*; cada maceta fue cubierta con una lámina de papel de aluminio, con el objeto de reducir la evaporación.

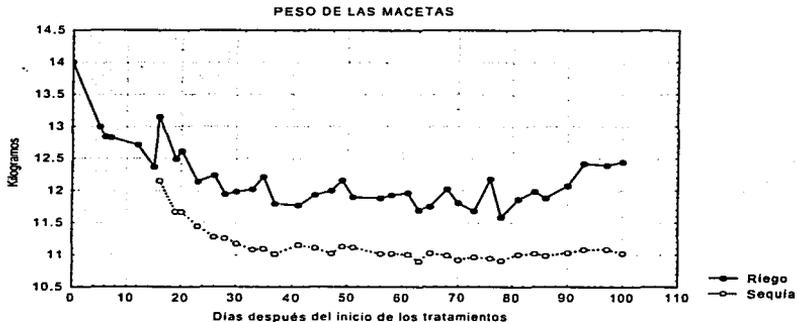


Figura 1A. Variación del peso de las macetas a lo largo del ensayo. Los valores son el peso promedio de 5 macetas por tratamiento (*Riego*, línea continua; *Sequia*, línea punteada) seleccionadas al azar y pesadas antes de compensar el agua consumida. Las fluctuaciones pueden estar asociadas con días soleados o nublados.

La curva de retención de humedad aplicada a la mezcla de suelo utilizada indica que el punto de marchitez permanente (PMP = -1.5 MPa) se alcanza con un contenido de humedad ~11% (Figura 1B); dado que el tratamiento de *Sequia* fue equivalente a contenidos de humedad entre 20-40%, se consideró que, si bien sería hídricamente estresante, no produciría los daños

severos de la marchitez permanente. Por otro lado, la reducción gradual en la disponibilidad de agua, hace suponer que las plantas tendrían oportunidad de realizar ajustes adaptativos.

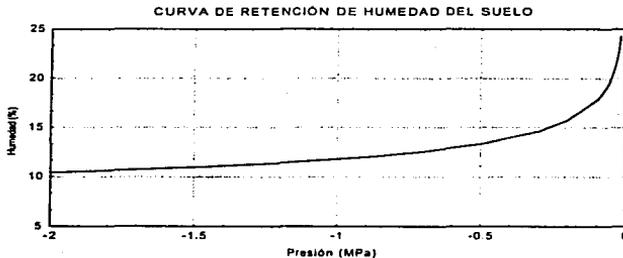


Figura 1B. Curva de retención de humedad (contenido de humedad vs presión hídrica) de una muestra de la mezcla de suelo utilizada. El punto de marchitez permanente (-1.5 MPa) se alcanza a un contenido de humedad del suelo de ~10%, muy inferior al tratamiento de *Sequia*.

Cultivo: Las semillas fueron sembradas el 15 de julio de 1998. La siembra fue de tres semillas escarificadas por maceta, con el propósito de garantizar al menos una planta en buenas condiciones (Figura 2). La muestra fue de 20 individuos por genotipo para un total de 120 individuos, distribuidos en diseño de bloques completos al azar (silvestres-cultivados x riego-sequia) con diez repeticiones. El cultivo se realizó bajo condiciones de invernadero (Figura 3) (Colegio de Posgraduados, Montecillo, Estado de México, 19°29'N, 98°53'W; a 2250 msnm). Todas las plántulas crecieron bajo *Riego* (suministro de agua a saturación 3 ó 4 veces por semana) hasta la fase V3 (CIAT, 1985) cuando se desplegó la primera hoja trifoliada, lo que ocurrió 15 días después de la siembra. Se seleccionó la plántula más vigorosa, eliminándose las restantes. A partir de la fase V3 se inició el tratamiento *Sequia* en las macetas correspondientes a cada repetición; una vez alcanzado el valor "estresante" de humedad del suelo (20 días después de la suspensión del riego), se aplicó riego deficitario (entre 200 y 300 ml de agua) 3 ó 4 veces por semana hasta la madurez fisiológica. Las macetas pertenecientes al tratamiento *Riego*, siempre recibieron agua a saturación de suelo 3 ó 4 veces por semana.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



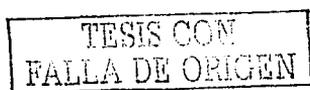
Figuras 2 y 3. Maceta con tres plántulas de *Phaseolus vulgaris* antes del inicio de la fase V3 (2) ~5 días después de la siembra; de ellas se seleccionaría la que se encontrara en mejores condiciones. Panorámica interior del invernadero donde se realizaron los ensayos (3); se trata básicamente de un cobertizo plástico y armazón metálica. Las macetas reposan sobre una cama de grava que facilita el drenaje.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Anatomía foliar: La muestra foliar, que se tomó en la fase V4 (40 días después de la siembra) previa a la floración (CIAT, 1985), consistió en el foliolo terminal de la 4ª hoja totalmente desplegada de cada individuo; se procedió así con el objeto de reducir el efecto de las diferencias que pudieran presentarse entre hojas de diferentes nudos del vástago (Ashby, 1948; Metcalfe y Chalk, 1979). Los foliolos (5 de cada uno de los 6 genotipos en cada tratamiento) se fijaron inmediatamente en solución FAA (Roth, 1964). Se determinó el área foliar (AF) mediante un integrador de área (LI, COR LI3000). Los caracteres anatómicos se evaluaron en la región media de la lámina (Metcalfe y Chalk, 1979) y se procedió de la siguiente forma:

- 1) Cortes en sección transversal de 35-40 μm de espesor, hechos con micrótopo rotatorio, montados en preparaciones semi-permanentes con ácido láctico. En estos cortes se midió (10 mediciones por muestra) el grosor de la hoja (GF); el grosor del parénquima en empalizada (Emp); el grosor del parénquima esponjoso (Esp) y se estimó la relación entre parénquimas (Emp/Esp).
- 2) Se obtuvieron diafanizados foliares (decolorando con etanol al 96%, lavando con NaOH al 5% y, finalmente, aclarando totalmente con hipoclorito de sodio al 6%) en discos de 6mm de diámetro, teñidos con azul de toluidina y montados con gelatina (Johansen, 1940). En ellos se contaron estomas (desarrollados y abortados), células epidérmicas y los tres tipos de tricomas (Flores *et al.*, 1977), con ayuda de microscopio óptico (10X) y cámara clara sobre cuadrículas de 0.01 mm^2 . Para cada parámetro se realizaron diez mediciones por muestra. Se determinó el índice estomático (Salisbury, 1927; citado en Metcalfe y Chalk, 1979), el índice de aborto estomático ([estoma inmaduro / estomas totales] \times 100) y el índice de pubescencia (variación del índice estomático de Salisbury, 1927, sustituyendo densidad de estomas por densidad de tricomas), así como la densidad total y de cada tipo de tricomas.

Anatomía caulinar: Las muestras de tallo consistieron de trozos de 1-2 cm por arriba del cuello de la raíz, tomadas al final de la madurez fisiológica de cada individuo (100-110 días después de la siembra) y fijadas en GAA (glicerol, agua, alcohol; 1:1:1). Se utilizaron cinco individuos por genotipo de cada tratamiento para obtener cortes transversales de 35-40 μm de grosor con micrótopo de deslizamiento (Mod. Hn40 REICHERT-JUING). Los cortes se deshidrataron en serie alcohólica, se tiñeron con safranina (0.5% en etanol 95%) y se



montaron con Bálsamo de Canadá; en cada caso, uno de los cortes se contrastó, además, con *fastgreen* (0.5% en etanol absoluto, aceite de clavo y metilcelosolve 1:1:1) para mayor diferenciación entre tejidos vivos y lignificados (Johansen, 1940). Mediante un analizador de imágenes (Image Pro Plus Versión 3.1 Media Cybernetics, 1997) adaptado a una cámara de video en un microscopio óptico (Olympus BX50), se midieron:

- 1) Los diámetros de tallo, xilema y médula (10 mediciones por genotipo) y con ellos se estimó el área total del tallo ($AT = \pi r_t^2$; donde r_t es el radio del tallo); el área del xilema ($AX = \pi r_x^2 - \pi r_m^2$; donde r_x y r_m son los radios del xilema y de la médula respectivamente); la proporción de xilema con relación al tallo (% xilema); área medular ($AM = \pi r_m^2$) y área cortical ($AC = \pi r_t^2 - \pi r_x^2$).
- 2) El diámetro del lumen de los vasos (125 mediciones por individuo) se midió en la región próxima al cámbium vascular.
- 3) Se contaron el número de vasos totales y solitarios (10 campos por individuo) y se estimó su densidad por mm^2 ; el número total de vasos (V_t) se estimó mediante el producto del área de xilema y la densidad de vasos totales.
- 4) Se estimó el valor de Huber ($HV = \text{área del xilema} / \text{área foliar}$), la conductividad relativa ($CR = r^4 \cdot DV$; donde r es el radio del lumen de los vasos y DV la densidad de los vasos) según la ecuación de Poiseuille modificada (Fahn *et al.*, 1986 en comunicación personal de Terrazas), el índice de vulnerabilidad ($V = \theta / DV$; donde θ es el diámetro del lumen de los vasos, propuesto por Carlquist, 1977).

Estadísticos: Se aplicó un análisis de varianza con el objeto de determinar diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos hídricos, entre genotipos y entre las procedencias de los materiales; para los dos últimos análisis de varianza se usaron los materiales cultivados bajo *Riego*. Las diferencias entre las medias fueron comparadas usando la prueba de Tukey ($P < 0.05$). La media junto con su desviación estándar de los rasgos evaluados se concentraron en cuadros, lo mismo que en algunas de las figuras; sin embargo, cuando la amplitud de la desviación estándar limitaba la resolución, se usó el error estándar como indicador de la variación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

IV) RESULTADOS Y DISCUSION

Las diferencias en desarrollo y crecimiento de *Phaseolus vulgaris* entre tratamientos hídricos fueron notorias (Figura 4), lo que sugiere que el nivel de estrés hídrico aplicado desencadena los reajustes para superar las fases vegetativa y reproductiva, pues, todos los individuos en ambos tratamientos alcanzan la madurez fisiológica; ello permite evaluar, en buena medida, la plasticidad de ciertos atributos estructurales en condiciones de sequía.

Área foliar: Los resultados son consistentes con la literatura en el sentido de que la domesticación de *Phaseolus vulgaris* condujo a formas que, entre otros rasgos denominados como "gigantismo", presentan mayor superficie foliar que las formas silvestres (Singh *et al.*, 1991b; Smartt, 1990); de hecho, el área foliar (AF) de las formas cultivadas de *P. vulgaris* duplica ($P < .001$) el AF de las silvestres (Cuadro 2).

Cuadro 2. Atributos morfoanatómicos del foliolo terminal de formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris* bajo tratamientos de *Riego* y *Sequia*. Los valores representan media \pm desviación estándar. (✓) Diferencias significativas entre formas; (*) diferencias no significativas entre tratamientos. ($P < 0.05$).

Carácter	Unidades	SILVESTRE		CULTIVADA	
		Riego	Sequia	Riego	Sequia
Área foliar ✓	cm ²	12.8 \pm 3.1	6.6 \pm 0.8	25.5 \pm 7.5	14.2 \pm 3.5
Grosor foliar ✓	μ m	254 \pm 19	225 \pm 17	259 \pm 27	222 \pm 32
Parénquima en empalizada ✓	μ m	109 \pm 15	93 \pm 11	119 \pm 24	98 \pm 20
Parénquima esponjoso ✓	μ m	111 \pm 12	101 \pm 17	105 \pm 13	94 \pm 18
Empalizada / Esponjoso ✓	-	1 \pm 0.2	1 \pm 0.2*	1.16 \pm 0.3	1.07 \pm 0.3

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Figura 4. Fotografía comparativa del efecto de los tratamientos hídricos en el crecimiento y desarrollo de *Phaseolus vulgaris*. En la imagen, genotipo silvestre procedente de Durango. R, Riego; S, Sequía. Se nota que, además de la reducción en talla, el estrés hídrico produce la inhibición de la ramificación lateral del vástago apreciable en el individuo bajo Riego. Fotografía hecha -45 días después de la siembra.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Además, los resultados ($N=15$; $gl=2$; $F=13.71$; $P < .001$) permiten suponer que el AF tiende a ser menor desde Mesoamérica hacia Durango, coincidiendo con las razas sugeridas por Singh *et al.* (1991b), lo que podría estar relacionado con las diferencias en pluviosidad (Acosta-Gallego *et al.*, 1998); sin embargo, esta relación no es evidente en las formas silvestres (Figura 5). El hecho de que tales diferencias sigan siendo observadas en plantas cultivadas fuera de sus lugares de origen y bajo las mismas condiciones espacio-temporales, sugiere que dicho atributo ha sido fijado genéticamente en las poblaciones.

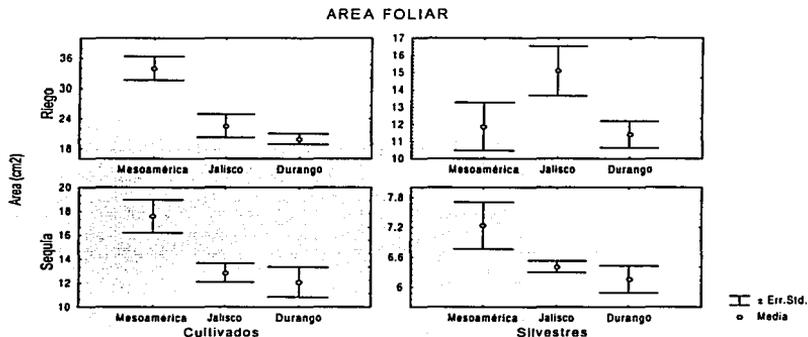


Figura 5. Área foliar de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Nótese la tendencia a reducir el área foliar desde Mesoamérica hasta Durango entre los cultivados. Entre los genotipos silvestres destaca el asociado a Jalisco, de hábito trepador, por la mayor área foliar en Riego y la dramática reducción en Sequia.

En las hojas desarrolladas bajo Sequia los valores de AF fueron significativamente menores (aproximadamente en 50%) respecto a las de Riego ($P < 0.001$), lo cual se observa en todos los genotipos (Figura 5). La reducción del AF bajo estrés hídrico puede ser considerada inevitable, debido a un cambio pasivo (Scheiner, 1999) como consecuencia de la disminución de la turgencia que afecta al crecimiento celular (Acevedo *et al.* 1971; Hsiao, 1973; Begg, 1980), sin embargo, funcionalmente podría también ser considerada como una respuesta adaptativa (Scheiner, 1999; Sultan, 1995; Van Rensburg *et al.*, 1994) puesto que, entre sus consecuencias, la superficie de transpiración de la planta se reduce.

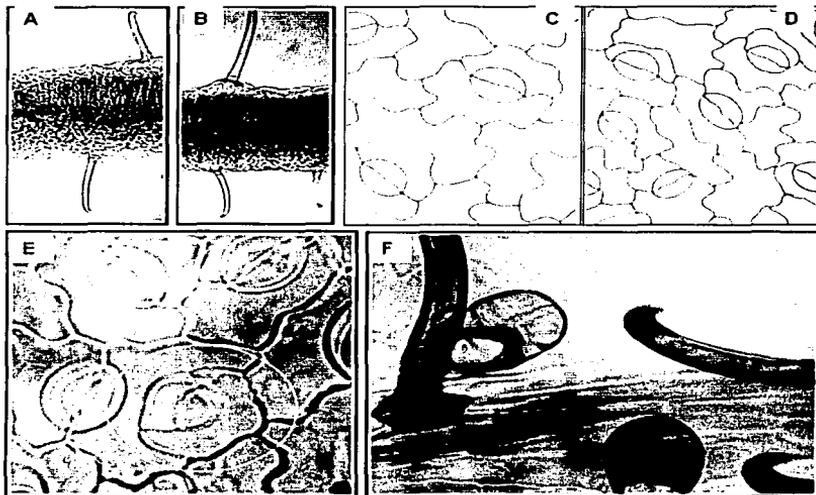


Figura 6. Anatomía foliar de *Phascolus vulgaris*. Sección transversal de la lámina bajo *Riego* (A) y *Sequia* (B), destacándose los parénquimas en empalizada y esponjoso. Epidermis adaxial (C) y abaxial (D) en las que resaltan las diferencias en tamaño de las células epidérmicas y la densidad de estomas. El aborto de la diferenciación de un estoma en epidermis desarrollada bajo *Sequia* (E). Tricomas globulares (sésiles) y en forma de gancho (pedunculados), a los que se atribuye funciones glandular y defensa, respectivamente (F).

Cuadro 3. Atributos anatómicos de la epidermis foliar de formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris* bajo dos tratamientos hídricos. Los valores representan la media \pm desviación estándar. (✓) Diferencias significativas entre las formas; (*) diferencias no significativas entre tratamientos. ($P < 0.05$).

CARÁCTER	UNIDADES	SILVESTRE		CULTIVADA	
		RIEGO	SEQUÍA	RIEGO	SEQUÍA
Área celular epidermis adaxial ✓	10^{-4}mm^2	12.5 ± 4.1	8.7 ± 1.8	11.2 ± 2.9	8.2 ± 2.2
Área celular epidermis abaxial ✓	10^{-4}mm^2	6.4 ± 1.6	4.6 ± 1.0	5.8 ± 1.1	4.3 ± 0.9
Índice estomático adaxial ✓	%	14.5 ± 8.6	$15.5 \pm 2.8^*$	17.8 ± 5.6	14.7 ± 2.1
Índice estomático abaxial	%	24.3 ± 4.63	22 ± 1.6	24.2 ± 4.2	20.8 ± 3.8
Densidad de estomas adaxial ✓	est.mm ⁻²	161.7 ± 110.1	221.6 ± 112.4	206.7 ± 79.6	$230.8 \pm 116.5^*$
Densidad de estomas abaxial	est.mm ⁻²	539.2 ± 176.5	652.5 ± 167.5	569.2 ± 150	$597.5 \pm 160.6^*$
Índice de aborto de estomas adaxial ✓	%	-	7.4 ± 16.4	-	12.4 ± 20.4
Índice de aborto de estomas abaxial ✓	%	-	12.8 ± 11.5	-	16.7 ± 15.5
Índice de pubescencia adaxial ✓	%	1.2 ± 3.4	$1.9 \pm 3.4^*$	0.2 ± 1.4	$0.6 \pm 2.1^*$
Índice de pubescencia abaxial	%	5.1 ± 4.2	$5.4 \pm 3^*$	5.3 ± 3.8	$4.7 \pm 3.2^*$
Densidad de tricomas adaxial ✓	tre.mm ⁻²	46.7 ± 51.8	65.8 ± 47.2	21.7 ± 41.4	$31.7 \pm 46.7^*$
Densidad de tricomas abaxial	tre.mm ⁻²	85.8 ± 67.7	127.5 ± 69.8	98.3 ± 71	$116.7 \pm 78.1^*$

Evidentemente, este es un hecho observable en hojas desarrolladas bajo estrés hídrico, puesto que en hojas totalmente desarrolladas que se sometan al mismo estrés sólo se esperaría observar movimiento parahelionástico, marchitez o, en casos extremos, reducción foliar por senescencia. Los resultados de AF permiten observar otro hecho: dado que el efecto del estrés hídrico sobre AF apunta en última instancia a la reducción de la turgencia celular, misma que se traduce en un AF menor (~50% en los genotipos evaluados), entonces ninguno de estos genotipos ha desarrollado mecanismos diferentes (fisiológicos, bioquímicos, estructurales, etc.) de control de la turgencia celular.

Células epidérmicas: Los resultados de la estimación del tamaño celular (área de células epidérmicas, ACE) en la epidermis tanto adaxial como en la abaxial de las formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris*, indican que el ACE es mayor en la epidermis adaxial (Figura 6C) que en la abaxial (Figura 6D), como lo señala la literatura (Flores *et al.*, 1977). Además, pese a las apariencias, hay diferencias significativas en las ACE adaxial ($P < 0.01$) y abaxial ($P < 0.001$) entre las formas de *P. vulgaris* (Cuadro 3), siendo mayores en la forma silvestre.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

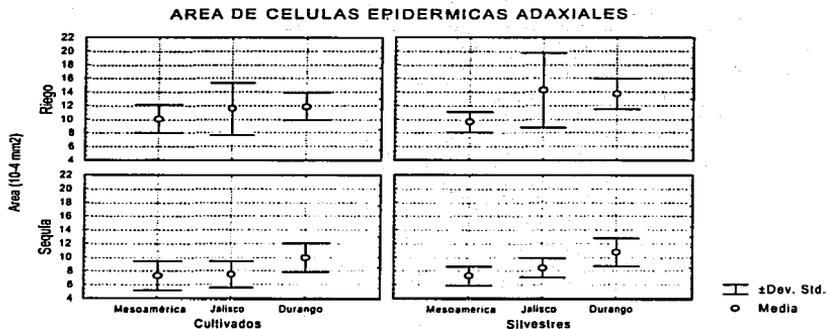


Figura 7. Área de las células epidérmicas adaxiales de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Nótese la variación relacionada con la procedencia, particularmente entre los genotipos silvestres y el carácter intermedio de este atributo en el genotipo asociado a Jalisco.

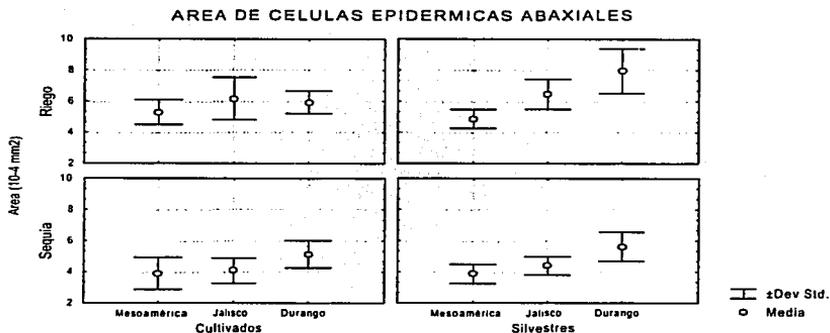


Figura 8. Área de células epidérmicas abaxiales de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Es apreciable la variación relacionada con la procedencia, particularmente en los genotipos silvestres.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Estas diferencias en ACE permiten suponer que la forma silvestre requeriría de un menor número de divisiones celulares que la cultivada para lograr un área foliar determinada. Además, los resultados indican que podría haber una relación entre el ACE y la procedencia de los genotipos silvestres en la epidermis adaxial ($N=120$; $gl=2$; $F=20.66$; $P<0.00001$) y abaxial ($N=120$; $gl=2$; $F=82.70$; $P<0.00001$); misma que parece repetirse en las epidermis adaxial ($N=120$; $gl=2$; $F = 4.55$; $P<0.05$) y abaxial ($N=120$; $gl=2$; $F=7.52$; $P<0.001$) de los genotipos cultivados, aunque menos acentuada que en los silvestres. Esta relación, a diferencia del AF, se manifiesta como un ACE menor en las regiones húmedas y mayor en las secas (Figura 7 y 8).

Estos resultados en los que las células epidérmicas son mayores en organismos provenientes de ambientes semiáridos requieren de una explicación que la literatura parece no haber abordado todavía; tal vez, en los ambientes secos, la producción de un menor número de células de mayor tamaño signifique una economía de materia y energía. Por otro lado, en ambientes húmedos o en los que el agua esté disponible, en los que la asimilación de carbono no se vea limitada por un excesivo control de la transpiración, podría resultar más ventajoso invertir en un mayor número de células de menor talla.

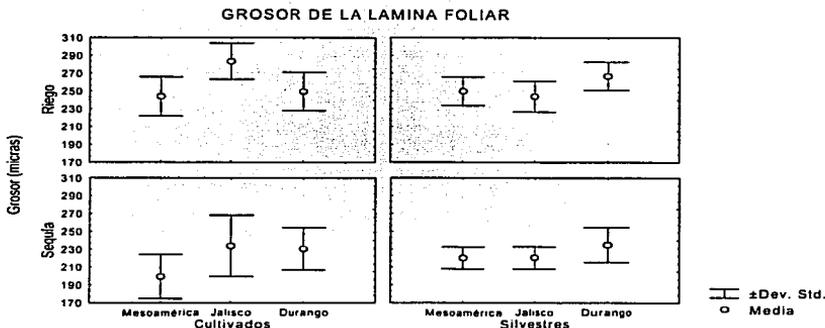
En todo caso esta hipótesis deberá demostrarse en ulteriores trabajos bajo un enfoque diferente del actual, en los que se incluya un mayor número de poblaciones de los diferentes orígenes, puesto que, además, estos resultados son contradictorios con los observados en los genotipos de *P. vulgaris*, Canario 107 y LEF2RB, sensible y tolerante a la sequía, respectivamente, en los que el ACE del genotipo tolerante fue menor, interpretándose como una ventaja adaptativa a la sequía, en virtud de que dichas células requerirían de un menor volumen de agua para mantener la turgencia (Navea, 1997).

Los valores de la ACE adaxial y abaxial son significativamente menores ($P<0.00001$) bajo *Sequia*, tanto en la forma silvestre como la cultivada (Cuadro 3); y dado que el estrés hídrico afectó más a la forma silvestre, la diferencia entre formas observada en *Riego* desaparece. Estos resultados son consistentes con la literatura en la que se señala que el estrés hídrico reduce el crecimiento celular, debido a que reduce casi inmediatamente la turgencia (Acevedo *et al.*, 1971; Hsiao, 1973; Begg, 1980; Kim y Lee-Standermann, 1984; Pardossi *et al.*, 1994).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Además, mientras AF se reduce ~50% bajo *Sequia*, ACE disminuye ~30%, lo que indica que el estrés hídrico afecta más a la expansión foliar que a la elongación de las células epidérmicas y ello pudiera contradecir lo de su menor efecto sobre la división celular (Begg, 1980; Hsiaio, 1973).

Grosor foliar: La comparación del grosor de la lámina foliar (GF) entre las formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris* revela una pequeña pero significativa diferencia ($P < 0.05$) entre ellas (Cuadro 2). Entre los genotipos silvestres destaca el asociado a Durango con el GF significativamente mayor ($P < 0.001$) de su categoría; este rasgo, sumado a la menor AF, puede ser interpretado como un carácter xeromórfico de adaptación a la región semiárida de procedencia. Hay indicios que permiten suponer una relación entre GF y el origen de los genotipos silvestres ($N=15$; $g1 = 2$; $F=5.58$; $P < 0.005$) que se manifiestan en una tendencia al incremento hacia la región de Durango. Por su parte, el GF del genotipo cultivado asociado a Jalisco es significativamente el mayor ($P < 0.001$) de todos los estudiados (Figura 9).



Figuras 9. Grosor foliar de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Nótese que, pese a las similitudes, hay notables diferencias dentro de cada categoría, destacando los genotipos de Durango (silvestre) y Jalisco (cultivado). También destacan las diferencias de grosor foliar entre tratamientos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

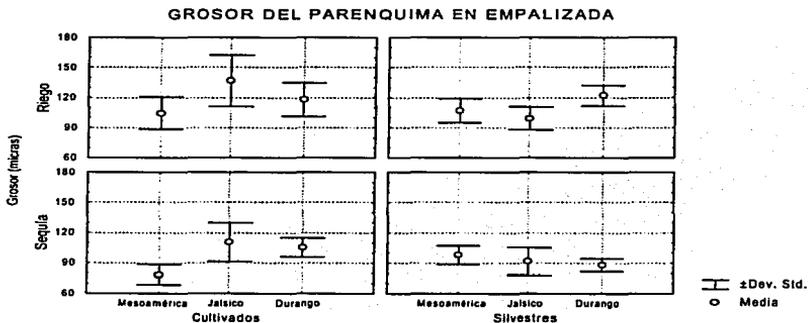
También hay diferencias significativas ($P < 0.00001$) de GF entre tratamientos (Cuadro 2), siendo 12-15% menor bajo *Sequia* (Figura 9) aunque las mismas no son tan notorias como en AF (~50%) o en ACE (~30%); esta aparente asimetría del efecto del estrés hídrico sobre las dimensiones de la lámina foliar es un resultado no esperado; no obstante, la explicación puede residir en las diferencias de los patrones de desarrollo de los distintos tejidos foliares. La literatura señala que el mesófilo es el tejido que más tarda en desarrollarse plenamente (Greulach, 1973) y esto pudiera estar ocurriendo en *Phaseolus vulgaris*.

Pero, ¿Podrían estos resultados ser indicios de una tendencia a mantener un cierto espesor por encima de un valor crucial para la funcionalidad de la hoja?. La literatura también refiere el efecto reductor de la deficiencia luminica sobre el espesor de la lámina y la organización de los tejidos del mesófilo (Greulach, 1973); pese a las similitudes con los efectos de la falta de luz, el estrés hídrico no parece conducir al desorden de dichos tejidos en *P. vulgaris* (Figura 6 A-B) pero sí a una redistribución, como se verá a continuación.

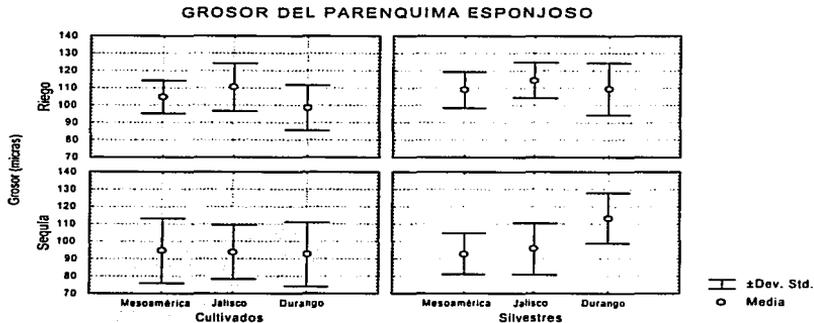
Parénquimas: La hoja de *Phaseolus vulgaris* es típicamente bifacial (Figura 6 A-B). Los resultados revelan diferencias significativas de espesor de los parénquimas del mesófilo (Cuadro 2) entre formas silvestre y cultivada de *P. vulgaris*. El parénquima en empalizada es significativamente mayor ($P < 0.0001$) en la forma cultivada que en la silvestre; mientras que el parénquima esponjoso es significativamente mayor ($P < 0.005$) en la silvestre.

Esta diferencia anatómica entre las formas silvestre y cultivada de *P. vulgaris* sugiere diferencias fisiológicas entre genotipos; no obstante, se ha señalado que no hay diferencias en las tasas de intercambio de CO_2 entre materiales silvestres y cultivados procedentes de México (González *et al.*, 1995), lo que resulta sorprendente a la luz de estos resultados. Entre los genotipos silvestres, el parénquima en empalizada es significativamente mayor ($P < 0.0001$) en el proveniente de Durango, mientras que entre los cultivados es mayor ($P < 0.0001$) en el asociado a Jalisco (Figura 10). Por su parte, no hay diferencias en el grosor del parénquima esponjoso entre los genotipos silvestres y entre los cultivados y solo es significativa ($P < 0.0001$) la diferencia entre los procedentes de Jalisco y Durango (Figura 11).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Figuras 10. Grosor del parénquima en empalizada de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Nótese que, con excepción del silvestre asociado a Durango, los genotipos cultivados muestran mayor grosor.



Figuras 11. Grosor del parénquima esponjoso de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Nótese que el grosor es menor en los genotipos cultivados, salvo en el cultivado asociado a Jalisco.

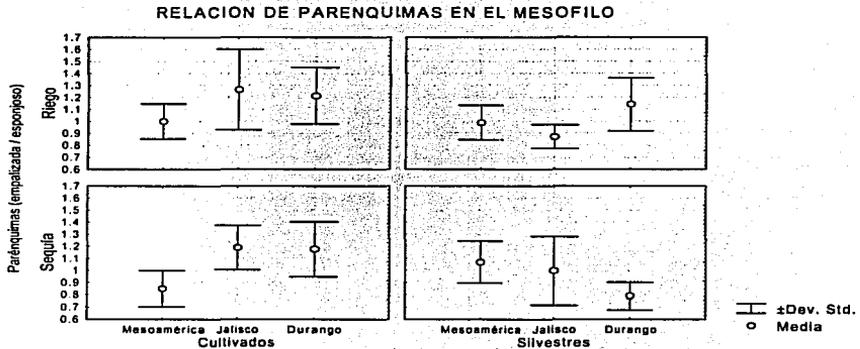
TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Siendo la hoja la fuente de compuestos carbonados que, finalmente, serán dirigidos a frutos y semillas, un mayor espesor de tejido fotosintético permitiría suponer una mayor capacidad para la síntesis de tales compuestos; y precisamente una de las diferencias importantes entre genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris* es el mayor tamaño de frutos y semillas en los segundos (Singh *et al.*, 1991b; Smartt, 1990); esto podría estar asociado al mayor volumen de tejido fotosintético, puesto que en los genotipos cultivados, además de un AF mayor, también se observa un parénquima en empalizada de mayor grosor que en los genotipos silvestres. De acuerdo con Parkhurst (1986) una de las principales fuerzas conducentes a la selección natural del carácter bifacial de las hojas parece haber sido la optimización de la difusión del CO₂ desde los estomas hasta la superficie de las células ricas en cloroplastos (empalizada) que, por su particular arquitectura dentro del mesófilo, impiden la difusión horizontal de gases, de lo cual se ocupa eficientemente el parénquima esponjoso.

El espesor de ambos parénquimas disminuye bajo *Sequia*; de tal manera que las diferencias con respecto al espesor bajo *Riego* son significativas ($P < 0.00001$) (Cuadro 2). El parénquima en empalizada y el esponjoso son ~17% y ~9% menores, respectivamente, bajo *Sequia* en ambos tipos de germoplasma, poniendo en evidencia, una vez más, el efecto diferencial del estrés hídrico sobre la anatomía foliar.

En tabaco se encontró una relación directa entre la tolerancia a sequía y la menor proporción de espacio intercelular en el mesófilo (Van Rensburg *et al.*, 1994). Sin embargo, los resultados en *Phaseolus vulgaris* no muestran esa relación. Si los genotipos silvestres son ecotipos de *P. vulgaris* (adaptados a las condiciones ambientales de procedencia, como lo sugieren los resultados de AF, ACE y GF), se esperaría que en el genotipo procedente de la región semiárida (Durango) la razón Empalizada / Esponjoso del mesófilo, significativamente mayor ($P < 0.05$) entre los silvestres, fuera aún mayor en condiciones de *Sequia*. Esto sería indicativo de una reducción de los espacios intercelulares (reducción del esponjoso): muy por el contrario, la razón se reduce significativamente ($P < 0.0001$) hasta ser la menor (Figura 12). Por lo que cabría suponer que en *Nicotiana tabacum* y *P. vulgaris* se despliegan diferentes mecanismos morfológicos bajo condiciones de estrés hídrico. En todo caso, la reducción de la superficie celular, aunque sea de manera pasiva, contribuye a reducir la pérdida de agua.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Figuras 12. Relación de parénquimas empalizada y esponjoso de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Nótese que en los cultivados prevalecen valores ≥ 1 , mientras que en los silvestres los valores ≤ 1 , particularmente notable el caso del genotipo silvestre asociados a Durango.

Estomas: Las hojas de *Phaseolus vulgaris* son anfiestomáticas pero en la epidermis adaxial el número de estomas es mucho menor (Cuadro 3; Figura 6 C-D), lo cual es frecuente entre las dicotiledóneas (Metcalfe y Chalk, 1979). Dado que el índice estomático (IE) relaciona el número de estomas con el número total de células epidérmicas por unidad de área, es un buen indicador de la capacidad de las epidermis de diferenciar células epidérmicas en estomas. Pese a que los resultados revelan diferencias significativas ($P < 0.05$) de IE adaxial entre formas silvestres y cultivadas (Cuadro 3), en realidad ello se debe sólo al reducido IE del genotipo silvestre asociado a Durango (Figura 13). Es interesante notar que en este genotipo también la densidad estomática (DE) adaxial es significativamente menor ($P < 0.005$) a la de todos los genotipos estudiados (Figura 14); este resultado es consistente con ACE, puesto que el genotipo silvestre de Durango presenta células epidérmicas más grandes.

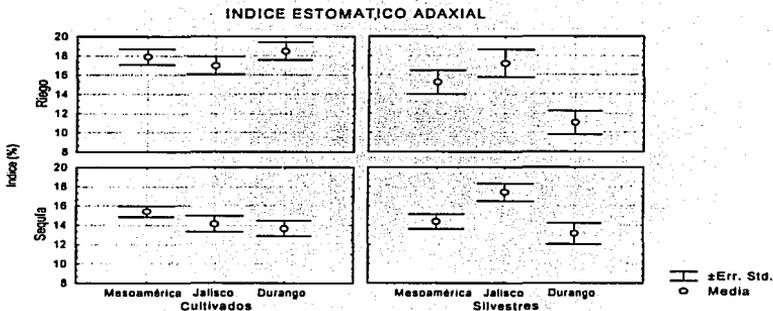


Figura 13. Índice estomático adaxial de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Es notable la diferencia entre el genotipo silvestre asociado a Durango con el resto de los genotipos; así mismo, es notablemente mayor en los genotipos cultivados.

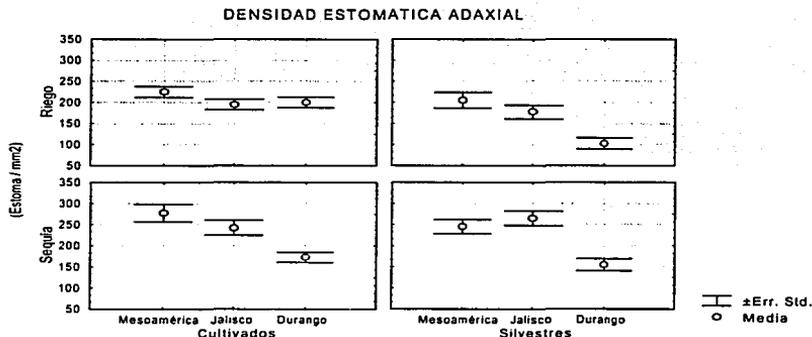


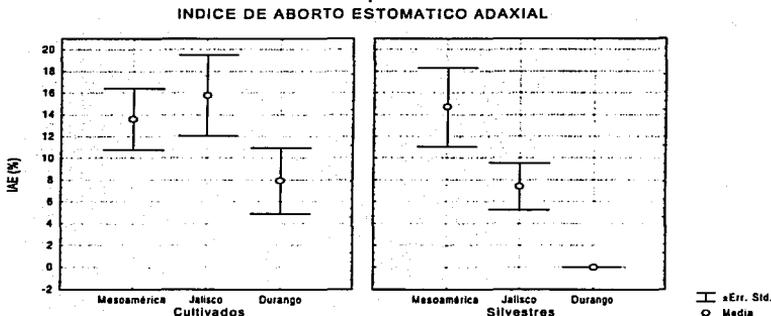
Figura 14. Densidad estomática de la epidermis adaxial de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Nótese tendencia a reducirse desde Mesoamérica a Durango entre los genotipos silvestres. Hay incrementos significativos entre tratamientos en los genotipos silvestres.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Hay indicios que permiten suponer que IE (N =120; gl =2; F =5.87; P<0.01) y DE (N =120; gl=2; F =10.81; P< 0.0001) están relacionados con la procedencia de los genotipos silvestres, alcanzando valores menores en el germoplasma procedente de ambientes semiáridos. Las especies xerófitas suelen presentar una alta densidad de estomas (Metcalf y Chalk, 1979), sugiriendo que el número de estomas aumenta con la aridez. No obstante, se podrían hipotetizar ventajas a una epidermis con menor número de estomas en ambientes semiáridos, puesto que podría implicar menor transpiración. En los genotipos cultivados, sin embargo, no hay esa variación en DE y ello puede ser atribuible a una reducida variabilidad genética en la forma cultivada. Entre tratamientos solo hay diferencias significativas (P<0.001) de IE adaxial en la forma cultivada de *Phaseolus vulgaris*, siendo menor bajo *Seqüia* (Cuadro 3); no se detectaron diferencias entre las formas silvestre y cultivada, observadas bajo *Riego*, como si la capacidad epidérmica de diferenciar estomas hubiera alcanzado su límite menor (~14%). Aún así, DE adaxial para la forma cultivada de *Phaseolus vulgaris* no parece ser afectada por el tratamiento; sin embargo, la DE en la forma silvestre es significativamente mayor (P<0.0001) bajo *Seqüia*, siendo notable en el genotipo asociado a Jalisco (Figura 14).

Las diferencias observadas en IE adaxial entre tratamientos se relacionan con un fenómeno poco o nada documentado hasta ahora por la literatura: el aborto estomático (Figura 6E). Este consiste, de acuerdo con lo observado, en la interrupción del proceso normal de diferenciación de las células oclusivas descrito en la literatura (Shah y Gopal, 1969; Zhao y Sack, 1999), la cual se detiene en la formación del meristemoide o en alguna fase posterior y es particularmente frecuente en epidermis foliares desarrolladas bajo *Seqüia* (Cuadro 3). El índice de aborto estomático (IAE) relaciona el número de estomas inmaduros con el número de estomas totales (maduros e inmaduros) por mm² de epidermis. Dado que el fenómeno está asociado íntimamente con la *Seqüia*, no es posible contrastar con los resultados bajo *Riego*. Los resultados de IAE adaxial revelan diferencias significativas (P<0.05) entre las formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris*, siendo ~30% mayor en las últimas (Cuadro 3). No se observan diferencias entre los genotipos cultivados de *P. vulgaris*, pero sí entre los silvestres (P<0.05), acentuado por la ausencia de aborto estomático en el genotipo asociado a Durango (Figura 15). Además, hay indicios de que el IAE adaxial se encuentra relacionado con el origen de los materiales (N=120; gl=2; F=9.09; P<0.0005), con una mayor incidencia en genotipos originarios de ambientes más húmedos.



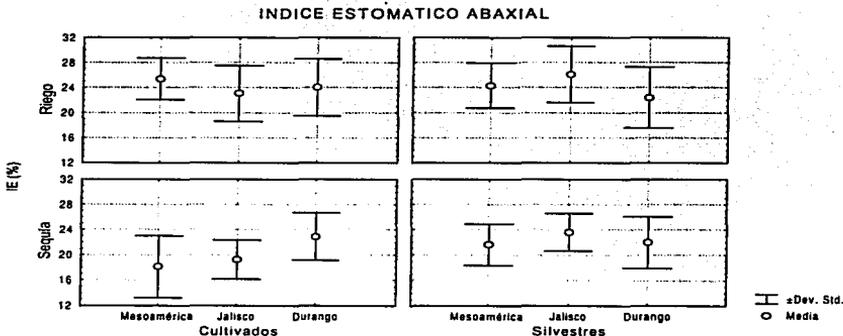


Figuras 15. Índice de aborto estomático de la epidermis adaxial de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris* agrupados por procedencia. Nótese la reducción progresiva desde Mesoamérica a Durango entre los genotipos silvestres. En el genotipo silvestre procedente de Durango no se detectó aborto estomático.

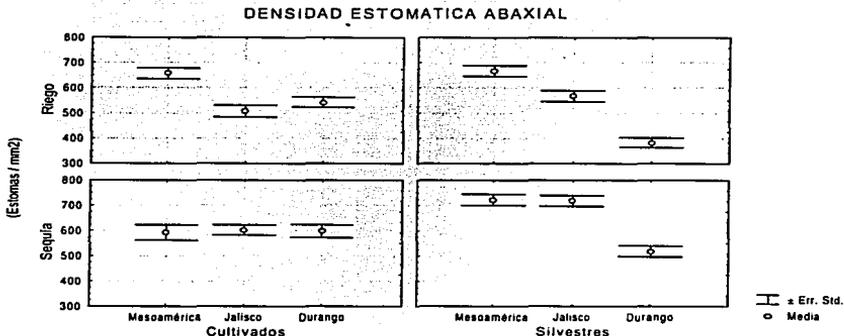
Los resultados de IAE y DE parecen contradictorios, puesto que, pese a la incidencia del primero, se observan incrementos en DE (Cuadro 3); sin embargo, resulta evidente que el efecto de IAE repercute menos en DE debido al enmascaramiento que produce la reducción de ACE que hace que las estructuras epidérmicas se acerquen más entre sí. En este escenario, es importante resaltar que en el genotipo cultivado asociado a Durango (Figura 14), DE sea significativamente menor en sequía (200.0 ± 78.5 est/mm² riego; 172.5 ± 75.1 est/mm² sequía $P < 0.05$).

Como se mencionó antes, la mayoría de los estomas de *Phaseolus vulgaris* se encuentran localizados en la epidermis abaxial de la hoja. Los resultados de IE abaxial indican que no hay diferencias entre las formas silvestre y cultivada de *P. vulgaris* (Cuadro 3); tampoco hay diferencias entre los genotipos cultivados; sin embargo, entre los genotipos silvestres, los resultados revelan que el IE abaxial del genotipo asociado a Durango, es significativamente menor ($P < 0.01$) en su grupo (Figura 16), coincidiendo con lo observado en su epidermis adaxial.

TESIS CON
FALLA DE QUELLEN



Figuras 16. Índice estomático de la epidermis abaxial de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. El genotipo más afectado por el tratamiento de *Sequía* es el cultivado asociado a Mesoamérica y el menos afectado, el silvestre asociado a Durango.



Figuras 17. Densidad estomática de la epidermis abaxial de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Nótese la reducción progresiva desde Mesoamérica a Durango entre los genotipos silvestres; dicho patrón no es apreciable en los genotipos cultivados.

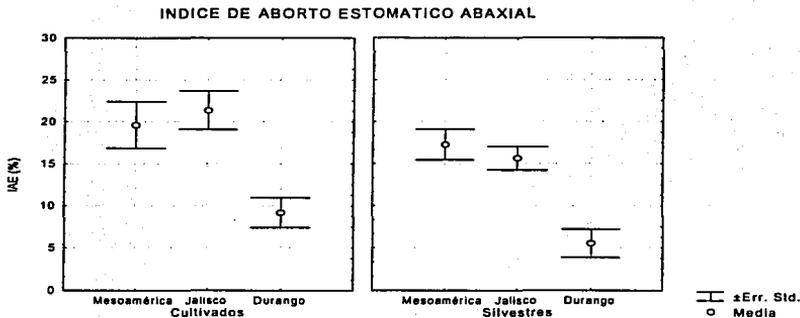
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los resultados tampoco revelan diferencias significativas en DE abaxial entre las formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris* (Cuadro 3). Sin embargo, entre los genotipos silvestres las diferencias son significativas ($P < 0.0001$), siendo menor la DE abaxial del genotipo asociado a Durango (Figura 17); además, hay indicios para suponer una relación con el ambiente de origen de estos genotipos ($N=120$; $gl=2$; $F=48.13$; $P < 0.00001$) que sugiere una menor DE abaxial en germoplasmas de ambientes semiáridos, esta relación también se observa, aunque es menos evidente, en los genotipos cultivados ($N=120$; $gl=2$; $F=13.2$; $P < 0.00001$).

En la epidermis abaxial también se observa aborto estomático bajo condiciones de *Sequia*. El IAE abaxial es significativamente menor ($P < 0.05$) en la forma silvestre que en la cultivada de *Phaseolus vulgaris* (Cuadro 3). Ambos genotipos, silvestre y cultivado, asociados a Durango presentan IAE significativamente menor ($P < 0.005$) dentro de sus respectivas categorías (Figura 18); esto pudiera indicar una posible vinculación entre ellos, lo que podría estar relacionado con un cierto grado de tolerancia a la sequía; además, hay indicios que permitan relacionar el IAE abaxial con el origen de los genotipos tanto silvestres ($N=120$; $gl=2$; $F=15.12$; $P < 0.00001$) como cultivados ($N=120$; $gl=2$; $N=8.1$; $P < 0.001$) que sugieren un menor IAE en las poblaciones originarias de regiones más secas. No se observan diferencias en la DE abaxial entre tratamientos en la forma cultivada de *P. vulgaris* pero sí en la forma silvestre, siendo significativamente mayor ($P < 0.00001$) bajo *Sequia*. Una vez más se presenta discrepancia entre IAE y DE, que revela el efecto de enmascaramiento debido a AF y ACE.

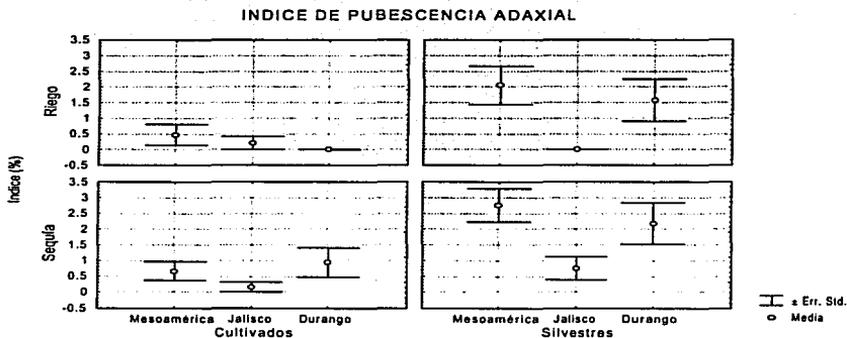
La capacidad de abortar estomas en *Phaseolus vulgaris*, asociada al estrés hídrico, puede ser indicativo del grado de adaptación a las condiciones ambientales prevalecientes en sus áreas de origen. Las evidencias experimentales indican que la DE en maíz está controlada genéticamente y puede ser afectada por el medio ambiente (Heichel, 1971). Si esto fuera cierto también en *P. vulgaris*, los resultados del IAE (Figura 18) lo confirmarían. En todo caso, la forma cultivada habría heredado este mecanismo de control estomático de sus ancestros silvestres, ya que éstos también lo presentan en condiciones de estrés hídrico. Se puede afirmar que la forma cultivada es más susceptible al estrés hídrico, tal vez, como consecuencia de las condiciones artificiales de crecimiento, como el riego, la siembra en periodos de lluvia o la selección de genotipos de ciclos de vida más cortos y ajustados a estos periodos favorables.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

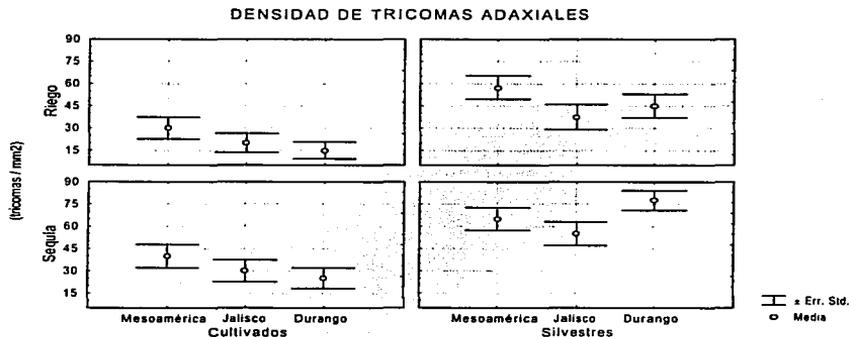


Figuras 18. Índice de aborto estomático de la epidermis abaxial de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia. Nótese las similitudes que se reproducen entre formas silvestres y cultivadas, así como la baja incidencia de aborto estomático abaxial en los genotipos asociados con regiones semiáridas.

Pubescencia: El número, tamaño y posición de los tricomas son caracteres muy variables en *Phaseolus vulgaris* (Moreno *et al.*, 1993; Dahlin *et al.*, 1992). En el presente estudio los resultados revelan que, los tricomas, al igual que los estomas, son más abundantes en la epidermis abaxial. El índice de pubescencia (IP), que es un indicador de la capacidad de diferenciación de tricomas de la epidermis, mostró ser en la superficie adaxial de *P. vulgaris* bastante bajo (Figura 19), aún así, es significativamente mayor ($P < 0.005$) en la forma silvestre (Cuadro 3). Hay similitud entre el genotipo silvestre asociado a Jalisco y el cultivado asociado a Durango que podría tener implicaciones genéticas, cuando menos, más de las que existen en individuos promedios de la misma especie. Pese a los valores de IP adaxial, la densidad de tricomas (DT) revela una mayor frecuencia de la esperada, particularmente en los que el IP es cero. Como era previsible, los tricomas son significativamente ($P < 0.01$) más abundantes en los genotipos silvestres (Figura 20).

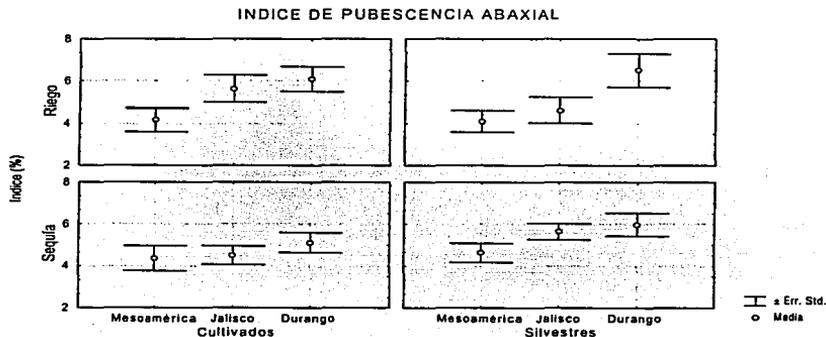


Figuras 19. Índice de pubescencia de la epidermis adaxial de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia y por tratamientos hídricos. Nótese la semejanza entre el silvestre asociado a Jalisco y el cultivado asociado a Durango, incluso bajo sequía. También es apreciable la diferencia entre los silvestres asociados a Mesoamérica y Durango.



Figuras 20. Densidad de tricomas de la epidermis adaxial de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Pese a las apariencias, las diferencias entre genotipos de la misma categoría no son significativas, tampoco el efecto de los tratamientos.

El IP adaxial no es afectado por los tratamientos, aunque los resultados indican diferencias en DE adaxial entre tratamientos en la forma silvestre de *Phaseolus vulgaris* (Cuadro 3), resultando significativamente mayor ($P < 0.0001$) bajo *Sequia*. Este aparente incremento en el número de tricomas podría resultar de las disminuciones observadas en AF y ACE. Por su parte, no hay diferencias significativas en el IP abaxial entre las formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris* (Cuadro 3) ni entre los distintos genotipos (Figura 21); tampoco hay diferencias en DT abaxial.



Figuras 21. Índice de pubescencia de la epidermis abaxial de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Pese a las apariencias, las diferencias no son significativas. Es notable la tendencia de incremento hacia las regiones semiáridas.

Los tratamientos parecen no afectar al IP ni a DT, excepto en la población silvestre asociada a Jalisco, en la que DT abaxial es significativamente mayor bajo *Sequia* (77.5 tric/mm^2 en *Riego*; 137.5 tric/mm^2 en *Sequia*, $P < 0.01$). Los resultados también sugieren que el efecto que pudiera tener el estrés hídrico sobre la pubescencia foliar de *P. vulgaris*, solo sería indirecto, es decir, a través del efecto que tiene, por ejemplo, sobre ACE. A pesar de no haber diferencias significativas en el IP abaxial entre genotipos, hay indicios ($N=120$; $gl=2$; $F=3.8$; $P < 0.05$) que permiten suponer una relación entre la procedencia de los mismos con incrementos en la pubescencia abaxial hacia regiones más secas y frías (Figura 21). Además, dado que en la epidermis abaxial se presenta el mayor número de estomas, cabe hipotetizar

que incrementos de la pubescencia abaxial pudiera tener incidencia en la reducción de la transpiración, puesto que contribuiría a estabilizar la capa límite que suele saturarse de vapor de agua, reduciendo la diferencia de los potenciales hídricos entre los medios interno y externo de la hoja. Navea (1997) observó en el genotipo cultivado Canario 107, sensible a la sequía y bajo estrés hídrico, incrementos significativos de pubescencia en la epidermis abaxial, tendencia apoyada por algunos de los resultados de este estudio. No obstante, a los tricomas también se les atribuyen diversas funciones, como defensa contra insectos (Pillemer y Tingey, 1976) o barrera contra el rocío (Shaik y Steadman, 1988; citado por Dahlin *et al.*, 1992).

De los tres tipos de tricomas descritos para *Phaseolus vulgaris*, (unicelular-recto, unicelular-unciforme y multicelular-glandular o globular), en el tricoma globular (Tg; Figura 6F) el IP abaxial difiere significativamente ($P < 0.0001$) entre genotipos silvestres y cultivados. El contenido de los tricomas globulares es desconocido, al menos parcialmente, ya que se ha reportado que contienen sales de potasio y que sus vacuolas presentan proteínas (Uphoff 1962; O' Brien, 1967; citados por Fahn, 1979), que al parecer son ricos en fósforo (Dahlin *et al.* 1992) y que su capacidad de ser teñidos con Sudán III (Navea, 1997) sugiere la presencia de lípidos. A pesar de lo poco concluyentes de los datos obtenidos en el presente estudio, parece existir una relación entre la pubescencia y el estatus hídrico de la planta, por lo que se sugiere estudiar un mayor número de genotipos.

Tallo y xilema secundario: El área del tallo (AT), al igual que AF, no es estrictamente un atributo anatómico, sin embargo ha sido incluido por ser la primera de una serie de diferencias menos aparentes sobre la plasticidad estructural de *Phaseolus vulgaris* (Figura 22). Los resultados revelan que no hay diferencias en el área del tallo (AT) entre las formas silvestre y cultivada de *P. vulgaris* (Cuadro 4). AT no varía entre los genotipos cultivados, sin embargo, entre los genotipos silvestres, el asociado a Mesoamérica muestra un AT significativamente mayor ($P < 0.001$) a los de Jalisco y Durango, entre los que no hay diferencias (Figura 23). Hay indicios que permiten suponer que en los genotipos silvestres AT se relaciona con la procedencia de los genotipos ($N=15$; $gI=2$; $F=47.74$; $P < 0.00001$) a través de una tendencia a reducirse hacia las regiones más secas. Sorprende no observar diferencias en AT entre formas silvestre y cultivada de *P. vulgaris*, puesto que se esperaría cierta alometría con hojas y frutos que son más pequeños en la silvestre y más grandes la cultivada (Smart, 1990).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

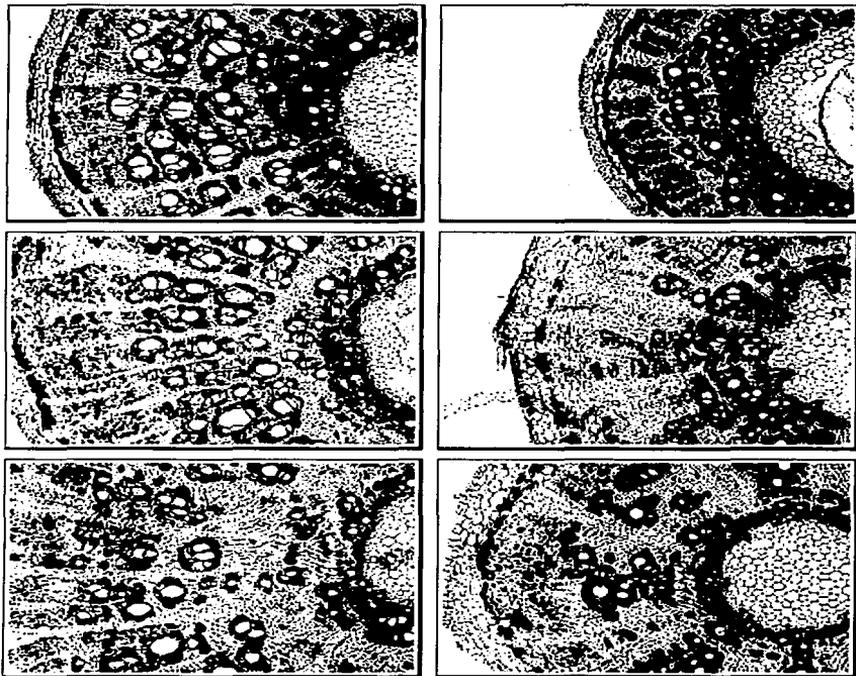


Figura 22. Sección transversal de la base del tallo de genotipos silvestres de *Phaseolus vulgaris* (40x) procedentes de tres regiones distintas de México. Las filas, de arriba hacia abajo, corresponden a Durango, Jalisco y Mesoamérica, respectivamente. A la derecha, individuos desarrollados bajo *Riego* y la de la izquierda, bajo *Sequía*.

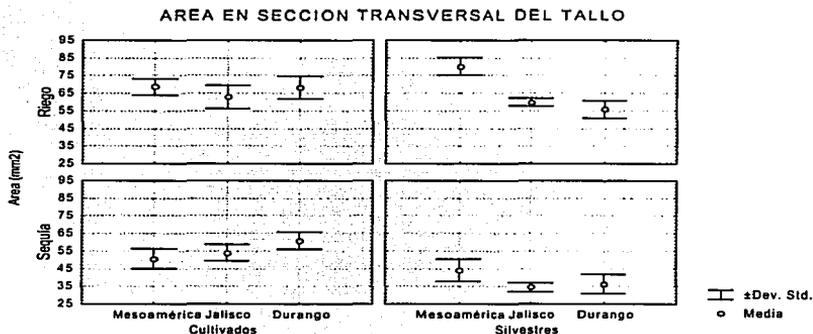
Cuadro 4. Atributos anatómicos caulinares de formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris* bajo tratamientos de *Riego* y *Sequia*; los valores representan la media \pm desviación estándar; (✓) Diferencias significativas entre formas; (*) diferencias no significativas entre tratamientos. (P<0.05)

CARÁCTER	UNIDADES	SILVESTRE		CULTIVADA	
		RIEGO	SEQUÍA	RIEGO	SEQUÍA
Área Tallo	mm ²	65.3 \pm 11.8	38.3 \pm 6.4	66.6 \pm 6.1	55.3 \pm 6.5
Área medular ✓	mm ²	13.8 \pm 2.3	13.4 \pm 3.0 *	29.4 \pm 4.2	29.5 \pm 6.2 *
Área xilemática ✓	mm ²	35.5 \pm 11.0	15.3 \pm 5.1	23.1 \pm 5.3	12.7 \pm 4.2
Área cortical	mm ²	16.0 \pm 4.7	9.7 \pm 2.1	14.0 \pm 2.7	13.1 \pm 2.5*
Proporción Xilema ✓	%	53.6 \pm 8.6	39.2 \pm 9.0	34.7 \pm 6.7	23.3 \pm 8.1
Valor de Huber ✓	mm ² /cm ²	2.95 \pm 1.2	2.29 \pm 0.65 *	0.94 \pm 0.21	0.93 \pm 0.38 *
Vasos totales ✓	-	2854 \pm 934	1165 \pm 280	1545 \pm 359	1132 \pm 605*
Vasos solitarios ✓	%	5.0 \pm 3.2	26.6 \pm 7.8	31.3 \pm 9.7	46.6 \pm 11.0
Densidad de vasos	Vasos/mm ²	82.6 \pm 24.7	86.5 \pm 40.5 *	69.7 \pm 24.6	96.3 \pm 55.3
Diámetro de vaso ✓	μ m	94.2 \pm 18.9	49.4 \pm 17.0	59.2 \pm 16.1	43.0 \pm 12.2
Vulnerabilidad	-	1.21 \pm 0.43	0.73 \pm 0.36	0.95 \pm 0.39	0.57 \pm 0.27
Conductividad Relativa ✓	x10 ⁴	436.9 \pm 207.3	34.4 \pm 22.9	52.9 \pm 19.3	20.1 \pm 10.9 *

Sin embargo, hay diferencias estructurales enmascaradas en las similitudes de AT entre las formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris*. El área medular es significativamente menor (P<0.0005) en la silvestre, mientras que el área del xilema es significativamente menor (P<0.0005) en la cultivada (Cuadro 4). La médula, habiéndose antes de la aplicación del tratamiento de *Sequia*, no varía en área; pese a ello, AT es menor bajo *Sequia* y es mayor su efecto sobre la forma silvestre (~30%; P<0.0005) que sobre la cultivada (~17%; P<0.01). AT se reduce significativamente (P<0.001) en todos los genotipos silvestres, mientras que entre los cultivados, sólo es significativa (P<0.001) la reducción en el genotipo asociado a Mesoamérica (Figura 23).

El xilema es un tejido que cumple una doble función, la de conducir agua y minerales hasta las hojas y la de dar soporte y resistencia mecánica al vástago. En plantas con crecimiento

secundario, como *Phaseolus vulgaris*, su incremento depende de la actividad del cámbium vascular. Pese a no haber diferencias de AT entre las formas silvestre y cultivada de *P. vulgaris*, si es significativa ($P < 0.001$) la diferencia en la proporción del xilema (Cuadro 4). De hecho, la forma silvestre desarrolla un xilema cuya área es ~30% mayor que el de la forma cultivada (Cuadro 2). Esta mayor proporción de xilema (PX) en la forma silvestre, permite suponer en ella una mayor actividad del cámbium vascular. Los resultados también revelan que hay diferencias de PX asociadas con el origen de los genotipos tanto silvestres ($N=15$; $gl=2$; $F=12.51$; $P < 0.005$) como cultivados ($N=15$; $gl=2$; $F=13.47$; $P < 0.005$), siendo mayor en los asociados a Mesoamérica (Figura 24) y pudiera relacionarse con una mayor disponibilidad de agua.

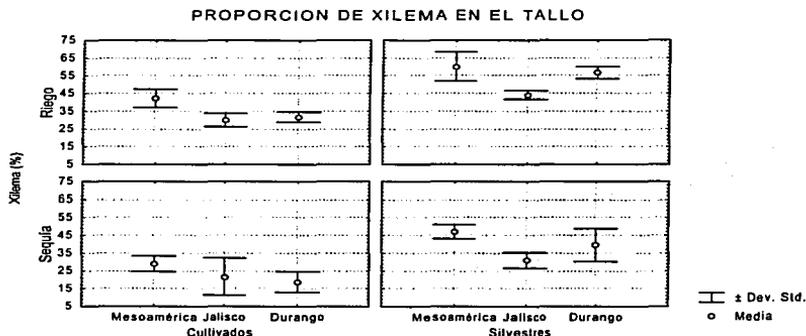


Figuras 23. Área transversal del tallo de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por la procedencia, y por tratamientos hídricos. Nótese que hay una tendencia a reducir el área, desde Mesoamérica hasta Durango, entre los genotipos silvestres bajo Riego.

La literatura señala que una de las formas de incrementar la eficiencia en la conducción del agua es aumentando el área transversal del xilema (February *et al.*, 1995), lo que supondría una eficiencia en la conducción menor en la forma cultivada de *Phaseolus vulgaris* que la silvestre; de ser así, la deficiencia sería compensada por los cuidados proporcionados por el hombre. Por su parte, los genotipos silvestres, además de los ajustes de sus ciclos biológicos a los periodos de lluvia (Delgado S. *et al.*, 1988), cuentan con un sistema relativamente más

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

eficiente para afrontar las contingencias climáticas. Destaca el hecho que en los genotipos asociados a Mesoamérica, con mayor área de xilema, también presentan mayor AF, por lo que tiene sentido que se encuentren equipados con un sistema conductor más eficiente.



Figuras 24. Proporción del área del xilema con respecto al área del tallo de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Nótese la superioridad de la proporción de xilema de los genotipos silvestres sobre los cultivados; además, es menor en el asociado a Jalisco de hábito trepador.

El valor de Huber (HV), o área relativa de conductividad, como una medida del gasto en tejido caulinar por unidad de área foliar (Zimmermann, 1982; Ewers y Zimmermann, 1984; Tyree y Ewers, 1991), fue estimado con base en los datos disponibles (área del xilema / área foliar). Los resultados del HV sugieren que la inversión en xilema es significativamente mayor en la forma silvestre que en la cultivada (Cuadro 4); entre los genotipos cultivados las diferencias no son significativas, pero sí entre los silvestres; tal como lo sugiere PX, el genotipo silvestre mesoamericano invierte significativamente más en tejido caulinar por cm^2 de AF que los de Jalisco y Durango (Figura 25).

En este sentido, son de subrayar las diferencias en hábito entre los genotipos, ya que para el silvestre, asociado a Jalisco, de hábito trepador, tiene sentido una menor inversión en xilema (especialmente en tejido mecánico) por cm^2 de hoja; mientras que entre los genotipos

asociada a Mesoamérica y Durango, ambos de hábito postrado, la diferencia de HV probablemente obedece a diferencias en la disponibilidad de agua en sus regiones de origen (Acosta-Gallegos *et al.*, 1998) como sugieren los resultados, que relacionan HV con la procedencia de los materiales (N=15; gl=2; F=18.29; P<0.0005). Esto permite suponer la reducción de HV con decrementos hídricos asociados a ambientes secos.

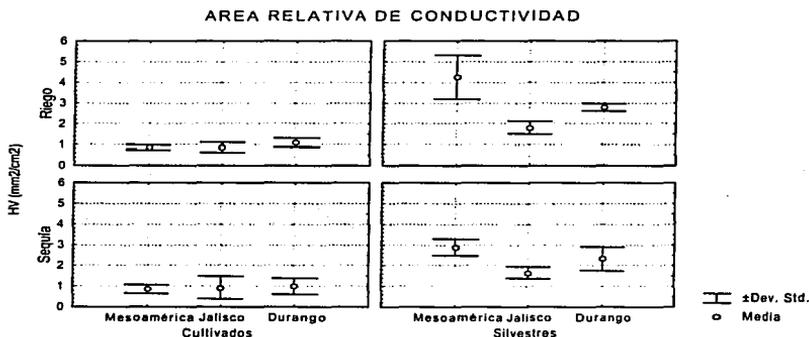


Figura 25. Valor de Huber (área del xilema en la base del tallo / área foliar del foliolo terminal de la cuarta hoja) de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Es notable la diferencia de asignación de xilema por unidad de área foliar entre genotipos silvestres y cultivados y el escaso efecto de los tratamientos en estos últimos.

Las diferencias de PX entre tratamientos son significativas en las formas tanto silvestre (P<0.001) como cultivada (P<0.01) de *Phaseolus vulgaris*. Merece destacar que de todos los genotipos, solo el cultivado asociado a Jalisco parece no ser afectado por el tratamiento de *Sequia* (Figura 24). Por otra parte, el HV solo es afectado significativamente (P<0.001) por el tratamiento de *Sequia* en el genotipo silvestre asociado a Mesoamérica (Figura 25).

Vasos: En las angiospermas el movimiento de agua desde el suelo hasta la hoja que se produce a través del xilema, se realiza principalmente por medio de conductos denominados vasos, cuyo número, longitud y diámetro varían ampliamente dentro de un mismo individuo, entre individuos, entre especies y de un ambiente a otro. Los resultados muestran que en *Phaseolus*

vulgaris el número total de vasos (VT) en una sección transversal es significativamente mayor ($P<0.001$) en la forma silvestre que en la cultivada. Entre los genotipos silvestres es significativa la diferencia ($P<0.001$) entre los procedentes de Mesoamérica y Durango; mientras que entre los genotipos cultivados las diferencias no son significativas (Figura 26). Los resultados también permiten suponer la existencia de una relación de VT con la procedencia de los genotipos silvestres ($N=150$; $gl=2$; $F=45.98$; $P<<0.0001$) según la cual el número de vasos se reduce hacia las regiones semiáridas.

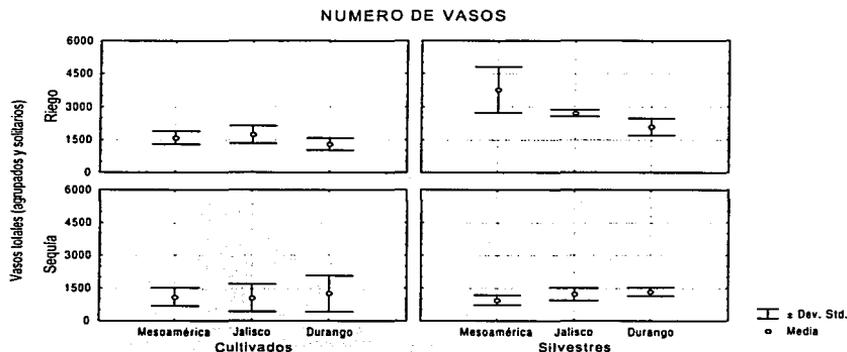


Figura 26. Número total de vasos (agrupados y solitarios) de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Es notable la tendencia a reducirse el n° de vasos desde Mesoamérica hasta Durango, en los silvestres en *Riego*; destaca el efecto de la *Sequia* sobre esta tendencia.

Los resultados bajo *Sequia* revelan que VT se reduce significativamente ($P<0.001$) sólo en la forma silvestre de *Phaseolus vulgaris* (Cuadro 4); no obstante, el genotipo asociado a Durango no es afectado por los tratamientos, sugiriendo menor plasticidad. Estas diferencias en VT sugieren que la forma silvestre de *P. vulgaris* es capaz de adecuar su anatomía a los cambios hídricos del medio, lo cual podría interpretarse como una ventaja adaptativa de esta forma sobre la cultivada.

Vasos solitarios: Hay diferencias significativas ($P < 0.0005$) en la proporción de vasos solitarios (PVs) entre las formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris*, siendo notoriamente mayor en los cultivados (Cuadro 4). Entre los genotipos silvestres las diferencias no son significativas, mientras que entre los cultivados, son significativas ($P < 0.01$) las diferencias entre los procedentes de Mesoamérica y Jalisco (Figura 27). También es significativa ($P < 0.001$) la diferencia en PVs entre tratamientos, siendo mayor en *Sequia* en las formas de *P. vulgaris*; destaca el incremento de PVs hasta ~30% en la forma silvestre por efecto del estrés hídrico. El tratamiento de *Sequia* afecta significativamente ($P < 0.05$) a todos los genotipos silvestres, mientras que entre los cultivados, solo es afectado significativamente ($P < 0.001$) el genotipo asociado a Jalisco.

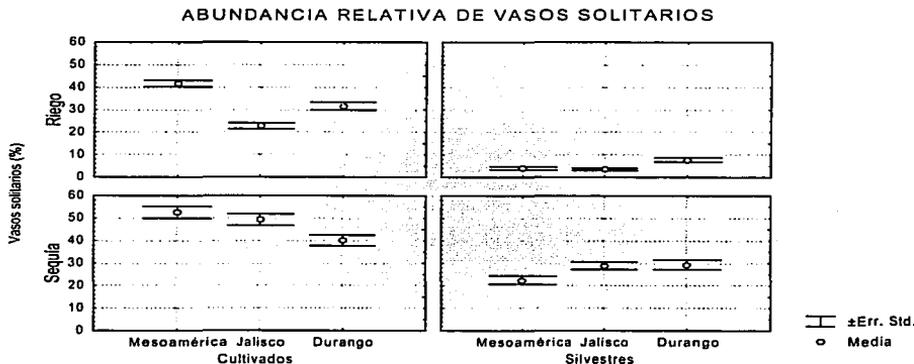


Figura 27. Proporción de vasos solitarios de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Es notable la diferencia entre genotipos silvestres y cultivados; también es apreciable su incremento bajo *Sequia*, particularmente en los genotipos silvestres.

Los incrementos en PVs observados en *Phaseolus vulgaris* como respuesta al estrés hídrico contradicen a la literatura (Baas *et al.*, 1983; Carlquist, 1980) en la que se encuentra incrementos en la densidad de los vasos agrupados, y no de los solitarios, en ambientes secos, como un mecanismo tendiente a reducir las interrupciones en el flujo de agua por cavitación.

ya que la interrupción en uno de los componentes, afectaría poco el movimiento de agua a través del grupo que actúa como una unidad; obviamente, esto difícilmente ocurriría en vasos solitarios. La literatura señala ventajas asociadas a la cavitación, ya que el que incremento en la resistencia al flujo de agua se interpreta como una señal que ocasiona el cierre temporal de los estomas, fenómeno que contribuiría a aliviar la tensión de los vasos, debido a que permitiría que el agua atrapada por embolismos fluya hacia otros vasos (Lo Gullo y Salleo, 1992; Nardini y Salleo, 2000).

Diámetro del lumen de vasos: El diámetro de los vasos de *Phaseolus vulgaris* es significativamente mayor ($P < 0.00001$) en la forma silvestre que en la cultivada lo que conjuntamente con un mayor VT, permitiría suponer una mayor eficiencia en la conducción de agua (Cuadro 4). Entre los genotipos cultivados, el θ (diámetro) mayor significativamente ($P < 0.0005$) se encuentra en el genotipo asociado a Mesoamérica, lo que podría relacionarse con el posible ambiente húmedo de su lugar de procedencia; en tanto que, entre los silvestres, el θ es significativamente menor ($P < 0.00005$) en el genotipo asociado a Durango, característica que podría estar relacionada con el ambiente semiárido de procedencia, tal como lo señala la evidencia experimental en otras especies (February *et al.* 1995); este rasgo también podría ser considerado como otra evidencia ecotípica para la especie (Figura 28). De hecho, los resultados permiten suponer una relación entre θ y la procedencia de los genotipos silvestres ($N=150$; $g1=2$; $F=25.75$; $P < 0.000001$) y sugieren una reducción del θ hacia regiones más secas.

La notable diferencia en el θ entre las formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris* bajo *Riego*, se reduce apreciablemente en condiciones de *Sequia*; sin embargo, ésta sigue siendo significativa ($P < 0.00001$); estos resultados sugieren que el efecto del estrés hídrico es mayor en la forma silvestre que en la cultivada de *P. vulgaris* (Cuadro 4). La reducción observada en el diámetro de los vasos a causa del estrés hídrico corrobora lo reportado para otras especies leñosas y herbáceas (Baas y Schweingruber, 1987).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

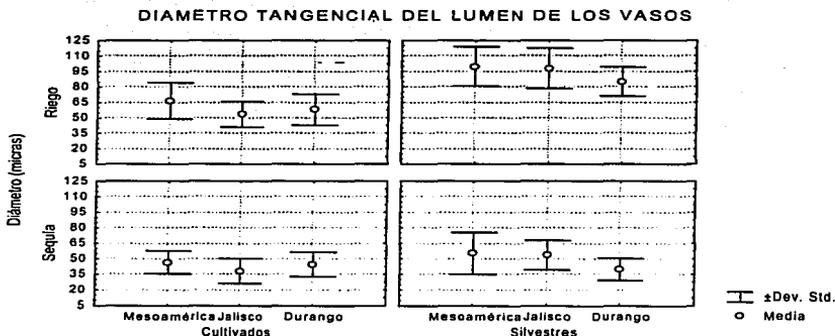


Figura 28. Diámetro tangencial de vasos de genotipos silvestres y cultivados de *Phascolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Es notable la superioridad de las formas silvestres; también lo es la reducción del diámetro observada por efecto del estrés hídrico.

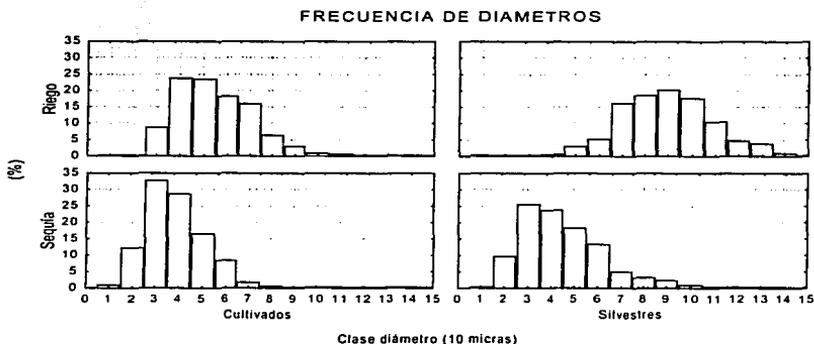


Figura 29. Frecuencias de diámetro tangencial de vasos en formas cultivada y silvestre de *Phascolus vulgaris* agrupadas por tratamientos hídricos. Nótese el desplazamiento de la frecuencia hacia diámetros menos amplios que ocurre en las formas silvestres bajo *Sequia*. Las clases aumentan de 10 en 10 micras. (N=375).

En *Vitis vinifera* los vasos con diámetros entre 35-65 μm se consideran como el resultado del compromiso entre la eficiencia y la seguridad de la conducción de agua, que les permite recuperarse de posibles bloqueos por cavitación (Salleo y Lo Gullo, 1989; citado por Van Rensburg *et al.*, 1994). Sin embargo, otros estudios sugieren que la correlación entre vulnerabilidad y el diámetro es baja (Tyree *et al.*, 1994; citado por Pockman y Sperry, 2000). La forma silvestre de *Phaseolus vulgaris* bajo Riego presenta ~80% de vasos con θ entre 80 y 120 μm , mientras que la cultivada presenta ~80% de vasos con θ entre 30 y 70 μm ; sin embargo, bajo Sequía, ambas formas presentan ~80% de vasos con θ entre 30-70 μm . De acuerdo con estos resultados (Figura 29), la forma cultivada de *P. vulgaris* estaría mucho más restringida que la silvestre en los valores de compromiso señalados en la literatura, como consecuencia la forma silvestre presenta una mayor amplitud de θ , lo que le permitiría una conductividad mayor cuando el agua está disponible y crecer rápidamente, en situaciones hídricamente adversas, aseguraría la conducción mediante la reducción de θ .

Densidad de vasos: Además de las diferencias observadas en PX y VT, los resultados revelan diferencias significativas ($P < 0.05$) en la densidad de los vasos (DV) entre las formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris*, siendo menor en los cultivados (Cuadro 4); estas diferencias en DV entre formas silvestres y cultivadas de *P. vulgaris* podría ser otra consecuencia del ambiente artificial y los cuidados del hombre aplicados durante el proceso de domesticación.

Los resultados también revelan que DV es significativamente mayor ($P < 0.05$) en los genotipos asociados a Jalisco, tanto silvestre como cultivado (Figura 30), posiblemente debido al hábito trepador de las lianas, asociado a ambientes húmedos y sombríos, dada la baja inversión en tejido mecánico (Tyree y Evers, 1991) lo cual es aplicable, cuando menos, al genotipo silvestre cuyo hábito de crecimiento es del tipo IV y sorprende que en los genotipos asociados a Durango, de hábito similar, difieran anatómicamente. Estos últimos, al contrario, presentan DV significativamente menores, lo cual pudiera estar determinado por el ambiente semiárido del que provienen dichos genotipos.

De acuerdo con los resultados, parece haber un efecto estimulador del estrés hídrico sobre DV; sin embargo, es de destacar que las diferencias entre tratamientos sólo son significativas

($P < 0.00001$) en la forma cultivada de *Phaseolus vulgaris*, pero no en la silvestre (Cuadro 4). Debido al dramático incremento de DV en la forma cultivada de *P. vulgaris* bajo *Sequia*, desaparece la diferencia observada entre formas bajo *Riego*.

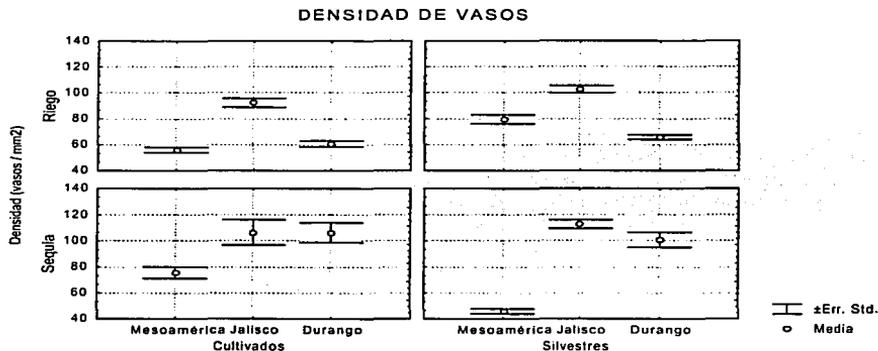


Figura 30. Densidad de vasos de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Es notable la superioridad de los genotipos asociados a Jalisco; también lo es el incremento observado en los genotipos asociados a Durango por efecto de la Sequía. Debido a la amplitud de las desviaciones estándar, las medias van acompañadas del error estándar.

Aunque también merece destacar que no en todos los genotipos el tratamiento de *Sequia* produce el mismo efecto; por ejemplo, en el genotipo silvestre asociado a Mesoamérica, DV es significativamente menor ($P < 0.0001$); en los genotipos asociados a Jalisco no hay diferencias; y en los asociados a Durango, DV es significativamente mayor ($P < 0.0001$). Estos resultados hablan de la notable variabilidad dentro de la especie y de los diversos efectos que un mismo agente puede tener en un mismo atributo anatómico (Figura 30).

Es necesario tener presente que la DV es un parámetro que es afectado tanto por el número de vasos como por el área del xilema y, como se ha visto previamente, ambos rasgos difieren notablemente de un genotipo a otro y de un tratamiento a otro. El caso del genotipo silvestre asociado a Jalisco es, en este sentido, muy evidente: su VT es muy superior a los demás bajo

Riego y cae dramáticamente bajo *Sequia*, lo que supondría una reducción notable en DV, sin embargo, ésta apenas varía entre tratamientos. Como contraparte está el genotipo asociado a Durango, en el que VT no es alterado por los tratamientos, sin embargo, DV difiere significativamente entre ellos. Todo esto sugiere una amplia plasticidad del atributo en *Phaseolus vulgaris*.

Conductividad relativa: Como ya se ha mencionado, el movimiento vertical del agua se produce prácticamente a través de los vasos, cuya conductividad es proporcional al radio del lumen elevado a la cuarta potencia (Zimmermann, 1983); la conductividad relativa (CR) aquí estimada, es el resultado del producto de dicho valor por la densidad de vasos (vasos/mm²).

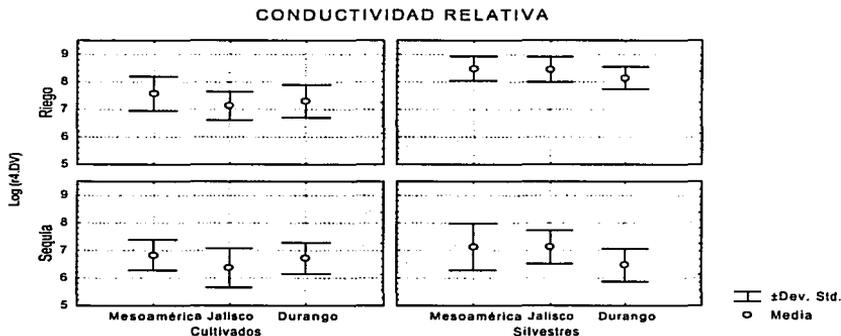


Figura 31. Conductividad relativa de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Dada la naturaleza exponencial de los valores, se representa el valor logarítmico (base 10). Es notable la superioridad de los genotipos silvestres; lo mismo que su capacidad para reducirla bajo *Sequia*.

Los resultados revelan una enorme diferencia en la CR de las formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris*, la cual fue significativamente mayor ($P < 0.00001$) en la primera (Cuadro 4). Entre las poblaciones cultivadas no hay diferencias significativas en CR; sin embargo, entre las silvestres, la conductividad es significativamente menor ($P < 0.0001$) en el genotipo asociado a Durango, lo cual era de esperarse debido a su menor θ . En la forma cultivada de

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Phaseolus vulgaris la CR no es afectada por los tratamientos pero sí en la forma silvestre, ya que ésta es significativamente ($P < 0.0001$) menor bajo *Sequia* en todos los genotipos; debido a esto, las diferencias entre las formas silvestre y cultivada de *P. vulgaris*, observadas bajo *Riego* son mínimas (Figura 31).

Tres mecanismos permiten cambiar la conductividad hídrica: la modificación de la superficie del xilema, así como la densidad de los vasos y su diámetro; de éstos, el último es la variable anatómica más importante para la modificación de la conductividad en las dicotiledóneas (February *et al.*, 1995). Estos resultados ponen de manifiesto la existencia de una diferencia importante entre las formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris*, como lo es la capacidad de modificar la conductividad como respuesta al estrés hídrico.

Vulnerabilidad: La vulnerabilidad a la cavitación (ruptura de la columna de agua) del xilema es reconocida como uno de los factores más importantes de la resistencia al estrés hídrico y está correlacionada positivamente con el diámetro de los vasos (Lo Gullo *et al.*, 1995) y podría limitar la distribución geográfica de las plantas (Pignatti, 1982; en Tyree *et al.* 1999). Una forma de estimar la seguridad en la conducción de agua al nivel anatómico es el índice de vulnerabilidad (V), propuesto por Carlquist (1977), que relaciona el diámetro de los vasos con su densidad. Los resultados revelan diferencias significativas ($P < 0.0001$) de V entre las formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris*, la cual fue mayor en la silvestre debido fundamentalmente al mayor θ (Cuadro 4). Los resultados también muestran que los genotipos asociados a Jalisco son significativamente ($P < 0.001$) menos vulnerables dentro de sus respectivos grupos (Figura 32) a causa, principalmente, de sus altas DV.

Hay diferencias significativas ($P < 0.00001$) en el grado de vulnerabilidad (V) entre tratamientos, que fue menor bajo *Sequia* en ambas formas de *Phaseolus vulgaris* (Cuadro 4); debido a la notable reducción en la vulnerabilidad de la forma silvestre, la diferencia entre formas observada bajo *Riego* se hace mínima. Entre los genotipos silvestres, solo en el asociado a Mesoamérica, aún siendo el más vulnerable, no se presentan diferencias significativas entre tratamientos, lo que sugiere por un lado una notable adaptación a medios húmedos, y por otro lado, una desventaja ante situaciones de estrés hídrico. Sin embargo la población asociada a Durango, reduce dramáticamente la vulnerabilidad, lo que posiblemente

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

le brindaría una enorme ventaja adaptativa, ya que tendría la capacidad de minimizar la seguridad en condiciones favorables e incrementarla en condiciones adversas. Entre las poblaciones cultivadas, la asociada a Jalisco tampoco presenta diferencias significativas entre tratamientos por ser la menos vulnerable, lo cual obedece al menor diámetro de vasos y a su alta densidad (Figura 32). Esta diversidad de respuestas observadas en *P. vulgaris*, también manifiesta la variabilidad de mecanismos fisiológicos en esta especie, la que muy probablemente ha contribuido a su notable dispersión geográfica.

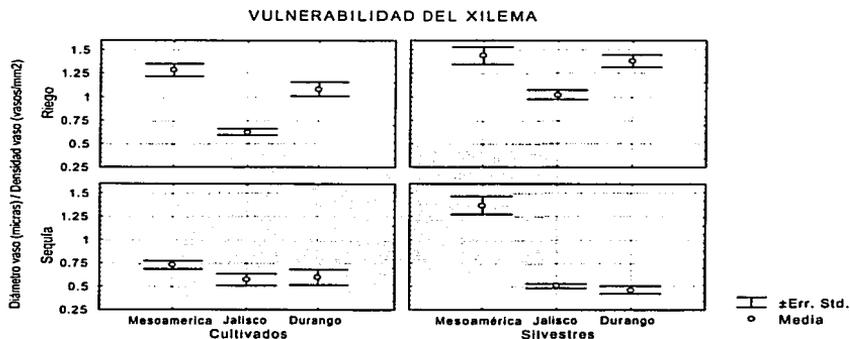


Figura 32. Índice de Vulnerabilidad del xilema de genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*, agrupados por procedencia, y por tratamientos hídricos. Es notable, pese a las diferencias, la similitud del patrón que reflejan los datos bajo Riego, mismo que desaparece bajo Sequía. Destaca el menor efecto de los tratamientos en el genotipo silvestre asociado a Mesoamérica.

La comparación de los atributos morfológicos y anatómicos, tanto foliares como caulinares, de formas silvestres y cultivadas de *Phaseolus vulgaris* y de sus respuestas al déficit hídrico, abren paso, al menos, a un par de interpretaciones posibles: (1) hay suficientes indicios para suponer que los genotipos silvestres, dada la magnitud de su respuesta, son más sensibles al estrés hídrico que los cultivados; no obstante, esto sería inconsistente con la premisa que supone a los cultivados, por su propia naturaleza, como organismos adecuados a los cuidados del hombre (ésta es, obviamente, una interpretación antropocéntrica de los resultados). (2) Desde otro punto de vista, y tal vez más plausible, se puede considerar que hay suficientes

indicios para suponer que los genotipos cultivados, dada la magnitud de sus respuestas y por su propia naturaleza, han perdido o reducido en buena medida, la capacidad de responder a los cambios del medio y ello los hace más susceptibles.

En adición a todo lo anterior, se aplicó un análisis de varianza a una serie de atributos morfoanatómicos (Anexos 1-3) en relación a la procedencia de los genotipos; de ellos, sólo 23 se consideran como altamente significativos ($P < 0.001$). De ellos, 22 en la forma silvestre de *Phaseolus vulgaris* y 14 en la cultivada, parecen asociados con la procedencia. Esos atributos que pudieran relacionarse con factores ambientales propios de los lugares de origen de *P. vulgaris*, podrían sumarse a los caracteres morfológicos, bioquímicos y genéticos con valor diagnóstico para agruparlos dentro de las razas, ecotipos o categorías genéticas (Singh *et al.*, 1991b). La relación menos estrecha entre la procedencia y los genotipos cultivados, podría apuntar hacia la acción selectiva del hombre y al tipo de características sobre las que ha centrado su atención, las cuales podrían haber evolucionado en ambientes o regiones diferentes del área de distribución actual del genotipo cultivado, lo que coincidiría con lo observado por Skroch *et al.* (1998).

Anexo 1. Efecto del origen de los genotipos de *Phaseolus vulgaris* sobre atributos morfoanatómicos foliares y caulinares desarrollados bajo Riego. N=15; gl=2. (ns) no significativo a $P > 0.05$; (ps) poco significativo a $P > 0.01$.

	SILVESTRES		CULTIVADOS	
	F	P	F	P
Área foliar	2.60	ns	13.71	0.0008
Grosor foliar	5.58	ps	5.25	ps
Grosor parénquima en empalizada	15.61	0.0005	3.53	ns
Grosor parénquima esponjoso	0.64	ns	1.60	ns
Razón parénq. Empalizada/Esponjoso	6.56	ps	1.76	ns
Área del tallo	47.74	0.0001	1.46	ns
Área del xilema	21.57	0.0001	13.46	0.0009
Valor de Huber	18.29	0.0002	2.37	ns
Proporción de xilema	12.51	0.0012	13.47	0.0009
Área de la médula	2.79	ns	6.58	ps
Área de la corteza	10.99	0.002	0.80	ps

Anexo 2. Efecto del origen de los genotipos de *Phaseolus vulgaris* sobre atributos anatómicos de epidermis desarrolladas bajo Riego. N = 120; gl = 2. (ns) no significativo a P>0.05; (ps) poco significativo a P>0.01. (*) provenientes de tratamientos de sequía.

	Silvestres		Cultivados	
	F	P	F	P
Área células epidermis adaxial	20,66	0.0001	4,55	ps
Área células epidermis abaxial	82,70	0.0001	7,52	0.0009
Índice estomático adaxial	5,87	0.0037	0,73	ns
Índice estomático abaxial	7,24	0.0011	3,32	ps
Índice aborto estomático adaxial*	9,09	0.0002	1,59	ns
Índice aborto estomático abaxial*	15,12	0.0001	8,10	0.0005
Índice pubescencia adaxial	4,19	ps	1,08	ns
Índice pubescencia abaxial	3,80	ps	2,86	ns
Índice Tricoma globular adaxial	0,47	ns	0,85	ns
Índice Tricoma globular abaxial	0,20	ns	1,74	ns
Densidad estomas adaxial	10,81	0.0001	1,65	ns
Densidad estomas abaxial	48,13	0.0001	13,20	0.0001
Densidad tricomas adaxial	1,54	ns	1,37	ns
Densidad tricomas abaxial	0,45	ns	1,32	ns

Anexo 3. Efecto de origen de los genotipos de *Phaseolus vulgaris* sobre atributos anatómicos del xilema desarrollado bajo Riego. N=150; gl =2. (ns) no significativo a P>0.05; (ps) poco significativo a P>0.01. (*) en este caso N =375.

	Silvestres		Cultivados	
	F	P	F	P
Nº de vasos	45.98	0.0001	0.68	ns
Nº vasos solitarios	5.06	0.0075	32.22	0.0001
Diámetro vasos *	25.75	0.0001	23.95	0.0001
Densidad de vasos	45.98	0.0001	55.80	0.0001
Densidad vasos solitarios	5.06	0.0075	4.51	ps
Índice de Vulnerabilidad	10.15	0.0001	32.73	0.0001
Conductividad	7.76	0.0006	6.42	0.0021

Este trabajo implica dos escenarios: en uno se encuentra la forma silvestre de *Phaseolus vulgaris* que, de no estar vinculada a cuerpos de agua como ríos, arroyos, lagos o lagunas, dependerá de los patrones de lluvia o condensación de rocío propios de sus regiones de origen. En el otro, la forma cultivada, sometida bastante menos al azar en el suministro de agua. Para la supervivencia de ambas es crucial superar la etapa reproductiva; sin embargo, mientras la supervivencia de la forma silvestre se satisface con la producción de unas cuantas semillas, la de la cultivada depende de su rendimiento, sobre el cual se ejerce la presión de selección del hombre. En las líneas sucesivas se intenta dar una visión de conjunto de una planta de *P. vulgaris* a luz de los resultados de este trabajo.

En su forma silvestre, las hojas son relativamente pequeñas; aún así, encontramos que ello puede estar condicionado tanto por la disponibilidad de agua como de luz. Sin embargo, debido al hábito de crecimiento indeterminado, es fácil suponer que el tamaño de las hojas puede variar según las circunstancias durante el ciclo de vida de la planta. En su forma cultivada, las hojas nunca son tan pequeñas y, dado que no debe competir con otras especies por la luz, su tamaño sólo parece estar condicionado por la humedad del ambiente, siendo menores hacia regiones más secas; aunque son relativamente grandes (pueden llegar a triplicar el tamaño de las silvestres), su número es limitado debido al hábito de crecimiento determinado. En ambas formas la reducción en talla foliar parece acompañarse de incrementos en el grosor del tejido asimilador, lo que acentuado en la forma cultivada tiene sentido, dado que en su rendimiento se centra el interés del hombre.

Es de recordar que la hoja cumple con la doble función de captar energía lumínica y asimilar carbono, por un lado, y, por otro, impedir el sobrecalentamiento de la planta. Para ello es capaz de diferenciar algunas células epidérmicas en estomas que regulan el intercambio de gases con el medio, en una proporción aproximada de 1:2 (adaxial : abaxial); sin embargo, en términos de densidad existen variaciones. En su forma silvestre, la capacidad de diferenciar estomas y la densidad estomática se reduce en las poblaciones de los ambientes más secos y, a diferencia de la talla foliar, la densidad estomática parece ser independiente de la disponibilidad de luz, pero no de la disponibilidad de agua. En su forma cultivada, por el contrario, se observa más bien una cierta uniformidad tanto de la capacidad para diferenciar estomas como de la densidad estomática, lo que contrasta con lo observado en la talla foliar, este argumento tiene sentido si se supone que la disponibilidad de agua está garantizada en gran medida. En todo caso, tanto en su forma silvestre como en la cultivada, *Phaseolus vulgaris* parece disponer de un mecanismo de aborto estomático que se dispara bajo condiciones de sequía prolongada, acentuado en las poblaciones de las regiones húmedas.

La hoja, para su funcionamiento normal, requiere de un continuo abastecimiento hídrico que le permita, por urgencia, la apertura estomática y con ello, la toma de dióxido de carbono y el enfriamiento por medio de la transpiración. Por su parte, el xilema, además de conducir el agua, da soporte mecánico a las estructuras aéreas de la planta. Como ya se ha mencionado, la

eficiencia conductora del xilema depende de tres componentes que son la superficie, la densidad de conductos y el diámetro de estos conductos (vasos).

En su forma silvestre, la superficie del xilema de *Phaseolus vulgaris* parece depender de la disponibilidad de agua, siendo menor en ambientes más secos y asociada a hojas más pequeñas; pero también parece depender de la disponibilidad de luz, siendo reducida y de menor resistencia mecánica (propio de los tallos trepadores) en ambientes sombríos (competencia por la luz), asociada en tales circunstancias a hojas de más grandes. El área relativa de conductividad (valor de Huber), resume lo anterior para *P. vulgaris*, así: disminuye hacia ambientes húmedos y sombríos. La densidad de vasos disminuye hacia ambientes secos pero aumenta en ambientes sombríos. La conductividad, dependiente principalmente del diámetro del lumen de los vasos, tendería a ser menor hacia ambientes más secos. Sin embargo, en su forma silvestre, *P. vulgaris* presenta una notable plasticidad que le permite adecuar el número y el diámetro de los vasos, que parece muy sensible a los cambios hídricos del medio. Tal vez sea esta plasticidad (sumada a la observada en la hoja) lo que ha posibilitado la amplia distribución geográfica de la especie.

En su forma cultivada, con predominio arbustivo, el xilema parece responder sólo a la disponibilidad hídrica; además, el área relativa de conductividad es muy baja y homogénea y a ello se suma un bajo número de vasos, de diámetro más bien angosto y una reducida plasticidad. En este contexto, las posibilidades de supervivencia de la forma cultivada de *Phaseolus vulgaris* en un medio hídricamente inseguro parecerían ser escasas.

Además de AF, carácter foliar distintivo entre las formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris*, este trabajo revela otros como el grosor de los parénquimas, la capacidad de reducir el número de estomas por aborto y el número de tricomas glandulares. El grosor de los parénquimas que forman el mesófilo pudiera ser la base de algunas de las diferencias fotosintéticas, así como de posibles mecanismos foliares de resistencia a sequía entre formas silvestres y cultivadas. La capacidad de reducir el número de estomas por aborto en respuesta al estrés hídrico podría ser un mecanismo de autorregulación. Dicho diferencial, que parece afectar más a las formas cultivadas que a las silvestres, muestra mayor sensibilidad entre los genotipos provenientes de ambientes más cálidos y húmedos. Estas modificaciones en la

anatomía foliar, conjuntamente con el AF podrían utilizarse como caracteres diagnósticos entre formas silvestres y cultivadas para predecir su comportamiento ante el estrés hídrico.

A la luz de estos datos resulta más comprensible que los genotipos cultivados muestren antes los síntomas de la marchitez (particularmente en horas del mediodía) y sean los últimos en recuperarse después del riego. Sus hojas, considerablemente mayores, demandarían tal volumen de agua, que el reducido xilema y sus vasos angostos no podrían satisfacer tan eficazmente como ocurría en los silvestres, de hojas pequeñas, mayor proporción de xilema y vasos más amplios.

El estrés hídrico aplicado evidencia diferencias en la sensibilidad a la sequía entre materiales silvestres y cultivados de *Phaseolus vulgaris*. Aquí la sensibilidad debe ser entendida como capacidad de respuesta ante el estímulo y no como susceptibilidad. Las diferencias observadas en cada uno de los caracteres entre tratamientos, cuando las hay, son mayores en las formas silvestres por lo que se puede afirmar que poseen mayor plasticidad. También se pone de manifiesto que un estrés hídrico prolongado es capaz de producir reducciones en el área del tallo, el porcentaje de xilema, el diámetro de los vasos y la conductividad relativa, así como incrementos en la densidad de vasos solitarios y la seguridad de la conducción; o que pudiera no tener efecto como en la densidad de los vasos totales, según sea el carácter evaluado y el genotipo ensayado. Es posible que la respuesta diferencial entre genotipos silvestres y cultivados, se encuentre en diferencias de sensibilidad a nivel del cámbium vascular.

IV) CONCLUSIONES

Existen rasgos anatómicos significativamente diferentes entre los genotipos evaluados. Pero lo que pudiera ser más importante es la existencia de diferencias significativas entre las formas silvestre y cultivada de *Phaseolus vulgaris* que parecen llevarlas por distintas vías: mientras la silvestre tiende hacia la adaptación a las condiciones hídricas imperantes en sus regiones de origen (ecotipos), lo cual que se refleja en una notable plasticidad, la segunda, tiende hacia la independencia de tales condiciones, a cambio de un mayor rendimiento. Esto se evidencia en dos hechos:

- 1) El tejido conductor de agua de la forma silvestre es notablemente variable y parece capaz de adecuar su seguridad y su eficiencia según la disponibilidad hídrica, aunado a cambios asociados en el aparato estomático.
- 2) La domesticación de *Phaseolus vulgaris* parece haber conducido no sólo hacia la selección de hojas más grandes sino también con un volumen de tejido fotosintético mayor en detrimento del tejido encargado de la difusión horizontal de los gases (entre ellos, vapor de agua); así como a una reducción de la plasticidad del tejido conductor.

V) BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, T., T.C. Hsiao, and D.W. Henderson. 1971. Immediate and subsequent growth responses of maize leaves to changes in water status. *Plant Physiology* 48: 631-636.
- Acosta-Gallegos, J.A., C. Quintero, J. Vargas, O. Toro, J.T. Tohme and C. Cardona. 1998. A new variant of arcelin in wild common bean, *Phaseolus vulgaris* L., from southern Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution* 45:235-242.
- Arnold, D.H. and J.D. Mauseth. 1999. Effects of environmental factors on development of wood. *American Journal of Botany* 86: 367-371.
- Ashby, E. 1948. Studies in morphogenesis of leaves. *The New Phytologist*. 47: 177-193.
- Baas, P. 1982. Systematic, phylogenetic and ecological wood anatomy - History and perspectives. In: P. Baas (ed.). *New Perspectives in wood anatomy*. Pp 23-57. Nijhoff / Junk, The Hague-Boston.
- Baas, P. 1986. Ecological patterns in xylem anatomy. In: T. J. Givnish (ed.). *On the economy of plant form and function*. Cambridge University Press.
- Baas, P. and F.H. Schweingruber. 1987. Ecological trends in the wood anatomy of trees, shrubs and climbers from Europe. *International Association of Wood Anatomists* 8: 245-274.
- Baas, P., E. Werker, and A. Fahn. 1983. Some ecological trends in vessel characters. *International Association of Wood Anatomists* 4(2-3): 141-159.
- Barradas, V., H. Jones, and J. Clark. 1994. Stomatal responses to changing irradiance in *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of Experimental Botany* 45: 931-936.
- Beebe, S., O. Toro, A.V. González, M.I. Chacón, and D.G. Debouck. 1997. Wild-weed-crop complexes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae) in the Andes of Peru and

- Colombia, and their implications for conservation and breeding. *Genetic Resources and Crop Evolution* 44: 73-91.
- Begg, E.J. 1980. Morphological adaptations of leaves to water stress. In: Turner and Kramer. (Eds.). *Adaptations of plants to water and high temperature stress*. Wiley and sons, New York.
- Brown, J., J. McFerson, F. Bliss, and T. Hall. 1982. Genetic divergence among commercial classes of *Phaseolus vulgaris* in relation to phaseolin pattern. *HortScience* 17: 752-754.
- Brücher, H. 1989. *Useful plants of neotropical origin*. Springer-Verlag, Berlin.
- Caicedo A.L., E. Gaitán, M.C. Duque, O. Toro Chica, D.G. Debouck, and J. Tohme 1999. AFLP Fingerprinting of *Phaseolus lunatus* L. and related wild species from South America. *Crop Science* 39: 1497-1507.
- Canny, M.J. 1995. A new theory for the ascent of Sap-Cohesion supported by tissue pressure. *Annals of Botany* 75: 343-357.
- Carlquist, S. 1975. *Ecological strategies of xylem evolution*. The University of California Press, Berkeley.
- Carlquist, S. 1977. Ecological factors in wood evolution, a floristic approach. *American Journal of Botany* 64: 887-896.
- Carlquist, S. 1980. Further concepts in ecological wood anatomy, with comments on recent work in wood anatomy and evolution. *Aliso* 9: 449-553.
- Casas, A., J. Caballero, C. Mapes y S. Crespo. 1997. Manejo de la vegetación, domesticación de plantas y origen de la agricultura en Mesoamérica. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 61: 31-47.
- CIAT. 1985. *Etapas de desarrollo de la planta de frijol común (Phaseolus vulgaris L.)*. Centro de documentación. 33 Pp.
- Cruz, R., W. Jordan, and M. Drew. 1992. Structural changes and associated reduction of hydraulic conductance in roots of *Sorghum bicolor* L. following exposure to water deficit. *Plant Physiology* 99: 203-212.
- Dahlin, R. M., M. A. Brick, and B. Ogg. 1992. Characterization and density of trichomes on three common bean cultivars. *Economic Botany* 46: 299-304.
- Debouck, D. 1996. Colombian common and lima beans: views on their origin and evolutionary significance. *Corpoica* 1: 7-15.

- Debouck, D., O. Toro, O. Paredes, W. Johnson, and P. Gepts. 1993. Genetic diversity and ecological distribution of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) in northwestern South America. *Economic Botany* 47: 408-423.
- Delgado S., A. 1985. Systematics of genus *Phaseolus* (Leguminosae) in North and Central America. Ph.D. dissertation, University of Texas, Austin.
- Delgado S., A. 1988. Variation, taxonomy, domestication and germplasm potentialities in *Phaseolus coccineus*. In: P. Gepts (ed.). Genetics resources of *Phaseolus* beans, 441-463. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Delgado S., A., A. Bonet, and P. Gepts. 1988. The wild relative of *Phaseolus vulgaris* in Middle America. In: P. Gepts (ed.) Genetics resources of *Phaseolus* bean, 163-184. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Delgado, E., M. Parry, J. Vadell, D. Lawlor, A. Keys, and H. Medrano. 1992. Effect of water stress on photosynthesis, leaf characteristics and productivity of field-grown *Nicotiana tabacum* L. genotypes selected for survival at low CO₂. *Journal of Experimental Botany* 43: 1001-1008.
- Delgado-Salinas, A., T. Turley, A. Richman, and M. Lavin. 1999. Phylogenetic analysis of the cultivated and wild species of *Phaseolus* (Fabaceae). *Systematic Botany* 24: 438-460.
- Eco, U. 1999. Guisantes y otras vainas. El mejor alimento. Lo mejor del milenio (02). *El País Semanal* N° 1207.
- Enright, A.M. and B.G. Cumbie. 1973. Stem anatomy and internodal development in *Phaseolus vulgaris*. *American Journal of Botany* 60: 915-922.
- Evans, A. 1976. Beans. In: N.W. Simmonds (ed.). *Evolution of crop plants*. Pp. 168-172. Longman. London.
- Ewers, F.W. and M.H. Zimmermann. 1984. The hydraulic architecture of eastern hemlock (*Tsuga canadensis*). *Canadian Journal of Botany* 62: 940-946.
- Fahn, A. 1979. Secretory tissues in plants. pp. 48-50. Academic Press Inc. (London) LTD.
- February, E.C., W.D. Stock, W.J. Bond, and D.J. Le Roux. 1995. Relationships between water availability and selected vessel characteristics in *Eucalyptus grandis* and two hybrids. *International Association of Wood Anatomists* 16: 269-276.
- Flores, E. M., M. A. Espinoza y Y. Kozuka. 1977. Estudio ultraestructural de la epidermis de *Phaseolus vulgaris* L. *Turrialba* 27: 117-124.

- Freytag, G. and D. Debouck. 1996. *Phaseolus costaricensis*, a new wild bean species (Phaseolinae, Leguminosae) from Costa Rica and Panama, Central America. *Novon* 6:157-163.
- García, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Gearty, H. 1969. Origin of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. *Economic Botany* 23: 55-69.
- Gepts, P. 1994. Análisis moleculares del proceso de domesticación en plantas: el ejemplo del frijol común (*Phaseolus vulgaris*). 11º Congreso Latinoamericano de Genética (Vegetal) y XV Congreso de Fitogenética. Monterrey. México.
- Gepts, P. 1996. Origin and evolution of cultivated *Phaseolus* species. In: B. Pickersgill and J.M. Lock (eds.). *Advances in Legume Systematics 8: Legumes of Economic Importance*, pp. 65-74. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Gepts, P. 1998. Origin and evolution of common bean: Past events and recent trends. *HortScience* 33: 1124-1130.
- Gepts, P. and A. Bliss. 1986. Phaseolin variability among wild and cultivated common beans (*Phaseolus vulgaris*) from Colombia. *Economic Botany* 40: 469-478.
- Gepts, P., T. Osborn, K. Rashka, and F. Bliss. 1986. Phaseolin-protein variability in wild forms and landraces of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): evidence for multiple centers of domestication. *Economic Botany* 40: 451-468.
- González A., J. Lynch, J.M. Tohme, S.B. Beebe, and R.F. Macchiavelli. 1995. Characters related to leaf photosynthesis in wild populations and landraces of common bean. *Crop Science* 35: 1468-1476.
- Greulach, V. 1973. *Plant function and structure*. Collier Macmillan International, Inc. New York.
- Hancock, J. 1992. *Plant evolution and the origin of crop species*. Prentice Hall, Englewood, New Jersey.
- Harlan, J.R. 1992. *Crops and man*. Second Edition. American Society of Agronomy, Inc. Crop Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin.
- Heichel, G.H. 1971. Genetic control of epidermal cell and stomatal frequency in maize. *Crop Science* 11: 830-832.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
 INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
 DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

- Hsiao, T. 1973. Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology* 24: 519-570.
- Isely, D. 1982. Leguminosae and *Homo sapiens*. *Economic Botany* 36: 46-70.
- Johansen, D. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Publishing Co. New York.
- Judd, W.S., C.S. Campbell, E.A. Kellog and P.F. Stevens. 1999. *Plant systematic: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA.
- Kaplan L. and T.F. Lynch 1999. *Phaseolus* (Fabaceae) in archaeology: AMS radiocarbon dates and their significance for pre-colombian agriculture. *Economic Botany* 53: 261-272.
- Kaplan, L. 1967. Archeological *Phaseolus* form Tehuacan. In: D.E. Beyers (ed.). *The Prehistory of the Tehuacan Valley*. Vol. 1, Environment and subsistence. Pp. 201-211. Univ. Texas Press. Austin. TX.
- Kaplan, L. 1981. What is the origin of the common bean? *Economic Botany* 35: 240-254.
- Kaplan, L., T. Lynch, and E. Smith. 1973. Early cultivated beans seed (*Phaseolus vulgaris*) from an intermontane peruvian valley. *Science* 179: 76-77.
- Kebede, H., B. Martin, and J. Nienhuis. 1994. Leaf anatomy of two *Lycopersicon* species with contrasting gas exchange properties. *Crop Science* 34: 108-113.
- Khairallah, M., M. Adams, and B. Sears. 1990. Mitochondrial DNA polymorphisms of Malawian bean lines: further evidence for two major gene pools. *Theoretical and Applied Genetics* 80: 153-161.
- Kim, J.H. and O.Y. Lee-Standelmann. 1984. Water relations and cell wall elasticity quantities in *Phaseolus vulgaris* leaves. *Journal of Experimental Botany* 35: 841-858.
- Koenig, E., S. Singh, and P. Gepts. 1990. Novel Phaseolin types in wild and cultivates common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Economic Botany* 44: 50-60.
- Koenig, R. and P. Gepts. 1989. Allozyme diversity in wild *Phaseolus vulgaris*: further evidence for two major center of diversity. *Theoretical and Applied Genetics* 78: 809-817.
- Kramer, P.J. 1969. *Plant and soil water relationships: a modern synthesis*. McGraw-Hill, Inc. New York.
- Lo Gullo, M.A. and S. Salleo. 1992. Water storage in the wood and xylem cavitation in 1-year-old twigs of *Populus deltoides* Bartr. *Plant, Cell and Environment* 15: 431-436.

- Lo Gullo, M.A., S. Salleo, E.C. Piaceri, and R. Rosso. 1995. Relation between vulnerability to xylem embolism and xylem conduit dimensions in young trees of *Quercus cerris*. *Plant, Cell and Environment* 18: 661-669.
- Lynch J., A. González, J.M. Tohme, and J.A. García. 1992. Variation in characters related to leaf photosynthesis in wild bean populations. *Crop Science* 32: 633-640.
- Ma, Y. and F. Bliss. 1978. Seed proteins of common bean. *Crop Science* 18: 431-437.
- Malone, M. 1992. Rapid effects of root cooling on leaf growth rate: analysis of hydraulic effects using displacement transducer. *Journal of Experimental Botany* 43: 37.
- Mercado-Ruaro, P. and A. Delgado-Salinas. 1998. Karyotypic studies on *Phaseolus* (Fabaceae: Phaseolineae). *American Journal of Botany* 85: 1-9.
- Metcalfe, C. and L. Chalk. 1979. *Anatomy of Dicotyledons*. Vol.1. Oxford Science Publications.
- Miranda C, S. 1979. Evolución de *Phaseolus vulgaris* y *P. coccineus*. In: E.M. Engleman (ed.). *Contribuciones al conocimiento del frijol (Phaseolus) en México*. Pp. 83-99. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
- Moreno, S., R. Maiti, P. Wesche y H. Gámez. 1993. Una revisión de los aspectos morfoanatómicos, fisiológicos y bioquímicos de especies silvestres y cultivadas de frijol. *Universidad Ciencia y Tecnología*. 2: 1-13.
- Nautiyal, S., H. Badola, M. Pal, and D. Negi. 1994. Plant responses to water stress: changes in growth, dry matter production, stomatal frequency and leaf anatomy. *Biologia Plantarum (Prague)* 36: 91-97.
- Nardini, A and S. Salleo. 2000. Limitation of stomatal conductance by hydraulic traits: sensing or preventing xylem cavitation? *Trees* 15:14-24.
- Navea, C. 1990. Efecto del déficit hídrico en la anatomía del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). V Congreso Latinoamericano de Botánica. La Habana.
- Navea, C. 1993. Respuesta foliar al déficit hídrico en dos variedades de maíz (*Zea mays* L.). Trabajo de Ascenso a la categoría Asociado. Universidad de Los Andes. Venezuela.
- Navea, C. 1997. Respuesta anatómica del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) al estrés hídrico. Tesis de Maestría. UNAM. México.

- Nobel, P. 1980. Leaf anatomy and water use efficiency. In: Turner, N. and Kramer, P. (eds.). Adaptations of Plants to water stress and high temperature stress. Wiley and Sons. New York.
- Ospina, H. 1980. Morfología de la planta de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Pp. 18-22. Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT. Cali. Colombia.
- Pardossi, A., J. Pritchard, and A. Tomos. 1994. Leaf illumination and root cooling inhibit bean leaf expansion by decreasing turgor pressure. *Journal of Experimental Botany* 45: 415-422.
- Parkhurst, D. 1986. Internal leaf structure: a three-dimensional perspective. In: T. J. Givnish (ed.). On the economy of plant form and function. Cambridge University Press.
- Pillemer, E. A. and W.M. Tingey. 1976. Hooked trichomes: a physical plant barrier to a major agricultural pest. *Science* 193: 482-484.
- Pimentel, C., D. Laffray, and P. Louquet. 1999. Intrinsic water use efficiency at the pollination stage as a parameter for drought tolerance selection in *Phaseolus vulgaris*. *Physiologia Plantarum* 106: 184-189.
- Pockman, W.T. and J.S. Sperry. 2000. Vulnerability to xylem cavitation and the distribution of sonoran desert vegetation. *American Journal of Botany* 87: 1287-1299.
- Ramírez V., P. 1992. Identification and estimation of drought related resistance traits in dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Ph.D. dissertation. Michigan State University.
- Rodríguez, J. 1996. Características morfológicas y fisiológicas asociadas con la tolerancia a sequía en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo. México.
- Roth, I. 1964. *Microtécnica Vegetal*. Ed. Facultad de Ciencias. UCV. Caracas.
- Salisbury, F.B. y C.W. Ross. 1994. *Fisiología Vegetal*. Capítulo 26. Pp. 639-667. Grupo Editorial Iberoamérica S.A. de C.V. México.
- Scheiner, S. 1999. Towards a more synthetic view of evolution. *American Journal of Botany* 86: 145-148.
- Schmit, V. and D.G. Debouck. 1991. Observations on the origin of *Phaseolus polyanthus* Greenman. *Economic Botany* 43: 345-364.
- Schneider, K., R. Rosales-Serna, F. Ibarra-Pérez, B. Cazares-Enriquez, J. A. Acosta-Gallegos, P. Ramirez-Vallejo, N. Wassimi, and J.D. Kelly. 1997. Improving common bean performance under drought stress. *Crop Science* 37: 43-50.

- Schulze, E.D., N.C. Turner, T. Gollan, and A. Shackel. 1987. Stomatal responses to air humidity and soil drought. In: E. Zeiger, G.D. Farquhar, and I R. Cowan (eds.). Stomatal Function. Stanford University Press. California
- Shah, G.L. and B.V. Gopal. 1969. Stomatal ontogeny of the vegetative and floral organs of some Papilionaceae. Australian Journal of Botany 17: 81-87.
- Shaik, M. and J.R. Steadman. 1988. Nonspecific resistance to bean rust and its association with leaf pubescence. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative 31: 62-63.
- Singh, S., R. Nodari, and P. Gepts. 1991a. Genetic diversity in cultivated common bean. I. Allozymes. Crop Science 31: 19-23.
- Singh, S.P., P. Gepts, and D.G. Debouck. 1991b. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). Economic Botany 45: 379-396.
- Skroch, P. W., J. Nienhuis, S. Beebe, J. Tohme and F. Pedraza. 1998. Comparison of Mexican common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) core and reserve germplasm collections. Crop Science 38:488-496.
- Smartt, J. 1988. Morphological, physiological and biochemical changes in *Phaseolus* beans under domestication. In: P. Gepts (ed.). Genetic resource of *Phaseolus* beans: their maintenance, domestication, evolution and utilization. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Netherlands.
- Smartt, J. 1990. Vavilov's Law of Homologous Series and *de novo* crop plant domestication. Biological Journal of the Linnean Society 39: 27-38.
- Sonnante, G., T. Stockton, R. Nodari, V. Becerra Velásquez, and P. Gepts. 1994. Evolution of genetic diversity during the domestication of common-bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Theoretical and Applied Genetics 89: 629-635.
- Sousa, M. y A. Delgado S. 1979. Herramientas y consideraciones para la revisión del género *Phaseolus*. En: E.M. Engleman (ed.). Contribuciones al conocimiento del frijol (*Phaseolus*) en México. Pp. 59-82. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
- Sperry, J. and J. Sullivan. 1992. Xylem embolism in response to freeze-thaw cycles and water stress in ring-porous, diffuse-porous, and conifer species. Plant Physiology 100: 605-613.
- Sultan, S.E. 1995. Phenotypic plasticity and plant adaptation. Acta Botanica Neerlandica 44: 363-383.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Thakur, S. 1990. Different physiological responses of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) cultivars to drought. *Acta Physiologiae Plantarum* 12: 175-182.
- Trejo, C.L. and W.J. Davies. 1991. Drought-induced closure of *Phaseolus vulgaris* L. stomata precedes leaf water deficit and any increase in xylem ABA concentration. *Journal of Experimental Botany* 42: 1507-1515.
- Tsuda, M. and M.T. Tyree. 2000. Plant hydraulic conductance measured by the high pressure flow meter in crop plants. *Journal of Experimental Botany*. 51:823-828.
- Turner N. and P. Kramer. 1980. Adaptations of plants to water and high temperature stress. Wiley and Sons, New York.
- Tyree, M.T. and F.W. Ewers. 1991. The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* 119:345-360.
- Tyree, M.T., S. Salleo, A. Nardini, M.A. Lo Gullo and R. Mosca. 1999. Refilling of embolized vessels in young stems of laurel. Do we need a new paradigm? *Plant Physiology* 120:11-21.
- Van Rensburg L., G. Krüger, and H. Krüger. 1994. Assessing the drought resistance adaptative advantage of some anatomical and physiological features in *Nicotiana tabacum*. *Canadian Journal of Botany* 72: 1445-1454.
- Vanderborght, T. 1983. Evaluation of *Phaseolus vulgaris* wild types and weedy forms. *Plant Genetic Resource Newsletter* 54: 18-24
- Velázquez, J. 1986. Algunos aspectos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos de *Phaseolus vulgaris* L. bajo sequía. En: El agua en las plantas cultivadas. Colegio del Postgraduados. Chapingo. México.
- Zhao, L. and F.D. Sack. 1999. Ultrastructure of stomatal development in *Arabidopsis* (Brassicaceae) leaves. *American Journal of Botany* 86: 929-939.
- Zimmermann, M.H. 1982. Functional xylem anatomy of angiosperm trees. In: P. Baas (ed.). *New perspectives in wood anatomy*. Pp 59-70. Nijhoff/Junk, The Hague-Boston.
- Zimmermann, M.H. 1983. Xylem structure and the ascent of sap. Springer-Verlag, Berlin.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN