

Estudio comparativo de intercambio gaseoso y parámetros fotosintéticos en dos tipos de hojas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre y domesticado

Comparative study gas exchange and photosynthetic parameters in two leaf types of wild and domesticated bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

Maritza LÓPEZ HERRERA^{✉1}, Cecilia Beatriz PEÑA VALDIVIA², Juan Rogelio AGUIRRE RIVERA³, Carlos TREJO LÓPEZ² y Ana Laura LÓPEZ ESCAMILA¹

¹Laboratorio de Morfofisiología Vegetal, Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), Carretera Pachuca-Tulancingo s/n, Ciudad Universitaria. México. CP 42184
²Botánica, Instituto de Recursos Naturales (IRENAT), Colegio de Postgraduados, Carretera México- Texcoco km 35.5, Montecillo, México. CP 56230 e ³Instituto de Investigación en Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP), Altair 200, Col. del Llano. San Luis Potosí, S.L.P. México. 78377.
E-mails: maritza_lh2003@yahoo.com.mx, maritzal@uaeh.reduaeh.mx, cecilia@colpos.mx, iizd@uaslp.mx, catre@colpos.colpos.mx y lopeza@uaeh.edu.mx ✉ Autor para correspondencia

Recibido: 09/01/2007 Fin de primer arbitraje: 01/02/2007 Primera revisión recibida: 16/05/2007
Fin de segundo arbitraje: 30/05/2007 Segunda revisión recibida: 12/09/2007 Aceptado: 17/09/2007

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue comparar el intercambio gaseoso y algunos parámetros de la fotosíntesis en hojas primarias y trifolioladas de plantas de frijol silvestre y domesticado en la etapa vegetativa inicial, con la finalidad de evidenciar la eficiencia fotosintética de las variantes silvestres. Muestras de dos poblaciones de frijol silvestre originarias de Durango y Tlaxcala, México, y los cultivares Amarillo y Bayo Mecentral se establecieron en invernadero. Se evaluó la conductividad estomática, tasa de asimilación de CO₂ (P_N), temperatura de la hoja, tasa transpiratoria, contenido de clorofila y algunos parámetros de la fluorescencia. El análisis de varianza mostró interacción estadísticamente significativa entre el tipo de hoja y la variante de frijol (frijol silvestre de Durango y Tlaxcala, México, y los cultivares Amarillo y Bayo Mecentral) para contenido de clorofila tipo *a* y *b* y el índice *a/b*, y la fluorescencia inicial, variable y máxima de la clorofila. Se observó amplia heterogeneidad entre y dentro de los materiales silvestres, independientemente de que la semilla fuera del mismo origen, la heterogeneidad también se observó entre los cultivares (Amarillo y Bayo Mecentral), es decir, se encontró una amplia variabilidad interespecífica (entre especies) e intraespecífica (dentro de una misma especie). Se concluye que las hojas primarias y el folíolo central de la primera hoja trifoliolada tanto de las variantes silvestres como domesticadas, desarrolladas en un ambiente homogéneo, muestran diferencias significativas diversas entre y dentro de las variantes silvestres y entre las variantes silvestres y domesticadas que conducen a contrastes en P_N.

Palabras clave: Conductancia estomática, frijol, asimilación de CO₂, fluorescencia, clorofila.

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the gas exchange and some parameters of photosynthesis in primary and tripholiolate leaf of wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during early vegetative stage, with de finality of show the photosynthetic efficiency of wild common bean. Two wild common bean samples from Durango and Tlaxcala, Mexico, and the cultivars Amarillo and Bayo Mecentral were cultivated under greenhouse conditions. Stomatal conductance, CO₂ assimilation net rate, leave temperature, transpiratory rate, chlorophyll content, and some parameters of the fluorescence of the chlorophyll were evaluated. There were statistical interaction between the leave type and common bean variant (wild common bean from Durango and Tlaxcala, México, and the cultivars Amarillo and Bayo Mecentral) for chlorophyll *a* and *b*, the *a/b* index, beside initial, variable and maxim chlorophyll fluorescence. A high heterogeneity between and within wild samples, independently of its origin was observed, the heterogeneity was observed also among the cultivars (Amarillo and Bayo Mecentral), *id est*, a wide interspecific (among species) and intraspecific (within species) variability was found. It was concluded that primary and tripholiolate leaf in wild and domesticated variants growing in homogeneous environment show significant differences in physiological characters, all of them are diverse between and within wild variants and wild and domesticates variants evaluated, and conduce to significant differences in P_N.

Key words: Stomatal conductance, common bean, CO₂ assimilation, fluorescence, chlorophyll content.

INTRODUCCIÓN

Actualmente se acepta que el frijol que se cultiva y consume se originó como resultado del proceso de domesticación del frijol silvestre (Singh, 1999). El conjunto de diferencias morfológicas, fisiológicas y bioquímicas más evidentes que separan las variantes silvestres de las domesticadas se consideran producto de la domesticación (Gepts, 1999). En el frijol, este proceso se evidenció primeramente en las estructuras vegetativas y reproductoras, por ello se ha supuesto que las diferencias entre los frijoles silvestres y domesticados son sólo de tipo morfológico; los cambios provocados por la domesticación en cualquier otro nivel (anatómico, fisiológico o bioquímico) aún están por reconocerse y evaluarse experimentalmente. Los estudios preliminares de muestras silvestres de frijol asociados al proceso de domesticación en su inicio se basaron en observaciones comparativas (Brücher, 1988; Miranda, 1967) y orientados principalmente a indagar sobre los posibles centros de su origen y domesticación. Recientemente, las investigaciones de carácter cuantitativo han evidenciado gran diversidad morfológica y fenológica de las poblaciones silvestres cuando son cultivadas (Aguirre R. *et al.*, 2003; Bayuelo-Jiménez *et al.*, 1999; Berrocal *et al.*, 2002; García *et al.*, 1997; Peña-Valdivia y Aguirre, 2003); además, han aportado elementos que apoyan la idea de que los diversos contrastes morfológicos y fenológicos dentro y entre poblaciones silvestres y entre éstas y las variantes domesticadas parecen ser más notables que las fisiológicas y bioquímicas (Peña-Valdivia y Aguirre, 2003; Peña-Valdivia *et al.*, 1996, 1998 y 1999). Entre las características morfo-fisiológicas menos estudiadas en el frijol silvestre y su modificación durante el proceso de domesticación están las relacionadas con el intercambio gaseoso (Peña-Valdivia *et al.*, 1997).

Se considera que a través del proceso de domesticación el germoplasma ha sufrido una reducción de su variabilidad genética y, por tanto, el frijol silvestre podría representar un recurso genético con potencial para el mejoramiento de caracteres relacionados con la fotosíntesis (Gepts y Debouck, 1991; Lynch *et al.*, 1992). Estudios diversos han revelado tasas fotosintéticas menores de los cultivares con respecto a sus parientes silvestres (Bayuelo-Jiménez *et al.*, 1997; Evans, 1994; García *et al.*, 1997; Lynch, 1992). Es probable que la selección de cultivares de mayor rendimiento y hojas más grandes haya contribuido a este cambio, ya que

frecuentemente se han obtenido coeficientes de correlación negativos entre la tasa fotosintética y el área de la hoja (Evans, 1994). Por otro lado, se han demostrado diferencias genéticas en los caracteres relacionados con la fotosíntesis entre poblaciones silvestres de frijol de diferente origen; así, las poblaciones silvestres mexicanas presentan mayores tasas fotosintéticas que las de otras regiones de América (Lynch *et al.*, 1992). Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue comparar los parámetros del intercambio gaseoso, el contenido de clorofila y su fluorescencia en las hojas de plantas jóvenes de frijol silvestre y domesticado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal

Se compararon dos poblaciones de frijol silvestre, una proveniente de plantas que formaban parte de la vegetación natural de una región 15 km al Sur de Tuitán, Saltito, Durango, México. Esta región se localiza en la Sierra Madre Occidental y se caracteriza por un clima semiárido templado, con precipitación media anual de 479 mm (BS₁kw(w)(e)) (García, 1988). Esta población se encuentra registrada en el banco de germoplasma del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) con la clave G11033, DGD-408 (Toro *et al.*, 1990). La segunda población silvestre es de una zona templada húmeda (Cw₂(w)(i')g, 2404 msnm y 15°C), localizada en las faldas del volcán La Malinche, en Tlaxcala, México (19°25' Lat N, 98°8' Lon W) (Comunicación Personal de Ing. José A. Muruaga M. Campo Experimental "El Horno", INIFAP, Chapingo, México.). Los materiales domesticados incluidos fueron los cultivares Bayo Mecertral y Amarillo 154, generados en México para su cultivo en regiones con temporal de los valles altos, en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). El criterio para seleccionar estas variantes fue el color de la testa, el cv. Amarillo y el silvestre de Tlaxcala (ST) son amarillos, mientras que el cv. Bayo Mecertral y el silvestre de Durango (SD) son pajizos (2,5 Y 7/10 y 2,5 Y 8/4 respectivamente, de acuerdo con la tabla de colores para tejidos vegetales Munsell).

Para el desarrollo del presente estudio las semillas de todas las variantes se multiplicaron durante el ciclo primavera-verano de 2001. Después de la cosecha las semillas se almacenaron a $5 \pm 1^\circ \text{C}$ hasta su utilización. Debido a que las semillas de las muestras silvestres originales eran notablemente

heterogéneas en tamaño, se realizó una selección por estratificación por tamaño, bajo el supuesto de que las semillas menores eran silvestres típicas y las mayores silvestres atípicas (Peña-Valdivia *et al.*, 2002). Así, para el propósito de este estudio, se realizó una comparación de medias de Tukey con los datos de las semillas, se excluyeron las semillas medianas y se utilizaron las pequeñas o típicas y las grandes o atípicas de cada muestra silvestre (SDP, SDG, STP y STG: semilla pequeña y grande de Durango y Tlaxcala, respectivamente). Las semillas de los cultivares fueron estadísticamente similares, por lo que se consideró un tamaño único (peso promedio de 268 ± 2 y 286 ± 3 mg semilla⁻¹ para el cv. Amarillo y Bayo Mecentral, respectivamente) (Peña-Valdivia *et al.*, 2002).

Condiciones de cultivo

Las semillas se sembraron en la primavera del 2004 en recipientes de un litro con una mezcla de tierra y arena en una proporción v/v de 2:1 y cultivadas en un invernadero con fotoperiodo natural y 15/27 ° C de temperatura media mínima y máxima diaria. Después de la emergencia, las plantas fueron regadas cada tercer día con agua y se aplicó dos veces por semana un riego con solución nutritiva Hogland (Epstein, 1972), este procedimiento se mantuvo durante todo el experimento. El crecimiento se supervisó hasta que las hojas primarias y el folíolo central de la primera hoja trifoliolada alcanzaron su máxima expansión (etapas V2 y V3, respectivamente, V2 se refiere al periodo desde el desarrollo completo de las hojas primarias hasta el desarrollo de la primera hoja trifoliada y V3 comprende desde el desarrollo completo de la primera hoja trifoliada al desarrollo de la tercera hoja trifoliada) (van Schoonhoven y Pastor Corrales, 1987) y para reconocerla, se midieron la longitud y el ancho de las hojas diariamente en 15 plantas desde el inicio de su expansión. Las evaluaciones fisiológicas se realizaron cuando las hojas de cada variante de frijol alcanzaron su expansión máxima.

Caracteres medidos

La conductividad estomática (g_s) (mmol m⁻² seg⁻¹), tasa de asimilación neta (P_N) (μmol m⁻² seg⁻¹), concentración intercelular de CO₂ (C_i) (μmol mol⁻¹), temperatura de la hoja (°C) y tasa de transpiración (mmol m⁻² seg⁻¹) se determinaron con un sistema portátil y abierto para análisis de gases en el espectro infrarrojo (CIRAS-1, PPSYSTEMS). Las

evaluaciones se realizaron a las 12:00 h, cuando hay mayor intensidad lumínica. Para conocer la capacidad de las hojas de modificar su temperatura respecto al ambiente, y debido a que ésta última cambia continuamente, se obtuvo la diferencia de temperaturas ΔT (°C) (temperatura de la hoja menos temperatura del ambiente).

El contenido de clorofila *a* y *b* (mg g⁻¹ tejido foliar) se determinó con el método descrito por Arnon (1949). Los parámetros de fluorescencia de la clorofila (U. R.): fluorescencia inicial (F_0), fluorescencia variable ($F_v = F_M - F_0$), fluorescencia máxima (F_M) y el radio F_v/F_M , se midieron con un analizador portátil de la eficiencia vegetal PEA (Plant Efficiency Analyzer, Hansatech, King's Lynn, GB); las hojas se mantuvieron en oscuridad durante 20 min con los clips foliares del mismo aparato. Todas las evaluaciones se realizaron cada tercer día por un período de dos semanas.

Diseño experimental

El experimento se realizó mediante un diseño completamente al azar, con arreglo factorial de los tratamientos y cuatro repeticiones. Los factores (y niveles) fueron: variante de frijol (dos silvestres típicos, dos silvestres atípicos y dos cultivares mejorados) y tipo de hoja (primaria y trifoliolada). Cada repetición estuvo constituida por 30 plantas, de las que se utilizaron al azar 10 para las evaluaciones de las hojas primarias y 15 para el primer trifolio.

Los datos se sometieron a análisis de varianza (ANOVA), comparación múltiple de medias (Tukey, $P=0,05$) y significancia de las interacciones con la prueba LSMEANS. Los análisis se realizaron con el programa estadístico SAS para computadora personal (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Intercambio gaseoso

El análisis de varianza mostró para la conductividad estomática (g_s), interacción estadísticamente significativa entre el tipo de hoja y la variante de frijol. La g_s -que es un parámetro que indica indirectamente el nivel de apertura de los estomas en la hoja primaria mostró similitud entre las seis variantes, pero la g_s del folíolo central de la primera hoja trifoliolada de las variantes STP y STG fue entre 25 y 50 % menor que en las hojas primarias

(Figura 1 B). La interacción de la g_s repercutió a su vez en la transpiración y en la temperatura de la hoja, pues para ambas variables se registró interacción significativa entre el tipo de hoja y la variante de frijol. El foliolo central de la primera hoja trifoliolada tendió a calentarse más que la hoja primaria (Figura 1 A y C), pero la transpiración mostró similitud en ambos tipos de hoja en la mayoría de las variantes de frijol. La tasa transpiratoria de ambos tipos de hoja de los dos cultivares fue superior a la de los silvestres (Figura 1 A). Una explicación a lo anterior es que las hojas primarias posiblemente presenten una cantidad mayor de ceras epicuticulares, número de tricomas o ambos, con lo que estas hojas incrementarían su reflectancia, absorberían menos energía y mantendrían su temperatura menor.

En las hojas primarias, la tasa fotosintética (P_N) es muy similar entre las variantes estudiadas, sin embargo, se puede observar una tendencia a que las variantes SDG y STG presenten valores un poco superiores al resto. En el FCPHT, las variantes SDG y STG mostraron tasa fotosintética (P_N) significativamente mayor (32.0 y 11.5 %, respectivamente) que las y STP, a pesar de su procedencia respectiva de la misma población. Las variantes de semilla pequeña presentaron una P_N estadísticamente similar a la de los cultivares (Figura 2 A y B). En ambos tipos de hojas, la tasa fotosintética mayor de las variantes de semilla grande correspondió con un C_i significativamente menor, la relación opuesta se observó en las variantes de semilla pequeña y los frijoles domesticados, es decir P_N menores y C_i mayores. Lo anterior puede ser interpretado como una medida indirecta de la actividad enzimática encargada de la asimilación del CO_2 , y para el caso de SDG y STG podría ser mayor, por lo que se registraron P_N mayores. Todos estos parámetros están relacionados y repercuten en las características fisiológicas de la planta; así, se sabe que el estoma se abre en respuesta a la reducción de C_i , causada por la fotosíntesis en el mesófilo y parece no responder directamente a la concentración de CO_2 de la superficie de la hoja, sino a la concentración en los espacios intercelulares y no de las concentraciones externas de CO_2 . Además, C_i depende del flujo de CO_2 a través del poro estomático y está determinada por la concentración de CO_2 externa, la tasa neta de asimilación y g_s (Morison, 1987). Si C_i disminuye por efecto del aumento de P_N , normalmente g_s se incrementa, y puede suponerse que P_N controla g_s por efecto de los cambios en C_i (Raschke, 1976); de ser así, g_s debería ser directamente proporcional a P_N .

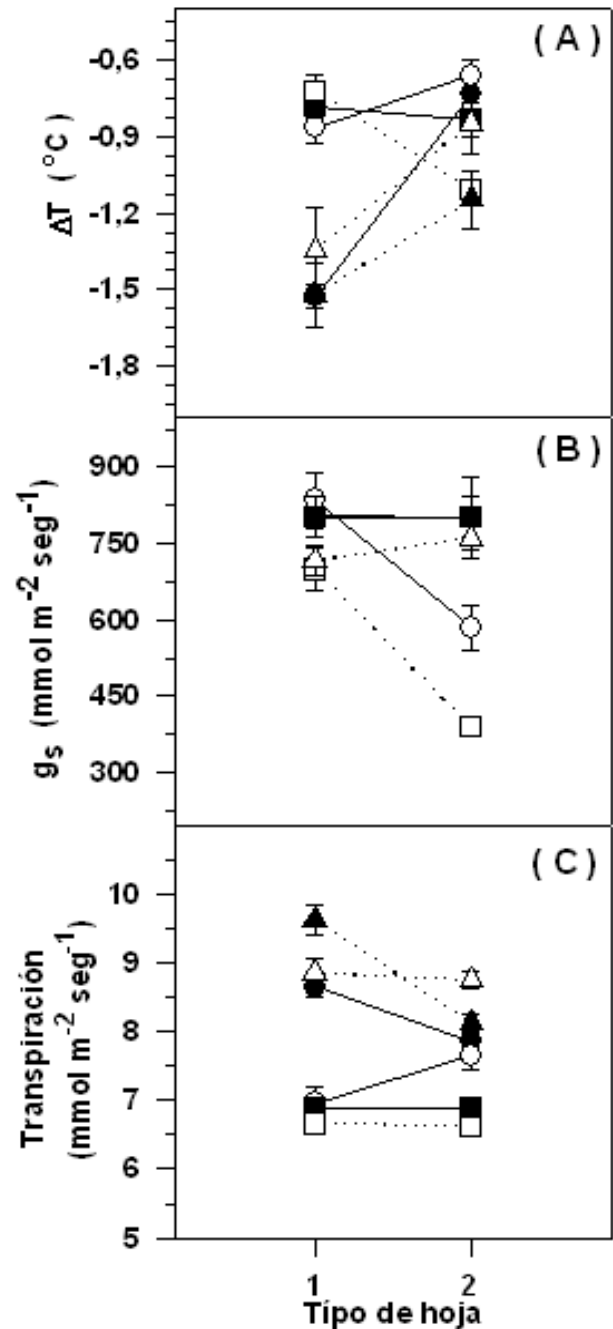


Figura 1. Interacción del tipo de hoja (1: hoja primaria y 2: foliolo central de la primera hoja trifoliolada) y la variante de frijol en características foliares: diferencia de temperatura de la hoja menos la del ambiente (ΔT) (A), conductividad (B) y transpiración (C) en: silvestre Durango de semilla pequeña y grande (SDP ● y SDG ○), silvestre Tlaxcala de semilla pequeña y grande (STP ■ y STG □) ▲ cv. Bavo Mecentral v △ cv. Amarillo.

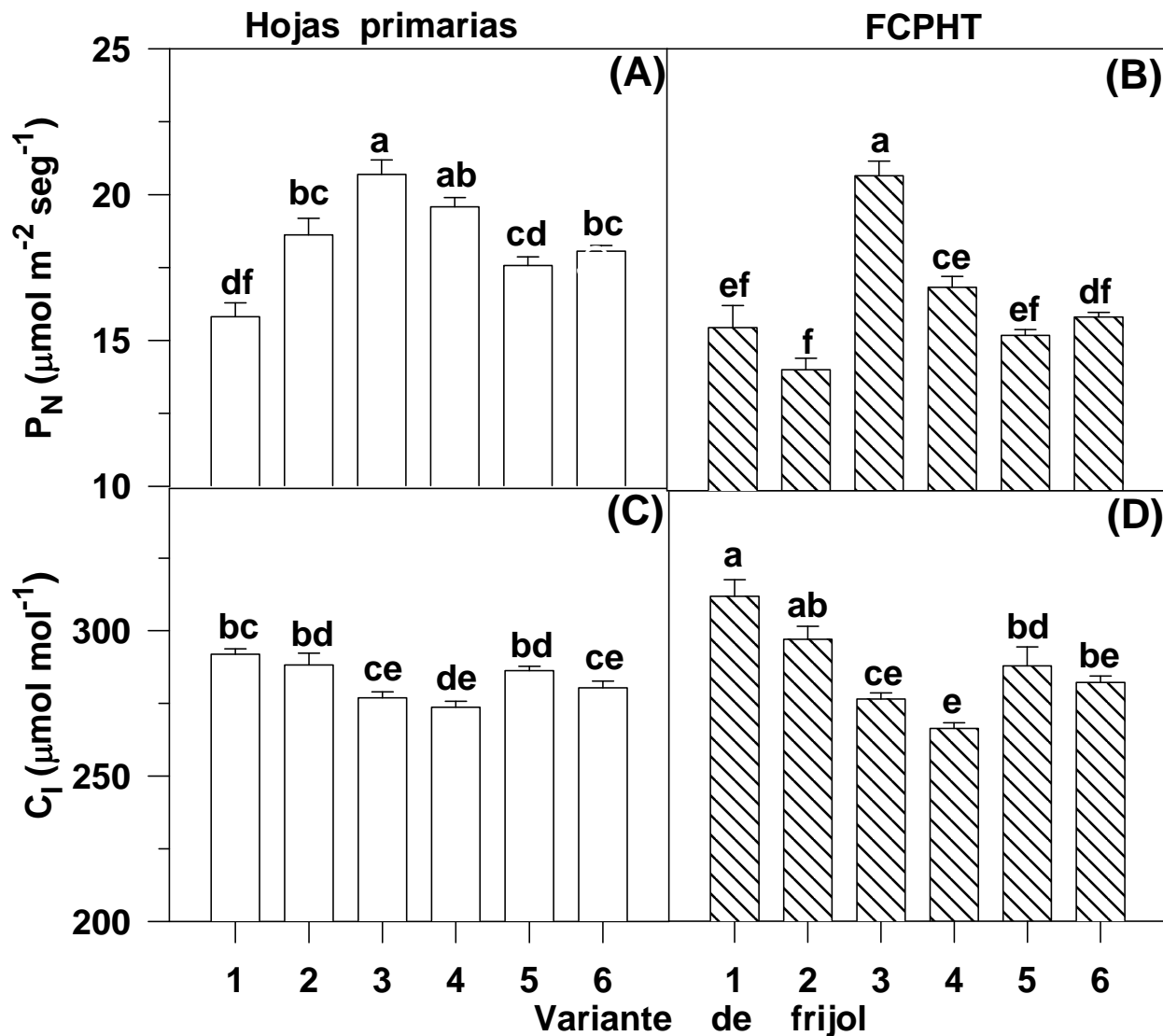


Figura 2. Tasa fotosintética (P_N) (A y B) y concentración intercelular de CO_2 (C_i) (C y D) en hojas primarias y folíolo central de la primera hoja trifoliolada de frijol (FCPHT). Variante: (1) SDP: silvestre Durango de semilla pequeña, (2) STP: silvestre Tlaxcala de semilla pequeña, (3) SDG: silvestre Durango de semilla grande, (4) STG: silvestre Tlaxcala de semilla grande, (5) cv. Bayo Mecentral y (6) cv. Amarillo.

Sin embargo, la respuesta del mecanismo estomático suele ser impredecible y frecuentemente se han observado diferencias dentro y entre lotes de plantas y entre genotipos de una misma especie (Weyers y Meidner, 1990). En este caso, los resultados proporcionan indicios de que dichas relaciones son diferentes, al menos parcialmente, en algunas de las variantes silvestres, pues aunque en proporciones bajas su C_i fue superior a lo esperado. La experiencia indica que la respuesta estomática depende en gran medida de las condiciones fisiológicas del material evaluado. Material experimental más uniforme se puede obtener

fácilmente de plantas de un genotipo homogéneo desarrolladas bajo condiciones controladas. Diferencias fotosintéticas sutiles y contrastes drásticos del rendimiento y sus componentes entre poblaciones silvestres y domesticadas han sido documentadas por Aguirre *et al.* (2003), García *et al.* (1997) y Lynch *et al.* (1992). Algunos resultados del presente estudio evidencian la posibilidad de que dichos contrastes sean resultado parcial de los cambios en los estomas (frecuencia, tamaño, distribución, conductividad, etc.) sucedidos durante la domesticación.

Contenido de clorofila y su fluorescencia inducida por la luz

De acuerdo con el análisis de varianza, hubo interacción estadísticamente significativa entre el tipo de hoja y la variante de frijol para el contenido de clorofila tipo *a*, tipo *b* y el índice *a/b*, así como para los parámetros de la fluorescencia de la clorofila F_0 , F_V y F_M (Figura 3 A-F). La representación gráfica de las interacciones mostró mayor variación del

contenido de pigmentos fotosintéticos en las hojas primarias de los frijoles silvestres y domesticados que en el folíolo central de la primera hoja trifoliolada (Figura 3 A y B). Independientemente de esa variación, el índice *a/b* indicó que el contenido de clorofila tipo *a* fue consistentemente menor en las variantes silvestres de semilla grande (SDG y STG), independientemente de su origen y del tipo de hoja, que en el resto de las variantes; como a la vez su contenido de clorofila tipo *b* fue mayor, los índices de

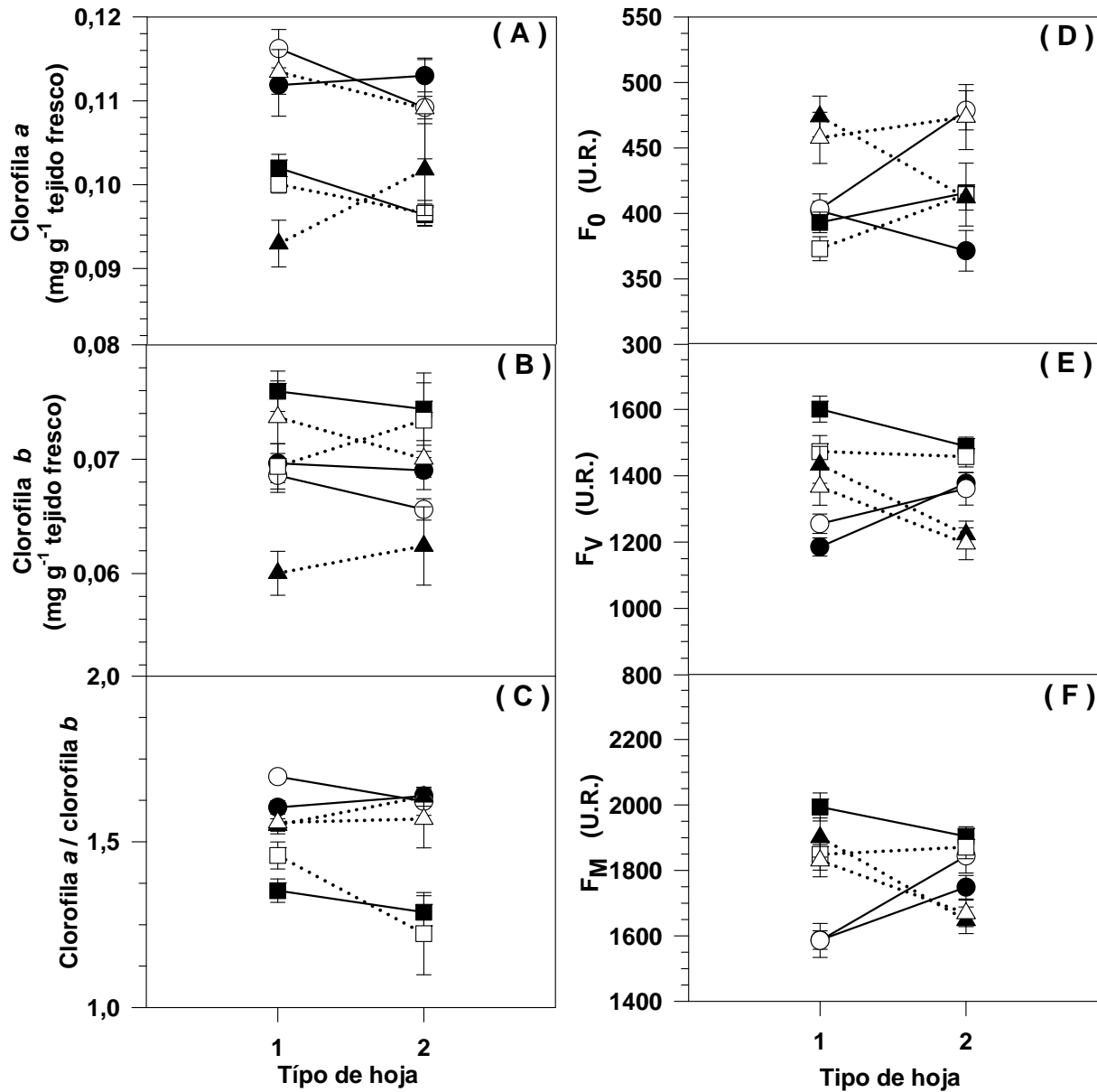


Figura 3. Interacción del tipo de hoja (1: hoja primaria y 2: folíolo central de la primera hoja trifoliolada) y la variante de frijol en contenido de clorofila a (A), clorofila b (B) e índice a/b (C), fluorescencia inicial: F_0 (D), variable: F_v (E) y máxima: F_M (F) de la clorofila en silvestre Durango de semilla pequeña y grande (SDP ● y SDG ○), silvestre Tlaxcala de semilla pequeña y grande (STP ■ y STG □), ▲ cv. Bayo Mecentral y △ cv. Amarillo.

clorofila *a/b* de dichas variantes fueron los menores de todo el grupo evaluado (Figura 3 C). El valor del índice *a/b* entre 2 y 3 es común en las plantas, pero se modifica por diversos factores ambientales y la edad del tejido, por ejemplo, el sombreado induce la disminución de este índice, y las hojas jóvenes poseen índices mayores que las viejas o senescentes (Mckiemán y Baker, 1991; Sesták, 1985). En el presente estudio, las diferencias en el contenido y proporción de las clorofilas entre las variantes evaluadas pueden considerarse típicas, pues todas las plantas utilizadas crecieron en condiciones homogéneas.

La interacción estadísticamente significativa entre los tipos de hojas y las variantes de frijol para los parámetros de la fluorescencia indican que el frijol modifica su respuesta fotoquímica durante la etapa vegetativa inicial, entre V2 y V3. Así, se observa que la F_0 disminuyó en el cultivar Bayo Mecentral y no mostró cambio en el cultivar Amarillo (Figura 3 D), mientras que F_V y F_M disminuyeron (Figura 3 E y F) entre el folíolo central de la primera hoja trifoliolada y las hojas primarias; sin embargo, en los frijoles silvestres estos cambios fueron diferentes independientemente del origen (Figura 3 D y E). La modificación de la relación F_V/F_M es utilizada frecuentemente como parámetro de la eficiencia fotoquímica de plantas con o sin estrés ambiental. En las hojas del frijol domesticado, tanto primarias como del folíolo central de la primera hoja trifoliolada, el índice F_V/F_M fue 0,75 o muy cercano a este valor. Este valor está dentro del intervalo típico de las plantas desarrolladas en condiciones naturales, no inductoras de estrés, por lo que se deduce que la eficiencia fotoquímica es similar en ambos tipos de hojas de los frijoles domesticados (Agatti *et al.*, 1996). En contraste, la relación F_V/F_M en el STG se incrementó de 0,75 en las hojas primarias a 0,79 en el folíolo central de la primera hoja trifoliolada, y prácticamente no se modificó en las otras tres variantes silvestres, pero fue más elevada (entre 0,78 y 0,80) que en las hojas del frijol domesticado. Este resultado puede indicar la existencia de alguna diferencia en la maquinaria fotosintética entre el frijol silvestre y el domesticado, la cual podría estar relacionada con la capacidad del frijol silvestre para desarrollarse en la sombra, característica de su hábitat, generada por la vegetación natural circundante (Berrocal *et al.*, 2002). Al respecto, García *et al.* (2001) documentaron la tolerancia mayor del frijol silvestre al sombreado continuo

durante su ciclo completo de crecimiento, con respecto al domesticado, reflejada en el rendimiento.

En este estudio se observaron diferencias fisiológicas relacionadas con los cambios sucedidos durante la domesticación del frijol, hubo una mayor tasa transpiratoria y temperatura foliar en los cultivares, las cuales podrían estar relacionadas con la menor competencia por agua en el ambiente de cultivo; mayor eficiencia fotoquímica del frijol silvestre, que podría estar relacionada con la respuesta para desarrollarse con vegetación acompañante abundante; y mayor C_i en algunas variantes domesticadas lo que sugiere una relación con la eficiencia fotosintética y fotorrespiración.

CONCLUSIONES

Las hojas primarias y el folíolo central de la primera hoja trifoliolada tanto de las variantes silvestres como domesticadas, desarrolladas en un ambiente homogéneo, muestran diferencias significativas diversas entre y dentro de las variantes silvestres y entre las variantes silvestres y domesticadas que conducen a contrastes en la tasa de asimilación neta.

LITERATURA CITADA

- Agatti, G.; P. Mazzinghi, M. L. di Paola, F. Fusi and G. Cecchi. 1996. The F685/F730 chlorophyll fluorescent ratio as indicator of chilling stress in plants. *Journal of Plant Physiology*. 148: 384-390.
- Aguirre, R. J. R.; C. B. Peña-Valdivia and J. J. S. Bayuelo-Jiménez. 2003. Morphology, phenology and agronomic traits of two wild Mexican common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) populations under cultivation. *South African Journal of Botany* 69 (3): 410-421.
- Arnon, D. I. 1949. Copper enzyme in isolated chloroplast polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24: 1-15.
- Bayuelo-Jiménez, J. S.; C. B. Peña-Valdivia and J. R. Aguirre R. 1999. Yield components of samples of two wild Mexican common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) populations grown under cultivation. *South African Journal of Plant and Soil* 16: 197-203.

- Berrocal, I. S.; J. Ortíz C. and C. B. Peña-Valdivia. 2002. Yield components, harvest index and leaf area efficiency of a sample of wild population and a domesticated variant of the common bean *Phaseolus vulgaris*. South African Journal of Botany 68: 205-211.
- Brücher, H. 1988. The wild ancestor of *Phaseolus vulgaris* in South America. In: P Gepts (ED). Genetic Resources of *Phaseolus* Beans. Kluwer Academic Publisher. Dordrecht. pp: 185-214.
- Epstein, E. 1972. Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives. John Wiley & Sons, New York, USA. 412 p.
- Evans, L. T. 1994. Crop physiology: prospects for the retrospective science. In: K. J. Boote, J. M. Bennett, T. R. Sinclair y G. M. Paulsen (EDS). Physiology and Determination of Crop Yield. ASA, CSSA and SSSA, Madison, Wi., USA. pp: 19-35.
- García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Instituto de Geografía, UNAM, México. 217 p.
- García, H. E. R.; C. B. Peña-Valdivia, J. R. Aguirre R. and J. S. Muruaga M. 1997. Morphological and agronomic traits of a wild population and an improved cultivar of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Annals of Botany 79: 207-213.
- García, N. R.; J. R. Aguirre R., C. Trejo, A. B. Jiménez G. and C. B. Peña-Valdivia. 2001. Contrasting effects of shade intensity on morphology and yield components of wild and domesticated common bean. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative 44:204-205.
- Gepts, P. and D. Debouck, 1991. Origin, domestication and evolution of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: A. van Schoonhoven; O. Voysest. (Eds.) Common Beans: Research for Crop Improvement. CAB International & CIAT, Wallingford, UK. pp 7-53.
- Lynch, J.; A. González, J. M. Tohme and J. A. García. 1992. Variation in characters related to leaf photosynthesis in wild bean populations. Crop Science 32: 633-640.
- Mckiemman, M. and N. R. Baker. 1991. Adaptation to shade of light-harvesting apparatus in *Silene dioica*. Plant Cell and Environment 14:205-212.
- Miranda, C. S. 1967. Origen de *Phaseolus vulgaris* L. (frijol común). Agrociencia 1: 99-109.
- Morison, J. L. 1987. Intercellular CO₂ concentration and stomatal response to CO₂. In: E. Zeiger; G. D. Farquhar y I. R. Cowan (EDS). Stomatal Function. Stanford, University Press, Stanford California. 210 p.
- Peña-Valdivia, C. B.; E. García H., J. R. Aguirre R. and I. Bernal-Lugo. 1996. Tolerance of wild bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds to suboptimal storage conditions. Bean Improvement Cooperative 39:268-269.
- Peña-Valdivia, C. B.; J. R. Aguirre R. and J. S. Bayuelo-Jiménez. 1997. Stomatal traits and photosynthesis in wild and domesticated common bean populations. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative 40: 69-70.
- Peña-Valdivia, C. B.; J. R. Aguirre R., E. R. García H. y J. Muruaga M. 1998. Componentes del rendimiento de semilla de una población silvestre y un cultivar de frijol (*Phaseols vulgaris* L.). Quaderni di Botanica Ambientale e Applicata 6: 181-187.
- Peña-Valdivia, C. B.; E. García H., I. Bernal-Lugo. and J. R. Aguirre R. 1999. Seed quality of wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) after storage. Interciencia 24(1): 8-13 y 79-80.
- Peña-Valdivia, C. B.; R. García N., J. R. Aguirre R. and C. L. Trejo. 2002. The effects of high temperature on dormancy and hypocotyl-root growth of wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Seed Science and Technology 30: 231-248.
- Peña-Valdivia, C. B. y J. R. Aguirre R. 2003. Experiencias sobre el cultivo del frijol silvestre (*Phaseolus vulgaris* L.). In: A. Casas y B. Rendón (EDS). Procesos de Evolución de Plantas Bajo Domesticación en Mesoamérica. En prensa.
- Raschke, K. 1976. How stomata resolve the dilemma of opposing priorities. Philosophical Transaction of the Royal Society, Series B 273: 551-560.

- Statistical Analysis System (SAS). 1989. SAS Procedures Guide Version 6.04. SAS Institute. Cary, North Caroline, USA. 1290 p.
- Sesták, Z. 1985. Chlorophylls and carotenoids during leaf ontogeny. *In*: Z. Sesták (ED). Photosynthesis during Leaf Development. Dr. Junk, Publishers, Dordrecht. pp: 76-106.
- Singh, S. P. 1999. Integrated genetic improvement. *In*: S. P. Singh (ED). Common Bean Improvement in the Twenty-first Century. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands. pp: 133-165.
- Toro, O.; J. Thome and D. G. Debouck. 1990. Wild bean *Phaseolus vulgaris* description and distribution. IBPGR and CIAT, Cali, Colombia. 106 p.
- van Schoonhoven, A. and M. A. Pastor-Corrales. 1987. Sistema Estándar para la Evaluación de Germoplasma de Frijol. CIAT (International Center of Tropical Agriculture), Cali, Colombia.
- Weyers, J. D. B. and H. Meidner. 1990. Methods in Stomatal Research & Technical. Longman, London. 223 p.