

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

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

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

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

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

NIVEL	PROMEDIO $\pm$ ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 1445.15 $\pm$ 60.74 a*	1220.43	1669.87
	2 1111.51 $\pm$ 77.77 b	886.79	1336.24
	3 1250.83 $\pm$ 37.41 ab	1026.11	1475.55
	4 1195.97 $\pm$ 200.15 ab	971.25	1420.69
	Total 1250.87 $\pm$ 56.56		
TRATAMIENTO	1 1336.14 $\pm$ 80.99 a**	1141.52	1530.75
	2 1317.79 $\pm$ 79.87 a	1123.17	1512.40
	3 1098.67 $\pm$ 126.15 a	904.06	1293.29
	Total 1250.87 $\pm$ 56.62		

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

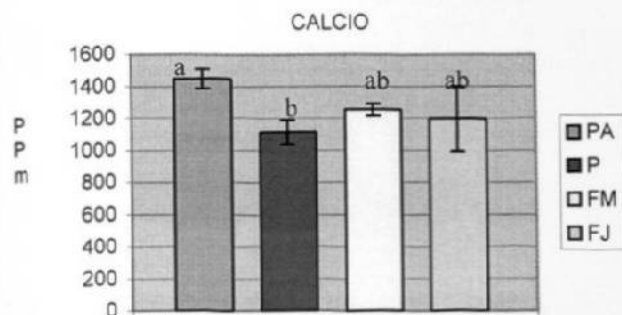


Fig. 32 Contenido de calcio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.

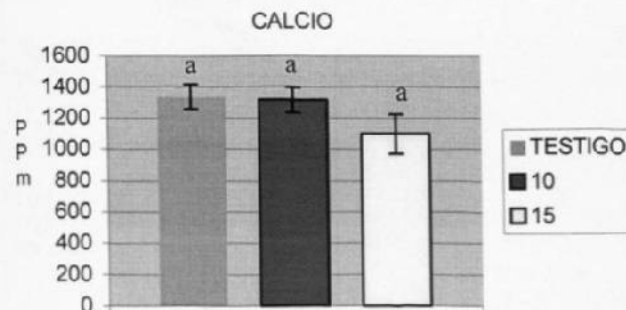


Fig. 33 Contenido de calcio en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG

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

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

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

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

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

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

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

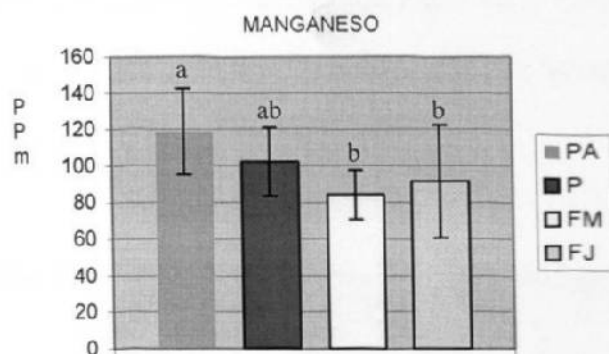


Fig. 34 Contenido de manganeso en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.

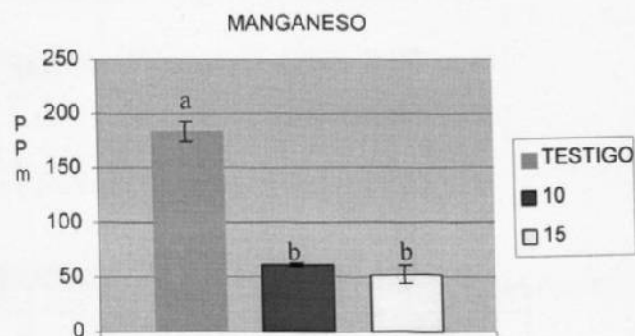


Fig. 35 Contenido de manganeso *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.

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

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

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

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

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

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

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

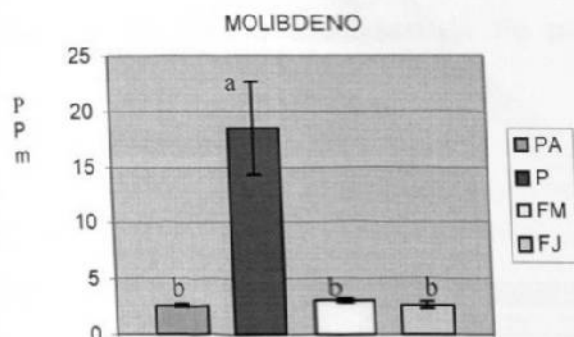


Fig. 36 Contenido de molibdeno en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.

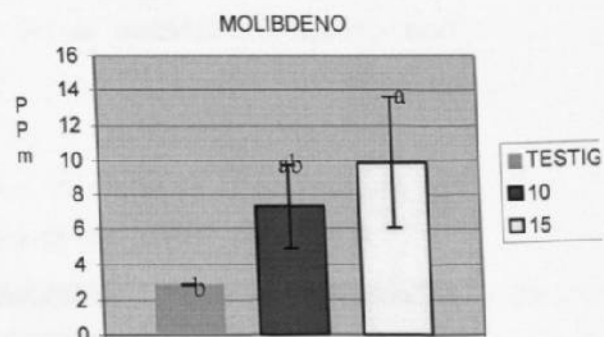


Fig. 37 Contenido de molibdeno en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.

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

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

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

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

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

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

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

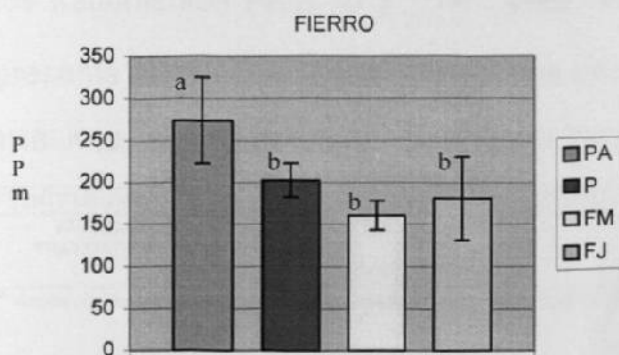


Fig. 38 Contenido de fierro en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.

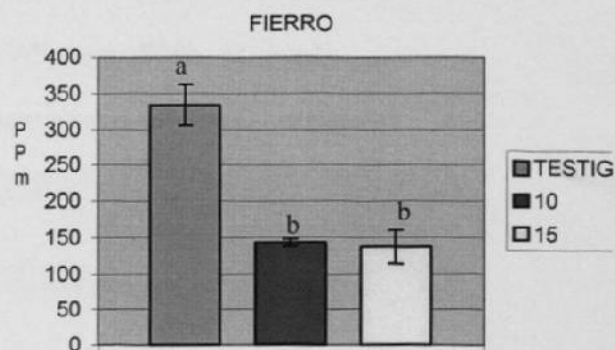


Fig. 39 Contenido de fierro en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.

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

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

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

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



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

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

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

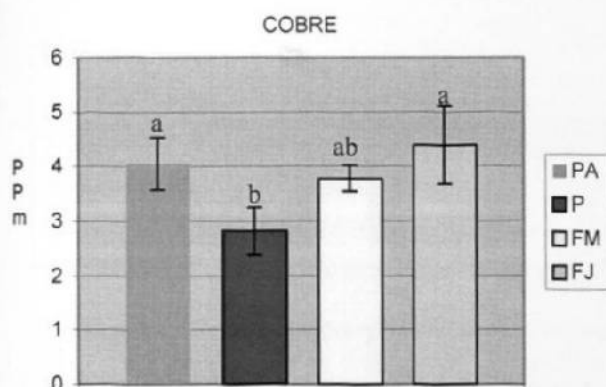


Fig. 40 Contenido de cobre en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.

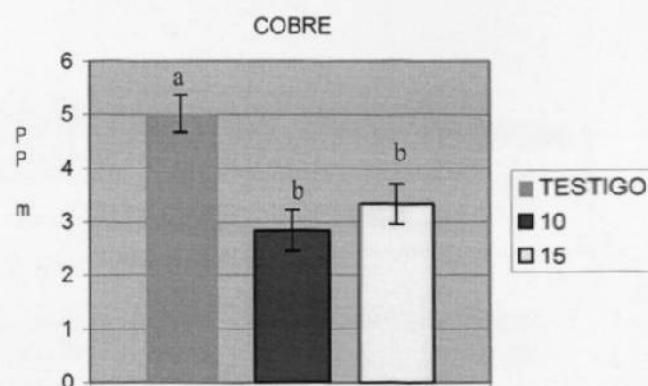


Fig. 41 Contenido de cobre en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.

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

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

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

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

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

NIVEL	PROMEDIO ± ERROR ESTANDAR	LIMITE DE CONFIANZA PARA LA MEDIA	
VARIEDAD	1 40.12 ± 12.24 a**	32.40	47.84
	2 41.11 ± 8.99 a	33.38	48.83
	3 39.63 ± 7.40 a	31.91	47.36
	4 47.88 ± 14.65 a	40.16	55.60
	Total 42.19 ± 5.59		
TRATAMIENTO	1 84.02 ± 4.22 a*	77.34	90.71
	2 15.99 ± 2.72 c	9.30	22.68
	3 26.54 ± 2.65 b	19.65	33.23
	Total 42.19 ± 1.89		

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

DETERMINACION DE ZINC EN CALLO *IN VITRO* DE PHASEOLUS VULGARIS L. EN CONDICIONES DE SEQUIA

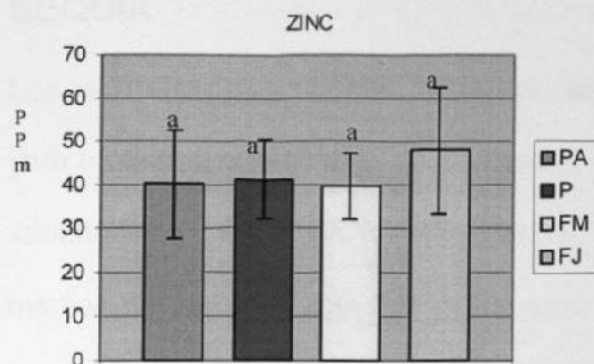


Fig. 42 Contenido de zinc en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 var. de *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía con PEG.

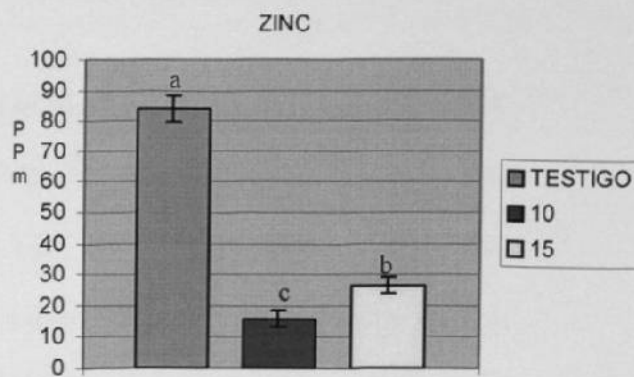


Fig. 43 Contenido de zinc en callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de *Phaseolus vulgaris* L. en los diferentes tratamientos de sequía con PEG.

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

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

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

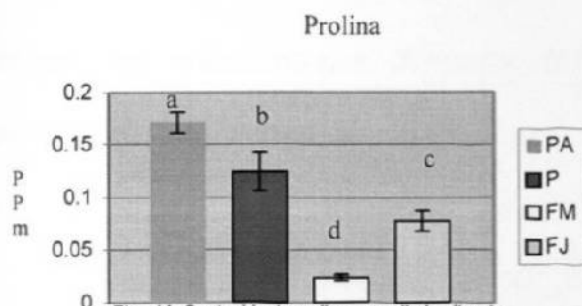
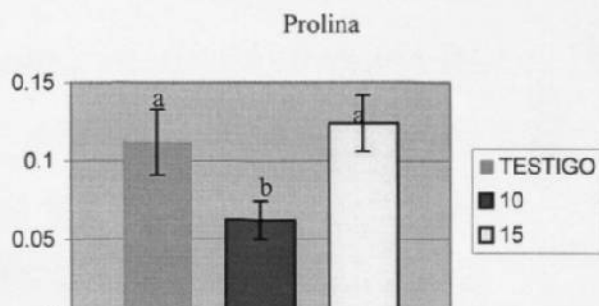
ELEMENTO	FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	PROBABILIDAD
PROLINA	VARIEDAD	0.108	3	0.036	66.47 **	$P < 0.01$
	TRATAMIENTO	0.025	2	0.012	23.87 **	$P < 0.01$

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

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

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

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

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

## ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA-SDS : SALINIDAD

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

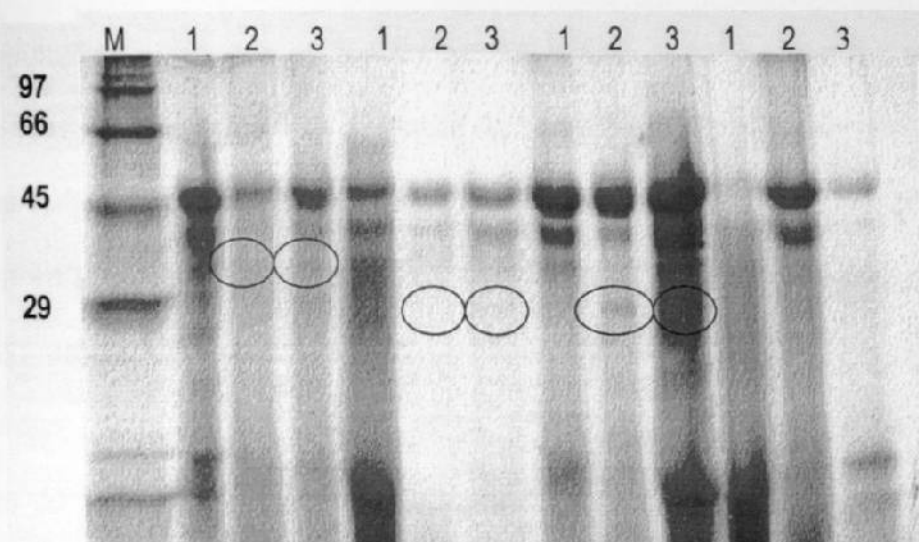


Fig. 46 Electroforesis en gel de poliacrilamida-sds de callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 variedades *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de salinidad.

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

---

## ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA-SDS : SEQUÍA

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



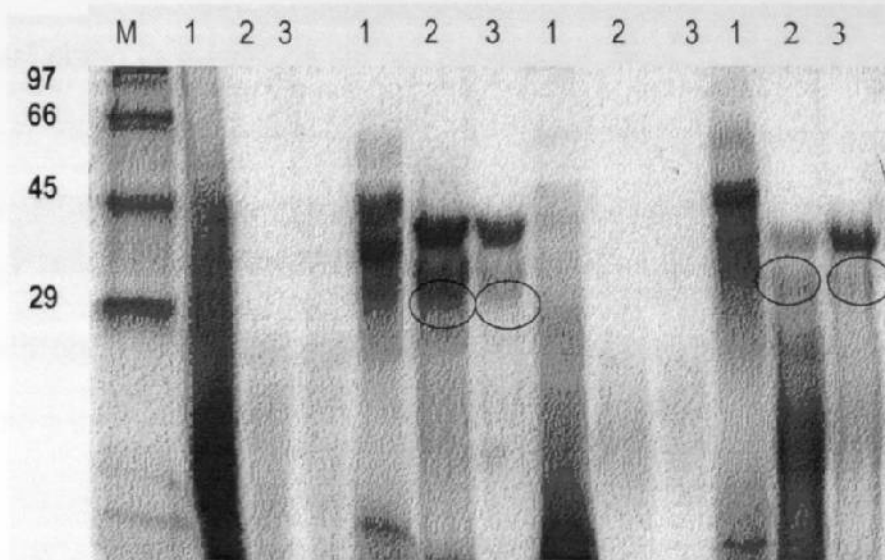


Fig. 47 Electroforesis en gel de poliacrilamida-sds de callo *in vitro* de hoja cotiledonaria de 4 variedades *Phaseolus vulgaris* L. bajo estrés de sequía.

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

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

La variedad *pastilla* muestra una mayor acumulación de los nutrientes en los callos *in vitro* estresados a salinidad, excepto para el sodio y una mayor cantidad de prolina libre comparada con las variedades *flor de mayo* y *flor de junio*. Además en esta variedad se observa la presencia de un polipéptido de 28 kDa como respuesta al estrés de salinidad. En el factor sequía el comportamiento de esta variedad es muy similar ya que además de presentar mayor acumulación de nutrientes se presenta una proteína de respuesta al estrés con un peso molecular de 30 kDa.

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

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

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

## **ULTRAESTRUCTURA POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN.**

En los cortes semifinos, tanto para salinidad como para sequía, se observan células de diferentes formas y tamaños desde circulares hasta alargadas. Algunas áreas presentan un arreglo ordenado con células de forma homogénea, bien sea todas delgadas o circulares, o compactas y apiladas dejando poco espacio extracelular, mientras que otras áreas de una misma muestra, el arreglo es más bien desordenado y con amplios espacios extracelulares sin contenido aparente; como lo citan Hurtado y Merino (1987) quienes mencionan que estudios microscópicos han demostrado que los tejidos de tipo calloso generalmente son heterogéneos en su composición celular; que la diversidad celular presente en el callo depende de muchos factores como son el origen del tejido, la edad de los cultivos y la composición de los medios.

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

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

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

## VIII. CONCLUSIONES

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

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

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

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

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

## IX. LITERATURA CITADA

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

- Cramer, G.R., E. Epstein, and A. Lauchli. 1988.** Kinetics of root elongation of maize in response to short-term exposure to NaCl and elevated calcium  $\zeta$  concentration. *J. Exp. Bot.*, 39(208):1513-1522.
- Chu, M. T., D. Aspinall and G.L. Paleg. 1974.** Stress metabolism. VI. Temperature stress and the accumulation of proline in barley and radish. *Aust. Jour. Plant Physiol.* 1:87-97.
- Dodds, H. J. & W. R. Lorin. 1986.** Experiments in Plant Tissue Culture. Cambridge University Press. London England. 2a. Ed. pp.21-31, 46-47.
- Dubey, R.S. 1994.** Protein synthesis by plants under stressful conditions. In Pessaraki, M. *Handbook of Plant and Crop Stress.* Marcel Dekker, Inc.  $\zeta$  New York, N.Y. p. 277-299.
- Ericson, M.C. And S.H. Alfinito. 1987.** Proteins produced during salt stress in tobacco cell culture. *Plant physiology*, 74:506.
- FAO. 1992.** Anuario de producción. Vol. 46.
- Flores H. A. 1997.** Características Bioquímicas relacionadas con el estrés por calor en nopal (*Opuntia spp*). Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados. Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Montecillo, México.
- Flowers, T.J., P. F. Troke y A.R. Yeo. 1977.** The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annual Review of Plant Physiology*, 28:89-121.
- Foster, S. 1993.** Maize production, drought and AIDS in Monze District, Zambia. *Health Policy and Planning*, 8(3):247-254.



- Frederici, C.T.; B. Ehdai y J.G. Waines. 1990.** Domesticated and Wild tepary bean: field performance with and without drought-stress. *Agron.* 82:896-900.
- González Flores L. M. E. (1990).** Caracterización fisicoquímica e implicaciones nutricias de las lectinas de frijol tepari y sus híbridos. Tesis . Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzado del Instituto Politécnico Nacional Unidad Irapuato.
- Grzesiak, S. 1991.** Ecological and physiological factors of drought resistance in different genotypes of maize (*Zea mays* L.). *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczejim. H. Kollatajw Krakowie, Rozprawa Habilitacyjna*, 158:119 pp.
- Hames, B. D. 1981.** An introduction to polyacrylamide gel electrophoresis. In *Gel electrophoresis of proteins* ed. Hames, B. D. & Ricwood, D. Washington,DC:IRL Press. pp. 1-91.
- Huang-Peiming; Ge-Koulin 1989.** *Acta-Agriculturac-Shangahi* (China). V.5(1) p. 31- 36.
- Hurtado D. V. y M. E. Merino M. 1988.** Cultivo de Tejidos Vegetales. Ed. Trillas. 1a. Edición. pp. 94-97.
- Hurkman, W.J. and C. K. Tanaka. 1987.** The effects of salt on the pattern of protein synthesis in barley roots. *Plant Physiology* 83 :517.
- Igartua, A., M.P. García y J.M. Lasa. 1994.** Characterization and genetic control of germination-emergence responses of grain sorghum to salinity. *Euphytica*, 76(3):185-193

- INEGI. 1991.** VII Censo agropecuario.
- Ireland, R. 1990.** Aminoacid and ureide biosíntesis. In: Plant Physiology, biochemistry and molecular biology. Dennis, D. T. and Turpin, D. H. (Eds.) Longman. pp 408-420.
- Itulya, F. M.; C..L. Coulson y H.A. Dsourza. 1986.** Bean-Cowpes CRSP (Collaborative Research Support Programme) Progress Report 1985. Nairobi Univ. (Kenya). Dept. Of Crop Science.
- Jia , X., 1987.** The effect of temperature on maize anther culture. Scientia Agricultura Sinica 20 (3):95-96.
- Kathiresan, K. 1987.** Role of proline in plants under stress conditions. Indian Review of Life Sciences. 7:203-220.
- Kim, S. G.; Song, J. H. 1984.** Korean- Journal-of-Botany. v. 27(3) p.173-178.
- Laemmli, U. K. 1970.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227.681-685.
- Levitt, J. 1972.** Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, New York.
- López-Nuño, N.L. 1994.** Efecto de la sequía simulada sobre la germinación de maíz, y su relación con el comportamiento de la planta en maceta bajo condiciones de sequía. Tesis de Maestría. I.T.E.S.M.
- Lupotto, E; M. Mongodi, and M.C. Lusardi. 1988.** Salt tolerance: *in vitro* selection with regard to the regenerative potential. Maize Genet. Cooperation Newsletter, 62:30-31.
- Lux Alexander, 1987.** Manual de Microscopia Electrónica, Ultraestructura y Citología Vegetal. F.C.B. U.A.N.L. pp 19-52.

- Maiti R.K., P.S. Raju, B.V.S. Reddy and J.M. Peacock. 1989.** Evaluation of techniques to screen for drought resistance in sorghum seedlings. Turrialba, 39(1): 106-110.
- Maiti, R.K. 1996.** Sorghum Science. xv + 352 pp. Science Publisher, Inc. Lebanon, NH, USA.
- Maiti, R.K. 1997.** Maize Science. First Edition Science Publishers, INC. U.S.A.
- Maiti, R.K. 1997.** Bean Science. First Edition. Science Publishers. USA. pp 15.
- Maiti R.K., A. Nuñez González, P. Wesche Ebeling, S. Moreno Limón, M. L. Cárdenas Ávila, J.L. Hernández Piñero, J. Verde-Star. 2000. Proline and protein profile as indicators of resistance to biotic and abiotic stresses in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Legume Research. En Prensa.
- Maiti, R. K., L. E. Delgado-Amaya, S. Ibarra-Cardona, A. M. Ontiveros-Dimas, M. de la Rosa-Ibarra, and H. De León-Castillo. 1996.** Genotypic variability in maize cultivars (*Zea mays* L.) for resistance to drought and salinity at the seedling stage. J. Plant Physiol., 148(6): 741-744.
- Maiti, R.K. , M.L. Cárdenas Ávila, M. J Verde-Star, M. A. Nuñez González y J.L. Hernández Piñero (2000).** Tissue Culture And Its Application In Crop Improvement Programme In *Phaseolus* Bean. Journal Agril Reviews (en prensa).
- Malibari, A. A., M.A. Zidan, M.M. Heikal y S. El-Shamary. 1993.** Effect of salinity on germination and growth of alfalfa, sunflower and sorghum. Pakistan J. Bot., 25(2):156-160

- Maliwal, G.L., and K.V. Paliwal. 1984.** Salt tolerance of some paddy, maize, sorghum, cotton and tobacco varieties at germination and early growth stage. *Agricultural Science Digest, India* 4: 3, 147-149.
- Mir Araujo Irene (1996).** Estudios de la respuesta de cuatro genotipos de Sorgo "Glossy" y uno "No- Glossy" a factores de estrés: Salinidad, Sequía y Exposición a un herbicida en desarrollo de Plántula y Callo. Tesis Doctoral I.T.E.S.M. pp 33-34, 93.
- Mishra, P.K., A.S. Mehta, and A.K. Srivastava. 1994.** Effect of salt stress on the physiology of 15-day old seedlings of maize. *Neo-Botanica.* 1994, 2: 1, 49-51.
- Mohammed M. F.; Read, P.E.; Coyne, D. P. 1992.** *Journal of the American Society for Horticultural Science (USA).* V. 117 (2).
- Mongodi, M; M.C. Lusardi, and E. Lupotto 1988.** Regeneration in salt tolerant callus cultures of maize (*Zea mays*). Importance of genotype and somaclonal variation in the scheme of selection *Genetica Agraria* 42:1,85.
- Moreno Limón Sergio. 1998.** Respuestas morfofisiológicas, bioquímicas y ultraestructurales en frijol (*Phaseolus vulgaris* L). al estrés de salinidad, altas temperaturas y sequía. Tesis Doctoral, F.C.B., División es Estudios de Postgrado. U. A. N. L., Monterrey, Nuevo León.
- Murashige, T. & F. Skoog 1962.** A Revised Medium For Rapid Growth and Bioassays With Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plantarum* 15:473-497.
- Naidu, P.B., D. Aspinall and G. L. Paleg. 1992.** Variability in proline accumulating ability of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars induced by vapor pressure deficit. *Plant Physiol.* 98:716-722.

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

---

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- Sandoval, G. N. D. 1991.** Evaluación y selección de líneas de sorgo "glossy" [*Sorghum bicolor* (L.) Moench.] para su tolerancia a diferentes factores de estrés en etapa de plántula. Tesis de Licenciatura. F.C.B. U.A.N.L. México
- Schlesinger, J. M. 1990.** Heat shock proteins. Jour of Biol. Chem. Vol. 265, No. 21: 12111-12114.
- Shahin, E. A. & K. Kanenko. 1986.** Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Callus Cultures of Nonbulbing Onions. Hort Science 21(2):294-295.
- Sindhu, R.K.; D.H. Griffin y D.C. Walton. 1990.** Abscisic aldehyde is an intermediate in the enzymatic conversion of xanthoxin to abscisic acid in *Phaseolus vulgaris* L. Leaves. Plant Physiol. 93:689-694.
- Singh, T. N. D. Aspinall and L. G. Paleg. 1972.** Proline accumulation and varietal adaptability to drough in barley: A potential metabolic measure of drough resistance. Nature (London) New Biol. 236: 188-190.
- Shing, N.K., A.K. Handa, P. M. Hasegawa And R.A. Bressan. 1985.** Proteins associated with adaptation of cultured tobacco cells to NaCl. Plant Physiology 79:126.
- Singh, N.K., C.A. Braker, P.M. Hasegawa, A.K. Handa, S. Buckel, M.A. Hermodson, E. Pfankoch, F.E. Regnier and R.A. Bressan. 1987.** Characterization of osmotin, a thoumatin-like protein associated with osmotic adaptation in plant cells. Plant Physiology 85: 529.

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



- Yeo, A.R. y T.J. Flowers, 1980.** Salt tolerance in the halophyte *Suaeda maritima* L. Dum.: Evaluation of the effect of salinity on growth. *Journal of experimental Botany*, 31(123):1171-1183.
- Zar, J. H. 1996.** Biostatistical Analysis. Tercera edición. Prentice Hall Inc. N.Y. 718p.
- Zuñiga, G. E. V. H. Argandona, y L. J. Corcuera, 1989.** Distribution of glycine, betaine and proline in water stress and un stress barley leaves. *Phytochemistry*. 28(2).419-420.

**CURRÍCULUM VITAE**  
**MC MARIA LUISA CARDENAS AVILA**

**DATOS PERSONALES**

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

**ESTUDIOS REALIZADOS**

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

ACTA DE EXAMEN PREDOCTORAL 17 DE NOV. DE 2000.

**EXPERIENCIA LABORAL (INVESTIGACION)**

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

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

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

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

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

## **DISTINCIONES**

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

## **PUBLICACIONES**

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

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

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

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

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

REVISTA: BIOTAM

ESTADO ACTUAL: ACEPTADO

OBJETIVO: INVESTIGACIÓN

PAIS: MEXICO AÑO: 1999

AUTORES: MARIA LUISA CARDENAS AVILA

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

REVISTA: REVISTA INTERNACIONAL DE BOTANICA EXPERIMENTAL OYTON.

ESTADO ACTUAL: ACEPTADO

OBJETIVO: INVESTIGACIÓN

PAIS: ARGENTINA AÑO: 2000

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

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

REVISTA: AGRIL REVIEWS

ESTADO ACTUAL: ACEPTADO

OBJETIVO: INVESTIGACIÓN

PAIS: INDIA AÑO: 2000

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

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

REVISTA: AGRIL RESEARCH

ESTADO ACTUAL: ACEPTADO

OBJETIVO: INVESTIGACION

PAIS: INDIA AÑO: 2000

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

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

REVISTA: LEGUME RESEARCH

ESTADO ACTUAL: ACEPTADO

OBJETIVO: INVESTIGACIÓN AÑO: 2000

PAIS: INDIA

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

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

REVISTA: AGRIL RESEARCH

ESTADO ACTUAL: ACEPTADO

OBJETIVO: INVESTIGACION

PAIS: INDIA AÑO: 2000

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

TITULO: PLANTAS MEDICINALES DE NUEVO LEON CONTRIBUCION A SU CONOCIMIENTO PARTE I.

REVISTA: DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO. UANL. FCB. DEPARTAMENTO DE BOTANICA.

ESTADO ACTUAL: PUBLICADO OBJETIVO: DOCENCIA PÁGS. 1-34 PAIS: MEXICO

AUTORES: BIOL. MA. EUFEMIA MORALES RUBIO, M.E.S. LIBERTAD LEAL LOAZANO, M.C. JOSE IGNACIO GONZALEZ ROJAS, M.C. MARIA LUISA CARDENAS AVILA.

TITULO: MANUAL DE PRACTICAS. CONCEPTOS DE BIOLOGIA.

REVISTA: DEPTO. DE BIOLOGIA CELULAR Y GENETICA.

ESTADO ACTUAL: PUBLICADO

OBJETIVO: DOCENCIA PÁGS. 1-49

PAIS: MEXICO

### TESIS EN PROCESO (ASESOR)

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

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

INSTITUCIÓN: UANL. FCB

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

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

INSTITUCIÓN: UANL. FCB

### FORMACIÓN DE GRUPOS

PARTICIPANTES: BIOL. MARIA EUFEMIA MORALES RUBIO, BIOL. JAIME FCO. TREVIÑO NEAVEZ

BIOL. JORGE VERDUZCO MARTINEZ, M.C. MARIA LUISA CARDENAS AVILA

M.C. MARIA TERESA TORRES CEPEDA

IMPACTO: MANTENIMIENTO Y CONSERVACION EN LABORATORIO DE CACTACEAS DE LA REGION

INSTITUCIÓN: UANL. FCB AÑO: 1996

"PROYECTO PAICYT CLAVE CN150-99"

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

JORGE LUIS HERNANDEZ PIÑERO, DR. SERGIO MORENO LIMON, M.C. GRACIELA

GARCIA DIAZ, DR. JULIA VERDE STAR, DR. RAHIM FOROUGHBAKHCH P. ESTUDIANTE

SONIA CRISTINA IRIGOYEN ARANDA (TESISTA)

IMPACTO: PROYECTO PAICYT CN 150-99

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

"PROYECTO PAICYT CLAVE CN 149-99"

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

IMPACTO: 1.- INTEGRAR UN EQUIPO DE INVESTIGACIÓN MULTIDISCIPLINARIA QUE ABORDE A FONDO EL PROBLEMA DE BAJOS NIVELES DE NUTRIMENTOS QUE POSEE LA ZONA NORESTE DE LA REPÚBLICA CON EL FIN DE APROVECHAR LAS GRANDES EXTENSIONES DE SUELO POTENCIALMENTE FERTILES CON EL USO DE CULTIVARES TOLERANTES A DIVERSOS FACTORES DE ESTRÉS.  
2.- FORMAR RECURSOS HUMANOS CON CONCIENCIA EMPRENDEDORA Y VISIÓN AL FUTURO.  
3.- DIFUNDIR LAS EXPERIENCIAS ADQUIRIDAS MEDIANTE ARTÍCULOS CIENTÍFICOS, PONENCIAS, ETC. INSTITUCIÓN: UANL. FCB. AÑO: 1999

"PROYECTO PAICYT CLAVE CN 178-99 "

PARTICIPANTES: M.C. MARIA LUISA CARDENAS AVILA

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

CONTINUACIÓN "PROYECTO PAICYT CN 150-99"

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

IMPACTO: CONTINUACIÓN DEL PROYECTO PAICYT CN 150-99

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

CONTINUACIÓN "PROYECTO PAICYT CN 149-99"

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

IMPACTO: CONTINUACIÓN DEL PROYECTO PAICYT CN 149-99

1.- INTEGRAR UN EQUIPO DE INVESTIGACIÓN MULTIDISCIPLINARIA QUE ABORDE A FONDO EL PROBLEMA DE BAJOS NIVELES DE NUTRIMENTOS QUE POSEE LA ZONA NORESTE DE LA REPÚBLICA CON EL FIN DE APROVECHAR LAS GRANDES EXTENSIONES DE SUELO POTENCIALMENTE FERTILES CON EL USO DE CULTIVARES TOLERANTES A DIVERSOS FACTORES DE ESTRÉS.  
2.- FORMAR RECURSOS HUMANOS CON CONCIENCIA EMPRENDEDORA Y VISIÓN AL FUTURO.  
3.- DIFUNDIR LAS EXPERIENCIAS ADQUIRIDAS MEDIANTE ARTÍCULOS CIENTÍFICOS, PONENCIAS, ETC. INSTITUCIÓN: UANL. FCB. AÑO: 2000

"PROYECTO PAICYT CLAVE CA400-40"

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

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

PARTICIPANTES: MUNDO MEDINA ALMA CYTLALLI. SERVICIO SOCIAL.

IMPACTO: CONSIDERAR AL CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES COMO UNA ALTERNATIVA VIABLE PARA LA SELECCION DE GENOTIPOS RESISTENTES A FACTORES DE ESTRES Y CONSERVACION DE GERMOPLASMA APLICADO A PLANTAS DE IMPORTANCIA ALIMENTICIA PARA EL HOMBRE. INSTITUCIÓN: UANL. FCB. AÑO: 2000

PARTICIPANTES: RAQUEL CORTEZ PEREZ

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

## **DESARROLLOS TECNOLÓGICOS**

"PROYECTO PAICYT CLAVE CN150-99"

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

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

DESCRIPCIÓN: RESULTADOS DE PROYECTO PAICYT CN 150-99

ORGANISMO: FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

PAIS: MEXICO, 1999

## **EXPERIENCIA ACADÉMICA**

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

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

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

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

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

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

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

## **CURSOS DE ACTUALIZACION**

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

## **IDIOMA INGLES (BASICO)**

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



## COMPUTACION

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

## PONENCIA EN CONGRESOS

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

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

## PONENCIA EN SIMPOSIOS

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

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

## **PONENCIA EN SEMINARIOS**

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

## **ASISTENCIA A CONGRESOS**

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

SECCION NUEVO LEON, FCQ Y FCB.

### **ASISTENCIA A SIMPOSIOS**

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

### **ASISTENCIA A SEMINARIOS**

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

### **ASISTENCIA A CONFERENCIAS**

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

### **PARTICIPACION EN EVENTOS DE INFORMACION PROFESIONAL**

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

PREPARATORIA EMILIANO ZAPATA.

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

## OTROS EVENTOS

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

## OTRAS DISTINCIONES

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

ATENTAMENTE  
MONTERREY, N. L. JUNIO DE 2001

M.C. MARIA LUISA CARDENAS AVILA



# UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

## FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Subdirección de Postgrado



### ACTA DE EXAMEN PREDOCTORAL

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

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

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

**“ALERE FLAMMAM VERITATIS”**  
**NOVIEMBRE 17 DEL 2000**  
**JURADO PREDOCTORAL**

  
DR. SALOMÓN MARTINEZ LOZANO

  
DRA. AZUCENA ORANDAY C.

  
DR. ROBERTO MERCADO HERNANDEZ

  
DR. HUGO A. LUNA OLVERA

  
DR. MARIO MORALES VALLARTA

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

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

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

### DISCUSSION

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

1 - quin

### LITERATURE CITED

1. Benedicic D, M Ravnikar, N Gogala, *Phytn Horn* 37 (1966) 151
2. Crepy L, LMG Barros, VRN Valente, *Plant Cell Reports* 5 (1996) 124
3. Dodds HJ, WR Lorin, Experiments in plant tissue culture. Cambridge Univ Press, London 2nd Ed. 46 (1986) 21
4. Hurtado DV, ME Merino, Cultivo de tejidos vegetales. Ed. Trillas 1ª Ed p 94 (1988)
5. Kim SG & JH Song, *Korean J Bot* 27 (1984) 173
6. Le-Tkhi-Muoi, GV Bilyaliev, *Fiziologiya Rasten* 30 (1983) 1143
7. Maiti RK, LE Delgado-Amaya, M Ibarra, AM Cardona, *J Plant Physiol* 148 (1996) 741
8. Martins IS, MR Soudhi, *J Plant Physiol* 115 (1984) 205
9. Murashige T, F Skoog, *Physiol Plantarum* 15 (1962) 473
10. Rublao A, KK Kartha, *Plant Physiol* 119 (1985) 425
11. Sziraki I, E Balazs. Tissue-culture techniques in studying virus resistance of various bean cultivars. In: "Induced mutations for disease resistance in crop plants" II, 217. Atom Ener Ag. Res Inst Plant Protec. Dept Plant Pathol. Budapest (1983)
12. Westhuizen A-van-der, EG Groenewald, AJ Van-der-Weshuizen. *South African J Bot* 56 (1990) 271
13. Zagorska NA, NP Savova, AI Atanasov, *Comptes-Rendus de l' Academie Bulgare des Sciences* 35 (1982) 989
14. Zambre MA, J-de Clercq, E Vranova, M-van Montagu, G Angenou, W Dillen, J De-Clercq, M van-Montagu, *Plant Cell Reports* 1

*J. Schick*

Rogamos corregir cuidadosamente y devolver  
a la mayor brevedad posible a

Revista Internacional de  
BOTANICA  
EXPERIMENTAL

**ΦΥΤΟΝ**

International Journal of  
EXPERIMENTAL  
BOTANY

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

FUNDACION ROMULO RAGGIO

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

49° ANIVERSARIO

68 (2000) 7-7

49th ANNIVERSARY

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

Cárdenas-Avila María L, María J Verde-Star, RK Maiti<sup>2</sup>,  
Rahim Foroughbakhchi<sup>1</sup>, Hilda Gámez-González,  
Salomón J Lozano-Martínez, María A Núñez-González,  
JL Hernández-Piñero<sup>1</sup>.

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

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

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

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

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

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



6  
trá en colores?  
2r. pinto americano.

1 of four

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

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

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

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

#### MATERIALS & METHODS

Seeds of four varieties of *Phaseolus vulgaris* L. Pinto Americano, Pastilla, Flor de Ayo and Flor de Junio, were disinfected in 70% ethanol and sodium hypochlorite (15% v/v) for 10 min and immediately sown under aseptic conditions on sterilized 0.7% agar as substrate and maintained under laminar flow chamber. The inocula for calli induction were 1 (one) cm segments of hypocotyl, cotyledon, cotyledonary leaf and root of seven day old aseptically cultivated seedlings. We have achieved 12 experimental units of each explant in basal MS (1962) medium plus vitamins, myo-inositol, and 0 (control), 1.5, 2.0, 3.0, 5.0 and 10 mg/l of 2,4-D, plus 0.7% agar; pH 5.7. The experiments were run at  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  and 16 h photoperiod.

1 M E J

#### RESULTS

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

# CROP RESEARCH

(An International Journal)

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

Dated : April 03, 2001

**Subject : Acceptance of paper**

Dear Dr. Gonzalez

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

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

Please read the following :

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

Yours Sincerely,

  
(Managing Editor)

*The Gaurav Society of*

## AGRICULTURAL RESEARCH INFORMATION CENTRE

C/o Systematic Printers, Udaipuria Street, Video Market  
Hisar-126001, Haryana (INDIA)

# AGRICULTURAL RESEARCH INFORMATION CENTRE

(Registered as Gaurev Society)

C/o Systematic Printers, Udaypuria Street, Near Video Market,  
HISAR-126001, Haryana, INDIA

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

Dated : April 03, 2001

Dr. J. J. Jaiti  
Universidad de las Americas  
Departamento de Quimica Y Biologia  
Santa Catarina Martir, Cholula A.P. 78  
P. 72820 Puebla, MEXICO

Dear Dr. Jaiti

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

1. Author/s whose paper/s accepted for publication is/are required to pay page printing charges of the paper.
2. You are required to remit US \$ 250.00 through Bank Draft/Cheque/IMO/UNESCO Coupons payable to the "Agricultural Research Information Centre, Hisar" latest by 30.4.2001 towards the page printing charges of 5 pages of journal(US \$ 100) and printing of three coloured photographs(US \$ 150) at the rate of US \$ 50.00 per photograph.
3. This paper will be sent to press for publication only after the receipt of the aforesaid payment.

## Page Printing Charges

### *Number of printed pages*

	1 - 3	4 - 6	7 - 9	10 - 12	> 12
Rs.	500 (50)	1000 (100) + 150 = (250)	1500 (150)	2000 (200)	2500 (250) per page

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

Thanking you in anticipation

Encl: as above

Sincerely Yours,

(Managing Editor)  
CROP RESEARCH

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

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

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

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

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

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

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

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

---

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

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

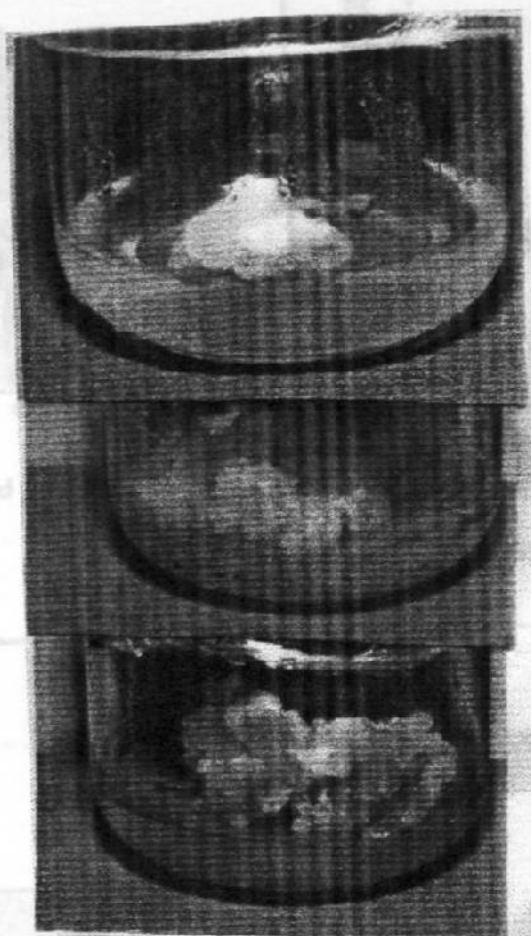
**MATERIALES Y METODOS.** El material biológico utilizado fue semilla comercial de *Phaseolus vulgaris* L. var. pinto americano. La desinfestación de las semillas se llevó a cabo en etanol 70%, hipoclorito de sodio comercial (15% v/v) como agente desinfestante mas tween 20, por 10 min. Se sembraron bajo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

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

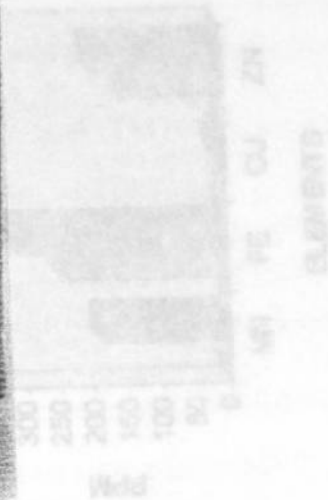
**RESULTADOS Y DISCUSIONES.** De las semillas desinfectadas y sembradas, se originaron plántulas vigorosas y de color verde brillante (a los siete días), de las cuales se obtuvieron los explantes. El inicio de formación de callo se observó a los siete días en los explantes aéreos en las cinco concentraciones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

MACROELEMENTS IN CALLUS FROM  
COTILEDONARY LEAF VAR PINTO AMERICANO.

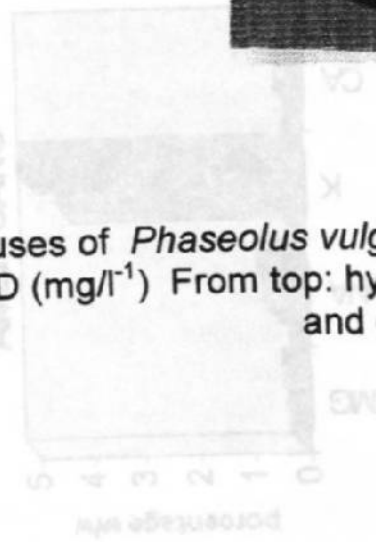
■ HCO. 52.40  
■ HCO. 102.40



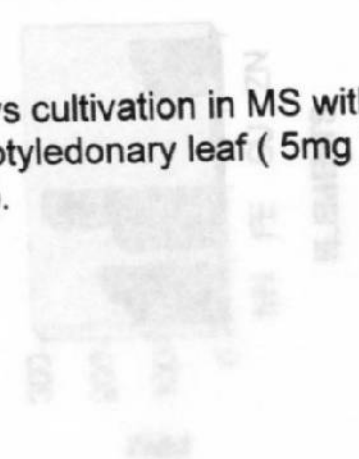
■ HCO. 52.40  
■ HCO. 102.40



MACROELEMENTS IN CALLUS FROM  
COTILEDONARY LEAF VAR PINTO AMERICANO.



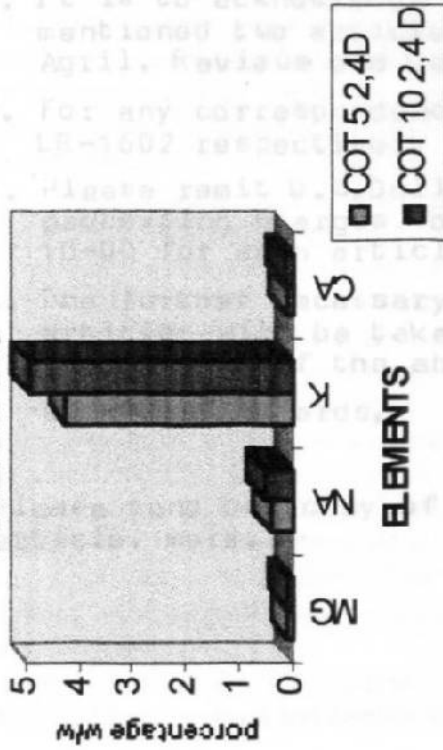
■ COT 52.40  
■ COT 102.40



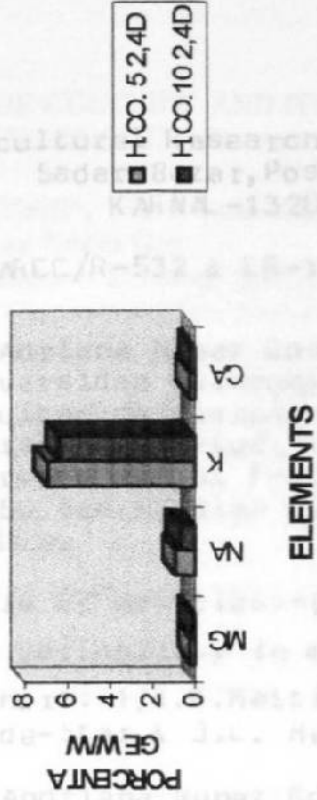
Calluses of *Phaseolus vulgaris* L after 30 days cultivation in MS with 2,4-D ( $\text{mg/l}^{-1}$ ) From top: hypocotyl (3 mg ), cotyledonary leaf ( 5mg ) and cotyledon (10 mg ).



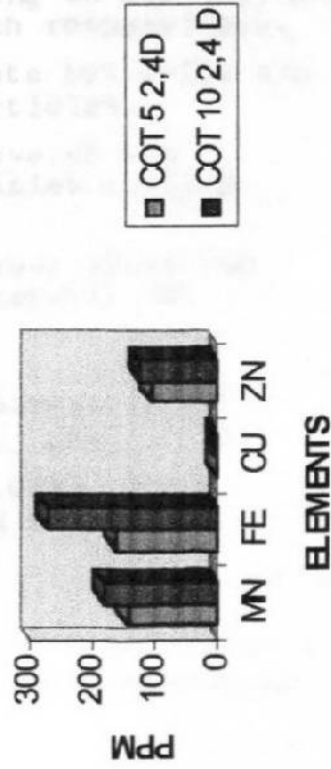
**MACROELEMENTS IN CALLUS FROM  
COTYLEDON VAR. PINTO  
AMERICANO**



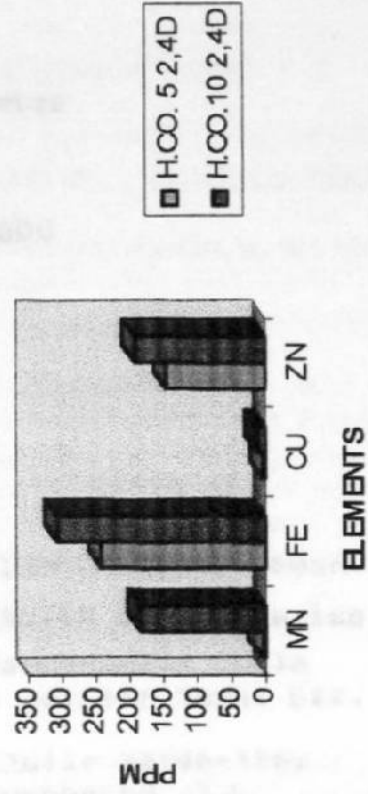
**MACROELEMENTS IN CALLUS FROM  
COTILEDONARY LEAF VAR. PINTO AMERICANO.**



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



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



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

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

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

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

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

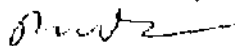
(2) Adriana Nunez Gonzalez, R.K. Maiti, Julia Verde-Star  
Marie Luisa Cardenas Avila, Rahim Foroughbakch, J.L.  
Hernandez-Pinero, S. Moreno Limon and G. Garcia Diaz.

Dear sir,

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

With kind regards,

Yours sincerely



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

( R.D. Goel )  
Managing Editor

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

R.K. Maiti<sup>\*</sup>, María Luisa Cárdenas-Avila, Julia Verde-Star & J.L. Hernández-Piñero, Ma. Adriana Núñez Gzz.

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

(\*Correspondence)

### ABSTRACT

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

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

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

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

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

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

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

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

## ORGANOGENESIS

### Protoplast culture

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

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

### Meristem culture

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

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

### Shoot culture

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

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

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

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

## BIOCHEMICAL CHANGES DURING CALLUS INDUCTION AND GROWTH

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Primary callus tissue obtained from the hypocotyls of etiolated *Phaseolus vulgaris* showed the dynamics of membrane-bound Ca<sup>2+</sup> observed with chlorochlorotetracycline. It was observed that membrane-bound Ca showed a major peak at 8 d and a lower one at 12 d. (Oreshkina and Zlotnikov, 1991).

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

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

## **USE OF TISSUE CULTURE IN STRESS RESISTANCE**

### **Biotic stress**

#### **Disease.**

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

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

#### **Herbicide.**

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

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

### **Heavy metals.**

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

### **Abiotic stress.**

#### **Osmotic stress.**

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

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

#### **Salinity stress.**

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

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

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

### Tissue culture in genetics and biotechnology

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

Franklin et al (1993) succeeded in the genetic transformations of green bean callus via *Agrobacterium* mediated DNA transfer. Kanamycin resistant callus was produced from leaf disc or hypocotyl explants of *Phaseolus* plants when cultured on callus culture containing 50mg kanamycin/litre after four days of co-cultivation with *Agrobacterium tumefaciens* strain EH101 containing the binary vector Pkylx71GUS., Southern blot border analysis confirmed the integration of the foreign DNA. Bean callus cultures were also transformed with a bean chalcone synthase promoter-GUS fusion. The cultures treated with the elicitor glutathione showed higher levels of GUS expression than the unelicited callus clumps. Dillen et al. (1997) obtained *Agrobacterium*-mediated transformation of *Phaseolus acutifolius*. Renovation-competent callus was obtained from bud explants of green plants co-cultivated with *Agrobacterium tumefaciens* C58CIRifR (Pmp90) harbouring a binary vector with neomycine phosphotransferase II (nptII) and beta-glucoronidase (uid A) marker genes. Transgenic genic callus lines of three genotypes were established on geneticin-containing medium. A transgenic had been transformed with a binary plasmid which in addition to the marker genes, contained a genomic fragment encoding the *Phaseolus vulgaris* arcelin-5a protein. The seed storage protein confer resistance to the insect *Zabrotes subfasciatus*. The introduce genes segregated as a single locus. This indicates the possibility of using *P. acutifolius* as a bridging species to introduce transgenes into economically important species *P. vulgaris*.

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

### REFERENCES

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gemes-Juhasz, A., Nagy, J. and Velich, I. (1993). *Zoldsegtermeszteszi Kutato Intezet Bulletinje*. 25: 49-56.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- Kaladzhyan, N.L. and Oganyan, E.E. (1985). *Doklady Akademii Nauk Armynskoi SSR*, **80**:139-141.
- Kaminek, M. and Armstrong, D.J. (1990). *Plant Physiol.* **93**:1530-1538.
- Kim, S.G.; Song, J. H. (1984). *Korean J. Bot.* **27**: 173-178.
- Kini, S.G. et. (1983). *Kor J. Bot.* **26**:191-196.
- Komizerko, E.L., Oreshkina, N-Ya and Gus'kov, A.V. (1988). *Fiziologiya Rastenii* **35**:165-174.
- Lee, Y.H., Mok, M.C., Mok, D.W.S., Griffin, D.A. and Shaw, G. (1985). *Plant Physiol.* **77**:635-641.
- Le-Tkhi-Moi and Bilyalieva, G.A. (1983). *Fiziologiya Rastenii im.* **30**:1143-1347.
- Maiti R. K., L.E. Delgado Amaya, S.Ibarra- Cardona, A.M. Ontiveros-Dimas, M. De la Rosa Ibarra, and H. De León-Castillo. (1996). *J. Plant Physiol.* **148** : 741-744.
- Martins, I.S. and Sondahl, M.R. (1984). *J. Plant Physiol.* **117**:97-103.
- Martins, I.S. and Sondahl, M.R. (1984). *J. Plant Physiol.* **115**:205-208.
- McClellan, P., Chee, P., Held, B., Simental, J., Drong, R.F. and Slightom, J. (1991). *Plant Cell Tissue and Organ Culture* **24**:131-138.
- Moda-Cirino, V., Nicolodi, C., Chichirico, G. And Mariotti, D. Murashige, T. and F. Skoog. (1962). *Physiol. Plantarum* **15**:473-497.
- Moda-Cirini, V., Nicolodi, C., Chichirico, G. and Mariotti, D. (1995). *J. Genetics and Breeding* **49**:133-137.
- Mohamed, Read, P.E. and Coyne, D.P. (1992). *J. American Society of Horticultural Science* **11**: 668-672.
- Mohamed, M.F., Coyne, D.P. and Read, P.E. (1993). *J. American Society for Horticultural Science* **118**:158-162.
- Mohamed, M.F., Coyne, D.P. and Read, P.E. (1996). *PGRSA Quaterly* **24**:97-103.
- Mroginski, L.A. and Kartha, K.K. (1984). *Plant Breeding Reviews* **2**:215-264.
- Nissen, P. (1988). *Physiologia Planterum* **74**:450-456.
- Nonami, H., Hashimoto, Y., Tozai, K. (ed.) Kubota, C. (ed.) Ibaraki, Y. Sase, S. (1996). Negative pressure in the apoplast of elongating tissue induces water uptake for cell elongation in tissue-cultured plants. International symposium on plant production in closed ecosystems. Automation, culture and environment, August 26-29, 1996, Narita, Japan. *Acta Horticulturae* **440**:594-599.

- Northcote, D.H., Davey, R. and Lay, J. (1989). *Planta* **178**:353-366.
- Obato, H., Inone, N., Imai, K. and Umebayashi, M. (1994). *Soil Sci. and Plant Nutrition* **40**:351-354.
- Oliveira, PD-de., Pasqual, M., Lpes, P.A. and De-Oliveira, P.D. (1994). *Revista Ceres* **41**:651-657.
- Oresshkina, N-Ya and Zlotnikova, I.F. (1991). *Doklady, Botanical Sciences* **316-318**: 50-60.
- Ramachandran, P. and Mishra, M.D. (1989). *Indian J. Virology* **5**:67-72.
- Reed, B.M., Marsden, K. and Armstrong, D.J. (1984). *Plant Physiol.* **75**: Supplement 83.
- Rubluo, A. and Kartha, K.K. (1985). *J. Plant Physiol.* **119**:425-433.
- Ruiz, M.L., Pelaez, M.I., Rueda, J., Espino, F.J. and Vazquez, A.M. (1985). A comparative study of callus formation and plant regeneration from different explants of *Phaseolus vulgaris* and *P. coccineus*. In Genetic manipulation in plant breeding. Proc. International symposium organized by Eucarpia, Sept 8-13, 1985. Berlin, West Germany, 8ed. W. Horn, C.J. Jensen, W. Odenbach, O. Schieder, O. 495-497.
- Sachs, T., Roberts, K. (ed.) Coen, E. (ed.), Dean, C. (ed.), Jones, J. (ed.), Chater, K. (ed.), Flavel, R. (ed.), Wilkins, A. and Holder, N. (1991). Cell polarity and tissue patterning in plants. Molecular and cellular basis of pattern formation 83-93.
- Saker, M.M. and Kuhne, T. (1998). *Biologia Planterum* **40**: 507-514.
- Sawires, E.S., Saker, M.M. and El-Bahr, M.K. (1997). *Egyptian J. Horticulture* **24**:161-173.
- Savova, N. and Zagorska, N. (1987). *Genetika I Seleksiya* **20**:448-453.
- Sziraki, I. and Balazs, E.(1983). Induced mutations for disease resistance in crop plants II. 217, Viena, Austria, International Atomic Energy Agency.
- Temple, W.D., Bomke, A.A., Radley, R.A. and Holl, F.B. (1989). *Plant and Soil* **117**:75-83.
- Ueda, J. (1991). *Chemical Regulation of Plants* **26**:173-189.
- Westhuizen, AJ-van-der, Groenewald, E.G. and Van-der-Westhuizen, A.J. (1990). *South African J. Bot.* **56**:271-273.
- Wichers, H.J., Kate, J-ten, Buys, C.H.C.M. and Huizing, H.J. 1984. A simple and rapid procedure to obtain nucleated protoplasts from plant material. *Cytologia* **49**(3):529-535.
- Zagorska, N.A., Savova, N.P. and Atanasov, A.I. (1982). *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences* **35**:989-992.
- Zambre, M.A., Clerq-J-de, Vranova, E., Montagu, M-van, Angenon, G., Dillen, W., De-Clerq, J. And Van-Montagu, M. (1998). *Plant Cell Reports* **17**:626-630.

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



