

## PERMEABILIDAD DE LA TESTA Y LA PORCIÓN MICRÓPILO-HILIO EN SEMILLA DE FRIJOL SILVESTRE Y CULTIVADO

### SEED COAT AND MICROPHYLE-HILIUM PERMEABILITY IN WILD AND CULTIVATED BEAN SEEDS

Patricia Pérez Herrera<sup>1\*</sup> y Jorge A. Acosta Gallegos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, Campo Experimental Valle de México, Programa de Frijol, Apdo. Postal 10, C.P. 56230 Chapingo, Estado de México. Tel. 01 (595) 95-42964. Correo electrónico: jamk@prodigy.net.mx

\* Autor responsable

#### RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar el papel de las estructuras que cubren la semilla del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en el proceso de absorción de agua. Se evaluaron cuatro tratamientos a la semilla en siete genotipos silvestres y cinco cultivados: semilla intacta, abierta, escarificada y con el área micrópilo-hilio sellada. Las variedades con testa relativamente impermeable mostraron una baja velocidad de imbibición cuando se sumergieron en agua durante varias horas. La escarificación de la semilla aceleró el proceso de absorción de agua a niveles similares a los de la semilla abierta en todos los genotipos. La testa y el micrópilo e hilio mostraron una diferente participación en el proceso de absorción de agua entre genotipos. Las variedades Bayo Baranda y Pinto Villa mostraron cinéticas de absorción de agua en semilla con el micrópilo-hilio cubierto, similares a las de la mayoría de los genotipos silvestres, en los cuales se reveló una participación importante de estas estructuras en la imbibición de agua, además de tener testa impermeable.

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris* L., impermeabilidad de la testa, micrópilo-hilio, absorción de agua.

#### SUMMARY

The objective of this research was to determine the role of different structures on the surface of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed in the water uptake process. Seeds of seven wild and five cultivated genotypes were given the following treatments: intact seed, scarified seed, seed with the microphyle-hilium sealed and open seed. Wild genotypes and hard shell cultivars, showed a low water uptake rate when exposed to water for several hours. In all genotypes, seed scarification accelerated water intake to a similar level that the one exhibited by open seeds. The seed coat and the microphyle and hilium showed a differential participation in the water uptake process among the different genotypes. Cultivars Bayo Baranda and Pinto Villa showed a water uptake kinetics similar to the one exhibited by wild genotypes under microphyle-hilium sealed treatment; those genotypes, in addition to the hard shell, displayed an important participation of the microphyle-hilium in the water uptake process.

Index words: *Phaseolus vulgaris* L., seed coat impermeability, microphyle-hilium, water absorption.

#### INTRODUCCIÓN

Los parientes silvestres del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) pueden ser utilizados en el mejoramiento como fuente de características agronómicas deseables, entre las que destacan la resistencia a enfermedades, nemátodos, insectos y condiciones ambientales desfavorables, así como por su valor nutricional, determinado por su alto contenido de proteína y de aminoácidos esenciales (Sotelo *et al.*, 1995; García-Osorio *et al.*, 1996; Pérez-Herrera *et al.*, 1998). Sin embargo, las semillas de frijol silvestre de *P. vulgaris* presentan impermeabilidad al agua y son más duras para la cocción que las semillas de las variedades cultivadas. La semilla del germoplasma silvestre también puede presentar problemas durante la germinación (Gómez-Roldán *et al.*, 1999), los cuales se han atribuido a la barrera estructural al paso del agua impuesta por la testa.

En el grano de frijol silvestre y el de otras leguminosas, las estructuras como el hilio, micrópilo y el poro de la chalaza regulan la absorción de agua de la semilla, mientras que las partes no vivas de la testa actúan como barrera para la imbibición (Egley, 1989). El objetivo de la presente investigación fue definir el papel de la testa y de la porción de micrópilo-hilio en la cinética de absorción de agua, en semillas de genotipos silvestres y cultivados de frijol.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

##### Localidad experimental

La investigación se llevó a cabo durante 1998 en el Laboratorio de Calidad de Frijol del Campo Experimental Valle de México (CEVAMEX), Texcoco, Edo. de México, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. La semilla utilizada fue producida en el CEVAMEX durante el ciclo agrícola

primavera-verano de 1997, conforme a las recomendaciones normales para el cultivo del frijol en la región.

### Germoplasma utilizado

En la investigación se utilizaron semillas de los siete genotipos silvestres y de cinco cultivados anotados en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Genotipos de frijol silvestre y cultivado caracterizados en la presente investigación.

Genotipo	Raza <sup>a</sup>	Peso de 100 semillas (g)	Origen
<b>Silvestre</b>			
G 19892 (S6)		6.9	Argentina
G 23434 (S7)		19.8 <sup>b</sup>	Guatemala
G 22837 (S8)		10.5 <sup>b</sup>	Chihuahua, México
G 10012 (S12)		5.8	Morelos, México
G 23429 (S13)		4.2	Puebla, México
G 12979 (S15)		5.2	Jalisco, México
G 23556 (S18)		10.8 <sup>b</sup>	Durango, México
<b>Cultivado (variedad)</b>			
Bayo Baranda	Durango	49.5	Zacatecas, México
Pinto Villa	Durango	39.8	INIFAP, Durango
Flor de Mayo Bajío	Jalisco	25.2	INIFAP, Guanajuato
Negro Tacaná	Mesoamérica	20.2	INIFAP, Veracruz
Mayocoba	Nueva Granada	37.6	INIFAP, Sinaloa

<sup>a</sup> Según Singh *et al.* (1991).

<sup>b</sup> Genotipos S7, S8 y S18 por el mayor tamaño de su semilla se clasifican como "asilvestrados" ("weedy") (Toro *et al.*, 1990).

### Tratamientos a la semilla y variables medidas

A cada genotipo se le determinó la cinética de absorción de agua en las semillas correspondientes a cuatro tratamientos: 1) Semilla íntegra, con testa intacta; 2) Semilla escarificada, mediante perforación de la testa en la porción opuesta al micrópilo-hilio, con un taladro Dremel Multipro Modelo 395 Tipo 5 de velocidad variable (5000-30000 rpm) adaptado con un broca de diámetro de 1 mm; 3) Semilla con el micrópilo-hilio cubierto (sellado) con barniz impermeable; y 4) Semilla abierta longitudinalmente en el espacio intercotiledonario con ayuda de un bisturí, hasta separar los dos cotiledones.

La cinética de absorción de agua se obtuvo en muestras triplicadas de 10 semillas de cada tratamiento y cada genotipo. Las semillas se sumergieron en agua destilada a temperatura ambiente, por diferentes tiempos: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 12, 18, 24, 36 y 48 horas. La cantidad de agua absorbida se determinó como la diferencia entre el peso fresco inicial de las semillas y el peso final después del remojo, y se expresó en porcentaje respecto al peso fresco inicial de las semillas (Guzmán-Maldonado *et al.*, 1995).

$$\% \text{ de Absorción de agua} = \frac{(\text{peso fresco de semillas remojadas} - \text{peso fresco inicial de semilla})}{\text{peso fresco inicial de semilla}} \cdot 100$$

El contenido de humedad inicial en la semilla fluctuó entre 8.5 a 10 % en base húmeda.

### Análisis estadístico

Los resultados se sometieron a análisis de varianza, mediante el paquete estadístico SAS (1988) para microcomputadoras, bajo un diseño factorial completo, en donde las fuentes de variación fueron los grupos de genotipos (silvestres y cultivados), el tratamiento de semilla, el genotipo y el tiempo de remojo. En los casos en los que se encontraron diferencias estadísticas, se realizaron pruebas de medias (Tukey) con un nivel de significancia de 0.05.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza detectó diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) entre los diferentes grupos de genotipos (silvestres vs. cultivados), entre tratamientos de la semilla, entre genotipos y entre tiempos de remojo. Las semillas de frijol cultivado absorbieron en promedio 13 % más agua que las de genotipos silvestres.

Los tratamientos a la semilla resultaron estadísticamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ) en porcentaje de absorción de agua, y se ubicaron como sigue: semilla abierta (104 %) > semilla escarificada (81 %) > semilla íntegra (48 %) > semilla con el micrópilo-hilio cubierto (23 %). Flor de Mayo Bajío fue la variedad cultivada con la mayor tasa de absorción de agua, y S12 el genotipo silvestre con la menor tasa de imbibición (Figuras 1 a y b).

En la semilla íntegra, durante las primeras etapas de remojo y hasta alrededor de las 12 horas, el promedio de porcentaje de agua absorbida por los genotipos silvestres representó menos de 60 % del agua absorbida por los genotipos cultivados. La cinética de absorción de agua en el remojo fue diferente entre y dentro de grupos (Figuras 1 a y b).

Los resultados obtenidos difieren de los de Vásquez y Cárdenas (1992), quienes encontraron que los genotipos de frijol silvestre absorbieron menos agua, alrededor de 30 % en 48 horas, que los genotipos cultivados. Debido a que la absorción de agua es una característica que puede ser afectada por el ambiente de producción (Egley, 1989; Castellanos *et al.*, 1993), las diferencias en los resultados entre estudios pueden deberse además de las características propias de cada genotipo, a las diferencias climáticas y culturales de los sitios de producción.

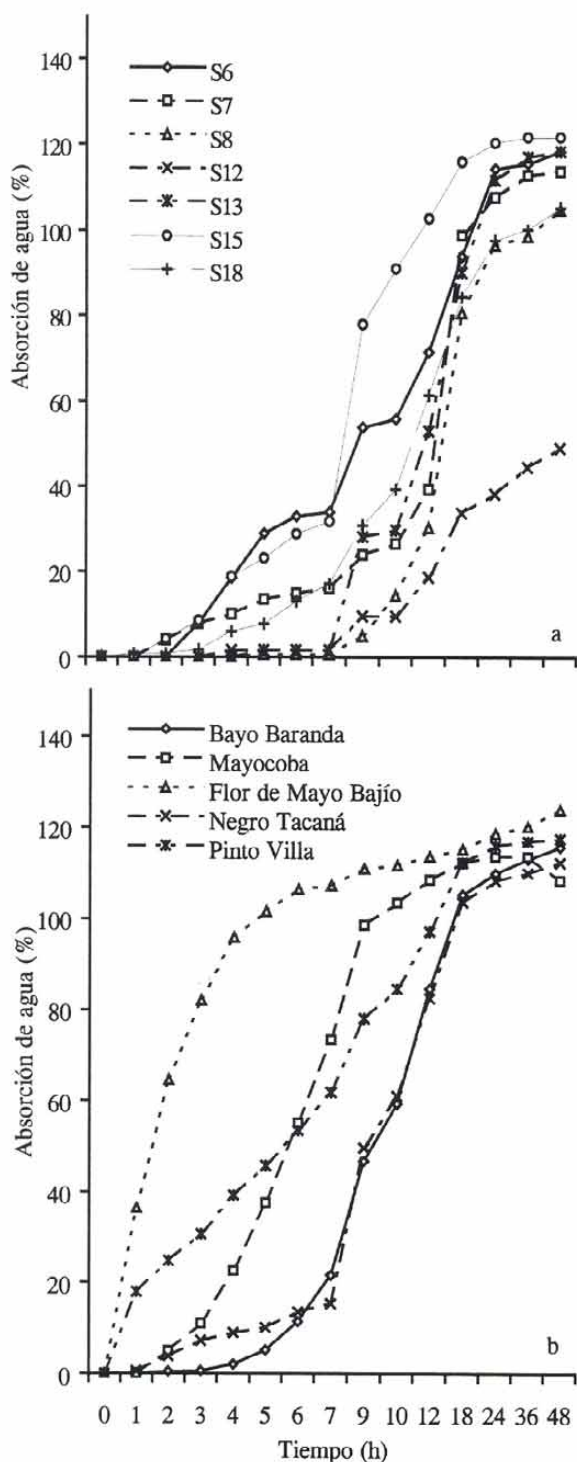


Figura 1. Cinética de absorción de agua en semilla de frijol íntegra: a) siete genotipos silvestres y b) cinco genotipos cultivados.

Las variedades de frijol cultivado difirieron en sus cinéticas de absorción de agua (Figura 1 b). Flor de Mayo Bajío, variedad mejorada que se caracteriza por un bajo tiempo de cocción (Castellanos *et al.*, 1993), inició más

rápida la imbibición de agua, mientras que Negro Tacaná y Bayo Baranda mostraron la menor velocidad de absorción. La imbibición lenta se ha asociado con dificultades en el proceso de germinación (Gómez-Roldán *et al.*, 1999) y se ha señalado a la testa como una barrera estructural que dificulta el paso del agua al interior del grano (Egley, 1989; López *et al.*, 1998).

La escarificación del grano incrementó la velocidad de absorción de agua en todos los genotipos, sobre todo en los silvestres, al eliminar la etapa inicial de imbibición lenta observada en la semilla íntegra, al romper la barrera estructural que impide el paso del agua (Figuras 2 a y b).

La cantidad promedio de agua absorbida en el tratamiento de semilla escarificada (81 %) fue estadísticamente superior al promedio de semilla íntegra (48 %) y al de micrópilo-hilio sellado (23 %), pero inferior al tratamiento de semilla abierta (104 %).

La escarificación en los genotipos silvestres facilitó en mayor medida la imbibición durante la etapa de lenta absorción determinada por la testa impermeable. La semilla escarificada de los genotipos silvestres en la primera hora de remojo, logró absorber en promedio, 74 veces la cantidad de agua que la respectiva semilla íntegra, mientras que en los genotipos cultivados la semilla escarificada imbibió en promedio el doble del agua que la semilla íntegra (Cuadro 2).

El incremento en la cantidad de agua absorbida propiciado por la escarificación, se redujo con el transcurso del tiempo de remojo, de manera más evidente en los genotipos silvestres que en los cultivados (Cuadro 2). El mayor efecto de la escarificación ocurrió en el genotipo silvestre S12, ya que su semilla íntegra no pudo rebasar de 50 % de agua absorbida, en tanto que la escarificada había absorbido agua en más de 100 % del peso fresco inicial del grano, a las 7 horas de remojo.

La restricción al paso del agua, impuesta al sellar el micrópilo e hilio de la semilla, afectó negativamente y en forma diferencial la capacidad de absorción de agua de los genotipos estudiados (Figuras 3 a y b). En los genotipos silvestres, este tratamiento redujo la tasa promedio de imbibición en relación con el tratamiento de semilla íntegra, desde las primeras etapas de remojo y hasta en 80 % (Cuadro 3, Figura 3 a). Esta respuesta indica que en las fases tempranas del remojo la absorción de agua ocurre principalmente a través de las estructuras micrópilo-hilio, mientras que la testa tiene una participación reducida o nula.

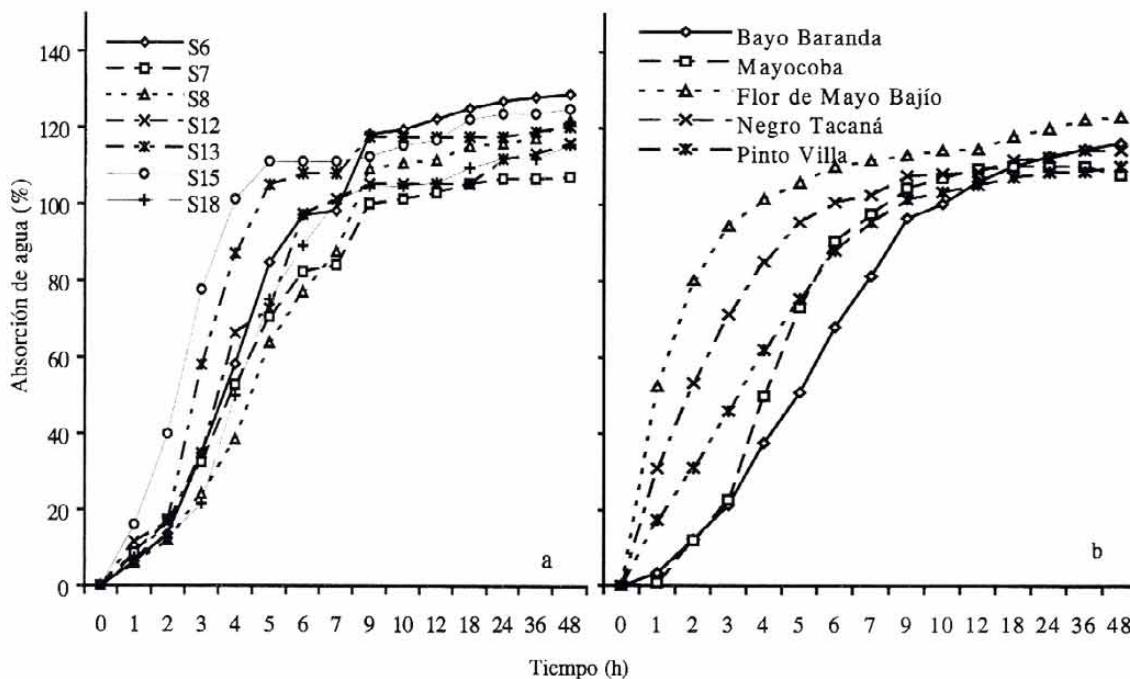


Figura 2. Cinética de absorción de agua en semilla de frijol escarificada: a) siete genotipos silvestres y b) cinco genotipos cultivados.

Cuadro 2. Incrementos promedio en la cantidad de agua absorbida en semilla escarificada de frijol silvestre y cultivado, con respecto al agua absorbida por la semilla íntegra<sup>a</sup>.

Genotipos	1	2	3	4	5	6	7	9	10	12	18	24	36	48
Silvestres	74.4	14.3	10.9	8.4	7.4	7.0	7.2	3.3	4.2	2.1	1.3	1.2	1.2	1.1
Cultivados	1.9	1.9	1.9	2.0	2.0	1.9	1.8	1.4	1.3	1.1	1.1	1.0	1.0	1.0

<sup>a</sup> % de agua absorbida en semilla escarificada / % agua absorbida en semilla íntegra.

Cuadro 3. Relación de la cantidad de agua absorbida en semilla con micrópilo-hilio cubierto respecto a la semilla íntegra, en frijol silvestre y cultivado<sup>a</sup>.

Genotipos	Tiempo (h)													
	1	2	3	4	5	6	7	9	10	12	18	24	36	48
Silvestres	0.8	0.5	0.4	0.3	0.4	0.3	0.4	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.3	0.3
Cultivados	1.1	1.1	1.0	0.9	0.8	0.7	0.7	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	0.6	0.6

<sup>a</sup> % agua absorbida en semilla micrópilo-hilio cubierto / % agua absorbida en semilla íntegra.

Las semillas de los genotipos cultivados también disminuyeron su tasa de imbibición por efecto del sellado del micrópilo-hilio, pero en este caso la reducción fue hasta 50 % y con mayor intensidad en fases tardías de remojo (Cuadro 3). Estos resultados sugieren que en éstos la absorción de agua se realiza tanto por micrópilo e hilio como por la testa. Tovar (1997) y Gómez-Roldán *et al.* (1999) también señalan que el hilio y micrópilo intervienen en la regulación de la absorción de agua.

La respuesta al sellado del micrópilo e hilio fue diferente entre genotipos. Entre los silvestres, sólo S15 logró absorber una cantidad relativamente alta de agua en fases tardías (más de 80 % después de 18 horas) (Figura 3 a),

por lo que fue el único genotipo silvestre con testa permeable. En contraste, S12 no logró absorber agua, lo que se atribuye a su testa totalmente impermeable.

En los genotipos cultivados, Flor de Mayo Bajío mostró una cinética de absorción de agua similar a la de la semilla íntegra (Figuras 1 b y 3 b). Este hecho indica que en esta variedad la penetración de agua hacia el interior de la semilla se lleva a cabo básicamente a través de la testa.

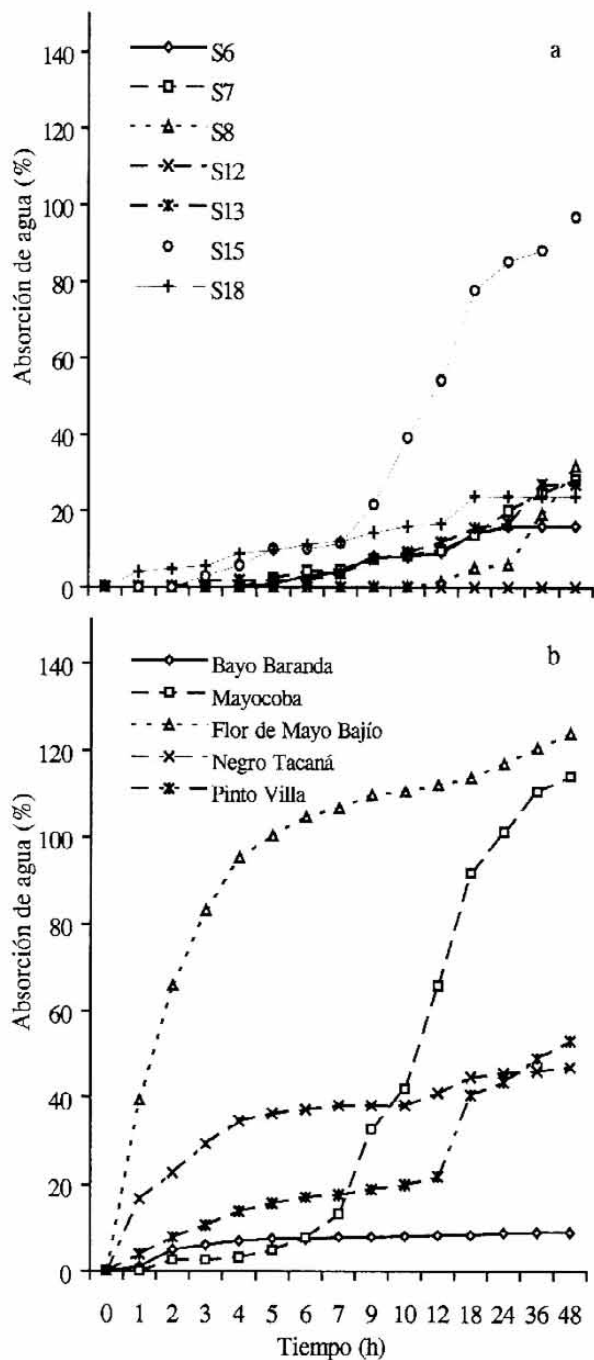


Figura 3. Cinética de absorción de agua en semilla de frijol con micrópilo/hilio cubierto: a) siete genotipos silvestres y b) cinco genotipos cultivados.

La variedad Mayocoba evidenció una baja participación del micrópilo-hilio en las fases tempranas del proceso de imbibición de agua y alta participación de la testa en fases posteriores del remojo y fue capaz de superar el efecto de la testa como barrera mecánica al paso del agua en las fases tardías (Figura 3 b). En las cinéticas de absorción de los genotipos Bayo Baranda, Pinto Villa y Negro Tacaná,

el nivel en donde los porcentajes de absorción permanecen prácticamente constantes se interpreta como la cantidad de agua absorbida por la mayoría de las semillas de la muestra, ya que no todas lograron vencer la resistencia de la testa al paso del agua. Una posible explicación a esas diferencias, es que en las variedades de hábito indeterminado con un prolongado período de floración, las semillas que se forman de las primeras flores sufren mayor intemperización, que las hace más impermeables, que las que se forman de las últimas flores.

La variedad Bayo Baranda, agrupada estadísticamente con los genotipos silvestres (Tukey 0.05), mostró una cinética similar a éstos, relacionada con una alta participación de las porciones micrópilo-hilio en la imbibición (Figuras 3 a y b). Una imbibición lenta se puede detectar fácilmente y servir como criterio de selección en el mejoramiento genético del frijol (Castellanos *et al.*, 1995).

La variedad Pinto Villa mostró una cinética con una fase inicial de baja absorción hasta las 12 horas de remojo (< 22 %), y un ligero incremento a partir de las 18 horas, hasta alcanzar niveles relativamente constantes y cercanos a 40 %. Este tipo de cinética sugiere que en las fases iniciales de remojo el micrópilo e hilio son las estructuras que determinan la entrada de agua a la semilla, y que en etapas posteriores se debe romper la dificultad mecánica impartida por la testa para que el agua traspase esta estructura y logre la imbibición de los cotiledones. En los genotipos Bayo Baranda y Pinto Villa, y en la mayoría de los genotipos silvestres, la mayor proporción de agua se absorbe a través del micrópilo-hilio; sin embargo, la cantidad de agua que puede absorber la semilla después de esta etapa depende de las características propias de la semilla de cada genotipo. Así, Mayocoba en fases avanzadas del remojo fue capaz de absorber una cantidad de agua de alrededor de 100 % de su peso, mientras que Pinto Villa apenas sobrepasó de 40 %.

Por último, la variedad Negro Tacaná mostró una curva de absorción característica, en cuyas primeras etapas de remojo la semilla había logrado absorber una cantidad de agua similar (35 % a las 4 horas) a la absorbida en etapas posteriores (36 a 47 %). Se infiere entonces que las semillas con testa permeable dejaron pasar el agua rápidamente a través de la testa, mientras que las impermeables no lograron embeber agua. De este modo, las semillas que son capaces de absorber agua a través de la testa, logran hacerlo a una alta velocidad, en forma semejante a la cinética de Flor de Mayo Bajío. Sin embargo, en la semilla con la porción micrópilo-hilio cubierto la cantidad de agua absorbida permanece baja en relación con la absorbida en la semilla íntegra, debido a que un número importante de semillas no logran absorber agua durante el proceso; ello

podiera atribuirse a que en esta variedad existe heterogeneidad en las diferentes semillas que forman cada muestra, en cuanto a su capacidad para absorber agua a través de la testa.

Al comparar las Figuras 2 y 4, correspondientes a semillas escarificadas y abiertas, en las escarificadas se puede distinguir una corta etapa de restricción al paso del agua en fases tempranas, que corresponde a la de hidratación del micrópilo-hilio, la cual no se observa en el tratamiento de semilla abierta.

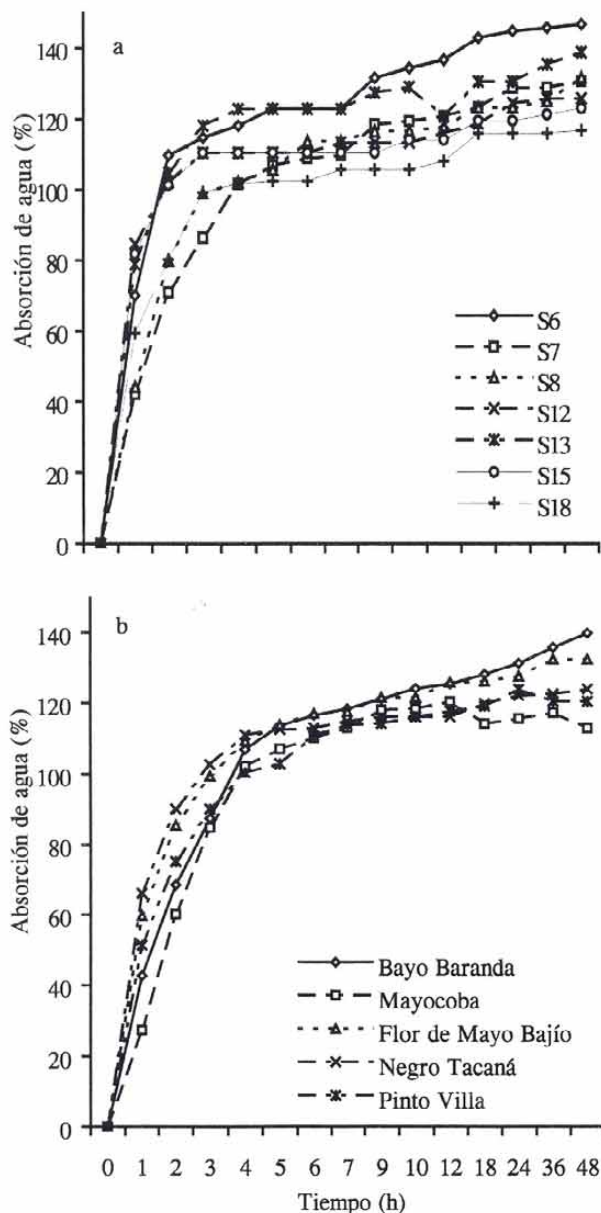


Figura 4. Cinética de absorción de agua en semilla de frijol abierta: a) siete genotipos silvestres y b) cinco genotipos cultivados.

### CONCLUSIONES

Existen diferencias en las cinéticas de absorción de agua entre y dentro de genotipos de frijol silvestre y cultivado.

La escarificación de la semilla aceleró el proceso de absorción de agua a niveles similares a los de la semilla abierta, en donde los cotiledones se expusieron completamente al agua.

La testa y la región micrópilo-hilio participaron de diferente manera en el proceso de absorción de agua en los diferentes genotipos estudiados. En las variedades Bayo Baranda y Pinto Villa, y en la mayoría de los genotipos silvestres, se reveló una participación importante de las estructuras micrópilo e hilio en la imbibición de agua, además del fenómeno de testa impermeable, mientras que en la variedad Flor de Mayo Bajío la absorción de agua se llevó a cabo principalmente a través de la testa, debido a la alta permeabilidad de ésta cubierta seminal.

### AGRADECIMIENTOS

Investigación parcialmente financiada por la Fundación McKnight, a través del Proyecto MILPA.

### BIBLIOGRAFÍA

Castellanos J Z, J A Acosta-Gallegos, R Ochoa-Márquez, C Mejía, L Reséndiz, P Fenández, II Pérez-Trujillo, D M Aguilera (1993) Efecto del ambiente de producción sobre la calidad culinaria del frijol de temporal. *Agrociencia Serie Fitociencia* 4:71-84

Castellanos J Z, S H Guzmán-Maldonado, J A Acosta-Gallegos, J D Kelly (1995) Effects of hardshell character on cooking time of common beans grown in the semiarid highlands of México. *J. Sci. Food Agric.* 69:437-443.

Egley G H (1989) Water impermeable seed coverings as barriers to germination. *Plenum Press Series A: Life Sciences* 187: 207-223.

García-Osorio C, V Conde, M L Ortega-Delgado, J A Acosta-Gallegos (1996) Physical and biochemical characteristics of the seed of two wild and two cultivated populations of *Phaseolus vulgaris* L. *Annu. Rep. Bean Impr. Coop.* 39:253-254.

Gómez-Roldán M C, P Pérez-Herrera, J Valdéz-Carrasco, J A Acosta-Gallegos (1999) Characteristics of the seed coat in wild and cultivated *Phaseolus vulgaris* L. *Ann. Rep. Bean Improv. Coop.* 42:91-92.

Guzmán-Maldonado S H, H C Jacinto, J Z Castellanos (1995) Manual de Métodos para Determinar Características de Calidad en Frijol Común (*Phaseolus vulgaris* L.). SAGAR, INIFAP, CIRCENETRO, CEBAJ. Celaya, Gto. México. 77 p.

López H M, B C Peña-Valdivia, R J Aguirre R, C Trejo L (1998) Effects of domestication on *Phaseolus vulgaris* L. germination. *Ann. Rep. Bean Impr. Coop.* 41:117-118.

Pérez-Herrera P, G Esquivel-Esquivel, J A Acosta-Gallegos (1998) Seed quality traits of wild, weedy and cultivated *Phaseolus vulgaris* L. *Ann. Rep. Bean Improv. Coop.* 41:113-114.

SAS Institute Inc (1988) SAS<sup>®</sup>. Technical Report p-179, Additional SAS/STAT<sup>™</sup> Procedures, Release 6.03, Cary, NC. SAS Institute, Inc.

- Singh S P, P Gepts, D G Debouck (1991)** Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, FABACEAE). *Econ. Bot.* 45:379-396.
- Sotelo A, H Sousa, M Sánchez (1995)** Comparative study of the chemical composition of wild and cultivated beans (*Phaseolus vulgaris*). *Plant Foods Human Nutr.* 47:93-100.
- Toro O, J Tohme, D G Debouck (1990)** Wild Bean (*Phaseolus vulgaris* L.): Description and Distribution. Rome: International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR) and Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) Cali, Colombia: 106 p.
- Tovar M M E (1997)** Determinación de los cambios estructurales relacionados con el fenómeno de reversibilidad del endurecimiento en dos cultivares de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis de Doctorado. Fac. de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México. 49 p.
- Vásquez C G, F Cárdenas R (1992)** Características físicas, tecnológicas y proteínicas de frijoles (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestres y cultivados. *Arch. Lat. Nutr.* 42(2):201-209.