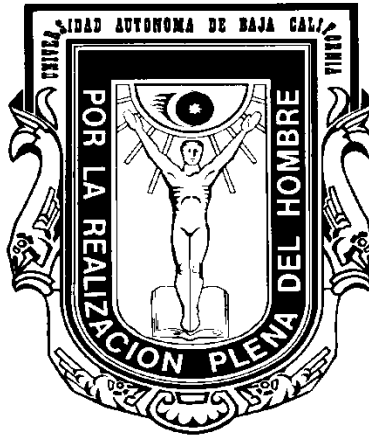


Universidad Autónoma de Baja California
Instituto de Ciencias Agrícolas



**“EVALUACIÓN AGRONÓMICA DEL INJERTO DE *Phaseolus Vulgaris* L. SOBRE PORTAINJERTOS
DE *Phaseolus coccineus* L.”**

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

PRESENTA:

JOSE CLAUDIO BERNAL ALZATE

DIRECTOR DE TESIS

DR. ONÉCIMO GRIMALDO JUÁREZ

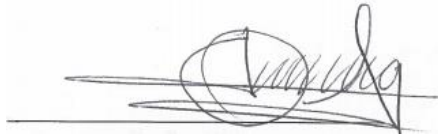
Mexicali, Baja California

Junio de 2017

La presente tesis “EVALUACIÓN AGRONÓMICA DEL INJERTO DE *Phaseolus Vulgaris* L. SOBRE PORTAINJERTOS DE *Phaseolus coccineus* L.” realizada por el M.C. José Claudio Bernal Alzate ha sido evaluada y aprobada por el Comité Particular abajo, como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

Comité Particular



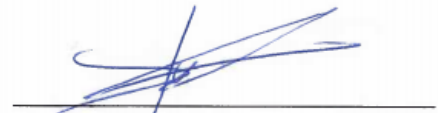
Dr. ONECIMO GRIMALDO JUÁREZ

Director de tesis



Dr. EDGAR OMAR RUEDA PUENTE

Co-director de tesis



Dr. DANIEL GONZALEZ MENDOZA

Sinodal



DRA. LOURDES CERVANTES DÍAZ

Sinodal



DR. FIDEL NUÑEZ RAMIREZ

Sinodal

Dedicatoria.

Las dedicatorias en este trabajo que comenzó hace poco más de cinco años podrían llevar la escritura de un solo capítulo, sin embargo, quiero agradecer primeramente a mi familia por haber sido quienes inculcaron en mi la paciencia para sobresalir siempre en lo personal y profesional, a mi madre hermosa (Dolores) que en todo momento supo enseñarme que el trabajo duro y honesto siempre da las mejores recompensas y que siempre ha sido apoyo en todas las decisiones de mi vida profesional y que ahora convertido en un profesionista y padre de familia me doy cuenta que tanto la hice enojar, “ma” nunca fue mi intención; a mi padre por formar parte de mi vida y apoyarme en mis estudios; a mi hermana por ser la oveja negra de los dos, te quiero hermana, siempre quiero que tengas un hermano en quien confiar.

A mi amada esposa Nely, por estar en las noches de desvelos juntos, has sido parte importante en esto, le das dirección a mi vida. Gracias por tener la paciencia para enseñarme las cosas que no sabía y por compartir tantos momentos juntos.

Especialmente a mi hijo Fernando Emanuel, te ofrezco una disculpa por robarte todas las horas que te correspondían a ti para culminar este esfuerzo. Este trabajo es por ti hijo mío, quiero que siempre tengas un buen ejemplo a seguir te amo.

Gracias!!!

Agradecimientos especiales.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico otorgado durante mi formación académica.

Al Dr. Onécimo, por ser un amigo y además tener la paciencia de enseñarme cosas tan básicas en un principio que no entendía, y por todo el trabajo que dedicó también a esta tesis.

A mi comité por formar parte de mi formación como Doctor en Ciencias, en verdad no hay conocimiento que no sea útil en cada paso como futuro investigador, cada uno de ustedes han sido piezas clave para la formación de un gran recurso humano se los aseguro.

Al Dr. Edgar Rueda, por usted estoy aquí desde la primera plática que tuvimos en Santa Ana hasta este último día sus consejos en lo académico y lo personal siempre serán agradecidos, muchas gracias también por compartir conmigo los ratos buenos y malos de este proceso.

Al Instituto de Ciencias Agrícolas de la UABC por haber sido la Institución que me dio la oportunidad de crecer profesionalmente, por tener la disponibilidad de infraestructura para el desarrollo de mis trabajos de investigación.

A Universidad Autónoma de Baja California, por el apoyo otorgado a través de la 17a Convocatoria Interna de Proyectos de Investigación.

A mis amigos y hermanos hemos estado mucho tiempo sin vernos, pero créanme, todo esfuerzo vale la pena, gracias por estar conmigo sin importar la distancia.

Y a todas las personas que directa o indirectamente colaboraron para la formación de este trabajo.

Índice General

Índice de cuadros y figuras	iii
Resumen:	iv
Summary:	v
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Hipótesis.....	2
1.2 Objetivo.....	3
1.3 Objetivos Específicos.....	3
2 REVISION DE LITERATURA.....	3
2.1.1 Cultivo del frijol ejotero.	3
2.1.2 Requerimientos climáticos y de suelo.	4
2.2 Injerto.....	4
2.2.1 Propósito de los injertos en las hortalizas.	4
2.2.2 Tipos de injertos.....	5
2.2.3 Principales ventajas de la utilización de injertos.	5
2.2.4 Posibles desventajas de la utilización de injertos.	7
2.2.5 Cambios en la morfología de la planta injertada.	7
2.2.6 Conductancia estomática y asimilación de CO ₂	7
2.2.7 Actividad enzimática en injertos.....	9
3 EXPERIMENTO I. PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD Y RENDIMIENTO DE FRIJOL INJERTDO EN FRIJOL AYOCOTE (<i>Phaseolus coccineus</i>).	11
3.1 introducción	11
3.2 materiales y métodos	12
3.3 resultados y discusión	13
3.4 conclusión	16
4 EXPERIMENTO II. PRUEBAS DE VIGOR DE SEMILLA DE <i>PHASEOLUS VULGARIS</i> L. INJERTADA SOBRE <i>PHASEOLUS COCCINEUS</i>	17
4.1 introducción	17
4.2 materiales y métodos	18
4.3 resultados y discusión	20
4.4 conclusión	26
5 EXPERIMENTO III. DE PRUEBAS DE TOLERANCIA A PATÓGENOS RADICULARES EN INJERTOS DE EJOTE <i>PHASEOLUS VULGARIS</i> L.....	28
5.1 introducción.....	28

5.2 materiales y métodos.	29
5.3 resultados y discusión	31
5.4 Conclusiones	33
CONCLUSIONES GENERALES	34
BIBLIOGRAFÍA.....	35

Índice de cuadros y figuras

		Pág
Cuadro 1.	Concentrado de investigaciones recientes sobre la bioquímica de injertos en hortalizas.....	10
Cuadro 2.	Tratamientos evaluados de plantas injertadas y no injertadas.....	12
Cuadro 3.	Porcentaje de sobrevivencia de plantas injertadas en <i>Phaseolus vulgaris</i> L. sobre <i>Phaseolus coccineus</i>	14
Cuadro 4.	Variedades evaluadas en los tratamientos de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. injertado y sin injerto.....	15
Cuadro 5.	Porcentaje de semillas infectadas después de la prueba de tratamientos de desinfección.....	22
Cuadro 6.	Variables de longitud y peso de plántula generada con semillas de planta injertada envejecida y no envejecida.....	23
Cuadro 7.	Variables fisiológicas en plantas injertadas y no injertadas inoculadas con <i>Rhizoctonia</i> y <i>Screrotium</i>	33
Figura 1.	Métodos de injerto realizados en solanáceas: a) Aproximación a doble raíz, b) De tubo, c) Adosado, d) Púa, e) De inserción de pin lateral	5
Figura 2.	Altura de plantas injertadas y no injertadas de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.....	15
Figura 3,4 y 5	Variables fisiológicas de semilla injertada y no injertada en pruebas de vigor de semilla.....	23
Figura 6.	Crecimiento radicular en semilla de <i>Phaseolus</i> en semillas de plantas injertadas y sin injerto.	27

Resumen

La técnica de injertos en hortalizas se ha popularizado en los últimos años entre los productores de distintas partes del mundo debido al gran número de beneficios que representa su implementación, los cuales van desde la disminución en el uso de agroquímicos hasta el incremento de los rendimientos de los cultivos en los que se implementa, también es conocido el efecto hacia mejorar la tolerancia a enfermedades, sin embargo, aún se desconoce los efectos de la técnica en un gran número de hortalizas por lo que el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo inicial evaluar el efecto de la técnica sobre los parámetros de rendimiento de *Phaseolus vulgaris* L., así como identificar los posibles portainjertos con potencial productivo para ser evaluados en parámetros de tolerancia a enfermedades y mejoramiento de semilla resultante de injertos. Como resultado de este trabajo se obtuvo una variedad de portainjerto (*Phaseolus coccineus* L.) con una amplia compatibilidad (100% de prendimiento) y gran potencial productivo incrementando en un 100% el rendimiento de la variedad de interés, la semilla resultante de uno de estos experimentos, fue sometida a un proceso de envejecimiento acelerado el cual recreó condiciones no aptas para el almacenamiento de la semilla (temperatura y humedad relativa) y posteriormente se evaluó calidad física y fisiológica de la semilla, siendo resultante un mayor vigor en la semilla proveniente de plantas injertadas en comparación con aquellas de plantas sin injertar, finalmente plantas injertadas con el portainjerto de interés fueron sometidas a pruebas de resistencia a patógenos, no obstante, los portainjetos solo mostraron una tolerancia parcial a los patógenos utilizados siendo este un precedente para la búsqueda de nuevos portainjertos en caso de querer utilizar la técnica en *Phaseolus*. Finalmente se concluye que la técnica es posible con distintos portainjertos, mejora el rendimiento y algunos parámetros de desarrollo de la hortaliza, del mismo modo se ve mejorada la calidad física y fisiológica de la semilla resultante del proceso sin embargo, el portainjerto utilizado solo mostró una tolerancia parcial hacia enfermedades de origen radicular, por lo que es importante la búsqueda de distintos portainjertos así como, investigar si el mejoramiento parcial de la semilla es consistente en las generaciones resultantes también resulta interesante investigar la generación de nuevas variedades mejoradas mediante el método de injertos.

Summary:

The vegetable grafting technique has been popularized in recent years among producers in different parts of the world due to the large number of benefits that its implementation represents, going from the decrease in the use of agrochemicals to the increase of yields. Perhaps the effects of the technique on a large number of vegetables are still unknown, so the present research was initially aimed at evaluating the effect of the technique on the yield parameters of *Phaseolus vulgaris* L. as well as to identify possible rootstocks with productive potential to be evaluated in parameters of disease tolerance and seed improvement resulting from grafting. As a result of this work, it was obtained a variety of rootstock (*Phaseolus coccineus* L.) with a wide compatibility (100% of catch) and a great productive potential increasing 100% the yield of the variety of interest, the seed resulting from one of these experiments, was exposed to a process of accelerated aging which recreated conditions not proper for seed storage (temperature and relative humidity) and later the physical and physiological quality of the seed was evaluated, resulting in a greater vigor in the seed coming from plants grafted compared to those of non-grafted plants, finally grafted plants with the rootstock of interest were subjected to pathogen resistance tests, however, the grafts only showed a partial tolerance to the pathogens used in this experiment being a precedent for the search for new rootstocks to use the technique in *Phaseolus*. Finally, it is concluded that the technique is possible with different rootstocks, improves the yield and some development parameters of the vegetable, in the same way the physical and physiological quality of the seed resulting from the process is improved, however, the rootstock used only showed a tolerance to roots diseases, so it is important to search for different rootstocks as well as to investigate whether the partial improvement of the seed is consistent in the resulting generations is also interesting to investigate the generation of new varieties improved by the grafting method .

1 INTRODUCCIÓN

El frijol ejotero es una hortaliza con alta demanda en América Latina, específicamente en México se cuenta con una superficie sembrada de alrededor de 11 mil ha registrada en el año 2014 (FAOSTAT, 2017) y dicha producción ha incrementado en los últimos años para el estado de Baja California en 5% anual (SIAP, 2016). Sin embargo, a pesar de ser centro de origen de muchas variedades de *Phaseolus vulgaris* L. la producción y el rendimiento de esta hortaliza en nuestro país dista mucho de los principales países productores, donde el top 10 se encuentra liderado con producciones de más de 90 mil toneladas de ejote al año, por su parte México produce cerca de 40 mil.

Estos bajos rendimientos pueden deberse a diversos factores los cuales pueden incluir, 1) disminución de rendimientos por enfermedades, 2) bajas adaptabilidades del cultivo a distintas regiones, 3) bajos rendimientos de las variedades disponibles (IICA, 2008). Una de las alternativas para mejorar rendimiento de los cultivos en los últimos años es la utilización de nuevos sistemas de producción como lo es la agricultura protegida, hace casi 10 años en México se reportaban casi 9 mil ha, en la actualidad se reportan 23 500 hectáreas en el país (SAGARPA, 2016).

Bajo este panorama se observa un incremento en la producción intensiva, es decir, existe la necesidad de producir más por unidad de área. En la última década se han desarrollado técnicas que ayudan a optimizar los rendimientos y calidad de las hortalizas, un ejemplo de esto es la utilización de injertos. Los injertos o plantas injertadas pueden considerarse como un “mejoramiento genético” rápido y consta en la unión de dos plantas afines (portainjerto y variedad), en donde se utiliza el sistema radicular del portainjerto, el cual generalmente suele ser tolerante a factores físicos o bióticos y la parte aérea de la variedad que generalmente se utiliza un híbrido comercial para la creación de una planta con mejores características (De la Torre, 2005).

La producción de planta injertada data desde épocas antiguas donde se injertaban variedades de vid para mejorar la producción de vinos, sin embargo, a finales de 1920 se comienza a difundir la práctica para el uso de hortalizas principalmente para

cucurbitáceas (Yamakawa, 1983), aunque con el tiempo se ha ido extendiendo a otras hortalizas. Los beneficios al injertar plantas son diversos, aunque los más importantes son el incremento del vigor de la planta, aumento en los rendimientos y la defensa contra factores bióticos y abióticos (Lee, 2010). Por ejemplo, se han utilizado los injertos para aumentar los rendimientos de los cultivos de sandía y tomate con éxito (Marzci y Osvald, 2004; Özlem *et al* 2007), también se han utilizado para minimizar los efectos causados por hongos, bacterias y virus (Hain *et al.*, 1993). Aunque la técnica se ha enfocado a hortalizas como cucurbitáceas y solanáceas en años recientes se ha documentado la técnica para diferentes especies como la alcachofa y el frijol ejotero (Bernal *et al.*, 2016; Temperini *et al.*, 2013) que, aunque con un menor valor comercial sirven como propuestas de modelo de estudio. Sin embargo, los estudios se han enfocado a la parte productiva y a las propiedades que confiere el portainjerto a la variedad en cuestiones productivas de variedades con gran valor económico, pero se ha dejado de lado otras hortalizas que pueden servir como modelo de estudio y del mismo modo se ha olvidado la interrogante ¿son las propiedades del portainjerto heredadas por las nuevas generaciones resultantes de la planta injertada?

1.1 Hipótesis

Existe gran cantidad de trabajos en la actualidad en donde se documentan todas las bondades de la utilización de injertos, no obstante, dichas investigaciones se han centrado en hortalizas como melón, sandía, chile y tomate; y se ha dejado de lado posibles modelos de estudio de productos con menor valor comercial como el ejote. Las respuestas esperadas a la implementación del injerto en ejote en cuanto a compatibilidad, rendimiento, tolerancia a enfermedades y calidad fisiológica de semilla se plantean bajo las siguientes hipótesis.

- 1.- La técnica del injerto es posible en frijol ejotero utilizando como portainjerto distintas variedades de frijol ayocote.
- 2.- La planta de ejotero injertada sobre un patrón resistente será tolerante a las enfermedades de origen radicular más importantes en frijol ejotero.

3.- La semilla resultante de las plantas injertadas presentará mayor vigor en comparación con la semilla de las plantas que no fueron injertadas.

Considerando lo anterior el injerto puede contribuir a mejorar la producción del sistema frijol ejotero bajo condiciones de invernadero en el estado de Baja California, por lo que se planteó un objetivo general y tres objetivos particulares para el estudio del presente trabajo.

1.2 Objetivo

Evaluar el efecto del injerto sobre parámetros agronómicos del cultivo del ejote en condiciones de invernadero en el estado de Baja California.

1.3 Objetivos Específicos

Evaluar el porcentaje de prendimiento y producción de plantas frijol ejotero injertadas en dos variedades de frijol ayocote (*Phaseolus coccineus* L.).

Evaluar la calidad fisiológica de semillas cosechadas en plantas injertadas de frijol ejotero.

Evaluar la tolerancia de plantas injertadas de frijol ejotero a los patógenos *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. .

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1.1 Cultivo del frijol ejotero.

El cultivo del frijol ejotero es de origen Centroamericano, de hecho, se considera a México como uno de los centros de origen de muchas variedades de esta hortaliza. El ejotero (*Phaseolus vulgaris* L.) es una planta perteneciente a la familia de las Fabáceas. Su sistema radicular es de tipo fasciculado, con un sistema de raíz principal y raíces secundarias de similar espesor, el hábito de crecimiento del frijol ejotero puede ser determinado o indeterminado dependiendo de la variedad cultivada. Las primeras son aquellas que después de un número determinado de racimos florales, la planta emite un último racimo floral, dando por terminado el crecimiento de la planta; las de

crecimiento indeterminado emiten continuamente su punto de crecimiento en racimos florales y la finalización del cultivo se da por decisión del productor. Las hojas son trifoliadas, con folíolos enteros o lobulados, las flores se encuentran dispuestas en racimos axilares, en los nódulos hinchados. El fruto es una vaina de forma alargada generalmente en forma de luna, con 5-7 semillas en su interior; la vaina por lo general es de color verde, aunque existen variedades con vainas amarillas o moradas (Crispin y Miranda, 1978).

2.1.2 Requerimientos climáticos y de suelo.

El cultivo de frijol se distribuye de 50° latitud norte a 45° latitud sur. Se adapta a regiones subtropicales semiáridas frescas, así como a zonas subhúmedas. Se le encuentra desde los 0 hasta los 2400 msnm (Crispin y Miranda, 1978). Existen variedades de día corto y variedades que son indiferentes a la duración del día. (Doorenbos y Kassam, 1979).

Los umbrales de desarrollo son 13° a 27° C; bajas temperaturas suelen retrasar el crecimiento, mientras que las altas tienen el efecto contrario; temperaturas extremas (altas o bajas) pueden provocar daños irreversibles en el cultivo que van desde abortos de flores, malformaciones de vainas y muerte de la planta (White, 1985). Los requerimientos hídricos del cultivo van desde 300 a los 410 mm para desarrollo vegetativo dependiendo de la variedad utilizada y las fechas de siembra (Villanueva-Díaz *et al* 2001.)

El cultivo se desarrolla mejor en suelos de textura ligera como franco-arenosos y franco-arcillosos. Requiere de una profundidad mínima de 60 cm (INIFAP, 1994). Los suelos ácidos ocasionan bajos rendimientos (White, 1985) siendo 5.5 a 6.5 el pH óptimo para su crecimiento. En suelos con pH mayor a 8.2 se presenta toxicidad por sales y deficiencia de micro elementos, tolera una saturación máxima de sales del 10%.

2.2 Injerto

2.2.1 Propósito de los injertos en las hortalizas.

El objetivo principal de la técnica es la utilización de portainjertos tolerantes a enfermedades, dichos materiales hacen posible la producción en suelos donde se ha

evidenciado la infestación de patógenos del sistema radicular. En algunos países es una técnica ampliamente utilizada, aunque en occidente es un procedimiento de reciente introducción al área agrícola. (Louws *et al*, 2010). Sin embargo, otros factores importantes como la falta de agua y diversos tipos de estrés ambiental (Luna-Flores *et al*, 2012; Moreno, 2009), hacen necesaria la búsqueda de alternativas como los injertos (Penella *et al*, 2015, Sánchez-Rodríguez *et al*, 2012).

2.2.2 Tipos de injertos

La técnica del injerto se realiza generalmente manual, por otra parte, en la actualidad existe equipo especializado que se encarga de realizar los injertos de manera automática. Existen varios tipos de injertos que, dependiendo de las especies a injertar, el tipo de cámara de aclimatación con la que se cuente y los fines para los que se quiera la planta; debe de elegirse el tipo de injerto. En la Figura 1 se muestran diferentes variaciones de la técnica para el injertado de Solanáceas. Por otra parte, se han documentado distintas tecnologías y procedimientos para otro tipo de hortalizas, las cuales se describen en los trabajos de Lee *et al*. (2010) y Kubota *et al* (2008).

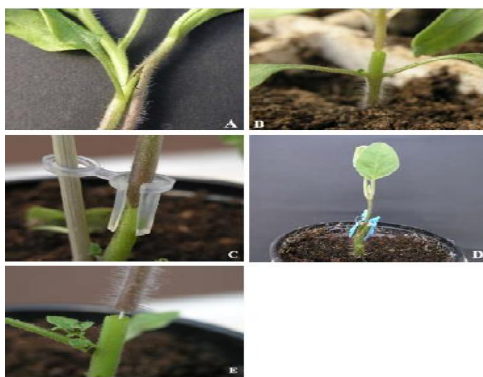


Figura 1: Métodos de injerto realizados en solanáceas: a) aproximación a doble raíz; b) de tubo, c) de adosado, d) de púa, e) de inserción de pin lateral. Bletsos y Olympios (2008).

2.2.3 Principales ventajas de la utilización de injertos.

Este procedimiento se ha utilizado con gran éxito para el control de enfermedades causadas por hongos como *Fusarium oxysporum* Schlecht, *Sclerotium rolfsii*, Sacc. *Verticillium sp* Nees; marchitamientos ocasionados por bacterias como *Ralstonia solanacearum* y algunos nematodos del género *Meloidogyne spp.*, entre otras (Kainath y Haseell, 2014; Rivard *et al.*, 2012; Rivard *et al.*, 2010; Bletsos *et al* ., 2003.) sin

embargo, el éxito de la técnica para el manejo de enfermedades depende de un amplio número de factores; desde la tolerancia individual de los portainjertos, la combinación de variedad-portainjerto y algunos otros elementos como la variabilidad genética de las plantas (Kleinhenz, 2011 citado por Ozores-Hampton, 2013). Aunque estas interacciones y mecanismos de tolerancia a enfermedades aún no se encuentran completamente comprendidos, se cree que la tolerancia principal la brinda la resistencia natural de los portainjertos utilizados, sin embargo, en estudios donde se han realizado injertos a doble raíz se muestra una tolerancia parcial de las variedades injertadas, sugiriendo de esta manera que en la interacción entre variedad-portainjerto se transportan sustancias asociadas en la defensa contra enfermedades como *Fusarium*, dichas sustancias son sintetizadas en la raíz del portainjerto y transportadas vía xilema hacia la variedad (Lee *et al.*, 2010; Dawson, 1942). Otra de las ventajas principales de la utilización de portainjertos es la mejora en los rendimientos de los cultivos, Khanh *et al.*, (2006) observaron que tomates injertados sobre dos híbridos como portainjertos presentaban mayor vigor que las variedades no injertadas, del mismo modo observaron que las plantas injertadas tenían un rendimiento mayor que oscilaba del 11 al 38% en comparación con los tratamientos no injertados. Resultados similares, pero en sandía, fueron obtenidos por Alan *et al.*, (2007) quienes observaron un incremento significativo en el rendimiento de sandía injertada cultivada en dos ambientes distintos, determinan que bajo sus condiciones de estudio la sandía injertada no solo incrementa parámetros agronómicos, sino que del mismo modo la técnica no afecta la calidad final del fruto, dicha afirmación difiere de la de Mohamed *et al.*, (2012) quienes también observan un incremento en los rendimientos de sandía injertada, sin embargo, observan que la calidad de fruto si se modificaba bajo las condiciones de su estudio especialmente, el contenido de licopeno en fruto. También la técnica se ha utilizado para otros fines como mejorar la calidad de frutos de las plantas injertadas, mejora en la toma de agua y nutrientes, tolerancia a ciertos tipos de estrés abiótico, tolerancia a contaminación por metales pesados, entre otros (Di Gioia y Signore, 2013; Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2013; Savvas *et al.*, 2013; Savvas *et al.*, 2010).

2.2.4 Posibles desventajas de la utilización de injertos.

Aun conociendo las ventajas de su utilización, la principal desventaja de la técnica podría considerarse el factor económico, la utilización de pinzas o bandas para el pegado, navajas, desinfectantes, guantes, sustrato adicional, acondicionamiento de una cámara de aclimatación, semilla del portainjerto (híbridos comerciales), mano de obra y otros factores indirectos hacen que los costos de producción de la planta injertada se eleven (Rivard *et al.*, 2010), lo cual en algunos casos podría resultar en una posible desventaja frente a la producción tradicional. Otros factores a considerar como desventajas pueden ser la utilización de mano de obra calificada, los desfases en los tiempos de producción, el retraso inicial ocasionado por el tiempo de pegado del injerto y finalmente la limitante de la utilización de ciertos portainjertos.

2.2.5 Cambios en la morfología de la planta injertada.

Sin duda uno de los aspectos más importantes en plantas injertadas son las modificaciones morfológicas resultantes por la interacción portainjerto-variedad. Recientemente se observó que plantas injertadas de frijol ejotero mantenían características morfológicas similares a las no injertadas, por otra parte Kudo y Harada (2007) observaron como la morfología de las hojas de plantas de papa eran modificadas debido al transporte de RNA desde el portainjerto de tomate hacia la parte aérea, determinaron que la cantidad de material genético transportado era suficiente para modificar tamaño, forma y cantidad de tricomas en las hojas de las plantas injertadas, estos y otros tipos de cambios morfológicos han sido documentados por otros investigadores (Ohata, 1991; Taller *et al.*, 1999; Hooijdonk *et al.*, 2011).

2.2.6 Conductancia estomática y asimilación de CO₂

Junto al crecimiento celular, la fotosíntesis, es el proceso primario afectado por la falta de agua y la salinidad, los efectos en la planta van desde una disminución en la asimilación de CO₂ causados por un transporte deficiente a través de las estomas y el mesófilo; hasta alteraciones en metabolismo fotosintético o incluso pueden conducir a efectos secundarios causando estrés oxidativo en las células (Chaves *et al.*, 2009; Saied *et al.*, 2003; Sandalio *et al.*, 2001). En un estudio realizado en 2015 (Yuang *et al.*, 2015) en plantas de *Lagenaria siceraria* autoinjertadas e injertadas sobre un

portainjerto tolerante a alta salinidad, se observó que al aumentar el estrés por alta salinidad la conductividad estomática (G_s) y la concentración de CO_2 intracelular (C_i) disminuía en ambas, sin embargo, las injertadas sobre el portainjerto tolerante presentaban mayor G_s y C_i , indicando que probablemente el cierre de estomas estaba iniciado por una señalización desde el portainjerto tolerante; estos resultados son similares a los obtenidos por Rouphael *et al.* (2012) quienes indican que en tanto en melón como en pepinos injertados hay una disminución en la actividad fotosintética de las plantas, sin embargo, esta disminución es hasta en un 50 % mayor en las plantas que no son injertadas y se encuentran en condiciones de estrés por altas concentraciones de NaCl, estos autores también encuentran una correlación lineal inversa de la actividad fotosintética con respecto a la concentración de Na^+ y Cl^- en hojas atribuyendo el exceso de estos a un desorden en el aparato fotosintético al igual que otros autores (Aghaleh *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2012). En condiciones normales (sin estrés) las plantas injertadas se comportan de manera similar a los estudios anteriores, en el caso de Amaro *et al.* (2014) observaron que al injertar las plantas de pepino se incrementaron C_i , conductancia estomática y capacidad fotosintética de la planta en comparación con aquellas que no habían sido injertadas, resultados similares fueron reportados por Liu *et al.* (2011), y atribuyen este incremento en la capacidad fotosintética a un incremento en la cantidad de clorofila a y b en plantas, adicionalmente reportaron el incremento en la acumulación de carbohidratos en fruto esto debido a la actividad de dos enzimas claves para este proceso en plantas de melón; resultados similares fueron presentados por Qi *et al.* (2006) y González *et al.* (2009) en melón y cítricos, respectivamente. Resultados similares a los anteriores fueron obtenidos por Qinghai Gao *et al.* (2016) y Martínez-Ballesta *et al.* (2010), donde sugieren que las plantas injertadas tienen la habilidad de utilizar de mejor manera el C_i en condiciones de estrés, así como presentan una mejor eficiencia fotosintética en comparación con aquellas plantas que no fueron injertadas, esta mayor eficiencia fotosintética puede deberse a que los altos niveles de C_i disminuyen la transpiración de las hojas mejorando la eficiencia del uso del agua en la fotosíntesis (Jianlin *et al.*, 2008).

2.2.7 Actividad enzimática en injertos.

Cuando las plantas se encuentran bajo algún tipo de estrés o cuando alguna etapa fenológica del cultivo ocurre, uno de los principales indicadores de estos cambios es la actividad de ciertas enzimas. En injertos se han realizado estudios para determinar la actividad de estas enzimas, algunos investigadores se han concentrado en observar que procesos fisiológicos y/o bioquímicos ocurren en diferentes etapas del injerto, se ha encontrado que durante el proceso de pegado del injerto en plantas incompatibles se da una acumulación de ERO'S (Especies reactivas de oxígeno) (Aloni *et al.*, 2008; Irisari *et al.*, 2015, Xu *et al.*, 2016) estas a su vez degradan la RUBISCO y por lo tanto hay una disminución en la capacidad fotosintética de la planta específicamente en la fijación del carbono (Desimone *et al.*, 1996), esta ineficiencia conduce a una muerte de la planta incompatible, por otra parte Liao *et al.* (2016) reportaron que el injertado promovía el incremento de la concentración de enzimas claves para la fotosíntesis RUBISCO (Ribulosa 1,5 bifosfato Carboxilasa-Oxigenasa) y RCA (RUBISCO activasa), dichas enzimas juegan un papel importante, afectan directamente el potencial fotosintético de las plantas y por lo tanto perturban el potencial de rendimiento de las mismas (Morinaga e Ikeda, 1990). Hasta este punto distintos tipos de respuesta ocurren en las plantas injertadas como la acumulación de ERO'S, producción de metabolitos secundarios involucrados directa o indirectamente con la eliminación de patógenos, síntesis de óxido nítrico, y respuestas hipersensibles (Buchanan *et al.*, 2000). En recientes estudios se ha registrado un incremento en la actividad enzimática y otros compuestos bioquímicos de plantas injertadas frente a diversos tipos de estrés (cuadro 1).

Cuadro 1: Concentrado de investigaciones recientes sobre la bioquímica de injertos en hortalizas.

Enzimas	Planta injertada	Condición del estrés	Comportamiento de la enzima	Autores
Catalasa (CAT), Peroxidasa (POD), Superóxido dismutasa (SOD).	Tabaco	Virus de la papa Y NTN	Aumento de POD y SOD, Disminución de CAT	Spoustová <i>et al.</i> , 2015
Subunidad 1 y 2 de la isoenzima de CAT	Tomate	<i>Fusarium</i>	Presencia de Subunidades	Vitale <i>et al.</i> , 2014
CAT, SOD	Tomate	Estrés hídrico	Aumento de SOD y CAT	Sánchez-Rodríguez <i>et al.</i> , 2012
Fenilalanina amonio-liasa (PAL)	Chile	<i>Fusarium</i>	Incrementan al inicio de la infección, Se estabilizan o disminuyen días después.	Jiang <i>et al.</i> , 2010.
PAL	Berenjena	<i>Verticillium</i>	Incrementa PAL	Zhou <i>et al.</i> , 1998.

3 EXPERIMENTO I. PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD Y RENDIMIENTO DE FRIJOL INJERTO EN FRIJOL AYOCOTE (*Phaseolus coccineus* L.).

3.1 Introducción

El ejote (*Phaseolus vulgaris* L.) es una leguminosa que forma parte de la dieta básica de muchos países latinoamericanos; en México su producción sobrepasa el millón de toneladas por año (FAOSTAT, 2017). Sin embargo, el rendimiento del cultivo es mermado por enfermedades que lo afectan a lo largo de su ciclo productivo, entre las que destacan enfermedades como: *Macrophomina* sp, *Fusarium* sp; *Sclerotium* y *Rhizoctonia* (Araya-Fernández y Hernández-Fonseca, 2006). El control de estas enfermedades puede ser muy variado y abarca desde el aspecto cultural (manejo de podas, eliminación de residuos agrícolas, utilización de semilla certificada) hasta la utilización de productos químicos, sin embargo, los mercados actuales demandan una eco-certificación de los productos que se consumen (Osarto, 2009); esto ha llevado a los productores de hortalizas a adoptar nuevas técnicas para el control de enfermedades, una de estas técnicas es la utilización de injertos. Entre los beneficios del injerto se encuentra una mejor toma de nutrientes por parte del sistema radicular de la planta, mejor respuesta de las plantas a déficit de agua, mejora ante altas concentraciones de salinidad en suelos, entre otros (Lee *et al.*, 2010). Sin embargo; los objetivos principales de la técnica son la utilización de portainjertos con resistencia a las enfermedades fungosas de origen radicular y mejorar el rendimiento de la planta. En reportes de la década de 1940, se encontró que el portainjerto *Cucurbita moschata* (Duchesne ex. Poir) confería resistencia a enfermedades al melón (Imazu, 1949) En años más recientes se ha comprobado la eficacia de la técnica tanto en el control de enfermedades como en la mejora del rendimiento en numerosos estudios (Oda, 1995; Xu, Ma y Chen, 2014; Temperini *et al.*, 2013; Moncada *et al.*, 2013).

La resistencia ante enfermedades y el vigor de la planta injertada es intermedio entre el patrón y la variedad, aunque la influencia del primero es mayor que el de la variedad (Muller y Li, 2002 citado por López-Elías *et al.*, 2008). Desafortunadamente la mayoría de los estudios en la actualidad se han centrado en la utilización de la técnica en

cucurbitáceas como la sandía, melón y algunas solanáceas como el tomate y la berenjena y son pocos los estudios que se centran en otras hortalizas como el ejote.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el porcentaje de prendimiento del injerto y rendimiento en dos variedades del frijol ejotero injertadas sobre dos variedades de frijol ayocote como portainjerto.

3.2 Materiales y métodos

El presente trabajo se realizó en el periodo de agosto a noviembre de 2015 en un invernadero tipo asimétrico de cubierta plástica, en el Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California. Localizado en el Valle de Mexicali 32°24'34 Norte y 115°11'16 Oeste.

Las variedades frijol ejotero utilizadas fueron Mantra y Fasili (Rijk Zwaan) y en el caso de frijol ayocote (*Phaseolus coccineus* L.) empleadas como portainjerto 'Otumba' y 'CP'. La combinación de los materiales de frijol ejotero y ayocote generó las combinaciones descritas en el cuadro 2, donde además se incluye plantas sin injerto en las variedades de ejotero. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con 6 tratamientos y 5 repeticiones, cada planta injertada se consideró como una repetición.

Cuadro 2: Tratamientos evaluados de plantas injertadas y no injertadas.

Tratamiento	Clave
MANTRA	M
MANTRA X OTUMBA	MXO
MANTRA X CP	MXCP
FASILI	F
FASILI X CP	FXCP
FASILI x OTUMBA	FXO

La obtención de planta injertada se inició con la siembra el día 10 de agosto del 2015, en charolas de 128 cavidades. Los injertos se realizaron a los 19 y 20 días después de la siembra. El procedimiento para realizar el injerto fue realizar un corte 6 centímetros por debajo del ápice de crecimiento en un sentido de 45 grados en el portainjerto y posteriormente en la variedad se realizó el corte, pero en sentido inverso y esta vez

sobre el ápice de crecimiento, se unieron ambos cortes con pinzas plásticas para injerto según la técnica descrita por Lee *et al.*, 2010.

Las plantas injertadas se mantuvieron en una cámara de aclimatación con una humedad relativa (HR) de 96% y posteriormente se disminuyó gradualmente hasta llegar a una HR de 50%, cinco días después se mantuvieron en condiciones de invernadero para su posterior trasplante.

El establecimiento del experimento en campo se inició a los 21 días después del injertado del ejote y consistió en trasplantar las plantas en bolsas plásticas para maceta, las cuales fueron llenadas con 1.300 kg de mezcla de sustrato (Berger BM2 en un 60% y un 40% de arena), colocando una planta por maceta y 5 macetas por tratamiento, las macetas se colocaron a 15 cm de separación y las plantas fueron tutoradas con rafia. La fertilización fue en base a la fórmula convencional 120-60-160 mediante riego por goteo (Reché Marmól, 2005).

Las variables evaluadas fueron porcentaje de prendimiento del injerto a los 17 días de realizado el injerto, posteriormente a los 7, 21 y 56 días de realizado el trasplante se midió altura de planta en cm. En cosecha se cuantificó, número de vainas, longitud de vainas y rendimiento total por planta.

El análisis de los resultados se realizó con análisis de varianza y prueba de medias para discriminar tratamientos mediante la prueba de Tukey (0.05%). Se utilizó el software estadístico SAS 9.3 ® y Microsoft Excel 2013.

3.3 Resultados y discusión

Los porcentajes de prendimiento de los injertos variaron entre portainjertos y variedades de ejote empleadas (Cuadro 3). Los mayores porcentajes de prendimiento fue para la combinación FXCP (95%), mientras que en la combinación FXO (0%) no se registró prendimiento. Vrsic, Pulko y Kocsis (2015) mencionan que la compatibilidad temprana o en etapas de desarrollo del cultivo depende de factores tanto ambientales, de manejo del injerto o incluso de la combinación portainjerto-variedad. En este caso dado que las condiciones fueron similares para todos los tratamientos se podría indicar la presencia de incompatibilidad en la interacción entre las variedades.

Cuadro 3: Porcentaje de sobrevivencia de plantas injertadas de Phaseolus vulgaris L. sobre Phaseolus coccineous L.

Tratamiento	Porcentaje de prendimiento
<i>M</i>	100 %
<i>MXO</i>	70 %
<i>MXCP</i>	45 %
<i>F</i>	100 %
<i>FXO</i>	0 %
<i>FXCP</i>	95 %

El porcentaje de sobrevivencia fue calculado 17 días después del proceso de injertado para esto se desprendió la pinza plástica.

En la variable altura de planta se observó que las plantas mantuvieron una altura similar hasta los 28 días de trasplante y a partir de este día el comportamiento de crecimiento fue mayor para la combinación FXCP. A los 56 días los tratamientos de planta injertada incrementaron en promedio el 67.9% la altura. El tratamiento sobresaliente fue FXCP el cual registró 80% más de altura con respecto al testigo mientras que el tratamiento MXCP solo un 47.7%. (Figura 2.1). Los resultados concuerdan con los de otros investigadores en otro tipo de hortalizas (López-Elías *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009) en los cuales se reportan un mayor desarrollo en plantas de sandía y plantas de tomate respectivamente.

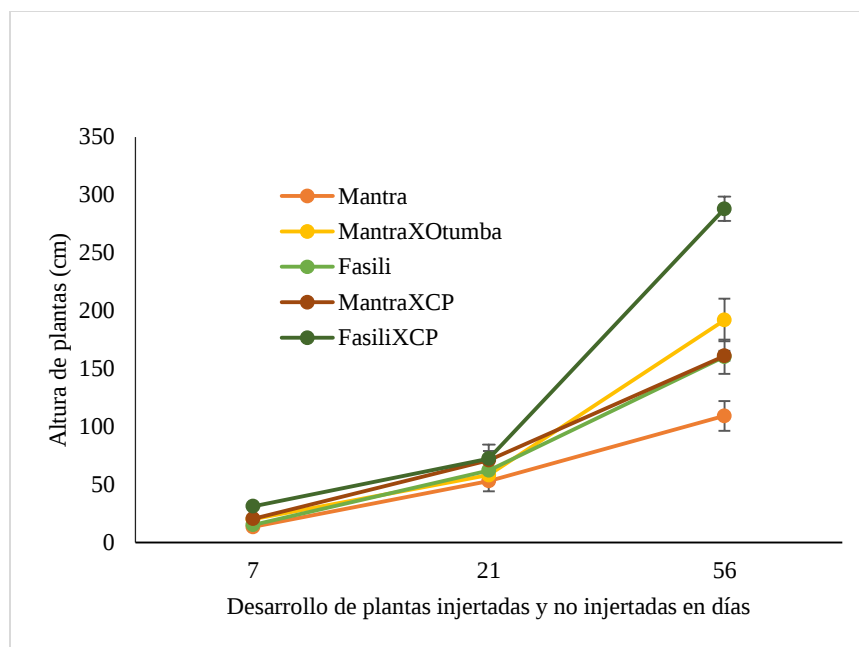


Figura 2: Altura de plantas injertadas y no injertadas de *Phaseolus vulgaris* L.

Para el número de vainas promedio por planta no se encontraron diferencias entre los tratamientos, sin embargo, para el largo de las vainas se incrementó en más de 10 cm para el injerto FXCP en comparación con su variedad sin injertar. La superioridad del tratamiento FXCP, también se vio reflejada en el rendimiento total por planta, donde se obtuvo mayor efecto en el rendimiento con respecto a los demás tratamientos (Cuadro 4). Indicando una mejora en el rendimiento en un 100% y en tamaño de fruto de 50% en comparación con su respectivo testigo e incluso en comparación con otras combinaciones, resultados similares se han encontrado en otras hortalizas como tomate, berenjena y pepino (Mahmoud, 2014; Chung y Lee., 2007; Lee y Oda; 2003).

Cuadro 4: Variables evaluadas en los tratamientos de *Phaseolus vulgaris* L injertado y sin injertar

Tratamiento	Número de vainas promedio por planta por corte	Largo de vainas (cm)	Rendimiento por planta (g)
FXCP	4 a	33.6 a	151.1 a
MXO	2 a	14.4 ab	41.4 b
MXCP	1 a	5.2 b	15.42 b
F	3 a	20.4 ab	74.5 ab
M	1 a	6.4 b	17.0 b

Los valores con literales diferentes dentro de la misma columna presentan diferencias significativas en una prueba de Tukey $\alpha = 0.05$.

3.4 Conclusión

El injerto de frijol ejotero en frijol ayocote, representa una oportunidad para mejorar la producción y calidad de la producción. Sin embargo, es necesario realizar más trabajos en diferentes condiciones (ambientales, tipos de suelo, extensión, enfrentamiento a enfermedades) con diferentes posibles portainjertos para su futura aplicación en la producción comercial.

4 EXPERIMENTO II. PRUEBAS DE VIGOR DE SEMILLA DE *Phaseolus vulgaris* L. INJERTADA SOBRE *Phaseolus coccineus* L.

4.1 Introducción

La disponibilidad de semilla de calidad es importante para casi cualquier sistema de producción en la agricultura. El análisis tradicional de la semilla se basa en la inspección de la pureza y pruebas de germinación, sin embargo, en los últimos tiempos se ha dado la medición de la calidad mediante otros factores como lo son: sanidad y vigor: la integridad de la semilla de frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris* L.) es principalmente afectada por varios hongos fitopatógenos entre ellos *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium spp.* (FAO, 2017). Para tratar las semillas se han utilizado distintos productos químicos entre los que destacan Metacaptan (Captan + Metoxiclono) y Metacid (Thiram), sin embargo, sus composiciones químicas hacen que la búsqueda de un producto menos agresivo y más asequible para pequeños productores sea necesaria.

Por otra parte, los injertos en hortalizas han demostrado ser una herramienta útil para mejorar los rendimientos de cultivos a gran escala, la técnica consiste básicamente en la unión física de dos plantas en donde se aprovecha el sistema radicular de una planta tolerante a diversos factores. En estudios recientes (Bernal *et al.*, 2016) se ha observado como el injerto ha sido efectivo para incrementar el rendimiento del cultivo de ejotero, en otras hortalizas también ha sido documentado este efecto, siendo más comunes las hortalizas con un alto valor comercial como el tomate (Salinas, Camacho y Tello, 2008) donde se han implementado con éxito injertos de esta hortaliza con el fin de eliminar el uso del bromuro de metilo a nivel comercial; o la sandía (López-Elías *et al.*, 2011), donde se ha visto con éxito como la técnica ha favorecido a productores a minimizar la densidad de siembra, manteniendo e incluso mejorando los rendimientos del cultivo. Estos resultados, en parte se considera que están relacionados con el intercambio de material genético de ambas plantas (Haroldsen *et al.*, 2012; Avramidou *et al.*, 2015). Condición que ha sido aprovechada en el mejoramiento de calidad de la semilla, según la empresa Seminis Vegetable Seeds Inc., quienes posee una patente

desde (US8772582 B2) el 2008-2009 para el mejoramiento de semilla de esta hortaliza mediante la técnica de injertos.

La calidad física y fisiológica de las semillas comprende un alto número de variables evaluadas, sin embargo, la mayoría de los autores y las metodologías coinciden en algunas de estas variables, por ejemplo, tamaño, grosor y peso de semillas para su calidad física (Ayala-Garay *et al.*, 2006), para el caso de la calidad fisiológica suele depender del cultivo que se esté trabajando (Bishaw *et al.*, 2012) sin embargo, la asociación internacional de pruebas de semillas, ISTA, por sus siglas en inglés, menciona como de mayor peso las variables de: porcentaje de germinación, altura de planta en post-emergencia y producción de biomasa. Finalmente se conoce que una mejora genética de la semilla puede traducirse en los parámetros anteriormente mencionados (% de germinación, tamaño, peso) e incluso otros como la longevidad de la semilla (Clerxk *et al.*, 2004 y Clerxk *et al.*, 2004).

En especies autopolinizables como el ejote, existe la posibilidad que el grano producido sea nuevamente empleado como semilla en algunos ciclos adicionales, por la razón que genéticamente no se degeneran las características de la variedad de manera significativa. Esta condición, sería de gran beneficio que el injerto tuviera influencia en su calidad, sin embargo, no se dispone de información que pudiera asegurar dichos resultados. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar la calidad fisiológica de la semilla proveniente de planta injertada en *Phaseolus coccineus* L.

4.2 Materiales y Métodos

El presente trabajo se realizó en el periodo de primavera-verano del 2016 en el Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California. Se injertó frijol ejotero (*P. vulgaris* L.) de la variedad Strike sobre ayocote (*Phaseolus coccineus* L.) mediante la técnica de empalme y se mantuvieron las plantas injertadas en una cámara de recuperación con 90 % de humedad relativa y temperatura de 23-25 °C. Posteriormente, plantas injertadas y no injertadas a los 21 días de post-emergencia se trasplantaron en un invernadero tipo asimétrico de cubierta plástica y se aplicó una

fertilización en base a la fórmula convencional 120-60-160 (Reché Marmól, 2005) mediante riego por goteo. Las semillas fueron recolectadas 120 días posteriores a la siembra, la semilla fue pesada y almacenada en sacos de tela y mantenidas a una temperatura de 18 °C hasta su utilización.

Las variables evaluadas fueron:

a) Calidad física de semilla. Peso de semillas y dimensiones.

El peso de 1000 semillas se calculó mediante el método descrito en el manual de manipulación de semillas de ISTA, que consistió en obtener el peso de ocho muestras de 100 semillas por tratamiento (sin repetición) y calcular el coeficiente de variación de las muestras si esta correspondía a un valor menor al 4%, las muestras podían ser utilizadas para el cálculo del peso de 1000 semillas mediante la siguiente fórmula.

$$P1000s = \bar{x} \cdot 10$$

Donde P1000s = Peso de mil semillas; $\bar{x}$ Representa el peso promedio de las ocho muestras. Largo y ancho de 30 semillas con 3 repeticiones elegidas al azar de las 8 muestras fueron medidos con un vernier digital.

b) Incidencia de patógenos en semillas.

Para la prueba de inocuidad de semilla, se utilizaron 25 semillas para cada tratamiento, en un ambiente completamente estéril se acomodaron en papel absorbente y se humedecieron para ser introducidas en bolsas ziploc y colocadas en una cámara de germinación durante 12 días, finalmente se observó la incidencia de patógenos en la semilla y se identificaron taxonómicamente con preparaciones en fresco bajo microscopio óptico a un aumento de 40X, utilizando como base las claves descritas por Barnett y Hunter (1998), Carrillo (2003) y Romero (1988).

c) Desinfección de semillas.

Se utilizaron distintos métodos para la desinfección de la semilla los cuales se numeran a continuación: 1) H₂O₂ al 10 % (Peróxido de hidrógeno), 2) Alcohol etílico 10 %; 3) Hipoclorito de sodio 10%; 4) Agua destilada estéril a 85 °C y 5) semilla sin tratar.

Mediante el método de la sección anterior se volvió a disponer de semilla de ambos tratamientos. Y se cuantificó porcentaje de incidencia de enfermedad.

e) Prueba de vigor y prueba de envejecimiento acelerado.

Las pruebas consistieron en; 1) para la prueba de vigor 25 semillas de cada tratamiento previamente desinfectadas fueron dispuestas en toallas de papel absorbente e introducidas en una cámara de germinación de semillas y posteriormente se midieron parámetros de crecimiento (fisiológicos) y 2) para la prueba de envejecimiento semillas de ambos tratamientos (injertado y no injertado) se mantuvieron en pequeñas bolsas de tela y se dispusieron en una cámara de ambiente controlado con una temperatura de 49 ± 2 °C y una humedad relativa de superior al 60% durante 72 hrs. Para posteriormente repetir la prueba de vigor de semilla.

Las variables evaluadas fueron Peso de 1000 semillas (PS), ancho y largo de semilla (As, Ls), porcentaje de incidencia de patógenos (PIP), porcentaje de germinación (PG), Largo de radícula (LR), Peso fresco de plántula (PF), y peso seco de plántula (PES).

Análisis estadístico.

El análisis de los resultados para el caso de semilla infectada y calidad física fueron analizadas mediante una prueba de Chi-cuadrado y una prueba de comparación de medias con un nivel de significancia del 95%; para el caso de la discriminación de tratamientos en calidad fisiológica se realizó mediante análisis de varianza y prueba de comparación de medias para discriminar tratamientos mediante la prueba de Tukey (0.05%). Se utilizó el software estadístico SPSS Statistics v. 23 ® y Microsoft Excel 2013.

4.3 Resultados y Discusión

A) Calidad física de semilla

Visualmente las semillas de plantas injertadas y no injertadas eran diferentes, aunque estadísticamente no se encontró diferencias para el largo y ancho de semilla (figuras 4 y 5), sin embargo, como se muestra en las figuras 3 si resultó haber al menos una tendencia en el incremento en el peso de semilla, para el tratamiento de semillas

injertadas en comparación con el tratamiento no injertado; esto puede deberse a la cantidad de humedad de semillas o incluso al número de semillas vanas, ya que algunos autores reportan que estas variables pueden afectar el peso de las semillas aumentándolo o disminuyendo respectivamente (Gonzalez-Torres, 2008; Cid *et al.*, 2014) .

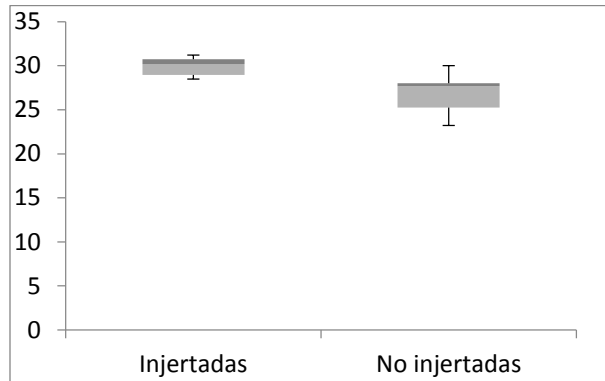


Figura 3 **Peso promedio en gramos (g) de las repeticiones de semilla injertada y no injertada en la prueba de vigor de semilla**

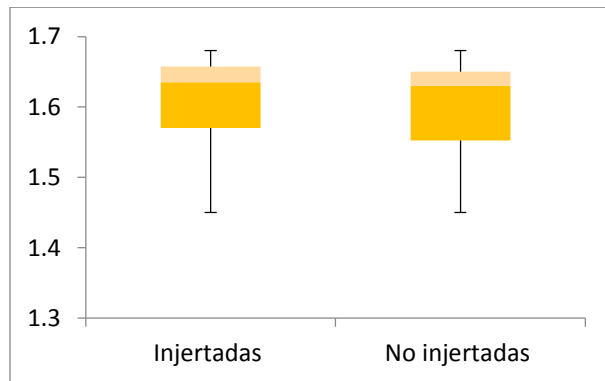


Figura 4 **Largo promedio en centímetros (cm) de los tratamientos de semilla injertada y no injertada en la prueba de vigor de semilla**

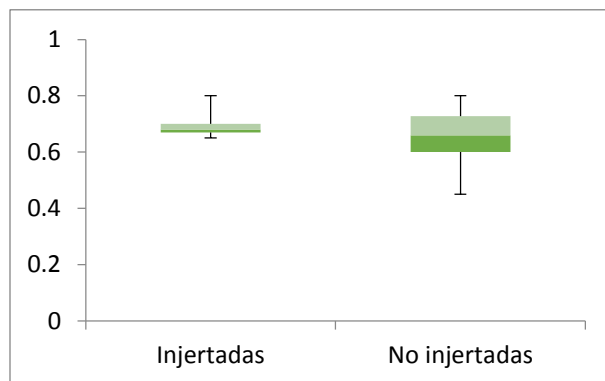


Figura 5 **Ancho promedio en centímetros (cm) de los tratamientos de semilla injertada y no injertada en la prueba de vigor de semilla**

B) Incidencia de patógenos. El microorganismo identificado en el presente trabajo presentó coincidencias morfológicas para *Rhizopus* con presencia de hifas gruesas y septadas, color ambar oscuro con esporangios de alrededor de 150 μm de grosor llenas de esporangio-esporas Barnett y Hunter (1998)

C) Tratamientos de desinfección.

Para la prueba de desinfección de semilla se obtuvieron los resultados mostrados en la cuadro 5 en donde observamos los porcentajes de infección de semilla después de los respectivos tratamientos, se observó cómo los tratamientos térmico y H_2O_2 fueron los más efectivos para disminuir la incidencia de los hongos antes mencionados, disminuyendo la presencia de los hongos un 20%.

Cuadro 5: Porcentaje de semillas infectadas después de la prueba de tratamientos de desinfección

TRATAMIENTO			INFECTADO	
			SI	NO
	CONTROL	% INFECTADO	30.0%	70.0%
	TÉRMICO	% INFECTADO	8.3%	91.7%
	NaOCl	% INFECTADO	23.3%	76.7%
	H ₂ O ₂	% INFECTADO	10.0%	90.0%
	ETANOL	% INFECTADO	28.3%	71.7%

Los valores porcentuales fueron obtenidos en SPSS statistics y comparados mediante una prueba de Chi-cuadrada con un valor de significancia de $p=0.05$.

El tratamiento térmico para la desinfección de semillas se ha utilizado durante mucho tiempo para diferentes tipos de semilla e incluso se encuentran procedimientos patentados en algunos países como en España donde se encuentra la patente de desinfección de semillas de cereales por calor desde 1999 (Patente 2 225 965 T3), sin embargo, semillas como la del frijol pueden sufrir daños e inhibir su capacidad de germinación debido al deterioro causado por el calor, por otra parte el segundo mejor tratamiento de H₂O₂ ha mostrado buenos resultados con la desinfección de algunas ornamentales y del mismo modo en algunas variedades de *Phaseolus* (González, 2003), el mecanismo de acción del peróxido de hidrogeno se basa en dos principios, el primero es que al poseer una mayor capacidad oxidante que el cloro actúa como mejor desinfectante que este último (Lenntech, 2003); el segundo como bactericida ya que las bacterias que comúnmente actúan como patógenos en semillas carecen de enzimas como Catalasa o Peroxidasa capaces de degradar el peróxido y por lo tanto no pueden eliminar los productos nocivos resultantes del oxígeno (Yañez, 1998), finalmente es una molécula degradable en agua por lo que se considera el mejor tratamiento para la desinfección de semilla en el caso de este experimento.

D) Vigor de semillas y envejecimiento acelerado.

Por otra parte, las pruebas de germinación mostraron que las semillas provenientes de plantas injertadas tenían un mayor vigor (70% de germinación en los primeros 5 días y un 100% 12 días) en comparación con las semillas de planta no injertada (40% de germinación en los primeros 5 días y un 90% a los 12 días), se determinaron dos

hongos comunes que atacan en la etapa pre-emergente de la semilla los cuales se identificaron como *Rhizopus* spp. y *Phytium* spp.

En la prueba de vigor después de envejecer la semilla se observó diferencias entre ambos tratamientos, teniendo mayor vigor la semilla de la planta injertada, para ambos casos se encontró un 100% de germinación (antes de envejecimiento) sin embargo, después de estresar la semilla el porcentaje disminuyó a 70% para la injertada y 35% para la no injertada, esto indicando que la semilla al menos toleraba mejor el estrés causado por la simulación de un mal almacenamiento, adicionalmente se encontraron diferencias significativas en el largo de hipocótilo y radícula así como en el peso fresco y seco, al comparar los tratamientos injertado y no injertado como se observa en el cuadro 6.

Cuadro 6: Variables de longitud y peso en plántula generada con semilla de planta injertada envejecida y no envejecida.

Tratamiento	Variables			
	Hipocótilo (mm)	Radícula (mm)	Peso Fresco (g)	Peso Seco (g)
Injertado	64.91 a	110.98 a	1.55 a	0.16 ab
No injertado	29.10 b	24.23 b	1.18 c	0.14 ab
Envejecida no injertada	49.15 c	75.79 c	1.32 b	0.19 a
Envejecida Injertada	45.91 c	59.03 d	1.43 a	0.21 a

Diferentes letras muestran diferencias estadísticas de una variable para cada tratamiento mediante una prueba de Tukey HSD con $p=0.05$.

En el cuadro 6 y en la figura 4 se muestra las diferencias en desarrollo de los tratamientos envejecidos (injertado y no injertado) y se puede observar como hay un incremento en el largo de hipocotilo y de radícula.

Figura 6 Crecimiento radicular en semilla de Phaseolus resultante de injerto y sin injerto



A la izquierda se observa el crecimiento de plántula a los 5 días en la parte superior izquierda la semilla proveniente de la planta injertada, en la parte inferior izquierda la no injertada y en la parte derecha en el recuadro azul ambas plantas 12 días de desarrollo donde se muestra la diferencia en el crecimiento.

Algunos autores mencionan como el peso seco de la plántula producida es uno de los mejores indicadores para determinar la calidad en una prueba de vigor de semilla (Ayala-Garay *et al.*, 2006); como se observó en este caso no se encontraron diferencias significativas para el peso seco, sin embargo, si hubo un mayor porcentaje de germinación para el tratamiento de semillas de planta injertada en comparación con aquellas que no lo fueron, del mismo modo se observó una notoria diferencia en el desarrollo de hipocótilo y radícula, siendo más vigorosas aquellas plantas provenientes de semilla de planta injertada. Una de las pocas investigaciones disponibles sobre la calidad de semilla resultante de una planta injertada se remonta a los años 50's (Ehrenberg *et al.*, 1955) observaron como las semillas resultantes de plantas injertadas con un buen prendimiento presentaban una mejor calidad física de semilla, no obstante, este trabajo se realizó en una especie de pino (*Picea abies*) por lo que los tipos de injerto y condiciones a los del presente trabajo distan de ser similares.

4.4 Conclusión

El mejor tratamiento para la desinfección de semilla fue el tratamiento térmico, sin embargo, se decidió utilizar el segundo mejor que fue agua oxigenada debido a que las altas temperaturas suelen disminuir el porcentaje de germinación.

Aun cuando no se presentaron diferencias estadísticas significativas en el tamaño de la semilla, si se observó una diferencia para la calidad fisiológica siendo la semilla proveniente de planta injertada la que mejores propiedades fisiológicas presentó.

El método de mejoramiento de semilla mediante los injertos podría considerarse para futuras investigaciones como un modelo a seguir, en la actualidad con el creciente número de herramientas moleculares es posible enriquecer este tipo de investigaciones.

5 EXPERIMENTO III. DE PRUEBAS DE TOLERANCIA A PATÓGENOS RADICULARES EN INJERTOS DE EJOTE *Phaseolus vulgaris* L.

5.1 Introducción.

El género *Phaseolus* conforma una amplia diversidad biológica, con su centro de origen en Centroamérica conforma una de los géneros más antiguos de los que se encuentran registros de más de 5 mil años A.C (Ulloa *et al.*, 2011). Un gran número de especies son cultivadas alrededor del mundo siendo el más común *Phaseolus vulgaris* L. mejor conocido como frijol común o judía. En México, 1.5 millones de toneladas son producidas anualmente al 2016 (SIAP, 2016) siendo los principales productores de este cultivo Durango, Zacatecas, Chihuahua y Sinaloa, sin embargo, en los últimos años en el estado de Baja California el cultivo de *Phaseolus vulgaris* L. ha visto un incremento del 5 % anual en la producción de esta hortaliza para su consumo en fresco (frijol ejotero). El principal objetivo del incremento de la producción de esta hortaliza se debe a la oportunidad de mercado que representa la frontera con Estados Unidos, no obstante, SAGARPA cita mercados emergentes para esta hortaliza a países asiáticos y Europeos.

Como en muchas otras hortalizas el frijol ejotero la presencia de enfermedades de origen fungoso específicamente del tipo radicular, son una de las principales causas en la disminución de rendimientos del cultivo (IICA 2008). Entre los géneros más comunes y que más pérdidas causan a este cultivo se encuentra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium* spp ya que en conjunto pueden causar un 70 % de pérdidas en los cultivos (Hernandez-Quintero y Herrera, 2012), sobre todo en plantaciones comerciales. Generalmente la patogenicidad de un organismo está influenciada por varios factores físicos como temperatura, nutrientes, sequías entre otras sin embargo también puede depender de cuestiones culturales como el manejo del propio cultivo, daños mecánicos y defoliaciones por edad en la planta e incluso en algunos casos por factores genéticos entre huésped y hospedero (Old y Davison, 2000).

Por otra parte, en el primer experimento realizado en presente investigación se demostró que la técnica de injertos es una opción viable para incrementar los

rendimientos del cultivo del ejotero hasta en un 100%. Lo anterior como consecuencia de un mayor suministro de nutrientes y agua por el sistema radicular del portainjerto, el cual es de mayor longitud y biomasa que el ejote sin injerto (Lee *et al.*, 2010).

En México se han realizado diferentes aislamientos de los hongos con mayor impacto en el cultivo de frijol siendo recurrente el género *Phaseolus* (Harikrishnan y Yang, 2004, López-Olmos *et al.*, 2005), sin embargo, no existen reportes suficientes de pruebas de patogenicidad de estas enfermedades utilizando la técnica de injertos en el frijol ejotero.

Por lo que el objetivo del presente trabajo fue realizar pruebas de patogenicidad de los dos principales hongos fitopatógenos en frijol ejotero *Rhizoctonia* y *Sclerotium* frente a la alternativa de producción de ejotero injertado sobre *Phaseolus coccineus* L.

5.2 Materiales y Métodos.

Preparación del experimento.

El estudio se realizó durante el periodo verano-otoño 2016 en el Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California, se dispusieron 9 plantas por tratamiento con 3 repeticiones.

Preparación del material vegetal

Se sembraron 128 semillas de ejote var. Fasili (*Phaseolus vulgaris* L), 12 días post emergencia se injertaron mediante el método de empalme descrito por Lee y Oda (2002) en un portainjerto *Phaseolus coccineus*, se mantuvieron en cámara de prendimiento durante 96 horas a una humedad relativa de 90% y después se aclimataron progresivamente. Las plantas injertadas fueron transferidas a vasos plásticos con sustrato comercial Peat moss Berger BM2 previamente esterilizado.

Cepas utilizadas y generación de inóculo infeccioso.

Para la obtención de las cepas se recolectaron plantas con sintomáticas (raquitismo, clorosis, daño a la base del tallo) de un predio con antecedentes de infección por enfermedades en la comunidad de Maneadero de Ensenada B.C. Las plantas fueron colocadas en bolsas Ziploc y transportadas en hielera hasta el laboratorio. Para la

obtención de las cepas las plantas recolectadas fueron lavadas con agua común, y dispuestas en cámara humedad a 25 °C por 24 hrs, posteriormente se seccionó un pedazo de tallo (0.5 cm²) y bajo condiciones asépticas se dispusieron en cajas Petri con 15 ml de medio agar dextrosa papa, 48 horas posteriores a la siembra se procedió a el re-aislamiento del crecimiento micelial a nuevas cajas Petri finalmente se colocaron en una incubadora a 25 °C durante 7 días. Se identificaron morfológicamente *Rhizoctonia* sp. y *Sclerotium* sp.

Para la preparación del inoculo infectivo se utilizó la técnica descrita por Sennoi *et al.*, (2012), pero utilizando semilla de trigo en lugar de sorgo. La dosis letal de cada cepa para esta variedad de ejote se calculó en un estudio previo en donde se encontró para *Rhizoctonia* una cantidad de inoculo de 1.5 g (9 UFC aproximadamente) y para *Sclerotium* de 0.5 g (3 UFC aproximadamente).

Método de inoculación y escala de patogenicidad.

Las plantas se llevaron a una cámara de ambiente controlado con 25 ± 3 °C donde fueron inoculadas a la base del tallo y cubiertas con sustrato previamente humedecido y se mantuvieron en observación durante 28 días. Para el grado de severidad de las cepas se utilizó una medición visual subjetiva de 1-4 donde 1) Planta sin ningún daño aparente; 2) planta con daño y lesión aparente en la base del tallo, 3) planta con daño en base de tallo y clorosis en más del 50% de su área foliar, 4) planta 100% clorótica y daño total de la planta.

Variables evaluadas

Para confirmar la infección de las cepas al final del periodo se realizó una preparación en fresco de los tratamientos infectados y se identificó mediante morfología los hongos. Se calculó mediante la escala anteriormente descrita grado de severidad de las cepas; a partir de la inoculación y cada tercer día se cuantificó índice de verdor SPAD con un medidor SPAD Kónica modelo 502 (Melgarejo *et al* 2010), eficiencia fotosintética máxima Fv/m, Fo y Fm mediante un fluorómetro Opti Sciences modelo OS-30 la intensidad del haz de luz emitido por el equipo fue de 3500 μmols y para la medición de las variables se utilizaron los clips que se recomiendan por el fabricante al final del

experimento se cuantificó altura de planta, peso fresco, peso seco y área foliar mediante un medidor de área Licor inc. Modelo Li3100.

Análisis de datos

Para discriminar los datos de la incidencia se aplicó una prueba de Kruskal-Wallis ; para el cálculo del porcentaje de incidencia se realizó una prueba de Chi-cuadrada.

En el caso de las variables fisiológicas se realizó una prueba de Tukey HSD ($p=0.05$) para determinar diferencias entre los tratamientos.

El arreglo del experimento fue completamente al azar sorteando mediante números aleatorios las plantas a ser inoculadas con los diferentes hongos, el análisis de datos fue realizado mediante el programa estadístico SPSS v23.

5.3 Resultados y discusión

La incidencia de las enfermedades generadas por ambos patógenos *Rhizoctonia* y *Sclerotium* sp fue del 100 % en plantas de ejote normales en el caso de plantas injertadas del 70%, ubicándose en la escala propuesta de severidad en 3 los síntomas observados fueron clorosis en al menos un 50% de la planta y lesiones en la base del tallo en forma de costra negra, este último síntoma coincide con descripción de los efectos causados por *Rhizoctonia*, causando manchas color rojizo oscuro en la base del tallo y las raíces sin embargo en algunos casos su mayor grado de severidad se da en la etapa de prefloración y llenado de vainas entre los 70 y 90 DDS (Assuncao *et al.*, 2011), Infantino *et al.* (2006) han reportado pérdidas de casi un 40% de la producción en estado de plántulas y un poco más en otras etapas fenológicas por esta enfermedad. En cuanto a los síntomas de *Sclerotium* la formación de micelio blanco y algodonoso persistente en la base del tallo junto con la pudrición y ahorcamiento en la base del tallo así mismo se presentó clorosis en la planta.

Cuadro 7: Variables de fisiológicas en plantas injertadas y no injertadas inoculadas con Rhizoctonia y Sclerotium.

TRATAMIENTOS	SPAD	FV/FM	F0	PST PLANTA	PFT PLANTA	ALTURA	ÁREA F
INJERTADO / CONTROL	44.23 b	0.784 a	454.20 c	1.29 b	14.40 c	116.66 b	267.33 b
INJERTADO / RHIZOCTONIA	43.01 b	0.790 a	453.06 c	1.34 b	11.16 b	99.00 b	269 b
INJERTADO / SCLEROTIUM	44.96 b	0.790 a	434.93 b	1.90 c	13.63 c	100.00 b	284 b
SIN INJERTO / RHIZOCTONIA	36.14 a	0.793 a	400.46 b	0.57 a	8.26 b	85.00 a	104 a
SIN INJERTO / SCLEROTIUM	33.32 a	0.787 a	397.80 a	0.41 a	6.43 a	51.66 a	106.33 a
SIN INJERTO / CONTROL	43.29 b	0.787 a	444.33 c	1.36 b	11.86 b	121.66 b	170 a

letras Diferentes muestran diferencia estadística de una variable para cada tratamiento mediante una prueba de Tukey HSD con $p=0.05$.

En algunos trabajos se ha visto que el índice de verdor SPAD es directamente proporcional a la cantidad de clorofila (Torres *et al* 2002., Shcaper y Schacko 1991) en el presente, se encontró que el índice de verdor se disminuyó (véase cuadro 7) solamente en plantas no injertadas inoculadas con las dos cepas, en comparación con las injertadas encontrando diferencia estadística significativa. Esta disminución podría deberse a la falta de nutrientes en hojas (Díaz -Franco *et al.*, 2013), este es un factor común asociado a la infección de algunos hongos fitopatógenos ya que destruyen o bloquean los haces vasculares de la planta impidiendo de manera libre el flujo de agua y nutrientes de la raíz hacia la parte aérea (CRT 2005, Tlapal Bolaños *et al.*, 2014). Como se observa en el cuadro 7 los cambios en la eficiencia fotosintética mínima (F_0) más evidentes fueron en los tratamientos sin injertar inoculados con alguna de las dos cepas, no obstante, Öquist *et al.* (1992) menciona que el incremento de la F_0 en las plantas puede deberse a acciones regulatorias frente algún tipo de estrés. Por otra parte, la eficiencia fotosintética máxima no se vio alterada, resultados similares fueron observados en otras hortalizas bajo la presencia de enfermedades (Nogués *et al.*, 2002). Samaniego-Gaxiola *et al.* (2013) mencionan como las plantas de frijol bajo ciertas condiciones de estrés no disminuyen su eficiencia fotosintética, por lo contrario, algunas variedades tienden a elevar esta eficiencia, aun cuando no se tiene completamente comprendido una de las razones podría deberse en un desbalance

metabólico en la planta (Núñez, *et al.*, 1998). Las variables de crecimiento también se vieron afectadas por la inoculación de los hongos en el caso de injertos/rhizoctonia disminuyó el peso en comparación de su testigo, sin embargo, fue mayor estadísticamente que las plantas no injertadas por lo que sugiere que la técnica funciona como un promotor de desarrollo en la planta, la diferencia observada en la altura de los dos tratamientos control (sin inoculación) podría deberse al retraso ocasionado por el tiempo de pegado del injerto, sin embargo, la variable de desarrollo más notable fue área foliar en donde los tratamientos injertados son notablemente superiores, lo cual tiene sentido ya que una de las propiedades de los injertos es mejorar el desarrollo de las plantas.

5.4 Conclusiones

El portainjerto utilizado de *Phaseolus coccineus* no fue resistente a enfermedades comunes del frijol (*rhizoctonia* y *sclerotium*), sin embargo, si resultó tolerante en un 30% a ambas. Dicha tolerancia se vio reflejada en un índice de verdor mayor en plantas injertadas comparadas con los tratamientos no injertados, un menor daño en la raíz, una mayor área foliar y por lo tanto un mayor peso fresco de planta. Todas estas variables de desarrollo fueron mayores en plantas injertadas comparadas con el tratamiento sin injertar inoculado por lo que sugiere una mejora en el desarrollo de la planta. Es importante considerar nuevos experimentos en donde se utilicen mayor número de portainjertos inter o intra específicos tolerantes a enfermedades o a otros factores. Del mismo modo el comportamiento en campo de los cultivos suele ser diferente a los ensayos en laboratorio ya que intervienen otros factores físicos o biológicos por lo que también debe de considerarse realizar ensayos futuros en campo.

CONCLUSIONES GENERALES

La técnica de injertos en *Phaseolus vulgaris* L. es posible utilizando distintos tipos de portainjertos de *Phaseolus coccineus* L., sin embargo, su prendimiento, comportamiento agronómico y rendimiento dependerá meramente de los portainjertos utilizados, el mejor material agronómicamente se utilizó en pruebas de resistencia a patógenos y aun cuando el material no fue resistente si se vio una tolerancia a dos de los principales patógenos de frijol (*Rhizoctonia* y *Sclerotium*) mejorando variables de desarrollo y fisiológicas (crecimiento, producción de biomasa, regulación de la eficiencia fotosintética mínima) dando base para continuar la investigación con distintas variedades de ayocote. Finalmente, la semilla resultante de uno de los experimentos mostró mejoras en la calidad fisiológica comparada frente a semilla de plantas sin injertar de la misma variedad y obtenidas del mismo experimento. Consideramos a este último punto como uno de los más importantes ya que aun cuando se sabe que el mejoramiento de las semillas por medio de los injertos es posible, no existe información disponible si esta mejora se mantiene a través de varias generaciones, tampoco se sabe en qué porcentaje se da este mejoramiento hasta la finalización de este trabajo solamente se conoce que parámetros de germinación y desarrollo en los primeros días pos emergencia son mejorados, pero resulta interesante investigar en un futuro si las mejoras se mantienen durante el ciclo completo.

BIBLIOGRAFÍA

- Aghaleh, M., Niknam, V., Ebrahimzadeh, H., Razavi, K. 2009. Salt stress effects on growth, pigments, proteins and lipid peroxidation in *Salicornia persica* and *S. europaea*. – Biol. Plant. 53: 243-248.
- Alan, Ö., Özdemir, N., Günen, Y. 2007. Effect of grafting on watermelon plant growth, yield and quality. Journal of agronomy 6(2): 362-365.
- Aloni, B., Karni, L., Deventurero, G., Levin, Z., Cohen, R., Katzir, N., Lotan-Pompan, M., Edelstein, M., Aktas, H., Turhan, E., 2008. Physiological and biochemical changes at the rootstock-scion interface in graft combinations between *Cucurbita* rootstocks and a melon scion. J. Hortic. Sci. Biotechnol. 83, 777.
- Araya-Fernández, C., Hernández-Fonseca, J. 2006. Guía para la identificación de las enfermedades del frijol más común en Costa Rica. San José, Rev C.R.p44.
- Asociacion internacional de pruebas de semillas ISTA <https://www.seedtest.org/en/home.html>
Consultado Enero 2017.
- Assunção Ip; Nascimento Ld; Ferreira Mf; Oliveira Fj; Michereff Sj; Lima Gsa. 2011. Reaction of faba bean genotypes to *Rhizoctonia solani* and resistance stability. Horticultura Brasileira 29: 492-497.
- Avramidou, E., Kapazoglou, A., Aravanopoulos, F., Xanthopoulou, A, Ganopoulos, I., Tsaballa, A., Madesis, P., Doulis, A y Tsaftaris, A. 2015. Global DNA methylation changes in Cucurbitaceae inter-species grafting. Crop Breeding and Applied Biotechnology, 15(2):112-116.
- Ayala-Garay, O., Pichardo-González, J., Estrada-Gómez, J., Carrillo-Salazar, J., Hernández-Livera, A. 2006. Yield and seed quality of ayocote bean at the valley of Mexico. Agricultura Técnica en México (32): 313-321.
- Barnett, H. L.; Hunter, B. B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. USA.

- Bernal-Alzate, J., Grimaldo-Juarez, O., Gonzalez-Mendoza, D., Cervantes-Díaz, L., Rueda-Puente, E y Ceceña-Durán, C. 2016. El injerto como alternativa para mejorar el rendimiento en la producción de frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris* L.). *Idesia* (Arica), 34(2): 43-46.
- Bishaw, Z., Struik, P. C., & Gastel, A. J. G. Van. (2012). Farmers' Seed Sources and Seed Quality: 1. Physical and Physiological Quality. *Journal of Crop Improvement*, 26(5), 655–692. <http://doi.org/10.1080/15427528.2012.670695>
- Bletsos, F. A., y Olympios, C. M. 2008. Rootstocks and Grafting of Tomatoes, Peppers and Eggplants for Soil-borne Disease Resistance, Improved Yield and Quality. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*, 2: 62–73.
- Bletsos, F., Thanassouloupoulos, C., Roupakias, D. 2003. Effect of grafting on growth, yield, and verticillium wilt of eggplant. *HortScience* 38(2): 183-186.
- Buchanan, B., W. Gruissem,., Jones. R. 2000. *Biochemistry and molecular biology of plants*. American Society of Plant Biologists, John Wiley & Sons, Inc., Somerset, NJ.
- Bulley, S., Wilson, F., Hedden, P., Phillips, A., Crokerm S., James, D. 2005. Modification of gibberellin biosynthesis in the grafted apple scion allows control of tree height independent of the rootstock. *Plant biotechnology journal*. 3: 215-223.
- Carrillo, L. 2003. *Los hongos de los alimentos y forrajes*. Universidad Nacional de Salta. Salta, Argentina
- Chaves, M., Flexas, J., Pinhero, C. 2009. photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of botany*. 103: 551-560.
- Chung, H.; Lee, J. 2007. Rootstocks for grafting in Horticulture in Korea. *Korean Society for horticultural Science*, 28: 162-167.

- Cid R, J. A.; Reveles H, M.; Velázquez V, R. y Mena C, J. 2014. Producción de semilla de frijol. Folleto Técnico No. 63. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC-INIFAP. Calera, Zacatecas, México, p69.
- Clerkx, E.J.M., H. Blankestijn-de Vries, G.J. Ruys, S.P.C. Groot & M. Koornneef. 2004. Genetic differences in seed longevity of various Arabidopsis mutants. Phys. Plantarum 121: 448-461.
- Clerkx, E.J., M.E. El-Lithy, E. Vierling, G.J. Ruys, H. Blankestijn-De Vries, S.P.C. Groot, D. Vreugdenhil & M. Koornneef. 2004. Analysis of natural allelic variation of Arabidopsis seed germination and seed longevity traits between the accessions Landsberg erecta and Shakdara, using a new recombinant inbred line population. Plant Physiol.135(1):432-43.
- Crispín M., y Miranda, S. 1978. El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Producción de granos y forrajes. Edit. Limusa. México, D.F. p541-552.
- CRT, Consejo Regulador del Tequila. 2005. Plagas y enfermedades del Agave tequilana Weber var Azul. Ed. Pandora. Impreso en México. p123.
- Dawson, R. 1942. Accumulation of nicotine in reciprocal grafts of tomato and tobacco. American Journal of botany 29: 66-71.
- De la Torre, F., Cuadrado-Gómez, M., García-García y Fernández-Fernández. M., 2005. Injertos Hortícolas. En Dirección Técnica de Semilleros Hortícolas. Ed. I. M. Curso de Especialización. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera -IFAPA-CIFA, Almería, España.
- Desimone, M., Henke, A., Wagner, E., 1996. Oxidative stress induces partial degradation of the large subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in isolated chloroplasts of barley. Plant Physiol. 111, 789-796.
- Díaz Franco, A; Gálvez López, D; Ortiz Cháirez, F E; (2015). Bioinoculación Y Fertilización Química Reducida Asociadas Con El Crecimiento De Planta Y Productividad De Sorgo. Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 31: 245-252.

- Di Gioia, F., Signore, A. 2013. Grafting improves tomato salinity tolerance through sodium partitioning within the shoot. *HortScience*. 48(7): 855-862.
- Doorenbos, J. y Kassam, A. 1979. Efectos del agua sobre el rendimiento de los cultivos. Estudio FAO: Riego y Drenaje No. 33. FAO. Roma. p212.
- Ehrenberg, C., Gustafsson, A., Plym Forshell, C. y Simak, M. 1955. Seed quality and the principles of forest genetics. *Hereditas*, 41: 291-366.
- Gonzalez, A. 2003. Desinfección de semilla de judía (*Phaseolus vulgaris* L.) tipo asturiana con antifungicos y antibacterianos. *Bol sum. Veg. Plagas*. 29:461-470.
- Gonzalez, C., Llosa, J., Quijano, A., Forner, A. 2009. Roostock effects on leaf Photosynthesis in "Navelina" Trees grown in calcareous soil. *HortScience*. 44(2):280-283.
- González Torres, G, Mendoza Hernández, F., Covarrubias Prieto, J., Morán Vázquez, N y Acosta Gallegos, J. 2008. Rendimiento y calidad de semilla de frijol en dos épocas de siembra en la región del Bajío. *Agricultura técnica en México*, 34(4):421-430
- Harikrishnan, R. y X.B. Yang, 2004. Recovery of anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* from different latitudinal positions and influence of temperatures on their growth and survival. *Plant Dis.*, 88: 817-823
- Haroldsen V., Szczerba M., Aktas H., Lopez-Baltazar J., Mar J. O., Chi-Ham C. L. 2012. Mobility of transgenic nucleic acids and proteins within grafted rootstocks for agricultural improvement. *Front. Plant Sci.* 3:39
- Hernandez, C., Quintero, E y Herrera, L. 2012. Respuesta varietal y perdidas causadas por el hongo *Sclerotium rolfsii* en frijol común en diferentes épocas de siembra. *Centro agrícola*. 39:75-78.
- Hooijdonk, B., Woolley, D., Warrington, I., Tustin, S. 2011. Roostocks modify scion architecture, endogenous hormones and root growth of newly grafted 'royal gala' apple trees. *J. amer. Soc. Hort. Sci.* 136(2): 93-102.

- láñes, P.E. 1998. Metabolismo energético. In: Curso de microbiología general. Facultad de Ciencia Agrarias. Universidad Nacional del Nordeste. Corriente República, Arg. http://fai.unne.edu.ar/biologia/microgeneral/15_micro.htm consultado enero 2017
- Imazu, T. 1949. On the symbiotic affinity caused by grafting among Cucurbitaceous species. J. Jpn. Soc. Hort. Sci., 18: 6-42.
- Infantino A; Kharrat M; Riccioni L; Coyne Cj; Mcphee Ke; Grünwald. 2011. Reaction of faba bean genotypes to *Rhizoctonia solani* and resistance stability NJ. 2006. Screening techniques and sources of resistance to root diseases in cool season food legumes. *Euphytica* 147: 201-221.
- Irisarri, P., Binczycki, P., Errea, P., Martens, H.J., Pina, A., 2015. Oxidative stress associated with rootstock/scion interactions in pear/quince combinations during early stages of graft development. *J. Plant Physiol.* 176:25-35.
- Jiang, F., Y.X. Liu, W. Liu, N. Zheng, H.T. Wang, X.Z. Ai. 2010. Relationship between root rot resistance and phenylalanine metabolism in graft capsicum. *China Veg.* 8:46-52.
- Jianlin, W., Y. Guirui, F. Quanxiao, J. Defeng, Q. Hua, W. Qiufeng. 2008. Responses of water use efficiency of 9 plant species to light and CO₂ and their modeling. *Acta Ecol.* 28:525-533.
- Keinath, A., Haseell, R. 2014. Control of fusarium wilt of watermelon by grafting on bottlegourd of interspecific hybrid squash despite colonization of rootstocks by *Fusarium*. *Plants disease.* 98(2): 255-266.
- Khah, E., Kakava, E., Mavromatis, A., Chachalis, D., Goulas, C. 2006. Effect of grafting on growth and yield of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in greenhouse and open field. *Journal of applied horticulture*, 8:3-7.
- Kudo, H., Harada, T. 2007. A graft-transmissible RNA from Tomato Rootstock changes leaf morphology of potato scion. *Hortscience.* 42(2): 225-226.

- Kleinhenz, M.D. 2011. Major Factors in Preparing Grafted Vegetable Plants Successfully. The Ohio State Univ., Ohio Agricultural Res. Dev. Ctr. 03 July 2013.
- Kubota, C., McClure, M.A., Kokalis-Burelle, N., Bausher, M.G., Roskopf, E.N. 2008. Vegetable grafting: History, use, and current technology status in North America. *HortScience* 43:1664–1669.
- Lee, J., Kubota, C., Tsao, S., Bie, Z., Hoyos Echevarria, P., Morra, L. y Oda, M. 2010. Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation. *Scientia Horticulturae* 127:93–105.
- Lee, J.; Oda, M. 2003. Grafting herbaceous vegetable and ornamental crops. *Hortic. Rev.*, 28: 61-124.
- Lenntech. 2003. Peróxido de Hidrógeno. Lenntech Agua residual y purificación del aire. México. <http://www.lenntech.es/peroxido-de-hidrogeno.htm> consultado Diciembre 2016
- Liao, L., Cao, S., Rong, Y., Wang, Z. 2016. Effects of grafting on key photosynthetic enzymes and gene expression in the citrus cultivar Huangguogan. *Genetics and molecular research*. 15: 1-10.
- Liu, Y., Qi, Y., Bai, M., Qi, F., Xu, Q., Hao, H., Li, Y., Li, L. 2011. Grafting Helps Improve Photosynthesis and Carbohydrate Metabolism in Leaves of Muskmelon. *Int J Biol Sci* .7(8):1161-1170
- Liu, N.; Zhou, B.; Zhao, X.; Lu, B.; Li, Y.; Hao, J. 2009. Grafting eggplant onto tomato rootstock to suppress *Verticillium dahliae* infection: the effect of root exudates. *HortScience*, 44: 2058-2062.
- Liu, Z., Bie, Z., Huang, Y., Zhen, A., Lei, B., Zhang, H. 2012. Grafting onto *Cucurbita moschata* rootstock alleviates salt stress in cucumber plants by delaying photoinhibition. *Photosynthetica*. 50: 152-160.
- López-Elías, J., Huez-López, M., Jiménez-León, J., Rodríguez, J., GarzaOrtega, S., Escoboza-García, L. 2011. Efecto de la densidad de plantación en sandía sin semilla

injertada sobre bule (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.) Tropical and Subtropical Agroecosystems, 14: 349-355

López-Elias, J.; Romo, A.; Domínguez, J. 2008. Evaluación de métodos de injerto en sandía (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai) sobre diferentes patrones de Calabaza. Idesia (Chile), 26 (2): 13-18.

Lopez-Olmos, K., S. Hernandez-Delgado and N. MayekPerez, 2005. AFLP fingerprinting for Identification of anastomosis groups of rhizoctonia solani kühn from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in México. Revista Mexicana de Fitopatología, 23: 147-151.

Louws, F., Rivard, C y Kubota, C. 2010. Grafting fruiting vegetables to manage soilborne pathogens, foliar pathogens, arthropods and weeds. Sci. Hortic. 127, 127–146.

Luna-Flores, W., Estrada, H., Jiménez-Osornio, J y Pinzón-López, L 2012. Efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento y eficiencia del uso del agua en plántulas de tres especies arbóreas caducifolias. Terra Latinoamericana 30(4):343-353.

Mahmoud, A. 2014. Grafting as a tool to improve TYLCV-Tolerance in tomato. Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants, 6 (3): 109-115.

Martínez-Ballesta, M., Alcaraz-López, C., Muries, B., Mota-Cadenas, C. and Carvajal, M. 2010. Physiological aspects of rootstock–scion interactions. Scientia Horticulturae. 127: 112-118.

Marzci, K., Osvald, J. 2004. The influence of grafting on yield of two tomato cultivars (*Lycopersicon esculentum* Mill.) grow in a plastic house. Acta Agriculturae Slovenica 83(2): 243-249.

Melgarejo, L.M., M. Romero, S. Hernández, J. Barrera, M.E. Sol- arte, D. Suárez, L.V. Pérez, A. Rojas, M. Cruz, A.L. Moreno, S.C. Crespo, and W.H Pérez. 2010. Experimentos en fisiología vegetal. Universidad Nacional de Colombia, Bogota.

Mohamed, F., El-Hamed, K., Elwhan, M. Hussien, M. 2012. Impact of grafting on watermelon growth, fruit yield and quality. Vegetable research Bulletin. 76: 99 -118.

- Moncada, A.; Miceli, A.; Vetrano, F.; Mineo, V.; Planeta, D.; D' Anna, F. 2013. Effect of grafting on yield and quality of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Scientia Horticulturae*. 149: 108-114.
- Moreno., L. 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 27:179-191.
- Morinaga, K., Ikeda, F. 1990. The effects of several rootstocks on photosynthesis; distribution of photosynthetic product, and growth of young satsuma mandarin trees. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 59: 29-34.
- Muller, D.; Li, S. 2002. Use of aeroponic chambers and grafting to study partial resistance to *Fusarium solani* f. sp. *Glycines* in soybean. *Plant Disease* 86: 1223-1226.
- Navarrete-Maya, Rosa, Trejo-Albarrán, Evangelina, Navarrete-Maya, Jorge, Prudencio-Sains, José Manuel, & Acosta Gallegos, Jorge Alberto. (2009). Reacción de genotipos de frijol a *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani* bajo condiciones de campo e invernadero. *Agricultura técnica en México*, 35(4), 459-470.
- Núñez, B.A., Ritchie, J., y Smucker, A.J.M. 1998. El efecto de la sequía en el crecimiento, la fotosíntesis y la intercepción de luz en el frijol común. *Agronomía Mesoamericana* 9: 1-8.
- Oda, M. 1995. New grafting methods for fruitbearing vegetables in Japan. *Japan Agricultural Res. Qrty.* 29: 187-194.
- Ohata, Y. 1991. Graft-transformation, the mechanism for graft-induced genetic changes in higher plants. *Euphytica* 55:91–99.
- Old, K.M. y E.M. Davison. 2000. Canker diseases of eucalypts. In: Keane, P.J., G.A. Kile, F.D. Podger y B.N. Brown, eds. *Diseases and pathogens of eucalypts*. CSIRO Publishing. Collingwood, Australia. p214-257.

- Öquist, G.; Chow, W.S.; Anderson, J.M. Photoinhibition of photosynthesis represents a mechanism for the long term regulation of photosystem II. *Planta*, v.186, p.450-460, 1992.
- Orsato, R. 2009. *Sustainable Strategies: When Does It Pay To Be Green?* Palgrave Macmillan, Basingstoke, Hampshire, UK. 243 p.
- Ozores-Hampton, M., 2013. Healing chamber for grafted vegetables seedlings in florida. University of Florida IFAS Extension Publication no. HS1232 <http://edis.ifas.ufl.edu/hs1232> consultado Septiembre 2016
- Özlem, A., Özdemir, N y Günen, Y.2007. Effect of grafting on watermelon plant Growth, Yield and quality. *Journal of agronomy* 6(2): 362-365.
- Penella, C., Nebauer, S. G., Quiñones, A., San Bautista, A., López-Galarza, S., & Calatayud, A. (2015). Some rootstocks improve pepper tolerance to mild salinity through ionic regulation. *Plant Science*, 230, 12–22.
- Proebsting, W., Hedden, P., Lewis, M., Croker, S., Proebsting, L. 1992. Gibberellin concentration and transport in genetic lines of pea. *Plant Physiol.* 100: 1354-1360.
- Qi,Y., Li , L., Liu ,F., Li, D.2006. Effects of grafting on photosynthesis characteristics, yield and sugar content in melon. *J Shenyang Agr Univ.*37:155-158
- Qinghai, G., Wu, Y., Jia, S.,Huang, S.,Lu, X. 2016. Effect of rootstock on the growth, photosynthetic capacity And osmotic adjustment of eggplant seedlings under Chilling stress and recovery. *Pak. J. Bot.* 48(2): 461-467.
- Reché Mármol, J. 2005. *Cultivo de la judía verde en invernadero*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. España
- Rivard, C., Sydorovych, O., O'Connell, S., Peet, M., Louws, F. 2010. An economic analysis of two grafted tomato transplant production systems in the united states. *Horttechnology*. 4: 794-803.

- Rivard, C., O'Connell, S., Peet, M., Welker, R., Louws, F. 2012. Grafting tomato to manage bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* in the southeastern United States. *Plant Disease*. 96(7): 973-978.
- Romero, C. S. 1988. *Hongos Fitopatógenos*. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México.
- Rouphael, Y., Cardarelli, M., Rea, E. Colla, G. 2009. Improving melon and cucumber photosynthetic activity, mineral composition, and growth performance under salinity stress by grafting onto Cucurbita hybrid rootstocks. *Photosynthetica*. 50(2): 180-188.
- Saied, A., Keutgen, N., Noga, G. 2003. Effects of NaCl stress on leaf growth, photosynthesis and ionic contents of strawberry cvs 'Elsanta' and 'Korona'. In: Pardossi, A., Serra, G., F. (Eds.). *International symposium on managing greenhouse crops in saline environment*, International Society of Horticultural Science. Pisa: 67-73.
- Samaniego Gaxiola, J A; Chávez Rivero, J A; Pedroza Sandoval, A; Trejo Calzada, R; (2013). Tolerancia al Estrés Hídrico y Fitosanitario Mediante Indicadores Agronómicos y Fisiológicos en Diferentes Variedades de Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 31: 91-104.
- Sánchez-Rodríguez, E., Romero, L., Ruiz, J.M. 2013. Role of grafting in resistance to water stress in tomato plants: ammonia production and assimilation. *J Plant Growth Regul* 32: 831.
- Sánchez-Rodríguez E, Rubio-Wilhelmi M, Blasco B, Leyva R, Romero L, Ruiz JM. 2012. Antioxidant response resides in the shoot in reciprocal grafts of drought-tolerant and drought-sensitive cultivars in tomato under water stress. *Plant Sci*. 188–189: 89–96
- Sandalio, L., Dalurzo, H., Gimez, M., Romero-Puertas, M., Rio, L., 2001. Cadmium-induced changes in growth and oxidative metabolism of pea plants, *J. Exp. Bot.* 52: 1297-1303.
- Salinas, M., Camacho, F., Tello, J. 2008. El injerto en el cultivo del tomate como alternativa al uso de bromuro de metilo. SEMARNAT

<http://apps2.semarnat.gob.mx:8080/sissao/images/pdf/TOMATE-BAJA.pdf> Consultado Enero 2017.

Savvas, D., Colla, G., Rouphael, Y., Schwarz, D. 2010. Ameloration of heavy metal and nutriwent stress in fruit vegetables by grafting. *Scientia Horticulturae*. 127(2). 156-161.

Savvas, D., Ntatsi, G, Barouchas, P.2013. Impact of grafting and rootstock genotype on cation uptake by cucumber (*Cucumis sativus* L.) exposed to Cd of Ni stress. *Scientia Horticulturae*. 149: 86-96.

Schaper, H., Chacko, F.1991. Relationship between extractable chlorophyll and portable Chlorophyll meter readings in leaves of eight tropical and subtropical fruit tree species. *J. plant physiology*. 138:674-678

Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y alimentación. http://www.sagarpa.gob.mx/quienesomos/datosabiertos/siap/Paginas/superficie_agricola_protegida.aspx Consultado enero 2017.

Sistema de Información agroalimentaria y pesquera (http://www.gob.mx/siap/datosAbiertos/Estadist_Produc_Agricola/Agt_cierre_2013_2014_diccionario.xls) Consultado diciembre 2016.

Sistema Estadístico de la Organización de las Naciones Unidas por la agricultura y la alimentación FAO (<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>) Consultado enero 2017.

Spoustová, P., Hýsková, V., Müller, K., Schnablová, R., Ryslavá. H., Cerovská, N. Malbeck, J. Cvirková, M., Synková, H. 2015. Tobacco susceptibility to Potato virus YNTN infection is affected bygrafting and endogenous cytokinin content. *Plant Science*. 235: 25-36.

Taller, J., N. Yagishita, and Y. Hirata. 1999. Graft-induced variants as a source of novel characteristics in the breeding pepper (*Capsicum annuum* L.). *Euphytica* 108:73–78.

- Temperini, O.; Calabrese, N.; Temperini, A.; Rouphael, Y.; Tesi, R.; Lenzi, A.; Carito, A.; Colla, G. 2013. Grafting artichoke onto cardoon rootstocks: Graft compatibility, yield and verticillium wilt incidence. *Scientia Horticulturae*, 149: 22-27
- Tlapal Bolaños, Bertha, González Hernández, Héctor, Zavaleta Mejía, Emma, Sánchez García, Prometeo, Mora Aguilera, Gustavo, Nava Díaz, Cristian, Real Laborde, José Ignacio Del, & Rubio Cortes, Ramón. (2014). Colonización de *Trichoderma* y *Bacillus* en Plántulas de *Agave tequilana* Weber, var. Azul y el Efecto Sobre la Fisiología de la Planta y Densidad de *Fusarium*. *Revista mexicana de fitopatología*, 32(1), 62-74
- Torres N., Campostrini, A., Oliveira, E., Gonçalves, J y Yamanishi, O. (2002). Portable chlorophyll meter for the quantification of photosynthetic pigments, nitrogen and the possible use for assessment of the photochemical process in *Carica papaya* L.. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 14(3), 203-210.
- Ulloa, J., Rosas, P., Ramirez, J., Ulloa, E. 2011. El frijol (*Phaseolus vulgaris*) : su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. *Revista Fuente Año* 3(8): 4-9
- Villanueva-Díaz, J., Loredó-O, C., Hernández-R, A. 2001. Requerimientos Hídricos de Especies Anuales y Perennes en las Zonas Media y Altiplano de San Luis Potosí. Folleto Téc. Núm. 12. SAGARPA-INIFAP. San Luis Potosí, S.L.P. 24 pp.
- Vitale, A., Rocco, M., Arena, S., Giuffrida, F., Cassanitu, C., Scaloni, A., Lomaglio, T., Guamaccia, V., Polizzi, G., Marra, M., Leonardi, C. 2014. Tomato susceptibility to *Fusarium* crown and root rot: Effect of grafting combination and proteomic analysis of tolerance expression in the rootstock. *Plant Physiology and biochemistry*. 83: 207- 216.
- Vrsic, S.; Pulko, B.; Kocsis, L. 2015. Factor influencing grafting success and compatibility of grape. *Scientia Horticulturae*, 181: 168-173.
- White, W. 1985. Conceptos básicos de fisiología en frijol. In: Frijol, investigación y producción. Compilado y editado por M. López, F. Fernández y A. Schoonhoven. CIAT. Cali, Colombia. pp. 43-60.

- Xu, C.; Ma, Y.; Chen, H. 2014. Technique of grafting with wufanshu (*Vaccinium bracteatum* Thunb) and the effects on blueberry plant growth and development, fruit yield and quality. *Scientia Horticulturae*, 176: 290-296
- Xu, Q., GHuo, S., Li, L., An, Y., Shu, S., Sun, J. 2016. Proteomics analysis of compatibility and incompatibility in grafted cucumber seedlings. *Plants physiology and biochemistry*. 105: 21-28.
- Yamakawa, B. 1983. Grafting. In: Nishi (ed.). *Vegetable handbook* (in Japanese). Yokendo Book. Co., Tokyo. p. 141-153.
- Yuang, Y., Yu, L., Wang, L., Guo, S. 2015. Bottle gourd rootstock-grafting promotes photosynthesis by regulating the stomata and non-stomata performances in leaves of watermelon seedlings under NaCl stress. *Journal of plant Physiology*. 187. 50-58.
- Zhou B, Gao Y, Lin G, Fu Y .1998. Relationship between disease resistance and electrolytic leakage, proline content and PAL activity in grafted eggplant (in Chinese). *Acta Hort Sinica* 25:300–302.