

Características físicas, nutricionales y capacidad germinativa de frijol criollo bajo estrés hídrico*

Physical, nutritional and germination characteristics of native beans under water stress

Lina Pliego-Marín^{1\$}, Javier López-Baltazar¹ y Edilberto Aragón-Robles¹

¹Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca, Ex Hacienda de Nazareno, Xoxocotlán, Oaxaca. C. P. 71230. Tel. 0195170444. javier_lopezb@hotmail.com; coleoptera23@hotmail.com). ^{\$}Autora para correspondencia: linapliego@hotmail.com.

Resumen

El género *Phaseolus* se encuentra ampliamente distribuido en el país, en una variedad de condiciones edafoclimáticas, esto ha permitido que los agricultores del estado de Oaxaca, dada su orografía seleccionen materiales que se adapten a sus particulares condiciones. El presente trabajo se realizó en el Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO), con la finalidad de evaluar colectas de semillas de frijoles criollos (*Phaseolus vulgaris* y *Phaseolus lunatus*) procedentes de los Valles Centrales de Oaxaca en cuanto a sus características físicas, nutrimetales y capacidad de germinación bajo condiciones de estrés hídrico, generado por la adición de osmolitos en el medio de germinación. Se pudo observar una variación biológica en cuanto a características físicas relacionadas con tamaño, color y peso. Los resultados indican que en relación a su composición nutricional estas colectas presentan contenidos de proteínas, grasas y fibra cruda en porcentajes similares a los reportados en otros estudios. La capacidad germinativa varió entre las colectas aun en condiciones normales (control), el valor más bajo lo presentó la colecta frijolón (52.5%), mientras que las colectas negro delgado, blanco delgado, negro grueso y colorado tuvieron el porcentaje de germinación mas alto en condiciones limitantes de agua. El PEG fue el osmolito que más redujo la capacidad germinativa de las semillas,

Abstract

The genus *Phaseolus* is widely spread in the country, in a variety of edaphoclimatic conditions; this has allowed farmers in the state of Oaxaca given its orography to select materials that suit their particular conditions. This work was performed at the Technological Institute of Oaxaca Valley (ITVO), in order to evaluate collections of native bean seeds (*Phaseolus vulgaris* and *Phaseolus lunatus*) from the Central Valleys of Oaxaca on their physical, nutritional and germination capacity under water stress conditions generated by the addition of osmolytes in the germination media. It was able to observe biological variation in terms of physical characteristics related to size, color and weight. The results indicate that in relation to the nutritional composition of these collections, show content of protein, fat and crude fiber at rates similar to those reported in other studies. Germination capacity varied between collections even in normal conditions (control), the lowest value had it frijolón (big bean) (52.5%), while the collection negro delgado (thin black), blanco delgado (thin white), negro grueso (thick black) and colorado (red) had the highest germination rate under water stress. Polietilenglycol (PEG) was the osmolyte that reduced germination capacity of seeds and in the case of sucrose was found that this favored the germination rate over the other osmolytes used.

* Recibido: enero de 2013
Aceptado: abril de 2013

y en el caso de sacarosa se observó que ésta favoreció el porcentaje de germinación con respecto al resto de los osmolitos utilizados.

Palabras clave: *Phaseolus*, estrés hídrico, germinación, polietilen glicol.

Introducción

En la actualidad se han descrito 50 especies del género *Phaseolus*, de las cuales 5 de ellas han sido domesticadas: *P. lunatus*, *P. coccineus*, *P. vulgaris*, *P. polyanthus* y *P. acutifolius*, de ellas la más importante es *P. vulgaris* ya que representa 80% de la superficie cultivada (Singh, 1992).

Si bien, éste género se encuentra ampliamente distribuido en los diferentes climas presentes en México, estudios previos indican que el género *Phaseolus* se adapta mejor a climas subtropicales, en tanto que los templados restringen su diversidad. Por otro lado la adaptación de *Phaseolus vulgaris* silvestres se circscribe a un menor número de climas y condiciones ambientales, aunque es la especie que se adapta a una mayor diversidad de ambientes de humedad, y esto en parte explica su uso como fuente alimentaria a nivel mundial (López et al., 2005).

La orografía del estado de Oaxaca se caracteriza por ser muy accidentada, ya que en su ubicación geográfica confluyen diversos sistemas de montañas que corresponden a la Sierra Madre del Sur, la Sierra Madre Atravesada y la Sierra Madre de Oaxaca, creándose así diversas microrregiones con variadas condiciones ambientales, situación que ha favorecido que existan especies vegetales endémicas.

En lo que se refiere a su agricultura, uno de los principales cultivos es el frijol, siendo un hecho bastante conocido que los agricultores del estado, a través del tiempo han ido seleccionando colectas autóctonas de ésta leguminosa, que mejor se adapten a las condiciones climatológicas y edáficas en las regiones donde se cultiva, y que inciden de manera muy marcada en la producción de este cultivo. Por cada región del estado se tienen diversas colectas autóctonas y aunque se han realizado grandes esfuerzos a nivel nacional por conocer la diversidad genética nacional, no se conocen en muchos de los casos la totalidad de la diversidad del germoplasma en frijol, así como estudios enfocados a analizar aspectos taxonómicos, anatómicos, fisiológicos y etnobotánicos, entre otros (Pérez et al., 1995).

Key words: *Phaseolus*, water stress, germination, polyethylene glycol.

Introduction

At present have been described 50 species of the genus *Phaseolus*, of which 5 of them have been domesticated: *P. lunatus*, *P. coccineus*, *P. vulgaris*, *P. polyanthus* and *P. acutifolius*, of which the most important is *P. vulgaris*, as it represents 80% of the cultivated area (Singh, 1992).

Although this genus is widely spread in different climates present in Mexico, previous studies indicate that the genus *Phaseolus* adapts best to subtropical climates, while in temperate restricts its diversity. In addition, the adaptation of wild *Phaseolus vulgaris* is limited to a smaller number of climates and environmental conditions, although is the species that adapts to a wider range of moisture environments, and this partly explains its use as a food source worldwide (López et al., 2005).

The topography of the state of Oaxaca is known for being very rugged, and its geographical location converge various mountain systems corresponding the Sierra Madre del Sur, the Sierra Madre Atravesada and Sierra Madre de Oaxaca, creating several micro-regions with varied environmental conditions, situation that has favored endemic plant species to exist.

Regarding to agriculture, one of the major crops are beans, being a well known fact that farmers in the state, over time have been selecting native collections of this legume, that best adapts to climate and soil conditions in the regions where it is grown and has a marked influence on the production of this crop. For each region of the state there are different native collections and although efforts have been made nationally to know the national genetic diversity, in many cases are not known the entire bean germplasm diversity, thus as focused studies to analyze taxonomy, anatomy, physiology and ethnobotanical, among others (Pérez et al., 1995).

Regarding this Beebe et al. (2000) through a RAPD analysis established that germplasm from the state of Oaxaca and located just east of the volcanic axis are an important source of genetic diversity that has not been sufficiently studied.

It can be inferred that the importance of beans lies in several aspects. From the economic point of view bean represents a source of employment and income. On the other hand it is

Al respecto Beebe *et al.* (2000) por medio de análisis de RADP establecieron que germoplasmas procedentes del estado de Oaxaca y que precisamente se encuentran localizados al este del eje volcánico son una importante fuente de diversidad genética que no ha sido lo suficientemente estudiada.

Se puede inferir que la importancia del frijol radica en varios aspectos. Desde el punto de vista económico el frijol representa una fuente de ocupación e ingreso. Por otro lado se considera que es cultivo tradicional ya que al igual que otros cultivos como lo son el maíz y el chile, ha acompañado al hombre a partir del momento en que nació la agricultura, y por tanto pudiéndolo entonces considerar como un factor de identificación cultural. Además, desde el punto de vista nutricional, es una fuente importante de factores nutricionales como lo son las proteínas, vitaminas, fibra, carbohidratos (Pérez-Herrera *et al.*, 2002).

Muchos de los suelos destinados a este cultivo presentan baja fertilidad, además, gran parte de la producción corresponde a zonas de temporal, donde el agua es otro factor limitante que reduce en gran medida la producción de esta leguminosa (Castellanos *et al.*, 1993).

El estrés hídrico generado en tales condiciones es uno de los factores abióticos que afectan en mayor proporción la producción de los cultivos, como consecuencia de los bajos potenciales hídricos de los suelos en donde desarrollan las plantas.

Por otro lado, la germinación es crucial para el establecimiento de las especies, y cuando ésta se da bajo condiciones limitantes de agua, bien sea por una precipitación restringida de lluvia o por consecuencia de la acumulación de sales en el suelo (Khan y Ungar, 1999), esto debido a que la zona del suelo donde germina la semilla es más salina que aquella donde se establece el crecimiento de la planta, puesto que es la superficie donde se da el fenómeno de evapotranspiración y por tanto se presenta una acumulación de las sales (Hasegawa *et al.*, 1994). Sin embargo, la tolerancia en esta etapa, no es indicativa de que la planta lo sea en el estado adulto (Franco *et al.*, 1993).

Bajo este contexto, el presente trabajo se realizó con la finalidad de describir las características físicas y nutricionales así como determinar la capacidad de germinación de colectas de frijol procedentes de los Valles Centrales de Oaxaca bajo condiciones de diferentes niveles de estrés hídrico.

considered as traditional crop like other crops such as corn and pepper, it has accompanied man since birth of agriculture, and therefore considered as a cultural identification factor. Additionally, from the nutritional point of view, it is an important source of nutritional factors such as proteins, vitamins, fiber, carbohydrates (Pérez-Herrera *et al.*, 2002).

Many of the soils destined to this crop have low fertility; in addition, a lot of the production corresponds to rainfed areas where the water is another limiting factor that greatly reduces the production of this legume (Castellanos *et al.*, 1993).

Water stress generated in such conditions is one of the abiotic factors that affect in great proportion to crop production as a result of the low water potential of the soil where plants grow.

Furthermore, germination is crucial for establishment of the species, and when this occurs under water-limiting conditions, either by rain-restricted or due to the accumulation of salts in the soil (Khan and Ungar, 1999), this is because the area of the soil where the seed germinates is more saline than those where growth of the plant is established, since it is the surface where the phenomenon of evapotranspiration is given and therefore shows an accumulation of salts (Hasegawa *et al.*, 1994). However, tolerance in this stage is not an indicative that the plant will be tolerant in adulthood (Franco *et al.*, 1993).

In this context, this study was performed in order to describe the physical and nutritional characteristics, thus to determine the germination capacity of bean collections from the Central Valleys of Oaxaca under conditions of different levels of water stress.

Materials and methods

The work was made at ITVO, in 2008, in the Biotechnology Laboratories and Environmental Diagnostic. Biological materials evaluated were acquired in diverse markets where in some cases farmers go to obtain seed such as: black thin (Zaachila, NDZ), red (San Dionisio, Tlacolula), white thin (Zaachila, BDZ), black thick (San Miguel, Tlacolula, NG), goat (San Dionisio, Tlacolula), all corresponding to the collection of *Phaseolus vulgaris* and the big bean (frijolón) collection to *Phaseolus lunatus* from Zaachila.

Physical characterization of the collections were made according to procedure recommended by Moreno (1984), evaluating the size, color and weight of the seeds. For the case of

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en ITVO, en 2008, en los Laboratorios de Biotecnología y el Diagnóstico Ambiental. Los materiales biológicos evaluados fueron adquiridos en los diversos mercados, a donde acuden en algunos casos los agricultores para obtener la semilla y estos fueron: negro delgado (Zaachila, NDZ), colorado (San Dionisio, Tlacolula), blanco delgado (Zaachila, BDZ), negro grueso (San Miguel, Tlacolula, NG), chivo (San Dionisio, Tlacolula), todos estos correspondientes a *Phaseolus vulgaris* y la colecta frijolón a *Phaseolus lunatus* procedente de Zaachila.

La caracterización física de las colectas se realizó de acuerdo al procedimiento recomendado por Moreno (1984), evaluándose las dimensiones, color y peso de las semillas. Para el caso de las dimensiones, se muestraron 3 lotes de semillas por cada colecta, cada uno con 10 semillas. El peso de 100 semillas se determinó seleccionando de manera aleatoria 5 lotes cada uno con 100 semillas a las cuales se les registró el peso. A los datos registrados se les determinó la varianza y el coeficiente de variación, para el caso de éste último debe presentar un valor de 4, tomando en cuenta las recomendaciones para señaladas por dicho autor. Para la determinación de fibra cruda y grasas se siguió lo establecido por la AOAC, (1990), proteínas (Micro Kjeldahl), y los nutrientos (IRENAT, 1998).

Se determinó la capacidad germinativa bajo condiciones de estrés hídrico para lo cual las semillas desinfectadas se transfirieron a cajas Petri utilizando como sustrato papel filtro, colocándose 10 semillas por caja. El estrés hídrico se logró por la adición de diferentes osmolitos (cloruro de sodio, sacarosa, manitol y polietilenglicol 8000 a diferentes concentraciones de tal forma que se originaron potenciales osmóticos (Ψ_s) de 0 (control), -0.3 Mpa y -0.6 Mpa, de acuerdo a la ecuación de Van't Hoff, asumiendo que en el caso de la sal ésta se disocia completamente. Las semillas en estas condiciones se incubaron durante 5 días en una cámara de germinación en la oscuridad a 25 °C. Se determinaron: 1) precocidad de germinación; 2) duración de la germinación que es el tiempo que transcurre desde que germina la primera semilla hasta la última (Belkhodja y Soltani, 1992); y 3) la velocidad de germinación y (%) final de germinación de acuerdo con Singh y Ambawatia (1990).

Para evaluar la capacidad germinativa se utilizó un diseño completamente al azar, con un total de 54 tratamientos y cuatro repeticiones de cada uno (Cuadro 1). Los resultados

size, were sampled three seedlots for each collection, each with 10 seeds. The weight of 100 seeds was determined by randomly selecting five seedlots each with 100 seeds to which weight was recorded. To the recorded data was determined variance and coefficient of variation, for the case of the latter, must have a value of 4, taking into account the recommendations made by that author. For the determination of crude fiber and fat was followed the established by AOAC, (1990), proteins (Micro Kjeldahl), and nutrients (IRENAT, 1998).

Germination was determined under conditions of water stress to which the disinfected seeds were transferred to Petri dishes using filter paper as substrate, placing 10 seeds per box. Water stress is achieved by adding different osmolytes (sodium chloride, sucrose, mannitol and polyethylene glycol 8000 in different concentrations so that the osmotic potentials originated (Ψ_s) of 0 (control), -0.3 MPa and -0.6 MPa , according to the Van't Hoff equation, assuming that in the case of salt, this completely dissociates. seeds under this condition were incubated for 5 days in a germination chamber in the dark at 25 °C. were determined: 1) precocious germination; 2) duration of germination which is the time that elapses since the first seed germinates until the last (Belkhodja and Soltani, 1992); and 3) germination speed and (%) ending of germination according to Singh and Ambawatia (1990).

To assess the germination capacity was used a completely randomized design, with a total of 54 treatments and four replications of each (Table 1). The results obtained were subjected to statistical analysis using the Statgraphics Plus program(STSC Inc., Rockville, Maryland, USA) performing a multivariate analysis and minimum significant difference test.

Cuadro 1. Tratamientos aplicados a colectas de semillas de *Phaseolus* para evaluar el efecto del estrés hídrico en su capacidad germinativa.

Table 1. Treatments applied to *Phaseolus* seed collections to evaluate the effect of water stress on germination capacity.

Tratamiento	Osmolito	Ψ_s (Mpa)
1	Agua	0
2	NaCl	- 0.3
3	NaCl	- 0.6
4	Sacarosa	- 0.3
5	Sacarosa	- 0.6
6	Manitol	- 0.3
7	Manitol	- 0.6
8	PEG 8000	- 0.3
9	PEG 8000	- 0.6

PEG= polietilenglicol; Mpa= mega Pascales.

obtenidos se sometieron a un análisis estadístico utilizando el programa Statgraphics Plus (STSC Inc., Rockville, Maryland, USA) realizándose análisis multifactorial y prueba de mínimas diferencias significativas.

Resultados y discusión

Las características físicas evidencian la diversidad biológica del frijol en los Valles Centrales de Oaxaca. Las características determinadas se resumen en el Cuadro 2.

La colecta con semillas de mayor tamaño fue la de la *Phaseolus lunatus* procedente de Zaachila, negro grueso San Miguel y chivo San Dionisio también sobresalieron por su tamaño, aunque obviamente menor que el observado para frijolón y se diferenciaron del resto de las colectas. De menor tamaño fue la colecta colorado, aunque más grande que las correspondientes al negro y blanco delgados.

De los estudios realizados por Pérez-Herrera *et al.* (2002) en los cuales se analizaron diversos genotipos de frijol se dedujo que aquellos de color negro eran los más pequeños. Dentro del genotipo de *P. vulgaris* con grano más grande se encontraron genotipos de frijol tipo bayo, como bayo Zacatecas, bayo Victoria, bayo Baranda y la línea BY91023 ICA Zerinza, G 2333, J 117 y Flor de Mayo Bajío, con diferente color y forma de grano.

Si bien, existen investigaciones en donde se ha corroborado la variabilidad entre variedades criollas intra e inter especies de frijol, en relación a características físicas de la semilla y de la planta, éstos por lo general corresponden a amplias zonas geográficas. Tratando de que el análisis se circunscribiera en áreas de menor extensión Castillo *et al.* (2006), determinaron variaciones morfológicas en colectas criollas de *Phaseolus* en el Estado de México y Morelos. A pesar de que no se encontró en el estudio la diversidad entre y dentro de las especies respecto a la coloración, si fue posible localizar 50% de colores reportados para otros cultivares, sobresaliendo el color morado. En el caso del presente estudio las colectas cultivadas que se evaluaron están localizadas en los Valles Centrales del estado de Oaxaca, y así se pudo detectar la variabilidad en cuanto a características físicas (Cuadro 2).

Cabe mencionar que en concordancia con lo referido por Moreno (1984), al determinar el peso de las semillas existe un intervalo para el valor del coeficiente de variación (CV)

Results and discussion

The physical characteristics evidence bean biodiversity in the Central Valleys of Oaxaca. The determined characteristics are summarized in Table 2.

The collection with larger seeds was the *Phaseolus lunatus* from Zaachila, thick black San Miguel and goat San Dionisio also excelled by its size, but obviously less than that observed for big bean and differentiated from other collections. The smaller in size was the collection red, but larger than those for black and white thin.

From studies made by Pérez- Herrera *et al.* (2002) in which analyzed various bean genotypes was inferred that those of black color were the smallest. Within *P. vulgaris* genotype with larger grain were found the genotypes bayo, like Bayo Zacatecas, Bayo Victoria, Bayo Baranda and line BY91023 ICA Zerinza, G 2333, J 117 and Flor de Mayo Bajío, with different color and grain shape.

While there have been researches which confirmed the variability within and between landrace bean species, in relation to physical characteristics of the seed and plant, these usually correspond to large geographical areas. Trying that the analysis was confined to smaller areas Castillo *et al.* (2006) determined morphological variations in native collection of *Phaseolus* in the State of Mexico and Morelos. Although in the study was not found the diversity between and within species for the color, if it was possible to locate 50% of colors reported for other cultivars, excelling purple. In the case of this study, the crop collections evaluated are located in the Central Valleys of Oaxaca, and thus could be detected the variability regarding physical characteristics (Table 2).

Worth mentioning that in accordance with reports by Moreno (1984), by determining the weight of the seeds, there is a range for the value of the coefficient of variation (CV) and according thereof, the results can be accepted or rejected. However, should bear in mind that in the case of seeds of native or cultivated collection which have been obtained by the hands of farmers through generations, so that meet the conditions that prevail in a particular region (Montoya, 2000), it is not essential total uniformity in their physical characteristics, unlike improved varieties that must. Also, do not forget that these native seeds are an important genetic reservoir (Massieu and Montenegro, 2002) and are of vital

y que de acuerdo al mismo los resultados pueden ser aceptados o rechazados. Sin embargo, se debe tener en consideración que en el caso de las semillas de colecta criollas o cultivadas las cuales han sido obtenidas por manos campesinas a través de generaciones, de tal forma que respondan a las condiciones que prevalecen en una región determinada (Montoya, 2000), no es esencial una total uniformidad en sus características físicas, a diferencia de las variedades mejoradas que si deben presentar. Además, no hay que olvidar que estas semillas criollas representan un importante reservorio genético (Massieuy Montenegro, 2002) y que son de importancia vital la preservación de este material, sin dejar de considerar que en el país, es uno de los centros de origen y domesticación del frijol.

Cuadro 2. Características físicas de semillas de *Phaseolus* spp. colectadas en los Valles Centrales de Oaxaca
Table 2. Physical characteristics of *Phaseolus* spp. collected in Central Valleys of Oaxaca.

Variedad	Lugar de procedencia	Dimensiones	Color	Peso (g 100 semillas ⁻¹)	Tamaño
Negro Delgado	Zaachila	6mm x 1.1 cm x 4-6 mm	Negro	11.2 a	Pequeño
Blanco Delgado	Zaachila	6-9 mm x 1.2cm x 5-7mm	Blanco	12.2 a	Pequeño
Colorado	San Dionisio, Tlacolula	6-1.2mm x 1.5-mm x 8 mm	Rojo	22.3 b	Pequeño
Chivo	San Dionisio, Tlacolula	8mm-1.3cm x 3-7mm x 8 mm	Negro	40.26 d	Grande
Frijolón	Zaachila	1.2-2.4 cm x 7mm-1.3cm x 9 mm	Negro Grisáceo	74.8 e	Grande
Negro Grueso	San Miguel, Tlacolula	8mm-1,4cm x 4-7mm	Negro	27.5 c	Mediano

Los resultados obtenidos para la variable el peso de 100 semillas muestran una amplitud en las medias obtenidas para colectas con intervalos que oscilaron desde 11.2 a 74.8 g 100 semillas⁻¹ que de nueva cuenta nos da indicios de la gran variabilidad que existen entre estas semillas cultivadas. Ésta misma variabilidad fue observada en la evaluación de otro genotipos de *Phaseolus vulgaris*, pero en este caso correspondieron a variedades comerciales y de otras regiones de México (Pérez-Herrera et al., 2002; de Allende et al., 2006).

En relación a ésta variable la colecta que sobresalió fue la de frijolón procedente de Zaachila, y cuya media corresponde con lo reportado en la literatura para el caso de cultívares de *Phaseolus lunatus* de semillas pequeñas (24-70 g), de los cuales el posible centro de domesticación fue Guatemala y que también se encuentran distribuidos en nuestro territorio nacional (Sauer, 1993; Debouck, 2008). Otras colectas que también sobresalieron fueron chivo San Dionisio y negro grueso San Miguel, pero su valor fue menor en comparación con frijolón (50% y 37% menos respectivamente).

importance to preserve this material, while considering that the country is one of the origin centers and domestication of beans.

The results for the variable weight of 100 seeds show a range in means obtained for collections with intervals ranging from 11.2 to 74.8 g 100 seeds⁻¹ which shows us evidence of considerable variability between these seeds. This same variability was observed in the evaluation of other genotype of *Phaseolus vulgaris*, but in this case corresponded to commercial varieties and other regions of Mexico (Pérez- Herrera et al., 2002; Allende et al., 2006).

Regarding this variable the collection that stood out was big bean from Zaachila, and whose average corresponds with that reported in literature for the case of cultivars of *Phaseolus lunatus* of small seeds (24-70 g), of which the possible center of domestication was Guatemala and has also spread in our country (Sauer, 1993; Debouck, 2008). Other collections that also stood out were goat San Dionisio and thick black San Miguel, but its value was lower compared with big bean (50% and 37% less respectively).

As far as related with nutritional and specifically to mineral content, in general, the collections had similar nutritional content among them, with some exceptions, as in the case of thin black Zaachila and big bean, that had the highest content regarding to Ca, K, Mg and Na (Table 3). Thus, it has that the content of Ca in thin black collection was 2.5 times higher than the average for the rest of the collections, while big bean was 3.4 times.

Ca detected in thin black and big bean was between the values determined (137.3 - 289.1 mg 100 g⁻¹) for seven legumes that included the following species: *Phaseolus acutinifolius*, *Phaseolus lunatus*, *Phaseolus calcaratus*,

En cuanto a lo relacionado con aspectos nutricionales y concretamente al contenido de minerales, de manera general; es decir, las colectas presentaron contenidos nutrimentales similares entre ellas, con algunas excepciones, como es el caso del negro delgado Zaachila y frijolón que presentaron los contenidos más altos en cuanto a Ca, K, Mg y Na (Cuadro 3). Así, se tiene que el contenido de Ca en la colecta negro delgado fue 2.5 veces más alto que el promedio del resto de las colectas, en tanto que para frijolón fue de 3.4 veces.

Cuadro 3. Contenido de nutrientes en semillas de *Phaseolus* spp. colectadas en los Valles Centrales de Oaxaca.

Table 3. Nutrient content in seeds of *Phaseolus* spp. collected in the Central Valleys of Oaxaca.

Colecta	Ca	K	Mg	P	Na
			mg 100 g ⁻¹		
N. Delgado	193.5 b	1739.9 b	272.0 b	732.5 d	118.9 b
B. Delgado	76.80 a	1570.4 b	180.6 b	634.7 c	21.6 a
Colorado	74.10 a	1333.9 a	175.3 a	391.0 a	28.5 a
Chivo	77.00 a	1628.4 b	211.9 ab	211.9 ab	31.8 a
N. grueso	77.30 a	1730.6 a	211.9 ab	507.0 b	19.6 a
Frijolón	258.3 c	2113.3 c	308.0 c	536.5 b	124.6 b

Valores con letra diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

El Ca detectado en negro delgado y frijolón quedó comprendido entre los valores determinados (137.3 - 289.1 mg 100 g⁻¹) para siete leguminosas que incluían a las siguientes especies: *Phaseolus acutinifolius*, *Phaseolus lunatus*, *Phaseolus calcaratus*, *Cajanus cajan*, *Vigna unguiculata* y *Vigna sinensis*, mismas que son de producción y consumo local (Espinoza *et al.*, 2005). Comparando los resultados con ese estudio, las colectas chivo, blanco delgado, colorado, presentaron contenido de Ca entre 3.77- 1.8 veces menor.

La determinación de potasio en las colectas evaluadas nos indica que los contenidos van de altos a similares en comparación con otros estudios, y que se refieren a otras leguminosas, así como para el caso de otras especies de *Phaseolus vulgaris* (Serrano y Goñi, 2004; Espinoza *et al.*, 2005). El alto contenido de K detectado en frijolón (2 113.3 mg 100 g⁻¹), de la misma forma que para el resto de los nutrientes, muestran su riqueza en términos nutricionales.

Los altos contenidos de Na detectados en negro delgado y frijolón fueron de hasta 4.7 y 4.91 veces más altos que la media presentada en el resto de las colectas.

En comparación con los resultados de otras investigaciones éstas diferencias se hicieron más notorias, que para el caso de la colecta frijolón fue de hasta casi 17 veces más que en

Phaseolus calcaratus, *Cajanus cajan*, *Vigna unguiculata* and *Vigna sinensis*, same that are of local production and consumption (Espinoza *et al.*, 2005). Comparing the results to that study the collections goat, white thin and red presented calcium content between 3.77- 1.8 times lower.

The determination of potassium in the evaluated collections indicates that the contents go from high to similar compared with other studies, which refer to other legumes as well as

for other species of *Phaseolus vulgaris* (Serrano and Goni, 2004; Evans *et al.*, 2005). The high content of K detected in big bean (2 113.3 mg 100 g⁻¹), in the same way as for the rest of the nutrients, show its richness in terms of nutrition. The high content of Na detected in black thin and big bean were up to 4.7 and 4.91 times higher than the average presented in the rest of the collections.

Compared with the results of other researches these differences were more relevant, for the case of big bean collection that was almost 17 times more than in other legumes and even for *P. vulgaris* (Maldonado and Samman, 2000; Serrano and Goni, 2004), but similar to other species of *Phaseolus* (Espinosa *et al.*, 2005).

The P content in the collections shows that black thin Zaachila was the richest in this nutrient, followed by white thin, with values ranging from 1.36-1.87 times higher than the rest of the collections. These results were also higher up to 3 times or more than those detected in other legumes and other species of *Phaseolus* (Espinosa *et al.*, 2005).

In relation to the protein content all collections had similar protein content (approximately 25%), except for the collection Goat (19%), from the town of San Dionisio in

otras leguminosas e incluso para *P. vulgaris* (Maldonado y Samman, 2000; Serrano y Goñi, 2004), pero similar a otras especies de *Phaseolus* (Espinosa *et al.*, 2005).

El contenido de P en las colectas muestra que el frijol negro delgado Zaachila fue el más rico en éste nutriente, seguido del blanco delgado, con valores que oscilaron entre 1.36-1.87 veces más altos que el resto de las colectas. Éstos resultados también fueron mayores hasta 3 veces o más que los detectados en otras leguminosas y otras especies de *Phaseolus* (Espinosa *et al.*, 2005).

En relación al contenido de proteínas todas las colectas tuvieron un contenido proteínico similar (aproximadamente 25%), a excepción de la colecta chivo (19%), procedente de la localidad de San Dionisio en el Valle de Tlacolula, sobresaliendo los materiales negro delgado y negro grueso pero sin diferencias significativas respecto al resto de las colectas (Figura 1).

Los intervalos en cuanto a contenido de proteínas son similares a los rangos reportados (18.4-28.6%) en estudios efectuados en otras regiones de México (Pérez-Herrera *et al.*, 2002), incluyendo incluso, a los valores mencionados en la literatura para frijoles centroamericanos (16-30%) (Bressani *et al.*, 1960), y también a los que se indican para el resto de Latinoamerica cuyos valores son ligeramente más altos (León *et al.*, 1993), aunque si bien para éste último caso si se han encontrado similitudes con algunas alubias de Brasil en donde el contenido de proteínas determinado osciló entre 21.01-22.9% (Fonseca y Bora, 2000)

El contenido de grasa en los materiales evaluados oscilaron entre 1.2 y 2.23%, siendo la colecta frijolón con el valor menor con diferencias significativas respecto al resto de las colectas ($p \leq 0.05$), a excepción del frijol negro delgado. Asimismo, la colecta blanco delgado de Zaachila, quien presentó los valores mas altos también mostró diferencias con el resto de las colectas evaluadas (Figura 1). Las grasas determinadas en *P. vulgaris*, *P. lunatus* y otras leguminosas como *Vigna angularis*, *Vigna unguiculata*, *Cajanus cajan*, se corresponden con los valores determinados en el presente estudio, no así con otras especies de *P. vulgaris* y otras leguminosas como es el caso de *Posphocarpus tetragonolobus* en donde los niveles detectados fueron de casi hasta 10 veces más (León *et al.*, 1993; Fonseca y Bora, 2000, Serrano y Goñi, 2004; Espinoza *et al.*, 2005).

the Tlacolula Valley, highlighting the black thin black thick material but not significantly different to the rest of the collections (Figure 1).

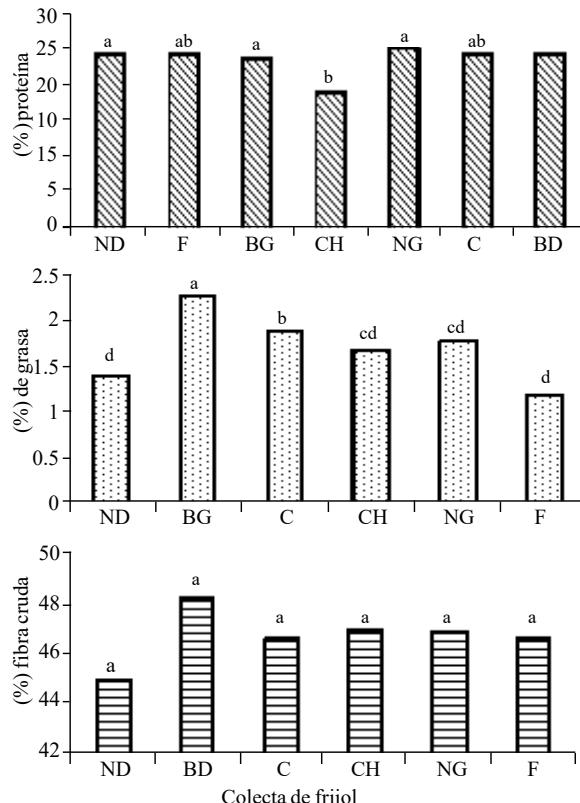


Figura 1. Contenido de proteínas, grasa y fibra cruda en seis colectas de *Phaseolus* de los Valles Centrales de Oaxaca. ND=negro delgado; BD=blanco delgado; COL= colorado; Ch= chivo; NG= negro grueso; F= frijolón.

Figure 1. Protein, fat and crude fiber content in six collections of *Phaseolus* from Central Valleys of Oaxaca. ND= black thin; BD= white thin; COL= red; Ch= goat; NG= black thick; F= big bean.

The intervals regarding protein content are similar to the ranges reported (18.4-28.6%) in studies in other regions of Mexico (Pérez-Herrera *et al.*, 2002), including even the values mentioned in the literature for Central American beans (16-30%) (Bressani *et al.*, 1960), as well as those mentioned for the rest of Latin America whose values are slightly higher (León *et al.*, 1993), although for the latter case have been found similarities with some beans from Brazil, where the protein content ranged between 21.01-22.9% (Fonseca and Bora, 2000).

The fat content in the materials evaluated ranged between 1.2 and 2.23%, being the bigbean collection with the lowest value with significant differences from the rest of

Los valores determinados para el contenido de fibra cruda tuvieron una media que osciló entre 46.5 y 47%, las excepciones correspondieron a bdz con un valor 45% (el menor) y negro delgado (48.3%, el más alto).

Es importante resaltar que de acuerdo al análisis comparativo de la información recopilada por Domínguez *et al.* (2002), con relación al valor nutricional de *P. vulgaris* y *P. lunatus*, y en concordancia con los resultados obtenidos en el presente estudio, ambas especies presentan propiedades nutricionales muy similares, y en algunas aspectos como es el caso de nutrientes *P. lunatus* es superior (frijolón de Zaachila) a algunas de las colectas de *P. vulgaris*, que lo ubica como una buena alternativa en la dieta en aquellas regiones donde se distribuye naturalmente, además de tener la posibilidad de incorporar a los terrenos los restos de ésta cosecha como una importante fuente de N (Domínguez *et al.*, 2002).

Efecto del estrés hídrico sobre la germinación

En ausencia de estrés hídrico los porcentajes de germinación alcanzados fluctuaron entre 77 y 100%, a excepción del frijolón que sólo germinó 20%. El grado de inhibición de la germinación dependió del tipo y concentración del osmolito, sobresaliendo las colectas negro y blanco delgado Zaachila y el negro grueso por su capacidad germinativa, el polietilenglicol produjo las mayores reducciones en los porcentajes de germinación permitiéndose también verificar el efecto del potencial osmótico más no los iones de las sales (Figura 2).

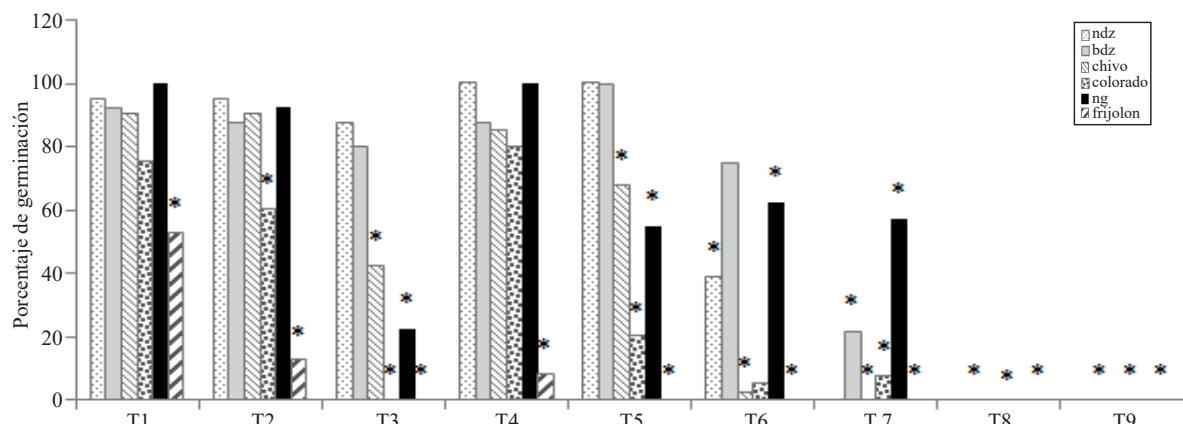


Figura 2. Porcentaje final de germinación en semillas de colectas de *Phaseolus* sometidas a estrés hídrico por aplicación de diferentes osmolitos. T1= agua; T2= NaCl (0.3 Mpa.); T3= NaCl (0.6 Mpa.); T4= Sacarosa (0.3 Mpa.); T5= Sacarosa (0.6 Mpa.); T6= Manitol (0.3 Mpa.); T7= Manitol (0.6 Mpa.). ndz: negro delgado Zaachila; bdz: blanco delgado Zaachila; ng: negro grueso. (*) Indica diferencias significativas entre los tratamientos.

Figure 2. Final germination percentage in seeds of *Phaseolus* collections under water stress by application of different osmolytes. T1= water; T2: NaCl (0.3 Mpa.); T3= NaCl (0.6 Mpa.); T4= sucrose (0.3 Mpa.); T5= sucrose (0.6 Mpa.); T6: mannitol (0.3 Mpa.); T7= mannitol (0.6 Mpa.); ndz= black thin Zaachila; bdz= white thin Zaachila, ng: black thick. (*) Indicates significant differences between treatments.

the collections ($p \leq 0.05$), except for black thin. Also, the collection white thin Zaachila, that had the highest values also showed differences with the rest of the collections (Figure 1). Fats determined in *P. vulgaris*, *P. lunatus* and other legumes such as *Vigna angularis*, *Vigna unguiculata*, *Cajanus cajan*, correspond to the values determined in the present study, not so with other species of *P. vulgaris* and other legumes as for *Psophocarpus tetragonolobus* where the detected levels were nearly 10 times more (Leon *et al.*, 1993, Fonseca and Bora, 2000, Serrano and Goni, 2004, Evans *et al.*, 2005).

The values determined for crude fiber content had an average ranging between 46.5 and 47%, exceptions corresponded to bdz with a value 45% (the lowest) and black thin (48.3%, the highest).

Is important to note that according to the comparative analysis of the information collected by Dominguez *et al.* (2002) in relation to the nutritional value of *P. vulgaris* and *P. lunatus*, and consistent with the results obtained in the present study, both species present nutritional properties very similar, and in some aspects such as the case of nutrients in *P. lunatus* is higher (big bean of Zaachila) to some of the collections of *P. vulgaris*, which places it as a good alternative in the diet in those regions where it is distributed naturally in addition to be able to incorporate the stubble into the soil as an important source of N (Domínguez *et al.*, 2002).

El déficit hídrico generado por los osmolitos: cloruro de sodio y sacarosa (0.3 MPa) redujo ligeramente el porcentaje de germinación en las colectas evaluadas, únicamente la colecta frijolón disminuyó significativamente su valor con respecto al control (76% y 91% respectivamente). Cuando los niveles de estrés hídrico incrementaron con el cloruro de sodio (0.6 MPa) se pudo constatar una mayor reducción en la germinación que el generado por la sacarosa. Así, en las colectas frijolón y colorado se observó una inhibición total en su capacidad germinativa, en tanto que con sacarosa su valor incrementó. Este hecho pone de manifiesto el efecto tóxico provocado por los iones Na y Cl, y además de que en caso de la sacarosa, ésta se haya utilizado como fuente de esqueletos carbonados.

El manitol redujo significativamente la capacidad germinativa de las semillas en cualquiera de los niveles evaluados, solamente las colectas negro grueso y blanco delgado lograron mantener altos porcentajes de germinación (62.5 % y 75 % respectivamente). El uso de PEG 8000 como osmolito provocó la inhibición total de la germinación en todas las colectas.

El efecto negativo causado por ambientes salinos ha sido observado tanto en especies glicófitas como halófitas (Khajeh *et al.*, 2002; Soussi *et al.*, 2003; Tobe *et al.*, 2003; 2004), en el caso de las colectas ND y BD se observaron altos porcentajes de germinación aun en restricciones de agua más evidentes (0.6 MPa).

Aunque se ha observado que el NaCl incide negativamente de forma más evidente en el porcentaje de germinación y la velocidad como se apreció para el género *Atriplex* (Ruiz y Parera, 2001), en el presente estudio el PEG 8000 fue el osmolito que más afectó a estas variables. Este hecho pudiera resultar contradictorio si suponemos que *Atriplex* es halófita y por tanto menos sensible a condiciones salinas; parte de la explicación radica en el hecho de que los referidos autores no señalaron el tipo PEG que utilizaron y probablemente pudiera tratarse de un producto de menor peso molecular, y por tanto el efecto la creación de condiciones limitantes de agua fuera menos marcado. Sin embargo, estudios recientes indican que las condiciones limitantes de agua se acentúan con el uso de PEG para el caso de *Phaseolus vulgaris* (Castilho-Custódio *et al.*, 2009).

La precocidad y velocidad de germinación decrecieron por efecto del estrés hídrico, en tanto que la duración de la germinación incrementó (Cuadro 3), coincidiendo con lo reportado para otra leguminosa como lo es *Vicia faba* (Belkhodja y Soltani, 1992).

Effect of water stress on germination

In absence of water stress the achieved germination rates ranged from 77 to 100%, except big bean that only germinated 20%. The degree of inhibition of germination depended on the type and concentration of osmolyte, excelling black and white thin Zaachila and thick black by its germination capacity, the polyethylene glycol produced the greatest reductions in the germination percentages allowing also verifying the effect of the osmotic potential but not the ions from salts (Figure 2).

Water deficit generated by osmolytes: sucrose and sodium chloride (0.3 MPa) slightly reduced the germination percentage of collections, only the collection of big bean significantly decreased its value compared to the control (76% and 91% respectively). When increased levels of water stress with sodium chloride (0.6 MPa) it was found a greater reduction in germination than the generated by sucrose. Thus, big bean and red collections showed complete inhibition in its germination capacity, while sucrose increased its value. This fact shows the toxic effect caused by Na and Cl ions, and besides in the case of sucrose, this was used as a source of carbon skeletons.

Mannitol significantly reduced the germination capacity of seeds in any of the levels tested, only the thick black and white thin collections managed to keep high germination rates (62.5% and 75% respectively). The use of PEG 8000 as osmolyte caused total inhibition of germination in all collections.

The negative effect caused by saline environments has been observed in both halophyte and glycophyte species (Khajej *et al.* 2002; Soussi *et al.* 2003; Tobe *et al.*, 2003, 2004), in the case of ND and BD collections were observed high germination rates even in water restrictions (0.6 MPa).

Although it has been observed that NaCl negatively affects the germination percentage and speed as appreciated in the genus *Atriplex* (Ruiz and Parera, 2001), in this study PEG 8000 was the osmolyte that affected the most these variables. This fact could be contradictory if we assume that *Atriplex* is halophyte and therefore less sensitive to saline conditions; part of the explanation lies in the fact that those authors did not indicate the type PEG used and probably could be a product of lower molecular weight, and therefore the effect of creating water-limiting conditions was less

Cuadro 4. Índices de germinación de colectas criollas de *Phaseolus* sometidas a estrés hídrico durante 5 días. Los valores corresponden a porcentajes respecto al control.

Table 4. Germination index from native collections of *Phaseolus* subjected to water stress for 5 days. The values correspond to percentages regard to control.

Colecta	Osmolito	Ψ_s (MPa)	Prec. (%)	Vel. Germ. (%)	Dur. (Días)
NDZ	NaCl	0.3	0	85	112
	Sacarosa	0.3	26.7	85	100
	Manitol	0.3	33.3	78	100
	PEG	0.3	0	91	SG
COL	NaCl	0.3	0	41	75
	Sacarosa	0.3	0	87	41.6
	Manitol	0.3	0	90	25
	PEG	0.3	0	0	SG
BDZ	NaCl	0.3	16.7	93	SG
	Sacarosa	0.3	50	100	79
	Manitol	0.3	16.7	99	63
	PEG	0.3	0	SG	SG
CH	NaCl	0.3	0	86	64
	Sacarosa	0.3	0	65	91
	Manitol	0.3	0	0	SG
	PEG	0.3	0	0	SG
F	NaCl	0.3	0	24	SG
	Sacarosa	0.3	0	0	SG
	Manitol	0.3	0	0	SG
	PEG	0.3	0	0	SG
NG	NaCl	0.3	0	85	116
	Sacarosa	0.3	0	92	166.7
	Manitol	0.3	0	84	233
	PEG	0.3	0	0	SG

En los estudios efectuado por Castillo *et al.* (2006) se apreció una correlación entre las poblaciones de *Phaseolus vulgaris* de menor tamaño y la precocidad de las variedades en cuanto al inicio de la floración. Éste periodo se presentó en forma temprana en semillas medianas que en las de mayor tamaño. En este estudio, la evaluación de las colectas se hizo en torno a la etapa de germinación de las mismas, pero resulta interesante analizar que también se detectó una precocidad en esta etapa, ya que las semillas más pequeñas (Negro Delgado y Blanco Delgado) fueron las que mostraron un mayor porcentaje de semillas germinadas el primer día; es decir, precocidad, que el resto de las semillas.

marked. However, recent studies indicate that water limiting conditions are accentuated with the use of PEG in the case of *Phaseolus vulgaris* (Castilho-Custodio *et al.*, 2009).

The precocity and germination speed decreased by effect of water stress, while the duration of germination increased (Table 3), coinciding with that reported for other legumes such as *Vicia faba* (Belkhodja and Soltani, 1992).

In studies performed by Castillo *et al.* (2006) was appreciated a correlation between populations of *Phaseolus vulgaris* smaller size and earliness of varieties regarding initiation of

Conclusiones

Existe una diversidad biológica entre las colectas con relación a sus características físicas. En general, las colectas tienen un contenido nutricional, sobresaliendo la colecta de *Phaseolus lunatus*. En cuanto a su capacidad germinativa, existe una variabilidad entre los materiales evaluados, tanto en condiciones normales (adición de agua únicamente) como bajo condiciones de estrés hídrico, las colectas negro delgado, blanco delgado y negro grueso presentaron los más altos porcentajes de germinación. La naturaleza del soluto utilizado y su concentración también influyeron en la germinación. El PEG-8000 fue el soluto que más afectó el proceso de germinación, lo que indica que la inhibición se debe a un efecto osmótico y más que a la presencia de iones tóxicos como es el caso del NaCl. Los índices de germinación determinados confirman también la variabilidad entre las colectas en relación a la respuesta frente a condiciones limitantes de agua.

Literatura citada

- De Allende, A. G.; Rivera, M. M. L.; Rosales, S. R.; Acero, G. M. G. y Makek, P. N. 2006. Calidad bioquímica del frijol cultivado en distintas condiciones de humedad del suelo. Investigación y Ciencia. 14(34):12-18.
- Beebe, S.; Skroch, P. W.; Tohme, J.; Duque, M. C.; Pedraza, F. and Nienhuis, J. 2000. Structure of genetic diversity among common bean landraces of middle American origin based on correspondence analysis of RAPD. Crop. Sci. 40:264-273.
- Belkhodja, M. et Soltani, N. 1992. Response de la fève (*Vicia faba* L.) à la salinité: étude de la germination de quelques légumineuses à croissance déterminée. Bull. Soc. Bot. Fr. 139:357-368.
- Bressani, R.; Méndez, J. y Scrimshaw, N. W. 1960. Valor nutritivo de los frijoles centroamericanos III. Arch Venez Nutr. 10:71-84.
- Castellanos, J. Z.; Acosta-Gallegos, J. A.; y Peña-Cabriales, J. J. 1993. Nodulación y extracción de N en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) bajo diferentes condiciones de humedad. Terra. 11(2):171-177.
- Castilho-Custódio, C.; Rabelo-Salomão, G. e Barbosa-Machado, N. N. 2009. Estresse hídrico na germinação e vigor de sementes de feijão submetidas à diferentes soluções osmóticas. Rev. Ciênc. Agron. Fortaleza. 40(4):617-623.
- Castillo, M. M.; Castillo, V. P.; Ramírez, G. F. y Miranda, C. S. 2006. Diversidad morfológica de poblaciones nativas de frijol común y frijol ayocote del oriente del Estado de México. Rev. Fitotéc. Mex. 29(2):111-119.
- Debouck, D. G. 2008 La agricultura en Mesoamérica. Frijoles (*Phaseolus* spp.). http://www.rlc.fao.org/prior/segalim/prodalim/prodveg/cdrom/contenido/libro09/Cap2_2.htm. (consultado abril, 2008).
- Domínguez, R.; Jacobo, J. y Alemán, R. 2002. El uso del frijol reina o chilipuca (*Phaseolus lunatus*) en la región occidental de Honduras. Centro Internacional sobre cultivos de cobertura (Eds.) Noticias sobre cobertura. Boletín Núm. 13:1-8.
- flowering. This period was presented early in medium seed than in larger ones. In this study, evaluation of the collections were made around the germination stage of the same, but it is interesting to note that there was also a precocious at this stage, since the smaller seeds (Black Thin and White thin) were the ones that showed higher percentage of seeds germinated on the first day, i.e. precocity, than the rest of the seeds.
- ## Conclusions
- There is a biodiversity among the collections in relation to their physical characteristics. Overall, the collections have a nutritional content, highlighting the collection of *Phaseolus lunatus*. As for the germination capacity, there is variability among the materials evaluated, both in normal (addition of water only) and under water stress conditions; the collections black thin, white thin and black thick showed the highest percentage of germination. The nature of the solute used and its concentration also influenced the germination. PEG-8000 was the solute that most affected the germination process, indicating that the inhibition is due to an osmotic effect and more than the presence of toxic ions such as NaCl. Germination index also confirm the variability between collections in relation to the response to water-limiting conditions.
- End of the English version*
-
- Espinoza, M. J.; Centurión, H. D.; Solano, M. L. y García, G. G. 2005. Leguminosas de grano de consumo tradicional en Tabasco: determinación del contenido nutrimental. VII Congreso Nacional de Ciencia de los alimentos y III Foro de Ciencia y Tecnología de los alimentos. Guanajuato, Guanajuato.
- Fonseca, M. M. F. y Bora, P. S. 2000. Composición química y análisis de aminoácidos alubias. Ciencia y Tecnología Alimentaria. 2(5):248-252.
- Franco, J. A.; Esteban, C. y Rodríguez, C. 1993. Effects of salinity on various growth stages of muskmelon cv. Revigal. J. Hort. Sci. 68:899-904.
- García, E. J. 2000. Taller la biodiversidad cultivada. In: II Seminario Nacional de Semillas Criolla. García, J. (Ed.). Costa Rica.
- Hasegawa, P. M.; Bressan, R. A.; Nelson, D. E.; Samaras, Y. and Rhodes, D. 1994. Tissue culture in the improvement of salt tolerant in plants. In: soil mineral stresses. Approaches to crop improvement. Yeo, A. R. y Flowers, T. J. (Eds.) 83-125 pp.
- Instituto de Recursos Naturales (IRENAT) Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas (CP). 1998. Manual de procedimientos analíticos para análisis de suelos y plantas del laboratorio de fertilidad de suelos. Colegio de Posgrados en Ciencias Agrícolas. Montecillos, Texcoco, Estado de México. 3-5 pp.

- Castilho-Custódio, C.; Rabelo-Salomão, G. e Barbosa-Machado, N. N. 2009. Estresse hídrico na germinação e vigor de sementes de feijão submetidas à diferentes soluções osmóticas. Rev. Ciênc. Agron. Fortaleza. 40(4):617-623.
- Freitas de Moraes, G. A.; Lemos de Menezes, N. and Lourenco, L. Bean seed performance under different osmotic potentials.
- Khajeh, H. M.; Poweel, A. A. and Bingham, J. I. 2002. Comparison of the seed germination and early seedling growth of soybean in saline conditions. Seed Sci. Res. 12:165-72.
- Khan, M. A. and Ungar, I. A. 1999. Effect of salinity on seed germination the *Trelochin maritima* under various temperatura regimes. Seed Sci. Technol. 26:657-667.
- León, R. A.; Angulo, I.; Jaramillo, M.; Requena, F. y Calibrese, H. 1993. Caracterización química y valor nutricional de granos de leguminosas tropicales para la alimentación de aves. Zootecnia Tropical. 11(2):151-170.
- López, S. J. L.; Ruiz, J. A. C.; Sánchez, J. J. y Lépiz, R. I. 2005. Adaptación climática de 25 especies de frijol silvestre (*Phaseolus* spp.) en la República Mexicana. Rev. Fitotec. Mex. 32(03):221-230.
- Maldonado, S. y Samman, N. 2000. Composición química y contenido de minerales de leguminosas y cereales producidos en el noroeste argentino. Arch. Latinoam. Nutr. 50(2):195-199.
- Massieu, T. Y. y Montenegro, J. L. 2002. El maíz en México biodiversidad y cambios en el consumo. Análisis Económico. 36:281-303.
- Moreno, M. E. 1984. Análisis físico y biológico de las semillas agrícolas. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). México, D. F. 251-252 pp.
- Montoya, G. F. 2000. Estrategia del banco vivo de semillas de la fundación milpa. In: II seminario nacional de semillas criollas. Montoya, F. y García, J. (Ed.). Costa Rica.
- Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemists (OAC). 1965. 10th (Ed.). Washington, D. C. USA.
- Pérez, J. M.; Ferrera-Cerrato, R. y García, R. E. 1995. Diversidad genética y patología del frijol. Colegio de Posgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillo, Estado de México. México. 1-7 pp.
- Pérez-Herrera, P.; Esquivel, E. G.; Rosales, S. R. y Acosta-Gallegos, A. J. 2002. Caracterización física, culinaria y nutricional de frijol del altiplano subhúmedo de México. Arch. Latinoam. Nutr. 52(2):172-180.
- Ruiz, M. y Parera, C. 2001. Efecto del estrés hídrico y salino en la germinación de *Atriplex nummularia*. XX Reunión Nacional de Ecología. X Reunión de la Sociedad de Ecología de Chile. Río Negro. 564 pp.
- Sauer, J. D. 1993. Historical geography of crops plants: a select roster. CRC Press. Boca Raton Florida. 342 pp.
- Serrano, J. y Goñi, I. 2004. Papel del frijol negro *Phaseolus vulgaris* en el estado nutricional de la población guatemalteca. Arch. Latinoam. Nutr. 54(1):36-44.
- Singh, B. B. and Ambawatia, G. A. 1990. Effect of water stress on seed germination and early seedling vigor in gentil. In: Kreeb, K. H.; Ritcher, H. and Hincley, T. M. (Eds.). Structural and functional responses to Environmental Stresses. USA. 139-145 pp.
- Singh, S. P. 1992. Common bean improvement in the tropics. Plant Breed. Rev. 10:199-269.
- Sousa, S. M.; Medina, R. L.; Andrade, G. y Rico, M. L. 2004. Leguminosas. In: García, M. A. J.; Ordóñez, M. J. y Briones, S. O. (Eds.). Biodiversidad de Oaxaca. Instituto de Biología-UNAM, FOCON, WWF. México, D. F. 249-269 pp.
- Soussi, M.; Khadri, M.; Pliego, L.; Lluch, C. et Ocaña, A. 2003. Germination de différents cultivars de *Cicer arietinum* en conditions de salinité: profil de protéines et accumulation de solutes compatibles. Les Colloques. 100:321-329.
- Tobe, K.; Li, X. and Omasa, K. 2004. Effects of five different salts on seed germination and seedlings growth of *Haloxylon ammodendron* (Chenopodiaceae). Seed Sci. Res. 14:345-353.
- Tobe, K.; Zhang, L. and Omasa, K. 2003. Alleviatory effects of calcium on the toxicity of sodium, potassium and magnesium chlorides to seed germination in three non-halophytes. Seed Sci. Res. 13:47-54.