



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

# **Identificación de QTLs de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) asociados a tolerancia a sequía**

**Víctor Manuel Mayor Duran**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias Agropecuarias  
Palmira, Colombia

2016



# **Identificación de QTLs de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) asociados a tolerancia a sequía**

**Víctor Manuel Mayor Duran**

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

**Doctor en Ciencias Agrarias**

Director:

Ph.D. Bodo Raatz

Codirector:

Ph.D. Carlos Germán Muñoz

Línea de Investigación:

Fitomejoramiento

Grupo de Investigación:

Programa de Mejoramiento de Frijol Andino

Centro Internacional de Agricultura Tropical

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Palmira, Colombia

2016



## **Dedicatoria**

*A Dios Todopoderoso por darme la vida, la salud y una razón para continuar alcanzando mis metas.*

*A mi esposa Camila Hincapié y mis hijos José Manuel Mayor Hincapié y Samuel Mayor Hincapié por su amor y comprensión, dándome muchas alegrías en los momentos en que más lo necesitaba, siendo un aliento para seguir adelante.*

*A mis padres y hermana por su apoyo incondicional en los momentos más importantes de mi vida.*

*A todas la personas que me han respaldado y han creído en mí.*



## **Agradecimientos**

El autor expresa sus agradecimientos a:

Dr. Bodo Raatz, director de mi trabajo de grado, por darme la oportunidad de pertenecer a su equipo de trabajo y apoyarme durante este proceso, siendo pieza fundamental en la consecución de este triunfo.

Dr. Carlos Germán Muñoz, Codirector de mi trabajo de grado, por ser una inspiración y un modelo a seguir en mi vida profesional.

Mis compañeros del grupo de mejoramiento de frijol común Hector Buendía, Elizabeth Portilla, Álvaro Soler, Paulo Izquierdo, Juan Lobaton, Lucy Diaz, Harold Diaz, Eliana Macea y Juanita Gil por tantos momentos de felicidad y por su colaboración y guía en el transcurso del desarrollo de este trabajo.

Al personal del Patio de Frijol, Agobardo Hoyos, Carlos Reyes, Fredy Chacua, Jonathan Chapid, Fabián Hurtado, Manuel, Socorro Solis, Octavio Muñoz, James por su colaboración y paciencia en la toma de datos.



## Resumen

Teniendo en cuenta que la principal causa de la baja productividad en campo es la sequía, y que la mayoría de métodos para contrarrestarle son costosos e inasequibles para los agricultores de bajos recursos, se ha encontrado que el mejoramiento genético es la mejor opción para incrementar o estabilizar la producción de frijol común en condiciones de sequía. Sin embargo el mejoramiento genético convencional puede llevar mucho tiempo y gran cantidad de recursos, por lo cual, una buena opción para disminuir los tiempos en procesos de mejoramiento y aprovechar los recursos es el mejoramiento asistido por marcadores.

El objetivo principal de esta investigación fue evaluar genotípicamente y fenotípicamente líneas de frijol provenientes de cruzas inter acervo, en condiciones de riego suplementario y secano durante dos semestres en la localidad de Palmira. Para el cumplimiento de este objetivo se constituyó una población Andino x Mesoamericano (AxM), la cual fue formada a partir cruzas simples entre 5 líneas tolerantes a sequía de origen mesoamericano y 5 líneas susceptibles a sequia de importancia agronómica en Zimbabwe, utilizando un diseño estadístico Norte Carolina II. Se seleccionaron 190 líneas representando todas las cruzas realizadas para un total de 25 subpoblaciones dentro de la población total.

Después de la evaluación fenotípica se encontró que las mejores líneas en términos de rendimiento para tolerancia a sequia fueron AXM 5, AXM 32 y SER 22. Por otro lado se realizó un genotipaje por secuenciación para los 200 individuos incluyendo los padres, con el fin de realizar un estudio de asociación genética con los datos fenotípicos medidos. Posterior al análisis de las secuencias se obtuvieron 35548 marcadores moleculares tipo SNPs (polimorfismos de un nucleótido) polimórficos para la población de estudio.

Posterior al análisis de asociación se encontraron 37 marcadores moleculares asociados a Días a floración, 23 a días a madurez, 20 a número de vainas por planta, 39 a

X Identificación de QTLs de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) asociados a tolerancia a sequía

---

rendimiento, 33 a peso de cien semillas, 13 a eficiencia de producción de semilla, 24 a índice de cosecha, 9 a índice de cosecha de vaina y 36 a depresión de la temperatura del dosel. Se espera que la información suministrada en este estudio sirva para dar inicio al programa de mejoramiento asistido por marcadores para frijol en condiciones de sequía dentro del Centro Internacional de agricultura tropical ya que aún no se implementa.

**Palabras Clave:** Frijol común, sequia, mejoramiento genético, marcadores moleculares, mejoramiento genético asistido por marcadores, estudio de asociación del genoma (GWAS), genotipaje por secuenciación.

# Contenido

	Pág.
<b>Resumen</b> .....	<b>IX</b>
<b>Lista de figuras</b> .....	<b>XIII</b>
<b>Lista de tablas</b> .....	<b>XVI</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>1. Revisión de literatura frijol común (<i>Phaseolus vulgaris</i>)</b> .....	<b>3</b>
1.1 Mejoramiento genético vegetal.....	3
1.2 Defenición y características de frijol común ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ).....	4
1.3 Descripción de la especie <i>Phaseolus vulgaris</i> .....	4
1.4 Etapas de desarrollo .....	5
1.5 Origen, domesticación e historia evolutiva .....	6
1.6 Generalidades de la sequía.....	7
1.6.1 Efectos de la sequía en frijol común ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) .....	9
1.6.2 Mecanismos de tolerancia a sequía y criterios de selección en frijol común ....	9
1.6.2.1 Escape a la sequía.....	9
1.6.2.2 Tolerancia a la sequía con un alto potencial hídrico .....	10
1.6.2.3 Tolerancia a la sequía con un bajo potencial hídrico .....	10
1.7 Genética <i>Phaseolus vulgaris</i> .....	11
1.8 Marcadores moleculares y uso en selección asistida por marcadores.....	12
<b>2. Análisis de datos fenotípicos</b> .....	<b>15</b>
2.1 Introducción.....	15
2.2 Metodología .....	16
2.2.1 Material vegetal .....	16
2.2.2 Localización del ensayo y condiciones climáticas .....	18
2.2.3 Diseño experimental y análisis.....	22
2.2.4 Análisis fenotípico.....	22
2.2.5 Caracteres a evaluar .....	23
2.2.5.1 Cuantificación de Índices indicadores de tolerancia a sequia.....	26
2.2.5.2 Análisis de Datos .....	27
2.3 Resultados y discusión.....	27
2.3.1 Implicaciones en mejoramiento genético .....	40
2.4 Conclusiones.....	43
<b>3. Análisis de datos genotípicos</b> .....	<b>45</b>

XII Identificación de QTLs de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) asociados a tolerancia a sequía

---

3.1	Introducción .....	45
3.2	Metodología .....	47
3.2.1	Extracción de ADN y evaluación de SNP .....	47
3.3	Resultados y discusión .....	49
3.3.1	Secuenciación por GBS .....	49
3.3.2	Estructura población.....	53
3.3.3	Estudio de asociación por rasgos.....	57
3.3.3.1	Días a floración.....	58
3.3.3.2	Días a madurez fisiológica.....	66
3.3.3.3	Numero de vainas por planta.....	69
3.3.3.4	Rendimiento (Kilogramos/hectárea).....	73
3.3.3.5	Peso de cien semillas .....	77
3.3.3.6	Eficiencia de la producción de semillas (EPS) .....	83
3.3.3.7	Índice de cosecha (IC) y índice de cosecha de vaina (PHI) .....	89
3.3.3.8	Depresión de la temperatura del dosel .....	94
3.4	Conclusiones .....	97
3.5	Recomendaciones .....	98
<b>A.</b>	<b>Anexo: Tabla resumen 2013cs vs 2013cr de características principales .....</b>	<b>99</b>
<b>B.</b>	<b>Anexo: Tabla resumen 2014cs vs 2015ar de características principales .....</b>	<b>103</b>
<b>C.</b>	<b>Anexo: Análisis de modelos mixtos .....</b>	<b>107</b>
	<b>Bibliografía .....</b>	<b>109</b>

## Lista de figuras

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Hábitos de crecimiento de la planta de frijol.....	5
<b>Figura 2.</b> Etapas del Desarrollo de <i>Phaseolus vulgaris</i> .....	6
<b>Figura 3.</b> Diferentes tipos de sequía que se pueden presentar en campo.....	8
<b>Figura 4.</b> De izquierda a derecha: RED CANADIAN WONDER, CAL143, PANNAR 127, NATAL SUGAR, SUG131 (Primera Fila) y SER8, SER16, SER 22, SEC16, SEQ 11 (Segunda Fila).....	17
<b>Figura 5.</b> Condiciones climáticas en la localidad de Palmira durante la estación seca Julio – Octubre de 2013.....	19
<b>Figura 6.</b> Condiciones climáticas en la localidad de Palmira durante la estación seca Julio – Octubre de 2014.....	20
<b>Figura 7.</b> Condiciones climáticas en la localidad de Palmira durante la estación de lluvia 2015.....	21
<b>Figura 8.</b> Distancias de siembra para realización de ensayos.....	22
<b>Figura 9.</b> Mediciones contenido de clorofila en hojas (SPAD) y Temperatura del dosel.	24
<b>Figura 10.</b> Muestreo destructivo de 50 cm de longitud a mitad de llenado de vaina para la cuantificación de algunas diferencias fisiológicas entre los genotipos. ....	25
<b>Figura 11.</b> Separado de hojas, vainas y tallo para después ser llevados ha secado.....	25
<b>Figura 12.</b> Muestreo destructivo de 50 cm lineal del surco a cosecha y separación de tallo semilla y vainas.....	26
<b>Figura 13.</b> Índice de Cosecha (Eje X) VS rendimiento (Eje Y) en el año 2013CS. ....	37
<b>Figura 14.</b> Índice de Cosecha de vaina (Eje X) VS rendimiento (Eje Y) en el año 2013CS. ....	38
<b>Figura 15.</b> Total de lecturas obtenidas a partir de GBS.....	49
<b>Figura 16.</b> Porcentaje de lecturas mapeadas en el genoma referencia de Frijol Común (G19833).....	50

<b>Figura 17.</b> Cantidad de Marcadores moleculares tipo SNP en la población de estudio distribuida por cromosomas .....	51
<b>Figura 18.</b> Densidad de marcadores moleculares tipo SNP encontrados en la población de estudio distribuido por posición dentro de cromosomas demarcado en millones de pares de bases. Lo que se encuentra demarcado en negro son las zonas pericéntroméricas. .	51
<b>Figura 19.</b> Análisis poblacional en el programa STRUCTURE para marcadores moleculares tipo SNP Bialelicos K2. ....	53
<b>Figura 20.</b> Componentes principales demarcando los parentales pertenecientes a los dos acervos. ....	55
<b>Figura 21.</b> Gráfica de los dos primeros Componentes principales generados a partir de datos genotípicos (GBS) .....	56
<b>Figura 22.</b> Gráfica de los dos primeros Componentes principales generados a partir de datos genotípicos (GBS) .....	57
<b>Figura 23.</b> Gráfica Manhattan proveniente de estudio de Asociación para días a floración .....	59
<b>Figura 24.</b> Nivel y tejido en el cual se expresan los genes candidatos asociados número de vainas por planta (O'Rourke et al., 2014), grafica superior cromosoma 2 y grafica inferior cromosoma 1. ....	63
<b>Figura 25.</b> Similitud entre gen Phvul.001G057400 asociado a la característica días a floración él y gen Glyma.U011300.1. ....	65
<b>Figura 26.</b> Gráfica Manhattan proveniente de estudio de asociación para días a madurez fisiológica. ....	66
<b>Figura 27.</b> Gráfica Manhattan proveniente de estudio de asociación para número de vainas por planta. ....	70
<b>Figura 28.</b> Nivel y tejido en el cual se expresan los genes candidatos asociados número de vainas por planta.....	73
<b>Figura 29.</b> Gráfica Manhattan proveniente de estudio de Asociación para Rendimiento (Kg/ha).....	74
<b>Figura 30.</b> Nivel y tejido en el cual se expresan los genes candidatos asociados al rendimiento .....	77
<b>Figura 31.</b> Gráfica Manhattan proveniente de estudio de Asociación para peso de cien semillas lo cual permite estimar tamaño de grano.....	78

---

<b>Figura 32.</b> Nivel y tejido en el cual se expresan los genes candidatos asociados a peso de cien semillas.....	82
<b>Figura 33.</b> Gráfica Manhattan proveniente de estudio de Asociación para Eficiencia de la producción de semillas.....	84
<b>Figura 34.</b> Nivel y tejido en el cual se expresan los genes candidatos asociados a eficiencia de producción de semilla.....	88
<b>Figura 35.</b> Gráfica Manhattan proveniente de estudio de Asociación para Índice de Cosecha.....	90
<b>Figura 36.</b> Gráfica Manhattan proveniente de estudio de Asociación para Índice de Cosecha.....	92
<b>Figura 37.</b> Gráfica Manhattan proveniente de estudio de Asociación para depresión de la temperatura del dosel con respecto a la temperatura del medio ambiente.....	95

## Lista de tablas

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1.</b> Características de los genotipos de parentales utilizados en los cruzamientos.	17
<b>Tabla 2.</b> Análisis de Suelo del lote O2 del Centro Internacional de Agricultura Tropical, donde se realizaron los ensayos.	21
<b>Tabla 3.</b> Estadística descriptiva para las características estudiadas en todos los ensayos realizados	30
<b>Tabla 4.</b> Correlación entre número de vainas por planta y rendimiento para todos los ensayos realizados tanto en sequía como en riego suplementario.	32
<b>Tabla 5.</b> Mejores líneas avanzadas en el tratamiento sequía 2013CS vs otros tratamientos	42
<b>Tabla 6.</b> Mejores líneas avanzadas en el tratamiento sequía 2014CS vs otros tratamientos.	43
<b>Tabla 7.</b> Líneas excluidas de análisis por similitud genética con el parental SEQ11...	54
<b>Tabla 8.</b> Pedigrí de parentales mesoamericanos donantes de genes para tolerancia a sequía.	57
<b>Tabla 9.</b> Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica días a madurez fisiológica.	61
<b>Tabla 10.</b> Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con días a floración en el tratamiento de sequía del 2014C.	62
<b>Tabla 11.</b> Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica días a madurez fisiológica.	67
<b>Tabla 12.</b> Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con días a madurez fisiológica.	69
<b>Tabla 13.</b> Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica número de vainas por planta para el año 2014C en el tratamiento de sequía.	71
<b>Tabla 14.</b> Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con número de vainas por planta.	72

---

<b>Tabla 15.</b> Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica rendimiento para el año 2014C en el tratamiento de sequía. ....	74
<b>Tabla 16.</b> Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con rendimiento en el tratamiento de sequía del 2014C.....	76
<b>Tabla 17</b> Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica peso de cien semillas para los años 2013CS, 2013CR, 2014C y 2015AR.....	79
<b>Tabla 18.</b> Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con peso de cien semillas en los ambientes 2013CS, 2013CR, 2014CS y 2015AR.....	81
<b>Tabla 19.</b> Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica Eficiencia de la producción de semillas para los años 2013CS, 2013CR y 2015AR.....	85
<b>Tabla 20.</b> Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con Eficiencia de producción de semillas.....	87
<b>Tabla 21.</b> Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica índice de cosecha.....	91
<b>Tabla 22.</b> Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con índice de cosecha en el cromosoma 3. ....	92
<b>Tabla 23.</b> Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica índice de cosecha de vaina. ....	93
<b>Tabla 24.</b> Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con índice de cosecha de vaina. ....	94
<b>Tabla 25.</b> Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica depresión de la temperatura del dosel.....	96
<b>Tabla 26.</b> Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con depresión de la temperatura del dosel.....	97



# Introducción

El principal objetivo del fitomejoramiento es el aumentar la calidad y la producción de las diversas fuentes de alimento y/o cultivos con el fin de satisfacer las necesidades alimentarias de la población mundial, por lo cual se requiere conocer y caracterizar a fondo las mismas (Allard, 1978).

El frijol común es una de las más importantes especies dentro del grupo de las leguminosas comestibles, ya que se distribuye en todos los continentes menos Antártida (López, Fernández, & Schoonhoven, 1985). El frijol común es una de las especies cultivadas más antiguas del nuevo mundo junto al maíz y la yuca, haciendo parte del alimento básico de las Américas durante milenios. El frijol común tiene una producción mundial total superior a 23 millones de toneladas métricas al año. América latina y África son los principales productores, aportando con la mitad de la producción mundial (Broughton *et al.*, 2003). Este cultivo es a menudo sembrado donde las condiciones climáticas son desfavorables y los agricultores tienen una disponibilidad mínima de insumos para el mantenimiento de los cultivos. También se ha estimado que el 60% de los cultivos de frijol son cultivados bajo el riesgo de una sequía Intermitente o terminal (White, Singh, Schoonhoven, & Voysest, 1991).

La principal causa de la baja productividad en campo es la sequía, por lo cual a través del tiempo se han venido implementado diferentes técnicas para combatir los efectos de la misma, tales como: el riego suplementario y algunas prácticas agronómicas (empajado, empate, aporque, etc.). Sin embargo, no han sido de gran ayuda, puesto que tales prácticas usualmente tienen un alto costo a causa de la infraestructura y rubros asociados, lo cual impide que los agricultores de bajos recursos accedan a las mismas. Por tal motivo el mejoramiento genético de plantas es la mejor opción para incrementar o estabilizar la producción de frijol común en condiciones de sequía (R. Rosales-Serna, Ramírez-Vallejo, Acosta-Gallegos, Castillo-González, & Kelly, 2000).

Uno de los objetivos del mejoramiento genético es piramidar la mayor cantidad de genes en una línea o variedad que le confieran algún tipo de ventaja en un ambiente determinado (Vallejo & Salazar, 2002) (Allard, 1978), en este caso se busca genes que confieran la tolerancia a sequía, pero también otras características de carácter agronómico, lo cual es de gran importancia en el mercado tales como: color de grano, textura, arquitectura de planta, resistencia a patógenos, etc.

El piramidar genes desde el punto de vista de mejoramiento convencional, podría tomar mucho tiempo y una cantidad muy alta de cruzamientos para llegar a tener los resultados deseados en programas de mejoramiento, por ejemplo, en el caso de enfermedades se debería evaluar cada uno de los genotipos en algún momento del proceso, conllevando a mas área de siembra, dinero y tiempo. En otras características donde la expresión de una condición favorable no responde a un solo gen sino a varios, las probabilidades de obtener genotipos con más de dos genes favorables disminuyen, a menos que se evalúen muchas líneas requiriendo gran cantidad de recursos. El mejoramiento asistido por marcadores permite la selección de características a partir de un marcador molecular y no de la evaluación fenotípica, por lo cual en teoría se podría saber desde la segunda generación de una población cuales individuos tienen las características deseadas y cuáles no (Mohan *et al.*, 1997). El hecho de descartar genotipos sin ser evaluado en campo o en invernaderos puede ahorrar tanto tiempo como dinero en los diversos procesos de mejoramiento genético de plantas.

Este proyecto es de gran innovación científica ya que, a través de una metodología de reciente desarrollo en el mundo, como lo es el análisis de SNPs por “*Next generation sequencers*”, se podrá ubicar regiones en el genoma de frijol que controlen características morfoagronómicas de interés que proporcionen tolerancia a sequía. También se generara un mayor conocimiento y comprensión de la estructura genética de la líneas seleccionadas, además esta información será incorporada al programa de mejoramiento genético de frijol en el Centro Internacional de Agricultura Tropical para aumentar la productividad de nuevas líneas.

# **1.Revisión de literatura frijol común (*Phaseolus vulgaris*)**

## **1.1 Mejoramiento genético vegetal**

La humanidad depende en gran porcentaje de las plantas para su alimentación y se puede aseverar que sin excepción todo lo que consume o es vegetal o deriva directamente del reino vegetal, un ejemplo claro de ello es la carne, la cual es producida en un 99% en tierra firme y solo un 1% en el interior del océano. También muchos de los productos que usamos a diario como el papel, ropa, cosméticos, medicamentos, materiales de construcción, etc. Derivan directamente de las plantas.(Vallejo & Salazar, 2002). Teniendo en cuenta lo antes mencionado es claro que el hombre hace más de 1000 años se haya preocupado por mejorar las especies vegetales que usaba para así satisfacer sus diversas necesidades con la menor cantidad de recursos posibles. Sin embargo el fitomejoramiento moderno nace alrededor de 1900 con los descubrimientos de Mendel y los avances en el conocimiento de la genética.(Vallejo & Salazar, 2002) (Allard, 1978).

La producción de alimentos a partir de 1900 ha tenido un gran progreso, el cual ha beneficiado tanto a consumidores como a productores, ya que el mejoramiento genético vegetal ha originado variedades, líneas y/o híbridos cada vez más productivos y con resistencias a diversos patógenos, insectos, frio, calor, salinidad en suelos, baja fertilidad, etc. Permitiendo así que la agricultura sea posible en lugares marginales. Sin embargo es necesario continuar investigando para permanecer supliendo las necesidades alimentarias de la población mundial la cual se encuentra en continuo incremento (Allard, 1978).

## 1.2 Defenición y características de frijol común (*Phaseolus vulgaris*)

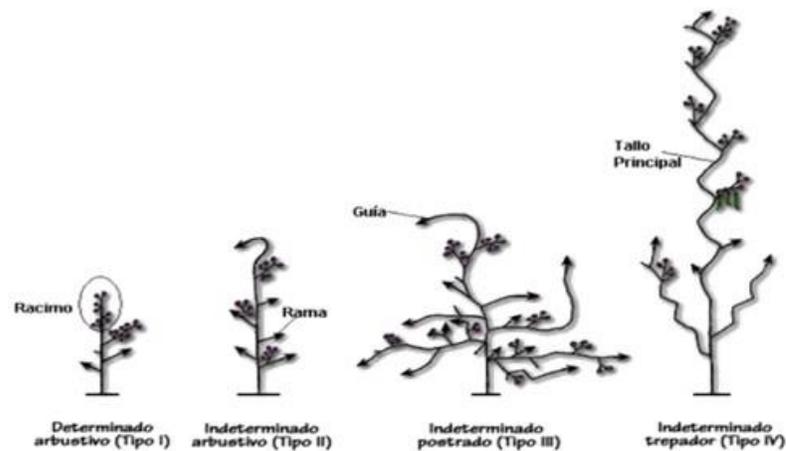
*Phaseolus vulgaris* es la leguminosa más importante para el consumo humano directo en el mundo, representado el 50% del grano de leguminosas consumido mundialmente (Broughton *et al.*, 2003). El frijol común se produce en todos los continentes lo cual la convierte en una especie cosmopolita (P Gepts, 2001).

El frijol común es consumido principalmente en grano seco, sin embargo también se consume en un gran porcentaje como grano verde y en vaina. Cuando se consume en grano seco puede ser una importante fuente de hierro, fosforo, magnesio, manganeso y en menor grado zinc, cobre y calcio (MW Blair, Astudillo, Grusak, Graham, & Beebe, 2008), además de contener el 20% de su peso en proteína, lo cual es de gran importancia en algunas zonas de África y Latinoamérica complementando el excesivo consumo de cereales (P Gepts, 2001) (Broughton *et al.*, 2003).

La producción anual de semilla de frijol es aproximadamente 23 millones de toneladas al año y su rendimiento promedio alrededor del mundo en desarrollo de 700 kg/ha, sin embargo en algunos países el rendimiento se eleva hasta los 2000 a 3000 kg/ha (P Gepts, 2001) (Broughton *et al.*, 2003).

## 1.3 Descripción de la especie *Phaseolus vulgaris*

*Phaseolus vulgaris* es una planta herbácea anual y su hábito de crecimiento puede ser determinado o indeterminado, estos hábitos pueden diferenciarse fácilmente en campo por las características en la terminación del tallo y de las ramas que presenta después de la etapa reproductiva de la planta de frijol. La planta se define como determinada si las ramas y el tallo terminan en racimo, por otro lado se determina indeterminado cuando las ramas y el tallo terminan en un meristemo vegetativo (Debouck & Hidalgo, 1985) (Figura 1).

**Figura 1.** Hábitos de crecimiento de la planta de frijol

Fuente: (Debouck and Hidalgo 1985).

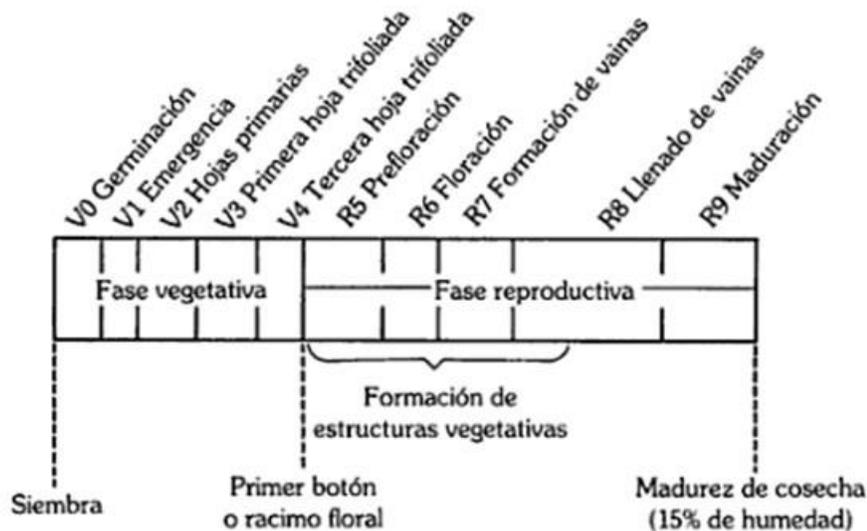
La flor posee 10 anteras y un solo ovario multiovulado y es predominante la autopolinización, su vaina puede ser recta o ligeramente curva y su semilla puede ser redondeada, elíptica, aplanada o alargada (Miklas & Singh, 2007). La unidad de recursos genéticos del CIAT describe ocho grupos de colores los cuales son: Blanco, crema, amarillo, marrón, rosado, rojo, morado y negro donde pueden existir algunas asociaciones entre flores particulares y color de semilla, estos colores a su vez pueden estar asociados tres maneras principalmente las cuales son moteado, jaspeado o rayado. El peso de cien semillas ha determina el tamaño de grano, y se clasifican en pequeños (de 0- 25 gr), medianos (25 – 40 gr) y grandes (desde 40 gr). La combinación de la forma, tamaño, color de la semilla, y combinación entre colores dan origen a clases comerciales, las cuales son fundamentales en el mercado de frijol común en cada región que es consumido (Voyses, 2000).

## 1.4 Etapas de desarrollo

En *Phaseolus vulgaris* se han identificado 10 etapas de desarrollo las cuales se encuentran relacionadas con algunos eventos fisiológicos importantes en la planta, ya que cada etapa tiene inicio en un evento de desarrollo que desencadena cambios fisiológicos en la planta, y cada etapa finaliza donde inicia la siguiente etapa y así sucesivamente (Fernández, Gepts, & Lopez, 1986).

Cada una de las etapas de desarrollo se identifica con un código que consta de una letra y un número, la letra corresponde a la etapa de desarrollo en la que se encuentra, donde “V” corresponde a etapa vegetativa y “R” corresponde a etapa reproductiva. El número va de 0 a 9 y corresponde al momento en que se encuentra cada etapa (Figura 2) (Fernández et al., 1986).

**Figura 2.** Etapas del Desarrollo de *Phaseolus vulgaris*



Fuente: (Fernández et al., 1986).

Las diversas etapas de desarrollo pueden cambiar en términos de su duración ya que el tiempo depende de: el genotipo, el clima, las condiciones del suelo, la luminosidad, sequía, entre otros.

## 1.5 Origen, domesticación e historia evolutiva

La especie *Phaseolus vulgaris* tiene origen en el nuevo mundo, y se ha corroborado por medio de restos arqueológicos hallados en Perú, México y el suroeste de los Estados Unidos (Paul Gepts & Debouck, 1991). Frijol común es una de las cinco especies del género *Phaseolus* domesticadas, este género también incluye: *P. dumosus* (Macfady), *P. coccineus* (Linneo), *P. acutifolius* (Gray), *P. lunatus* (Linneo). De las cinco especies *vulgaris*

es la más importante por su valor nutritivo para el consumo humano y su aceptación en todos los continentes del mundo por diversas culturas (P Gepts, 2001).

En *Phaseolus vulgaris* se definieron dos grandes acervos genéticos: mesoamericano y andino, y la principal característica que los diferencia es la variación en la proteína faseolina, sin embargo también presenta diferencias tanto morfológicas como moleculares (M W Blair *et al.*, 2006). Estos acervos a su vez fueron divididos en 6 razas donde el acervo andino lo constituyen las razas Nueva Granada, Chile y Perú, por otro lado el acervo mesoamericano es constituido por las razas Durango, Jalisco, Mesoamérica y Guatemala la cual fue en la última década (Matthew W. Blair, Diaz, & Acosta-Gallegos, 2013)(Voyses, 2000)(Matthew W Blair, Soler, & Cortés, 2012). *Phaseolus vulgaris* después de su domesticación en América Central, se ha extendido a otras zonas de América y aun a otros continentes, en primera instancia a Europa y posteriormente a África, Asia y Oceanía (Miklas & Singh, 2007)

## 1.6 Generalidades de la sequía

El agua es necesaria para el crecimiento y mantenimiento de cualquier ser vivo y por ende su reproducción, por lo cual la producción de un cultivo depende en gran porcentaje de la disponibilidad del recurso agua. El agua a su vez forma parte fundamental de diversos procesos fisiológicos ya que es utilizada por las plantas como: reactivo en la fotosíntesis, elemento estructural, medio de transporte y es fundamental en la regulación de la temperatura (López *et al.*, 1985).

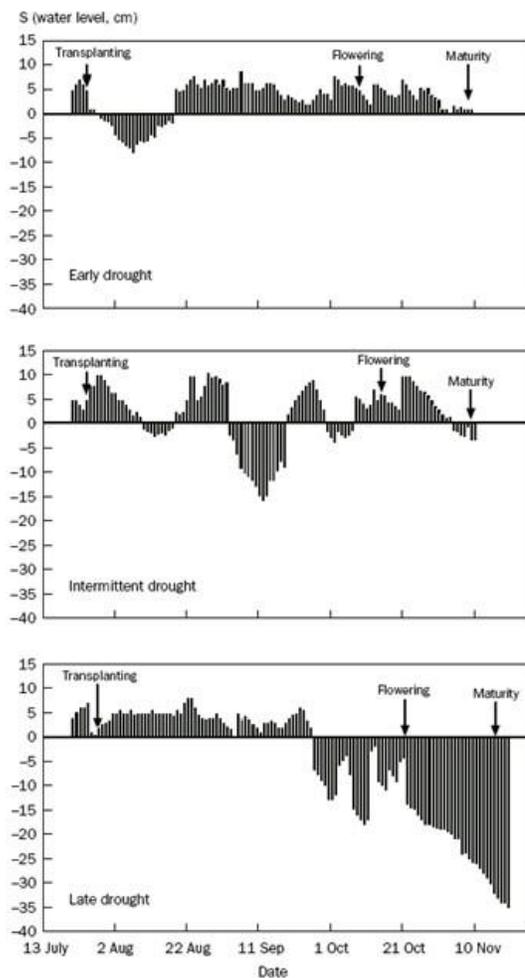
La falta de agua en el desarrollo de la planta puede afectar en gran manera el crecimiento de la planta y por ende la producción de los cultivos. Actualmente alrededor del mundo los impactos de la sequía y el aumento de la temperatura a causa del cambio climático sobre la producción de los cultivos, ha sido el centro de estudio en muchas especies ya que se ha convertido en una problemática que requiere urgente solución (Mishra & Cherkauer, 2010) (Baethgen, 2010) (Huntingford, Lambert, Gash, Taylor, & Challinor, 2005).

Un estudio en el Instituto internacional de investigación en arroz fue determinado que el rendimiento del arroz disminuyó en un 10% por cada grado centígrado que se incrementó en las estaciones secas de Estados Unidos (Peng *et al.*, 2004). Algunos modelos

estadísticos que se han basado en cultivos han mostrado que el rendimiento en grano puede disminuir entre un 2.5% y 16% en promedio, por cada grado centígrado que aumenta en la temperatura estacional (Mishra & Cherkauer, 2010).

Actualmente se han identificado tres tipos de Sequia los cuales son: sequia temprana que se caracteriza por tener escasas de agua dentro de los primeros 15 días después de siembra teniendo en cuenta que es necesario el riego de germinación, Sequia intermitente que se caracteriza por tener periodos de sequía cortos a través del todo el ciclo fenológico y finalmente sequia terminal la cual se caracteriza por tener un periodo largo sin agua en floración y llenado de grano.

**Figura 3.** Diferentes tipos de sequía que se pueden presentar en campo



### **1.6.1 Efectos de la sequía en frijol común (*Phaseolus vulgaris*)**

El efecto del déficit de agua en el frijol común depende en gran porcentaje de la etapa de desarrollo en la que se encuentre la planta y la duración del stress. Se ha comprobado que la etapa reproductiva en frijol común es la más sensible a condiciones de sequía desde prefloración hasta llenado de vainas, y esta sensibilidad es principalmente a causa de la demanda de nutrientes por la estructura reproductiva (Acosta-Díaz, Trejo-López, Ruiz-Posadas, Padilla-Ramírez, & Acosta-Gallegos, 2004). Por tal razón la sequía puede llegar a causar reducción en el rendimiento, biomasa, número de semillas totales y tamaño de grano hasta en un 60% (Acosta-Díaz et al., 2004; R. Rosales-Serna et al., 2000)

### **1.6.2 Mecanismos de tolerancia a sequía y criterios de selección en frijol común**

En frijol común se han definido diferentes mecanismos de tolerancia a estrés hídrico que a su vez están ligadas a características morfológicas o fisiológicas. Algunos de los mecanismos usados por las plantas son:

#### **1.6.2.1 Escape a la sequía**

La posibilidad que una planta de frijol común tenga dentro de su ciclo fenológico una madurez temprana o tardía, puede conferir tolerancia al estrés hídrico para así completar totalmente su ciclo fenológico.

Madurez temprana o precocidad: Este mecanismo es bastante útil en la tolerancia a sequía, ya que algunas veces el cultivo empieza su ciclo fenológico con un cantidad de agua suficiente para el normal desarrollo y a medida que pasa el tiempo el recurso agua va disminuyendo (Sequia terminal), por lo cual la planta que tenga la capacidad de acelerar su proceso de maduración podrá aprovechar el agua residual en los suelos cumpliendo con su total desarrollo. (Rigoberto Rosales-Serna et al., 2004).

Madurez tardía o recuperación: Este mecanismo es útil cuando al inicio o mitad del ciclo fenológico hay un déficit de agua, pero posterior a este periodo viene una buena cantidad de agua, permitiendo que la planta se recupere y pueda completar su ciclo fenológico con rendimientos aceptables (White et al., 1991)

### **1.6.2.2 Tolerancia a la sequía con un alto potencial hídrico**

En la tolerancia a sequía en términos fisiológicos pueden influir diversos factores como lo son el crecimiento de las raíces y algunas modificaciones en la parte foliar como el área foliar, apertura estomatal, contenido de clorofila, etc.

Se ha demostrado que la tolerancia a sequía puede estar asociada al crecimiento de una raíz la cual se puede dar en volumen o en profundidad. En caso de que el volumen sea mayor la raíz tendrá mayor superficie para tomar agua del suelo, por otro lado si la raíz es profunda podrá acceder a agua que por su profundidad no se seca tan rápido como el agua que se encuentra en la superficie (Sponchiado, 1985).

Por otro lado las modificaciones en las hojas como la reducción del área total, puede estar correlacionado con una reducción en la pérdida de agua, sin embargo al mismo tiempo tendrían una menor área para captar luz solar que es fundamental en el proceso de fotosíntesis y por ende producción de carbono. Esta característica podría ser vista como una desventaja sin embargo es compensada con un grosor de la hoja mayor y una mayor concentración de clorofila (White *et al.*, 1991).

La mayoría de las plantas tienen un patrón diurno en la apertura de estomas ya que poseen un reloj biológico que se los indica, por lo cual la entrada de CO<sub>2</sub> ocurre al mismo tiempo que la fotosíntesis, la cual usa la energía de la luz para incorporar CO<sub>2</sub> de la atmósfera hacia carbohidratos. En condiciones de sequía, es muy común que Frijol común cierre sus estomas con el fin de no perder agua por evapotranspiración en el día, pero al mismo tiempo está limitando la fotosíntesis al impedir la incorporación de CO<sub>2</sub>, ocasionando una baja abrupta en la producción (Herrera, Peña-Valdivia, Aguirre-Rivera, López, & Escamilla, 2007; Mencuccini, Mambelli, & Comstock, 2000). Por otro lado una gran cantidad de ceras epicuticulares y/o tricomas permite que haya una mayor reflectancia de la luz en la hoja, lo cual disminuye la energía absorbida disminuyendo la temperatura del dosel, impidiendo la pérdida de agua (Herrera *et al.*, 2007; White *et al.*, 1991).

### **1.6.2.3 Tolerancia a la sequía con un bajo potencial hídrico**

Los mecanismos mencionados anteriormente le ayudan a la planta de frijol común a no perder y/o a darle un manejo al agua obtenida, es decir, mantener todas las funciones

fisiológicas y de crecimiento activas, sin embargo es necesario estar en presencia de agua. En algunas condiciones de estrés hídrico se puede disminuir el potencial hídrico dentro de la planta, por lo cual el frijol común también puede usar otros mecanismos que le permiten continuar con todos sus procesos tanto fisiológicos como metabólicos.

Mantenimiento de la turgencia: el mantener la turgencia dentro de las células se puede dar por medio de un buen ajuste osmótico que se da lugar cuando hay un incremento de solutos dentro de las células, ya que cuando hay presentes solutos disueltos disminuye la energía libre del agua pudiendo llegar a cero o tomar valores negativos. Es decir a medida que la concentración de los solutos aumenta dentro de la célula, el potencial osmótico se hace más negativo. Este potencial osmótico negativo permitirá que las moléculas de agua de las disoluciones se muevan desde lugares fuera de la célula con poca concentración de solutos a lugares dentro de la célula con mayor concentración de soluto, esto conlleva a que el transporte de agua se a través del potencial osmótico por lo cual la planta no tendrá que gastar energía en la consecución de agua (White and Singh 1991).

## **1.7 Genética *Phaseolus vulgaris***

*Phaseolus vulgaris* es una especie diploide que posee uno de los genomas más pequeños entre todas las especies de leguminosas, tiene aproximadamente entre 450 y 650 Mpb/genoma haploide. Frijol tiene 11 cromosomas (*Phaseolus vulgaris*;  $2n = 2x = 22$ ), los cuales miden entre 1 y 3 milímetros, que pueden ser metacéntricos o submetracéntricos y poseen normal mitosis y meiosis (P Gepts, 2001). Durante algunos estados de desarrollo, cromosomas politécnicos aparecen en diversos tejidos. Por otro lado también el genoma de frijol presenta un 20% de secuencias altamente repetidas (SSR) que se localizan principalmente en las regiones heterocromatina, y el ADN satelital se encuentra alrededor de los centrómeros.

Por medio de estudios de genómica en la especie *Phaseolus vulgaris* se han reconocido algunas familias de genes, un ejemplo de ello son los genes de la actina. Otros ejemplos de familias de genes más grandes son los genes análogos de resistencias y genes que codifican para las kinasas. Además se han identificado diversos genes involucrados en producción de isoflavonas y color de testa (Broughton *et al.*, 2003).

Dentro de los genes que controlan el color de testa se ha encontrado que el color de semilla blanco es controlado por un solo gen y es dominante sobre el verde. El color de testa es controlado por dos pares de genes, RR y CC que producen el color blanco (RC), crema (rC), rojo (Rc) y rosado (rc). La orientación de las venas es controlada también por un par de genes siendo la regular orientación dominante y las venas de color negro son dominantes sobre las cafés (Safari, 1974).

## **1.8 Marcadores moleculares y uso en selección asistida por marcadores**

Para estimar la diversidad genética entre los organismos dentro de una población, normalmente se han usado marcadores morfológicos, sin embargo estos marcadores pueden ser influenciados en la mayoría de los casos, por el medio ambiente. Los marcadores moleculares evitan muchas de las complicaciones de efectos ambientales que actúan sobre marcadores morfológicos, ya que, se analiza directamente la variación a nivel de secuencia o producto de genes simples, por esta razón en la actualidad este tipo de marcadores son los utilizados. Básicamente la importancia de estos se debe a que su herencia puede ser de tipo mendeliano y permite la diferenciación de individuos fácilmente que podría suministrar información acerca de la variabilidad genética, la estructura de las poblaciones, etc. Sin embargo cada marcador molecular posee ciertas características específicas que pueden tener diferencias en términos de niveles de calidad de información y costos. Por lo cual es de suma importancia tener el conocimiento de cada uno de ellos ya que los marcadores moleculares adecuados en una investigación permitirán obtener datos de calidad (Konrad, 1994).

El código genético está compuesto básicamente por 4 nucleótidos representados por letras: A (Adenina), C (Citocina), T (Timina), G (Guanina), y la variación de un solo nucleótido donde es reemplazado por otro es a lo que se le llama SNP (polimorfismo de un solo nucleótido). Los SNP son la variación en la secuencia de más común y en mayor proporción dentro de la información genética de un ser vivo, por lo cual brinda un número ilimitado de diferencias individuales haciéndolo un marcador potencialmente útil (Walker, 2012) (Ganal, Altmann, & Röder, 2009). Actualmente los polimorfismos de un único nucleótido, están siendo usados en diversos estudios como: mapas de ligamiento, análisis

de estructura poblacional, aislamiento de genes, basado en mapas, genética asociativa y fitomejoramiento (Ganal *et al.*, 2009).

Una herramienta importante y de gran utilidad para acelerar el proceso de mejoramiento es la selección asistida por marcadores (SAM), lo cual busca asociar marcadores moleculares a rasgos deseados y posteriormente hacer la selección del marcador y no de la característica fenotípica que se está buscando en un individuo y/o población, principalmente cuando las características son de herencia cuantitativa y puede ser afectadas por el ambiente tal como la tolerancia a sequía. El encontrar asociaciones de características de importancia que confieran resistencias a factores abióticos y/o bióticos con un locus de carácter cuantitativo y o locis de carácter cuantitativo (QTLs siglas del inglés *quantitative trait locus*) permitirá que los procesos de mejoramiento en una población se disminuya en tiempo y en costos.

En frijol común se han estudiado criterios de selección moleculares para tolerancia a sequía en diversas ocasiones, como es el caso de un estudio que realizó Schneider *et al.* En 1997, donde mediante análisis de varianza y regresión múltiple se pudieron identificar nueve RAPDs (ADN polimórfico amplificado al azar), que fueron asociados significativamente a rendimiento en condiciones de sequía para las poblaciones estudiadas (Schneider, Brothers, & Kelly, 1997).

Otro estudio de gran importancia y mucho más reciente donde se usaron marcadores moleculares tipo SNPs, en una población de Líneas endogámicas recombinantes (RIL del inglés "*recombinant inbred lines*") para identificar QTLs asociados a sequía. Donde se construyó un mapa de ligamiento de 1351 cM usando 2122 SNPs, donde pudieron encontrar 14 regiones del genoma asociados a características que podrían conferir tolerancia a sequía (Mukeshimana, Butare, Cregan, Blair, & Kelly, 2014).



## 2. Análisis de datos fenotípicos

### 2.1 Introducción

Se estima que el mejoramiento genético en frijol común es posterior a 1930, en las regiones de México y Brasil. En la región andina antes de 1930 solamente se habían desarrollado ocho estaciones experimentales dedicadas a la investigación agrícola, siete de ellas en el Perú y una en Colombia donde se realizaron los primeros trabajos en mejoramiento genético para frijol común alrededor de 1940. El establecimiento de los programas agrícolas de la fundación Rockefeller en México y Colombia permitió que el mejoramiento en frijol se intensificara (Voysest, 2000). Desde entonces se han venido haciendo investigaciones enfocadas en el mejoramiento de características de importancia agronómica en frijol común. También se han desarrollado algunas resistencias tanto a factores bióticos como abióticos (Acosta-Gallegos & Adams, 1991; Beebe, Rao, Cajiao, & Grajales, 2008; Muñoz-Perea *et al.*, 2006).

El proceso de mejoramiento para tolerancia a sequía en frijol común ha sido lento, Se han obtenido muchos avances en cuanto a los criterios a utilizar para seleccionar líneas tolerantes a estrés hídrico (White *et al.*, 1991). En la actualidad los mejoradores de frijol común basados en las necesidades de los agricultores, han definido el rendimiento como el criterio más claro para seleccionar correctamente genotipos tolerantes a sequía, por lo cual en esta investigación como en otras el rendimiento es una herramienta clave en la selección de líneas avanzadas (Acosta *et al.*, 1999; Acosta-Gallegos & Adams, 1991; Beebe, Rao, Blair, & Acosta-Gallegos, 2013; Terán & Singh, 2002). Algunos investigadores han determinado que la media geométrica es una buena medida para definir tolerancia a sequía como es el caso de Schneider donde en 1997 midió el rendimiento en dos poblaciones, las cuales estaban compuestas por 78 y 95 líneas recombinantes, bajo condiciones de sequía y riego. (Schneider *et al.*, 1997).

A través de mejoramiento convencional se han logrado algunos incrementos en el rendimiento bajo condiciones de stress hídrico por medio de la hibridación entre diversas razas y acervos genéticos. Dentro de las diversas razas encontradas en la especie *Phaseolus vulgaris* se identificaron dos de ellas como fuentes promisorias de genes para tolerancia a la sequía las cuales fueron las razas Jalisco y Durango de México (Acosta et al., 1999; Muñoz-Perea et al., 2006; Rao, 2001). Actualmente se pueden encontrar más de 2000 líneas mejoradas para condiciones de sequía en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Un ejemplo de ello es la línea avanzada BAT 477, la cual es tolerante a sequía y resistente a *Macrophomina phaseolina*, uno de los patógenos del suelo más limitantes en la producción de Frijol común. Otro ejemplo de líneas avanzadas en términos de tolerancia a sequía es SEA 15 que resulto mejor adaptada que BAT 477 para condiciones de estrés hídrico ya que puede traslocar mayor cantidad de fotosintatos a semilla dando como resultado un aumento en el rendimiento (CIAT, 2001). Entre las líneas que actualmente existen para tolerancia a sequia se encuentran las líneas elites DAB (Drought andean vean), SAB (Sequia Andinas Bean), DAN (Drought Andean Nutrition), DAA (Drought Andean Adaptation), SER entre otras.

El presente capítulo tiene como objetivo principal mostrar todos los resultados provenientes de la evaluación fenotípica de la población de estudio que se llevó a cabo en la ciudad de Palmira, tanto en condiciones de riego suplementario como en sequía. Los resultados esperados a partir de esta evaluación, se consideran de gran valor, ya que no solo aportara conocimiento en el ámbito científico sino que también a partir de la selección de líneas tolerantes a sequia ayudara en los procesos de mejoramiento del Centro Internacional de Agricultura Tropical, mitigando los efectos de la sequía en la agricultura.

## **2.2 Metodología**

### **2.2.1 Material vegetal**

La semilla que se utilizó proviene del programa de mejoramiento de frijol andino del CIAT. Constituida a partir de cinco líneas de importancia agronómica en Zimbabwe de acervo genético andino (Red Canadian Wonder, CAL143, SUG131, PAN 127, Natal Sugar), y cinco líneas tolerantes a sequía de acervo genético mesoamericano (SER8, SER16,

SER22, SEC16, SEQ11) (Beebe, Makunde, Blair, Chirwa, & Lungu, 2007) (Figura 4, Tabla 1).

**Tabla 1.** Características de los genotipos de parentales utilizados en los cruzamientos

LINEA	ORIGEN	Color de semilla		Habito	Respuesta a la Sequía
		PSC	SSC		
CAL143	ANDINO	6	2	I	Susceptible
NATAL SUGAR	ANDINO	2	6	I	Susceptible
PAN127	ANDINO	2	6	II	Susceptible
R.C WONDER	ANDINO	6		II	Susceptible
SUG131	ANDINO	2	6	II	Susceptible
SEC16	MESOAMERICANO	6		II	Tolerante
SEQ11	MESOAMERICANO	7	2	II	Tolerante
SER8	MESOAMERICANO	6		II	Tolerante
SER16	MESOAMERICANO	6		II	Tolerante
SER22	MESOAMERICANO	6		II	Tolerante

*PSC: Color primario; SSC: Color secundario: 6.Rojo; 2.Crema; 5.Rosado 7.Morado*

**Figura 4.** De izquierda a derecha: RED CANADIAN WONDER, CAL143, PANNAR 127, NATAL SUGAR, SUG131 (Primera Fila) y SER8, SER16, SER 22, SEC16, SEQ 11 (Segunda Fila).



Con las líneas mencionadas anteriormente se constituyeron 25 poblaciones. Las cuales fueron formadas por cruces simples entre líneas tolerantes a sequía (madres) provenientes de acervo mesoamericano y las líneas de importancia agronómica en Zimbabwe (África) (Padres) provenientes de acervo andino, donde cada una de las madres fue cruzada con los 5 padres utilizando un diseño estadístico Norte Carolina II.

Las 25 poblaciones fueron avanzadas, en épocas de sequía e invierno en los años 2005, 2006 y 2007, donde se realizaron tanto compuestos masales (F1, F2, F3, F4) como selecciones individuales (F5), con el fin de alcanzar líneas en generaciones avanzadas F5:6 y F5:7 y obtener el mayor porcentaje de homocigosis en los genes. Cabe anotar que las selecciones individuales que se realizaron en F5 no estuvieron dirigidas hacia tolerancia a sequía, sino a rasgos morfoagronómicos de alta heredabilidad como: el color de grano, hábito, etc., Utilizando el método de mejoramiento genealógico o pedigri.

La población en F5:6 desarrollada a partir de cruzas entre genotipos mesoamericanos y andinos (AXM) (492 líneas), fueron evaluadas en el año 2008 y 2012. A partir de estas evaluaciones se realizó la selección de 190 individuos, por lo cual la población seleccionada está constituida por los 190 genotipos seleccionados más los 10 parentales, para un total de 200 genotipos. La selección de los 190 genotipos estuvo fundamentada principalmente en el nivel de tolerancia a sequia de cada una de las líneas y su adaptabilidad a la zona de estudio, buscando la mayor diversidad posible dentro de la población.

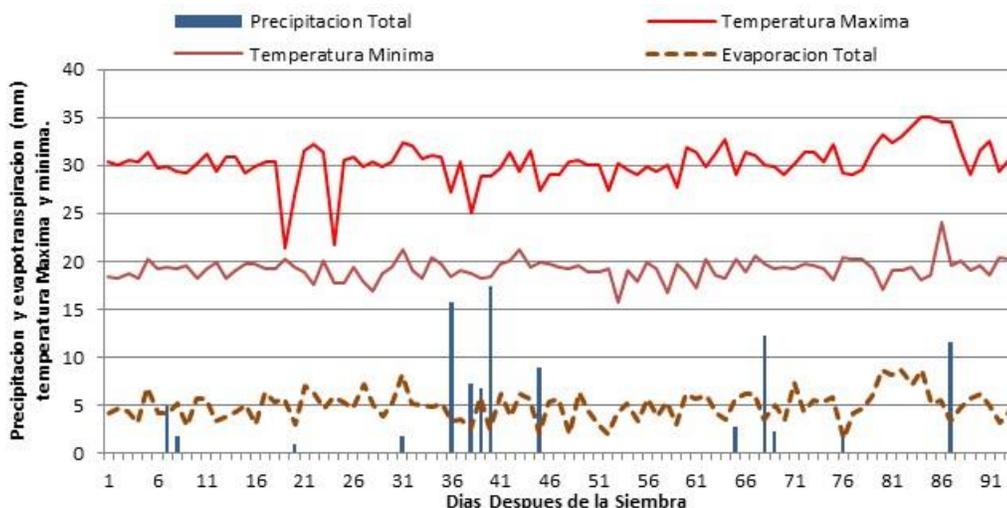
### **2.2.2 Localización del ensayo y condiciones climáticas**

La evaluación y caracterización de la población en campo, se llevó a cabo en la localidad de Palmira-Valle (03°31' N, 76°18' O: 1001 msnm) en el Centro Internacional de Agricultura Tropical en dos ciclos, donde se evaluaron durante épocas de verano entre julio y Octubre del año 2013 (2013C) y 2014 (2014C) en las cuales las plantas se podrían encontrar mayormente estresadas por sequía y calor. Sin embargo en el año 2014 se presentó una alta población de mosca blanca lo que ocasiono una infección masiva del Virus del mosaico común del frijol en el ensayo de riego, por tal razón se repitió el tratamiento de riego en enero del 2015 (2015A). Las fechas de siembra correspondientes fueron: 4 de Julio en el 2013 tanto riego como sequía (Ciclo 1), 23 de agosto en el 2014 el tratamiento de sequía (Ciclo 2) y finalmente el 11 de enero del 2015 el tratamiento de riego (Ciclo 2).

Se realizó un registro de los parámetros climáticos con una estación climatológica Davis *advantage Pro2 Weather station Series 6162C* (David Instrument), en todos los ensayos realizados. La figura 5 corresponde a las condiciones climáticas en la localidad de Palmira durante la estación seca Julio – Octubre 2013 donde se sembró la población de estudio,

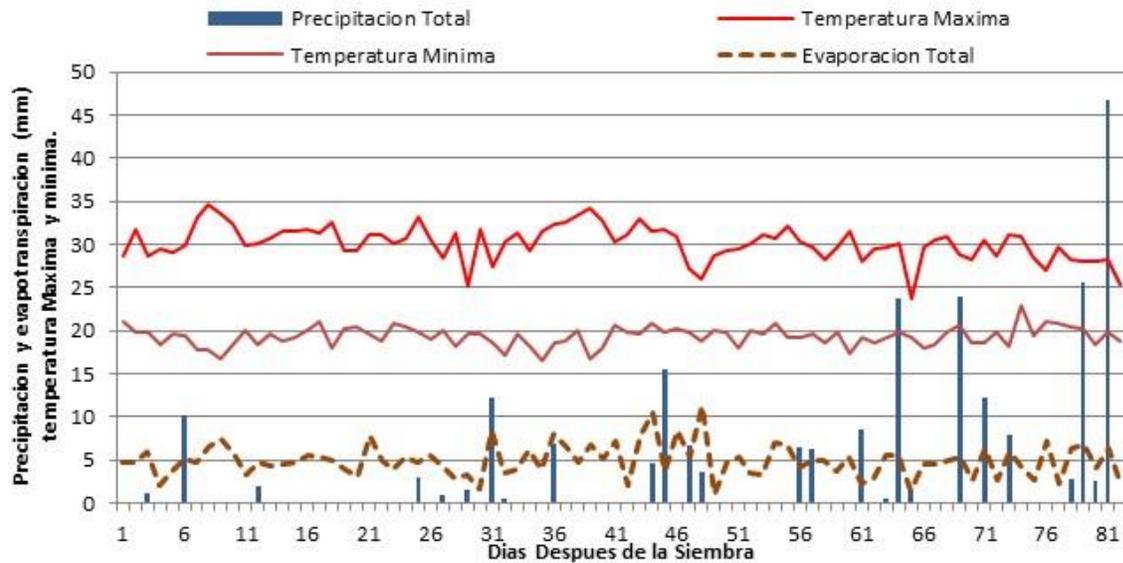
con una temperatura máxima que oscilaba entre los 21.4 y 35 °C, con un promedio de 30.3°C. Una temperatura mínima que oscilaba entre 15.7 – 24°C con un promedio de 19.1 °C. La precipitación total fue de 96.3 mm, distribuidos irregularmente. La evaporación total fue de 459.5 mm, se determinó como sequía intermitente. En el cultivo se realizaron tres riegos por gravedad, uno de ellos fue realizado 4 días antes de la siembra, el segundo fue hecho 10 días después de sembrado y posteriormente se realizó otro riego a los 20 días después de la siembra.

**Figura 5.** Condiciones climáticas en la localidad de Palmira durante la estación seca Julio – Octubre de 2013.



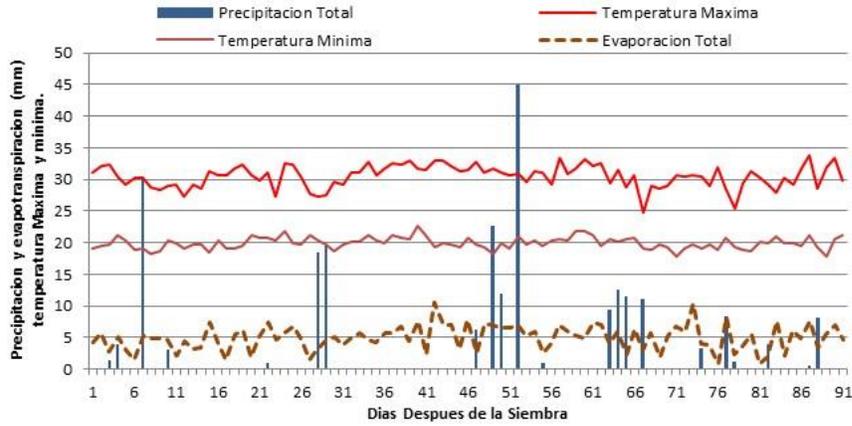
La figura 6 corresponde a las condiciones climáticas en la localidad de Palmira durante la estación seca Julio – Octubre 2014 donde se sembró la población de estudio, con una temperatura máxima que oscilaba entre los 23.8 y 34.6 °C, con un promedio de 30.2°C. Una temperatura mínima que oscilaba entre 16.3 – 23°C con un promedio de 19.2 °C. La precipitación total fue de 238.3 mm, distribuidos irregularmente. Cabe anotar que más del 40% de las lluvias se dieron cuando el cultivo ya estaba a tiempo de cosecha. La evaporación total fue de 407.5 mm, se determinó como sequía intermitente. En el cultivo se realizaron tres riegos por gravedad, uno de ellos fue realizado 4 días antes de la siembra, el segundo fue hecho 9 días después de sembrado y posteriormente se realizó otro riego a los 20 días después de la siembra.

**Figura 6.** Condiciones climáticas en la localidad de Palmira durante la estación seca Julio – Octubre de 2014.



La figura 7 corresponde a las condiciones climáticas en la localidad de Palmira durante la estación seca Enero – Marzo 2015 donde se sembró la población de estudio, con una temperatura máxima que oscilaba entre los 24.7 y 33.8 °C, con un promedio de 30.2°C. Una temperatura mínima que oscilaba entre 16.3 – 23°C con un promedio de 19.2 °C. La precipitación total fue de 235.1 mm, distribuidos irregularmente. La evaporación total fue de 453.5 mm. En el cultivo se realizaron riegos por gravedad, cada vez que el cultivo lo requirió, en total fueron 6 riegos teniendo en cuenta el riego presiembra.

**Figura 7.** Condiciones climáticas en la localidad de Palmira durante la estación de lluvia 2015.



Todos los ensayos fueron realizados en el lote O2 dentro del Centro de Agricultura Tropical, a los cuales no se les realizó ningún tipo de fertilización edáfica, solamente se aplicó foliarmente elementos menores. Ya que las características de suelo son adecuadas para el cultivo de Frijol (Tabla 2).

**Tabla 2.** Análisis de Suelo del lote O2 del Centro Internacional de Agricultura Tropical, donde se realizaron los ensayos.

Localidad	pH	MO (Un)	P- Brayll (mg/kg)	K	Ca	Mg	Al	Na	CIC	S	B	Fe	Mn	Cu	Zn	TEXTURA
				(cmol/kg)					(mg/kg)							
Palmira	7.7	13.2	70.5	0.7	11.5	7.2	0	21	28.4	22.4	1.7	1.2	27.5	0.3	1.2	Arcillo limoso

Determinaciones	Método
pH	pH agua 1:1
MO	Material orgánica Walkey-black espectrom
P-Brayll	Fosforo Bray II espectrometría
K, Ca, Mg, Na	Potasio, calcio, magnesio y sodio intercambiable Ab. At
Al	Aluminio cambiante (KCl 1M) Vol
CIC	Capacidad de intercambio cationico (amonio acetato)
S	Azufre extractable (fosfato de Ca) Turbidímetro
B	Boro en agua caliente (Espectrometría, Azom)
Fe	Hierro, manganeso, cobre, zinc extractable doble ácido de Ab. At
TEXTURA	Bouyoucos

Fuente: Laboratorio de Servicios Analíticos CIAT

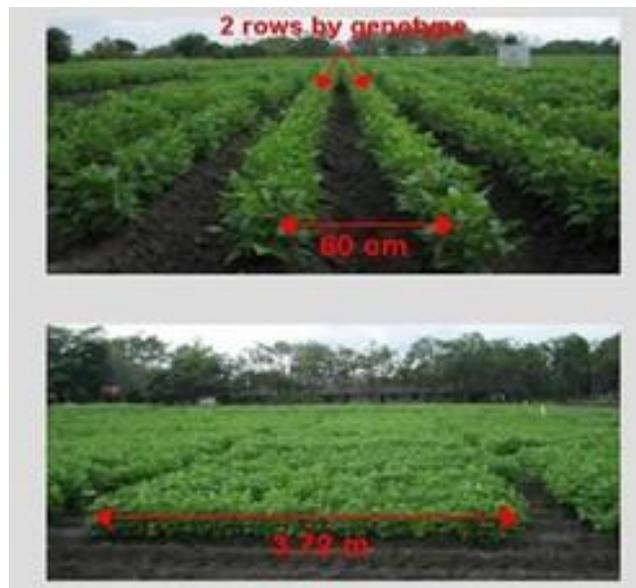
### 2.2.3 Diseño experimental y análisis

Para la evaluación de las 200 líneas seleccionadas se utilizara un diseño alfa lattice 8x25 el cual estará constituido por 25 bloques de 8 individuos, 3 repeticiones en 2 condiciones (riego y sequia). El análisis del ensayo se realizó en el programa SAS Versión 9.3.

### 2.2.4 Análisis fenotípico

Los ensayos de campo se realizaron en surcos lineales. Se plantaron dos surcos de 3.72 metros para cada genotipo por repetición, a una distancia entre surco de 0.60 m, se tuvo una densidad de siembra de 0.075 m entre plantas (Figura 8).

**Figura 8.** Distancias de siembra para realización de ensayos



Fuente: (Rao, Polania, Rivera, & Ricaurte, 2008).

Se realizó de 2 a 3 riegos por gravedad (alrededor de 35mm por riego) dependiendo de las precipitaciones que se presentaron. Estos riegos fueron necesarios para el establecimiento del ensayo en los dos tratamientos: riego y sequía. Los riegos estuvieron repartidos de la siguiente manera: Un riego a los 4 días antes de la siembra, otro de 7 a 10 días después de la emergencia y por ultimo a los 20 días después de siembra.

El tratamiento de control (riego) requirió riegos adicionales en función de las precipitaciones. El tratamiento de sequía no recibió ningún riego adicional. Para los dos tratamientos el manejo agronómico se llevó a cabo por igual, en términos de enfermedades e insectos plagas, teniendo en cuenta sugerencias dadas por Beebe et.al 2013, para ensayos de rendimiento en condiciones de sequía (Beebe et al., 2013).

## 2.2.5 Caracteres a evaluar

**Rendimiento:** Medición en Kilogramos por hectárea producidos por genotipo.

**Humedad de semilla:** Medición dada en porcentaje de humedad, por 240 gramos de semilla. Este dato es fundamental para una buena obtención del rendimiento ya que todos los genotipos no se cosechan con el mismo porcentaje de humedad.

**Peso de cien semillas:** Medición dada en gramos, la cual corresponde al peso de 100 semillas de cada uno de los genotipos, brindando información del tamaño de grano.

Peso de cien semillas:	Hasta 25 gr	= Tamaño pequeño
	25 – 40 gr	= Tamaño mediano
	Mayor de 40 gr	= Tamaño grande

**Días a floración:** Corresponde al número que días que demora el genotipo a partir del día de siembra, en florecer al menos el 50% de las plantas sembradas.

**Días a madurez fisiológica:** Corresponde al número que días que demora el genotipo a partir del día de siembra, en llenar grano a totalidad al menos el 50% de las plantas sembradas.

**Contenido de clorofila en hoja (SPAD):** Fue determinado usando un medidor de clorofila (SPAD-502 ChlorophyllMeter, Minolta Camera Co., Ltd., Japón) no destructivo (Figura 9). El SPAD-502 mide la cantidad relativa de clorofila presente en la hoja por medio de la medición de la absorción de la hoja en dos rangos de longitudes de onda. La Clorofila tiene picos de absorción en regiones de azul (400- 500 nm) y rojo (600-700 nm), y sin ninguna

transmitancia en la región cercana al infrarrojo. El SPAD-502 mide la absorbancia de las hojas de las regiones del rojo y muy cercanas al infrarrojo, y utilizando estas dos transmitancias, el medidor calcula un valor de SPAD (*Soil Plant Analysis Development*), en un rango de 0 a 80 el cual es proporcional a la cantidad de clorofila. La medición se realizó siempre en una hoja joven completamente expandida, y se midieron tres plantas por genotipo dentro de cada repetición en el diseño en época de floración y llenado de vaina (Rao *et al.*, 2008).

**Temperatura del Dosel:** Se determinara usando un termómetro infrarrojo (Figura 9). Esta medición se tomó sosteniendo el termómetro a 50 cm de las plantas con un ángulo de 45° en época de floración.

**Depresión de temperatura del follaje:** Diferencia entre temperatura del dosel y temperatura del medio ambiente (Figura 9). Esta medida es de mucha importancia ya que muestra que tanto la planta está regulando la temperatura en épocas de estrés hídrico. Esta medición se toma en época de floración.

**Figura 9.** Mediciones contenido de clorofila en hojas (SPAD) y Temperatura del dosel.



Fuente: (Rao *et al.*, 2008)

Para la cuantificación de las diferencias fisiológicas en la resistencia a la sequía, se midió una serie de atributos de la planta a través de un muestreo destructivo en la mitad de la etapa de llenado de vaina (Figura 10) y a cosecha (Figura 12). Para la medición de estos atributos, se tomaron 5 plantas lineales de cada parcela seleccionada y se recolectó solo la parte aérea.

**Figura 10.** Muestreo destructivo de 50 cm de longitud a mitad de llenado de vaina para la cuantificación de algunas diferencias fisiológicas entre los genotipos.



En el caso del muestreo a mitad de llenado de vainas, las muestras se colocaron en bolsas de papel para secar en horno a 60°C durante 2 días (Figura 11). Después de secar las muestras, se tomó el peso seco de cada muestra, pesando por separado biomasa total aérea y biomasa de los tallos.

**Figura 11.** Separado de hojas, vainas y tallo para después ser llevados ha secado



En el momento de la cosecha, para medir los componentes del rendimiento, se tomaron de nuevo 50 centímetros de cada parcela (parte aérea). Las plantas se dividieron en tallos y vainas posteriormente se contaron y pesaron las vainas y las semillas por genotipo (Figura 12).

**Figura 12.** Muestreo destructivo de 50 cm lineal del surco a cosecha y separación de tallo semilla y vainas



### 2.2.5.1 Cuantificación de Índices indicadores de tolerancia a sequía

Índice de cosecha (IC): Es un índice para estimar directamente cuanto del vigor o biomasa de la planta en mitad de llenado de vaina fue movilizado a la formación de grano, se expresa en %. Y se estima como el Peso de semilla a cosecha / peso total de la biomasa aérea seca, a mitad de llenado de vaina x 100.

**Índice de cosecha de vaina (PHI) (%):** Este índice explica cuanto de la biomasa de la vaina fue movilizada a la formación de grano, se expresa en %. El PHI se determinara para cada genotipo y es igual a peso de semilla a cosecha/ peso de la vaina a cosecha x 100 (Rao *et al.*, 2008) (Klaedtke *et al.*, 2012) (Assefa *et al.*, 2013).

**Proporción de Biomasa de la pared de la vaina (PBP) (%):** Peso seco de la pared de la vaina a cosecha / peso de vaina a cosecha x 100 (Rao *et al.*, 2008). Este índice explica que tanto de la del peso de la vaina es pared de la vaina.

**Índice de partición de la vaina (IPV):** Este índice que explica cuanto del vigor total de la planta en términos de biomasa fue movilizado a la formación de vainas y se expresa en  $\%$ .  $\text{Peso de la vaina a cosecha} / \text{Peso seco de la biomasa aérea a mitad de llenado de vaina} \times 100$ . Se debe tener en cuenta que esta medida supone que la producción de biomasa máxima es cubierta a la mitad de llenado de vaina y en condiciones de sequía intermitente este índice puede generar valores superiores a 100 (Rao *et al.*, 2008) (Klaedtke *et al.*, 2012).

**Rendimiento de la eficiencia productiva (g g<sup>-1</sup>) (REFP):**  $\text{Peso de la semilla en la cosecha} / \text{peso total biomasa aérea seca a mitad de llenado de vaina}$  (Rao *et al.*, 2008). Este índice explica que tanto de la biomasa es translocada o explica la producción de semilla en términos de biomasa.

**Eficiencia de la producción de semillas (no. g<sup>-1</sup>) (EPS):**  $\text{Numero de semillas por área} / \text{peso seco de biomasa área total a mitad del llenado de vainas}$  (Rao *et al.*, 2008). Este índice explica que tanto de la biomasa va hacia la producción de semilla en términos de número de semillas, ya que un alto número de semillas no siempre indica un alto rendimiento.

#### 2.2.5.2 Análisis de Datos

Se realizó un análisis de varianza de los caracteres evaluados de forma individual y combinada en los ambientes para ello se usara el paquete estadístico SAS (v 9.1.3), con el procedimiento Proc Mix (SAS *Institute*, 2004), también estos resultados fueron comparados con el programa *Plant breeding tools* en el cual se realizaron las aleatorizaciones de los ensayos. Se determinara los coeficientes de correlación simple entre el rendimiento y las otras variables evaluadas en el programa R utilizando el coeficiente de Pearson.

### 2.3 Resultados y discusión

El método de mejoramiento y avance de la población de estudio fue el genealógico o pedigrí modificado, ya que posee diversas ventajas valiosas en un programa de mejoramiento genético como: Destacar los genotipos indeseables en cruza futuras y poder concentrar el esfuerzo en aquellos genotipos de importancia que dejan una progenie

prometedora, permite cultivar un menor número de plantas dentro de cada cruzamiento y estudiar la herencia de los diferentes caracteres (Vallejo & Salazar, 2002). El poder seguir la herencia de características tanto fenotípicas como moleculares es de gran importancia ya que la población a estudiar en un futuro podrá ser usada para mayor cantidad de estudios genéticos. En el caso de la presente investigación el hecho de poder seguir la herencia de características fenotípicas y moleculares fue muy importante ya que esta población fue usada para estudios genéticos de mapeo asociativo

El trabajo tuvo en total 4 ensayos de los cuales dos de ellos fueron realizados en condiciones de sequía y los otros 2 en condiciones de riego. En un inicio se quiso realizar tanto el ensayo de sequía como de riego en dos años diferentes 2013 y 2014 ya que se quería tener la menor variación entre riego y sequía, dentro de un mismo año a causa de la estación. Sin embargo en el año 2014 se perdió el ensayo de riego a causa de una infestación de mosca blanca la que conllevó a tener el 90% del ensayo con sintomatología de Virus del mosaico común y/o *geminivirus*, impidiendo la evaluación tanto de rendimiento como de datos fisiológicos. En cuanto al tratamiento de sequía se pudieron tomar los datos fenológicos y rendimiento, pero no fue posible tomar los datos fisiológicos ya que algunas de las parcelas se encontraban afectadas.

En la tabla 2 se puede ver la estadística descriptiva de las características tomadas en este trabajo para todos los ensayos realizados, las cuales fueron seleccionadas a partir de una revisión bibliográfica de trabajos ejecutados en tolerancia a sequía, que pudiera dilucidar las diferentes estrategias que usa el frijol común para tolerar el estrés hídrico. (Ambachew, Mekbib, Asfaw, Beebe, & Blair, 2015; Assefa *et al.*, 2013; Polania, 2011; R. Rosales-Serna *et al.*, 2000)

Se puede observar que la media del rendimiento del tratamiento de riego del 2013C (2013CR) que fue 1529 Kg/ha, supera el tratamiento de sequía (2013CS) que fue 1451Kg/ha en 78.5 kg/ha. Se realizó una prueba de *t-student* para corroborar si habían diferencias significativas entre ambientes en términos de rendimiento dentro del mismo año y se pudo comprobar que si existen diferencias significativas ( $P(T \leq t)_{una-cola} = 0.0008$ ). La disminución que se presentó en rendimiento entre los tratamientos de sequía y riego eran esperados ya que la sequía puede afectar tanto rendimiento como el tamaño

de grano (R. Rosales-Serna *et al.*, 2000). El mismo efecto se pudo ver reflejado para peso de cien semillas ya que la media del tratamiento riego fue 27.9 gramos y la media del tratamiento sequia fue 25.5 gramos, superándolo aproximadamente en 2.4 gramos, a causa del estrés hídrico (R. Rosales-Serna *et al.*, 2000). En términos de días a floración se puede ver que son similares tanto en riego como en sequia para el año 2013C sin embargo si se compara días a madurez se puede observar que en el tratamiento de sequía (64.7) disminuye en aproximadamente 2 días con respecto al tratamiento de riego (Tabla 3).

Al inicio del proyecto se quiso simular condiciones de sequía terminal, se realizaron riegos hasta los 20 días después de sembrado el cultivo lo cual posiblemente permitió que los días a floración no fueran afectados en gran manera, sin embargo, al momento de días a madurez fisiológica el cultivo llevaba más de 30 días sin ningún riego complementario lo que permitió que el ciclo se acortara. Estos resultados han sido encontrados en muchas otras investigaciones donde el estrés hídrico hace que las plantas de frijol común disminuyan su tiempo fenológico (Beebe *et al.*, 2013; Polania, 2011; R. Rosales-Serna *et al.*, 2000) (Tabla 3).

Los ensayos del 2014C y 2015A, al haberse realizado en estaciones diferentes muchas condiciones ambientales cambiaron lo cual posiblemente ocasiono que los resultados fuesen diferentes a los obtenidos en el año 2013C. Un ejemplo de ello es que la media del rendimiento en condiciones de riego del 2015A (2015AR) es más de 300 kg/ha mayor que la media del tratamiento de sequía del 2014C (2014CS) sin embargo es más baja que la media del tratamiento de sequía del 2013C, por estas razones el hacer comparaciones entre estaciones muchas veces nos puede llevar a introducir mucho ruido estadístico a los datos a causa de cambios ambientales, conllevando a conclusiones equivocadas. Esto conlleva a tomar la decisión que en al momento de comparaciones estadísticas solo se llevaran a cabo dentro del mismo año, es decir 2013CR con 2013CS y en el caso de 2014CS y 2015AR aunque no se hicieron el mismo año se realizaran comparaciones entre ellos ya que solo contamos con estos datos (Tabla 3).

En términos de días a madurez se puede ver que existe una diferencia entre el tratamiento de riego 2015A (69.8 días) y tratamiento sequia 2014C (63.7 días) de 6 días, sin embargo

los días a floración son iguales. Posiblemente al igual que lo discutido para el año 2013C en el momento de floración las plantas no se encontraban lo suficientemente estresadas como para afectar el inicio de su época reproductiva esta disminución en los tiempos de producción ya ha sido encontrada en otras investigaciones (Beebe *et al.*, 2013; Polania, 2011; R. Rosales-Serna *et al.*, 2000) (Tabla 3).

**Tabla 3.** Estadística descriptiva para las características estudiadas en todos los ensayos realizados

Característica	Media	Desviación estándar	Varianza	CV%	Mínimo	Máximo	Frecuencia
<i>DF_13CR</i>	34.0	1.9	3.5	5.5	30.8	38.7	200.0
<i>DF_13CS</i>	34.2	2.1	4.5	6.2	28.0	40.2	200.0
<i>DF_14CS</i>	34.4	1.2	1.4	3.5	30.7	36.1	200.0
<i>DF_15AR</i>	34.4	1.4	2.1	4.2	29.7	37.3	200.0
<i>DPM_13CR</i>	66.2	1.3	1.6	1.9	63.3	69.2	200.0
<i>DPM_13CS</i>	64.7	2.3	5.2	3.5	57.4	68.8	200.0
<i>DPM_14CS</i>	63.6	3.0	9.1	4.7	54.9	67.7	200.0
<i>DPM_15AR</i>	69.8	1.7	2.8	2.4	65.4	74.3	200.0
<i>EPS_13CR</i>	2.3	0.7	0.4	27.9	1.0	5.6	200.0
<i>EPS_13CS</i>	2.7	1.1	1.1	38.8	0.4	9.6	200.0
<i>EPS_15AR</i>	1.9	0.7	0.5	36.8	0.6	4.5	200.0
<i>IC_13CR</i>	64.5	18.4	338.2	28.5	18.1	129.8	200.0
<i>IC_13CS</i>	56.4	19.7	387.2	34.9	20.5	187.3	200.0
<i>IC_15AR</i>	53.6	17.5	304.5	32.6	18.6	119.1	200.0
<i>IPV_13CR</i>	94.3	24.5	599.9	26.0	48.5	190.7	200.0
<i>IPV_13CS</i>	84.1	25.7	659.0	30.5	41.2	228.2	200.0
<i>IPV_15AR</i>	78.0	23.5	550.6	30.1	28.5	184.4	200.0
<i>IRON_14CS</i>	62.2	9.3	86.2	14.9	36.2	103.5	200.0
<i>ZINC_14CS</i>	30.4	6.3	39.9	20.8	18.2	57.8	200.0
<i>PBP_13CR</i>	31.9	6.2	38.2	19.4	19.3	72.6	200.0
<i>PBP_13CS</i>	33.5	6.9	47.4	20.6	18.9	60.3	200.0
<i>PBP_15AR</i>	32.0	4.7	22.1	14.7	18.2	50.9	200.0
<i>PDPL_13CR</i>	62.5	13.0	168.2	20.8	33.0	108.3	200.0
<i>PDPL_13CS</i>	60.2	13.6	185.4	22.6	32.5	102.6	200.0
<i>PDPL_15AR</i>	49.5	13.2	173.5	26.6	19.0	85.3	200.0

Tabla 3 (Continuación)

Característica	Media	Desviación estándar	Varianza	CV%	Mínimo	Máximo	Frecuencia
<i>PHI_13CR</i>	68.1	6.2	38.4	9.1	27.9	80.6	200.0
<i>PHI_13CS</i>	66.5	6.9	47.4	10.3	39.7	81.1	200.0
<i>PHI_15AR</i>	68.0	4.7	22.1	6.9	49.1	81.8	200.0
<i>REFP_13CR</i>	0.6	0.2	0.0	28.5	0.2	1.3	200.0
<i>REFP_13CS</i>	0.6	0.2	0.0	34.9	0.2	1.9	200.0
<i>REFP_15AR</i>	0.5	0.2	0.0	32.5	0.2	1.2	200.0
<i>SCMR_13CR</i>	37.7	4.0	16.2	10.7	25.3	48.9	200.0
<i>SCMR_13CS</i>	42.8	3.6	13.2	8.5	31.0	52.6	200.0
<i>SCMR_14CS</i>	43.0	0.6	0.4	1.5	40.7	45.5	200.0
<i>SCMR_15AR</i>	41.0	1.3	1.6	3.1	36.5	45.0	200.0
<i>TD_13CR</i>	8.1	1.5	2.4	19.1	3.0	11.6	200.0
<i>TD_13CS</i>	6.0	1.8	3.3	30.1	0.5	10.6	200.0
<i>TD_14CS</i>	5.8	1.4	2.1	24.8	1.5	9.5	200.0
<i>TD_15AR</i>	11.5	1.3	1.7	11.5	7.2	14.8	200.0
<i>100SW_13CR</i>	28.0	5.7	32.8	20.5	15.4	53.6	200.0
<i>100SW_13CS</i>	25.6	5.6	31.7	22.0	16.3	44.5	200.0
<i>100SW_14CS</i>	20.7	4.7	22.4	22.9	10.8	42.9	200.0
<i>100SW_15AR</i>	29.4	5.2	27.3	17.8	19.5	49.1	200.0
<i>YDHA_13CR</i>	1508.8	442.4	195679.3	29.3	540.4	2959.1	200.0
<i>YDHA_13CS</i>	1429.0	425.8	181317.0	29.8	304.8	2470.9	200.0
<i>YDHA_14CS</i>	1005.6	459.8	211412.7	45.7	80.0	2406.1	200.0
<i>YDHA_15AR</i>	1363.5	432.9	187394.2	31.7	276.7	2758.4	200.0

DF: días a floración, DPM: Días a madures fisiológica, YDHA: rendimiento, 100SW: Peso de cien semillas, IC: Índice de cosecha, PHI: Índice de cosecha de vaina, TD: depresión de la temperatura de dosel, SCMR: SPAD, REFP: Rendimiento de la eficiencia productiva, PDPL: vainas por planta, IRON: hierro en semilla, ZINC: Zinc en semilla, CARBON: Discriminación del isotopo de carbono, EPS: Eficiencia de la producción de semilla, PBP: Proporción de Biomasa de la pared de la vaina, IPV: Índice de partición de vainas.

Se realizó una correlación utilizando el coeficiente de Pearson para todas las características con rendimiento en todos los ambientes (2013C, 2014C, 2015A) con el fin de observar que características en futuros programas de mejoramiento se pueden utilizar para realizar una buena selección de genotipos tolerantes a sequía en términos de rendimiento, ya que esta característica finalmente es la que me indica que tan tolerante es un genotipo a la sequía (Acosta et al., 1999; Acosta-Gallegos & Adams, 1991).

Se encontró una correlación negativa altamente significativa entre rendimiento y días a floración junto con días a madurez fisiológica para el 80% de los resultados. Sin embargo aquellas correlaciones que no fueron significativas corresponden a años diferentes por lo cual no serían comparables ya que las condiciones ambientales dadas en cada estación pueden ser diferenciales, hubo una excepción en días a madurez fisiológica y rendimiento en la estación 2013C que no fue significativa, sin embargo si se presenta una correlación con días a floración lo que indica que la precocidad podría ser una característica de gran importancia y determinante al seleccionar genotipos en procesos de mejoramiento para tolerancia a sequía. Este resultado ha sido encontrado en estudios anteriores donde el ajuste en el número de días al inicio de la floración y a la madurez fisiológica, favorece el incremento en el rendimiento (R. Rosales-Serna *et al.*, 2000). Por otro lado algunos investigadores han encontrado correlación entre datos fenológicos con rendimiento solo en condiciones de sequía y no con riego suplementario, lo cual difiere con este estudio, este cambio posiblemente se debe a que esta población proviene de cruza mejoradas las cuales han sido seleccionadas para precocidad ya que es un carácter buscado, haciendo que días a floración y a madurez fisiológica sean bajos tanto en riego como en sequía (Polania, 2011; White *et al.*, 1991) (Tabla 4).

**Tabla 4.** Correlación entre número de vainas por planta y rendimiento para todos los ensayos realizados tanto en sequia como en riego suplementario.

Característica	Rendimiento (Kg/ha)			
	13CR	13CS	14CS	15AR
Días a Floración 13CR	-0,3751***	-0,3526**	-0,373***	-0,3545**
Días a Floración 13CS	-0,3582**	-0,2572	-0,3978***	-0,3968***
Días a Floración 14CS	-0,1801	-0,2077	-0,3281**	-0,1951
Días a Floración 15AR	-0,2732	-0,2159	-0,3156**	-0,3158**
Días a Madures 13CR	-0,4242***	-0,3842***	-0,3949***	-0,3491**
Días a Madures 13CS	-0,3736***	-0,2189	-0,3386**	-0,358**
Días a Madures 14CS	-0,3302**	-0,354**	-0,565***	-0,3606**
Días a Madures 15AR	-0,3026*	-0,2914*	-0,3493**	-0,4987***
Eficiencia en la producción de semilla 13CR	0,135	0,121	0,1409	0,2226
Eficiencia en la producción de semilla 13CS	0,2468	0,3215**	0,2252	0,2758

Tabla 4 (Continuación)

Característica	Rendimiento (Kg/ha)			
	13CR	13CS	14CS	15AR
Eficiencia en la producción de semilla 15AR	0,2579	0,1585	0,2372	0,4042***
Índice de Cosecha 13CR	0,3645**	0,271	0,3123*	0,3438**
Índice de Cosecha 13CS	0,3631**	0,4544***	0,3121*	0,2562
Índice de Cosecha 15AR	0,2958*	0,1912	0,2912*	0,3981***
Índice de partición de la vaina 13CR	0,262	0,1526	0,2222	0,2635
Índice de partición de la vaina 13CS	0,2731	0,3426**	0,2256	0,195
Índice de partición de la vaina 15AR	0,2415	0,1451	0,225	0,3219**
Hierro en semilla 14CS	-0,2903*	-0,3146*	-0,3729***	-0,3274**
Zinc en semilla 14CS	-0,4765***	-0,4785***	-0,5718***	-0,2952*
Discriminación de isótopo de carbono en grano 13CS	0,1596	0,107	0,0932	0,1589
Proporción de Biomasa de la pared de la vaina 13CR	-0,4655***	-0,4694***	-0,3775***	-0,3722**
Proporción de Biomasa de la pared de la vaina 13CS	-0,4277***	-0,5053***	-0,3529**	-0,3207**
Proporción de Biomasa de la pared de la vaina 15AR	-0,3672**	-0,3243**	-0,4039***	-0,5186***
Vainas por planta 13CR	0,4056***	0,2952*	0,4371***	0,3262***
Vainas por planta 13CS	0,365**	0,3611**	0,3563**	0,3079*
Vainas por planta 15AR	0,3194**	0,2204	0,2858	0,4217***
Índice de cosecha de vaina 13CR	0,4703***	0,4729***	0,3829***	0,3764**
Índice de cosecha de vaina 13CS	0,4277***	0,5053***	0,3529**	0,3207**
Índice de cosecha de vaina 15AR	0,3672**	0,3243**	0,4039***	0,5186***
Rendimiento de la eficiencia productiva 13CR	0,3663**	0,2719	0,3138*	0,3447**
Rendimiento de la eficiencia productiva 13CS	0,3621***	0,4539***	0,3117*	0,256
Rendimiento de la eficiencia productiva 15AR	0,2952*	0,1899	0,2922*	0,3968***
Lectura de clorofila SPAD 13CR	-0,0539	-0,0542	-0,1108	0,0438
Lectura de clorofila SPAD 15AR	-0,0199	0,0226	-0,0337	0,0128
Lectura de clorofila SPAD 13CS	-0,0994	-0,024	-0,0184	0,019
Lectura de clorofila SPAD 14CS	0,0313	0,0222	0,1329	0,0057

Tabla 4 (Continuación)

Característica	Rendimiento (Kg/ha)			
	13CR	13CS	14CS	15AR
Depresión de temperatura del follaje (C°)	0,2466	0,2369	0,217	0,1069
<b>13CR</b>				
Depresión de temperatura del follaje (C°)	0,3294***	0,4278***	0,2688	0,1094
<b>13CS</b>				
Depresión de temperatura del follaje (C°)	0,3758***	0,3692***	0,4516***	0,2039
<b>14CS</b>				
Depresión de temperatura del follaje (C°)	-0,0142	0,1239	0,0149	0,0271
<b>15AR</b>				
Peso de cien semillas 13CR	0,3009*	0,2164	0,2083	0,1604
Peso de cien semillas 13CS	0,287	0,2843	0,1619	0,1102
Peso de cien semillas 14CS	0,2654	0,178	0,2661	0,0995
Peso de cien semillas 15AR	0,1005	0,0711	0,0847	-0,0633

\*, \*\*, \*\*\* Significancia al nivel de probabilidad 0.05, 0.01 y 0.001 respectivamente

Se presentó una correlación entre número de vainas por planta y rendimiento, lo cual se esperaba, ya que al tener mayor cantidad de vainas, probablemente se tendrá mayor cantidad de semilla, lo cual conllevará a incrementar el rendimiento, este resultado fue encontrado en otros estudios donde tanto el número de vainas por planta como el número de granos por vaina se encuentran relacionados con rendimiento en genotipos mesoamericanos (Valderrama, Ñustez, & Duarte, 1997), y aunque la población no es 100% mesoamericana muchos de los genes del acervo han sido introgresados a causa de los cruzamientos inter-acervo. Sin embargo esto no es predominante en la especie ya que un número de semillas alto no siempre indica altos rendimientos ya que depende también del tamaño de semilla.

La eficiencia de la producción de semilla presentó una correlación positiva significativa con rendimiento en los años 2013CS y 2015AR. Este índice explica, en cuanto la biomasa de la planta a mitad de llenado de vaina se ve reflejada en producción de semilla en términos de número de semillas. Aunque se ha comprobado que la biomasa aérea (tallos, hojas y vainas) aportan en gran manera al rendimiento en términos de biomasa a causa de la translocación de fotosintatos a semilla (Klaedtke *et al.*, 2012; Rigoberto Rosales-Serna *et*

*al.*, 2004), no se ha encontrado una relación clara entre número de semillas y la biomasa, ya que el número de semillas aunque se espera que sea una característica que aporta a rendimiento, en muchos genotipos la pérdida se da no en número de semillas sino en biomasa de la semilla (tamaño). Esta característica entonces no es de gran relevancia en la selección de materiales tolerantes a sequía. Sin embargo en este estudio se presentó una correlación positiva en dos ambientes dentro de ellos mismos más no con otros ensayos, esta correlación podría indicar que los genotipos evaluados, la pérdida que sufren podría estar en términos de número de semillas al igual que en biomasa (tabla 4).

En cuanto al Índice cosecha la correlación entre esta característica y rendimiento se dio en todos los ambientes evaluados, sin embargo la mayor correlación y más significativa se dio en el tratamiento 2013CS, este resultado no es más que la confirmación de lo ya demostrado en muchos estudios anteriores a este (Beebe *et al.*, 2013; Klaedtke *et al.*, 2012; Polania, 2011; Rigoberto Rosales-Serna *et al.*, 2004). Se debe tener en cuenta que esta medida supone que la producción de biomasa máxima es cubierta a la mitad de llenado de vaina y en condiciones de sequía intermitente esta premisa puede cambiar a causa de proceso fisiológicos de la planta. Por otro lado a causa del manejo de tantas muestras, el muestreo se tomó en un mismo día, y en muchos casos algunos genotipos no se encontraban en la producción máxima de biomasa. Esto conlleva a que en algunos casos el índice de cosecha sea mayor a 100%. El rendimiento de la eficiencia productiva se calcula de manera igual solo que el índice de cosecha se da en porcentaje, por lo cual, lo discutido en este párrafo se tendrá en cuenta las dos características (tabla 4) (Figura 13).

La mayoría de las plantas tienen un patrón diurno en la apertura de estomas ya que poseen un reloj biológico que se los indica, por lo cual la entrada de CO<sub>2</sub> ocurre al mismo tiempo que la fotosíntesis, la cual usa la energía de la luz para incorporar el carbono proveniente del CO<sub>2</sub> de la atmósfera hacia carbohidratos. En condiciones de sequía, es muy común que Frijol común cierre sus estomas con el fin de no perder agua por evapotranspiración en el día, pero al mismo tiempo está limitando la fotosíntesis al impedir la incorporación de CO<sub>2</sub>, ocasionando una baja en la producción (Herrera *et al.*, 2007; Mencuccini *et al.*, 2000), esta baja en la producción de Carbono ocasiona entonces que la planta tenga que utilizar el carbono que ya ha metabolizado durante su crecimiento, o en los momentos de su ciclo

donde ha tenido la suficiente agua para realizar su proceso de fotosíntesis normalmente. Es aquí donde la removilización de fotosintatos de otros tejidos hacia llenado de grano puede jugar un papel importante en la tolerancia a sequía.

Tras las diversas evaluaciones realizadas en el CIAT se han identificado dos tipos de líneas que usan diversas estrategias para tolerar sequía, estos grupos se identifican como ahorradores y gastadores, y se les llama de esta manera a causa de su uso de agua y atributos como la discriminación de isotopo de carbono, profundidad de raíz y removilización de fotosintatos.

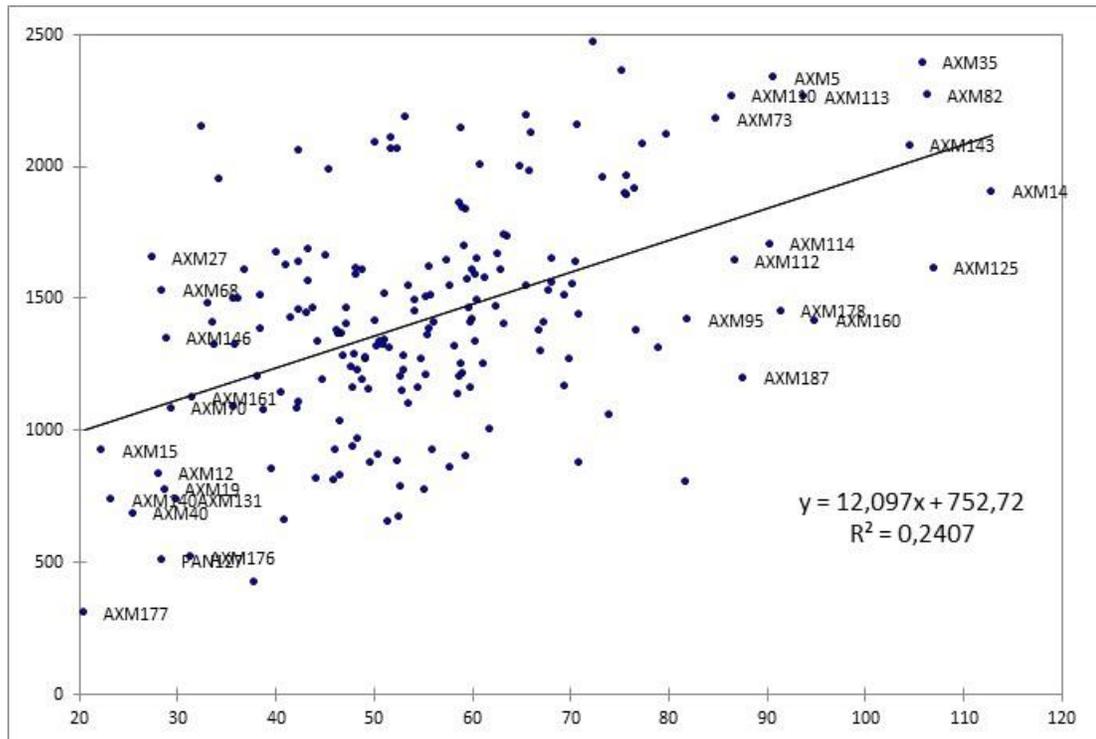
Los genotipos ahorradores se logran identificar por características en su morfología y fisiología que les permite ahorrar agua en épocas de sequía como una menor apertura de estomas y hojas reducidas entre otras. Lo cual las hace muy eficientes para removilizar el carbono de la parte aérea a la producción de grano. Este tipo de genotipos son muy apropiados para ambientes semiáridos o subhúmedos los cuales se pueden encontrar en Centroamérica, África y el sur de México.

Por otro lado los gastadores cuentan con un sistema de raíces profundas que le maximizan la capacidad de extraer agua para facilitar el llenado de grano y la continua producción de carbono por medio de fotosíntesis. Estos materiales son apropiados para ser cultivados en áreas con presencia de sequía intermitente como Centroamérica, Suramérica y África. Principalmente donde las lluvias son intermitentes y los suelos cuentan con buena capacidad de almacenamiento de agua (suelos arcillosos) (Assefa *et al.*, 2013; Beebe *et al.*, 2008; Klaedtke *et al.*, 2012; Miklas, Kelly, Beebe, & Blair, 2006; Polania, 2011).

Los genotipos con mayor índice de cosecha en 2013CS que fue el año donde más se presentó correlación con rendimiento fueron: AXM14, AXM125, AXM35, AXM82, AXM143, AXM5, AXM113 y AXM160 (figura 13). Lo que indica que están removilizando fotosintatos de la biomasa aérea hacia producción de semilla, por otro lado los genotipos AXM5 y AXM35 se encuentran entre los mejores 10 genotipos en términos de rendimiento ubicándolos dentro del grupo de genotipos ahorradores (Tabla 5), y dándoles cierta ventaja para tolerar sequia eficientemente. Este resultado indica que efectivamente una buena

removilización es de gran importancia a la hora de seleccionar genotipos para tolerancia a sequía.

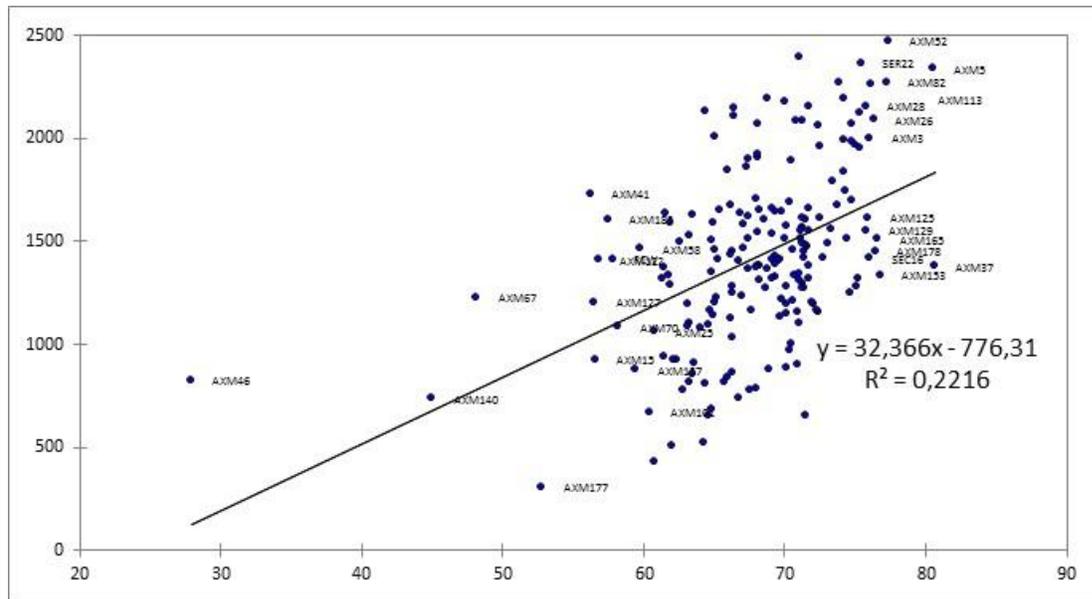
**Figura 13.** Índice de Cosecha (Eje X) VS rendimiento (Eje Y) en el año 2013CS.



Las otras características evaluadas que se encuentran relacionadas con movilización de fotoasimilados de la biomasa aérea a producción de semilla, tales como Índice de partición a vaina que indica la removilización de estructuras aéreas a la formación de vaina, el índice de cosecha de vaina que indica la removilización de la pared de la vaina a la formación de semilla, mostraron igualmente una correlación significativa y positiva con producción de grano bajo condiciones de sequía y riego suplementario, destacando la importancia que tiene la movilización de fotoasimilados en la producción de frijol y por ende en la selección de genotipos tolerantes a sequía. Este resultado es nuevamente corroboración de lo ya demostrado en otros estudios donde se ha encontrado la importancia de los índices que están relacionados con removilización de fotoasimilados a la producción de semilla (Ambachew *et al.*, 2015; Assefa *et al.*, 2013; Beebe *et al.*, 2013; Miklas & Singh, 2007; Mukeshimana *et al.*, 2014; Muñoz-Perea *et al.*, 2006; Muñoz-Perea, Allen, Westermann, Wright, & Singh, 2007; Polania, 2011; Ramirez-Vallejo & Kelly, 1998; Rao *et al.*, 2008;

Rigoberto Rosales-Serna *et al.*, 2004). En este caso la removilización de la pared de la vaina hacia formación de grano es fundamental, ya que la pared de la vaina al ser el tejido más cercano al grano, le permite a la planta no tener que invertir demasiada energía a la removilización de fotoasimilados a semilla.

**Figura 14.** Índice de Cosecha de vaina (Eje X) VS rendimiento (Eje Y) en el año 2013CS.



Una de las características más importantes que se midió en este experimento fue índice de cosecha de vaina, ya que ha tenido una alta correlación con rendimiento en condiciones de sequía (Tabla 4) en este trabajo y también en otras investigaciones (Ambachew *et al.*, 2015; Assefa *et al.*, 2013; Klaedtke *et al.*, 2012; Mukeshimana *et al.*, 2014; Polania, 2011). Esta característica básicamente mide el porcentaje de removilización de fotosintatos desde la pared de la vaina hacia semilla, basado en la biomasa tanto de la pared de la vaina como de la semilla. Se encontró una media para los tratamientos de riego tanto del 2015A como 2013C valores de 68% sin embargo para el tratamiento de sequía del 2013 fue un valor de 66% indicando que hubo una menor removilización de fotosintatos de la pared de la vaina a semilla en sequía, sin embargo se presenta una alta correlación entre esta característica y rendimiento para todos los años evaluados (Tabla 3 y 4).

Los genotipos con mayor índice de cosecha de vaina en 2013CS que fue el tratamiento donde más se presentó correlación con rendimiento (0,5053\*\*\*) fueron: AXM52, AXM5, AXM82, AXM113, AXM28, AXM26, AXM3 y SER22. Lo que indica que están removilizando fotosintatos de la biomasa de la pared de la vaina hacia producción de semilla, por otro lado los genotipos AXM5, AXM82, AXM52, AXM113 y SER 22 se encuentran entre los mejores 10 genotipos en términos de rendimiento ubicándolos dentro del grupo de genotipos ahorradores (Tabla 5), y dándoles cierta ventaja para tolerar sequía eficientemente. Los más destacados en este grupo son SER22 y AXM5 que tanto en condiciones de sequía como en condiciones de riego suplementario se encuentra dentro de los 15 primeros genotipos en términos de rendimiento. Una vez más este trabajo demuestra que la removilización de fotosintatos de biomasa a producción de semilla es una característica apropiada para la selección de genotipos tolerantes a sequía (CIMMYT, 2013).

En cuanto a la depresión de la temperatura del follaje se presentó una correlación positiva significativa solamente en los tratamientos de sequía y esto posiblemente se debe a que uno de los roles fundamentales de la transpiración en las plantas es la regulación de temperatura de las hojas, por lo cual la depresión de la temperatura del follaje con respecto a la temperatura ambiente es indicador que la planta por medio de la transpiración está cumpliendo adecuadamente su rol de regular temperatura y/o refrigerar las hojas, esta transpiración solo se puede realizar en presencia de agua lo que indica que los genotipos que están regulando temperatura podrían tener una mayor captación de agua en épocas de sequía, ya sea por raíces profundas o por cambios osmóticos en las células de la raíz (Amani, Fischer, & Reynolds, 1996; Feng *et al.*, 2009). Por lo cual la temperatura del follaje refleja una interacción continua entre planta, suelo y atmosfera.

La correlación encontrada en este estudio es una corroboración de lo ya encontrado en otros cultivos donde la baja temperatura del follaje se encuentra relacionada con altos rendimientos (Amani *et al.*, 1996; Feng *et al.*, 2009; Fischer *et al.*, 1998). Esta relación se debe posiblemente a procesos fisiológicos o características morfológicas que le permiten a las plantas acceder a agua, conllevando a una respiración normal y a la producción de carbono lo cual conlleva a una mayor producción (CIMMYT, 2013). Sin embargo se pudo ver que los genotipos con mayores rendimientos son líneas que están removilizando

fotosintatos de biomasa aérea a producción de semilla, ubicándolos dentro de los genotipos ahorradores. Al encontrar una correlación positiva de depresión de la temperatura del follaje con rendimiento me indica que los mejores genotipos también están transpirando, lo cual podría indicar una combinación de diferentes estrategias para tolerar sequía.

El SPAD-502 mide la cantidad relativa de clorofila presente en la hoja por medio de la medición de la absorción de la hoja en dos rangos de longitudes de onda. La Clorofila posee dos picos de absorción en regiones de azul (400- 500 nm) y rojo (600-700 nm), y sin ninguna transmitancia en la región cercana a la infrarroja. El SPAD-502 mide la absorbancia de las hojas de las regiones del rojo y muy cercanas al infrarrojo, y utilizando estas dos transmitancias, el medidor calcula un valor de SPAD (*Soil Plant Analysis Development*), en un rango de 0 a 80 el cual se ha demostrado en estudios previos que es proporcional a la cantidad de clorofila en la planta (Babar *et al.*, 2006; Uddling, Gelang-Alfredsson, Piikki, & Pleijel, 2007). En este estudio no se pudo encontrar correlación entre las mediciones de SPAD y rendimiento lo cual también ha sido encontrado en otros estudios. Sin embargo si se presentó un aumento en la media del tratamiento de sequía del 2013C de 5 unidades con respecto al tratamiento de riego del mismo año, esto posiblemente se debe a que las plantas en condiciones de sequía disminuyen su área foliar al tener una restricción hídrica en la producción de carbono, aumentando la concentración de clorofila en hojas. Aunque en este estudio no se midió área foliar lo podemos sugerir a causa de estudios anteriores (Polania, 2011; Rigoberto Rosales-Serna *et al.*, 2004).

### **2.3.1 Implicaciones en mejoramiento genético**

Aunque el objetivo principal de esta investigación es encontrar relaciones entre características fenotípicas y genotípicas con el fin de conocer regiones que estén controlando una o más características dentro del genoma, es de gran importancia demarcar aquellos genotipos que sobresalieron en las evaluaciones realizadas ya que estas líneas pueden ser de gran importancia en programas de mejoramiento, no solo como líneas avanzadas elites sino también como fuentes de genes de interés principalmente aquellos genes que se encontraron relacionados con características que confieren tolerancia sequía. Se seleccionó el tratamiento de sequía del año 2013CS ya que fue la

sequía más agresiva entre los dos años evaluados para tener como punto de comparación con los demás tratamientos (Tabla 5 y 6).

Los rendimientos más altos en el ensayo de sequía del 2013C fueron los de las líneas AXM 52, AXM 172 y AXM 35 con rendimientos de 2136, 1805.1 y 1778 Kg/Ha e hijas de las líneas SER16, SEQ11, SER16 respectivamente (Tabla 5), sin embargo el tamaño de grano el cual está siendo reflejado por el peso de cien semillas es mediano para AXM 52 y AXM 35 y para AXM 172 es de tamaño pequeño lo cual no es muy deseado en términos de mejoramiento de líneas andinas ya que el mercado andino está liderado por granos entre mediano y grande (Voysset, 2000). Estas líneas a su vez estuvieron dentro de las 10 primeras en cuanto a rendimiento en el tratamiento de sequía del 2014 confirmando su característica de tolerancia a sequía.

Las líneas que más rindieron no son las más precoces, sin embargo se pudo encontrar una correlación negativa significativa entre días a madurez fisiológica y rendimiento, indicando que estas líneas no están aportando en un gran porcentaje a esta regresión.

Las líneas más sobresalientes en términos de clasificación son SER22 y AXM5. Si se observa la clasificación de SER22 en los cuatro ensayos de rendimiento que se realizaron estuvo entre los 7 primeros genotipos en términos de rendimiento lo cual es muy bueno ya que indica una alta capacidad de adaptación tanto a condiciones favorables como desfavorables, esta estabilidad que es lo que se busca en un programa de mejoramiento (Vallejo & Salazar, 2002) pone a SER22 como el mejor testigo para tolerancia a sequía que se tuvo dentro del ensayo, también viendo la media de las líneas que son hijas de SER22 ocupan el segundo lugar después de las líneas hijas de SER 16 indicando que aunque es buen genotipo, sus características no son heredadas fácilmente a su progenie (ANEXO A), sin embargo al ocupar el segundo lugar después de SER16 la pone en la lista de uno de los mejores padres para tolerancia a sequía. AXM52 y AXM35 las cuales son las líneas más rendidoras son hijas de SER16 lo cual pone a esta línea como el mejor padre para tolerancia a sequía en términos de rendimiento aunque ella misma no estuvo entre las mejores.

Otra línea que sobresalió fue AXM 5, la cual en la clasificación estuvo en todos los ensayos dentro de las 15 líneas más rendidoras, y aunque no es mejor que SER22 en términos de rendimiento si es mejor en términos de tamaño de grano en condiciones de sequía, lo cual hace de esta líneas una buena candidata para cruzamientos en programas de mejoramiento de frijol andino. Por otro lado AXM5 ocupa el primer lugar en términos de rendimiento en el tratamiento 2013CR (Tabla 5).

**Tabla 5.** Mejores líneas avanzadas en el tratamiento sequia 2013CS vs otros tratamientos

Línea	2013CR				2013CS				CLASIFICACIÓN			
	DF	DPM	YDHA	100SW	DF	DPM	YDHA	100SW	2013CS	2013CR	2014CS	2015AR
AXM52	32.9	65.1	2136.0	34.0	31.8	64.3	2470.9	32.0	1.0	18.0	6.0	29.0
AXM172	34.5	66.7	1805.1	25.7	35.0	65.3	2438.5	23.8	2.0	51.0	7.0	31.0
AXM35	33.7	65.8	1778.0	27.5	35.5	65.0	2390.7	31.7	3.0	57.0	160.0	118.0
SER 22	33.0	64.2	2390.8	26.9	30.6	61.8	2362.6	21.8	4.0	7.0	4.0	1.0
AXM5	32.7	65.8	2959.1	25.0	34.5	65.3	2333.4	26.5	5.0	1.0	3.0	15.0
AXM82	33.3	65.2	1834.7	24.9	34.0	65.7	2267.5	24.2	6.0	46.0	148.0	34.0
AXM110	33.8	65.2	1887.3	23.8	34.3	65.6	2266.4	24.8	7.0	39.0	54.0	12.0
AXM113	32.6	65.2	2074.1	26.7	33.6	60.0	2260.8	19.8	8.0	20.0	44.0	50.0
AXM91	32.3	64.3	1745.5	31.0	31.3	62.9	2188.8	31.9	9.0	62.0	5.0	22.0
AXM42	34.2	65.5	1689.3	26.2	35.1	65.9	2186.1	26.2	10.0	74.0	114.0	23.0

DF: días a floración, DPM: Días a madures fisiológica, YDHA: rendimiento, 100SW: Peso de cien semillas.

En el año 2014CS que fue el segundo ensayo de sequía realizado, los valores de rendimiento más altos fueron para SER16, SER8, AXM5 y SER22 con rendimientos de 2725.0, 2276.9, 1996.1 y 2758.4 Kg/ha respectivamente. Tres de las cuatro líneas más rendidoras son testigos de tolerancia a sequia indicando que los padres seleccionados para las cruza y establecidos como testigos positivos fueron seleccionados adecuadamente. En este ensayo el tamaño de semilla en los genotipos más rendidores es pequeña, lo cual no es una característica de interés en programas de mejoramiento andino, sin embargo el tener genotipos con introgresión andina permite facilitar los cruzamientos con otros genotipos andinos y así obtener materiales con tamaños de semilla mayores y con características que le confieran tolerancia a sequía en programas posteriores (tabla 6).

Tanto AXM5 como SER 22 vuelven a estar dentro de los primeros cinco genotipos con mayor rendimiento en condiciones de sequía y aun en condiciones de riego suplementario. AXM5 es hijo del parental tolerante SER8 que al igual que su hija se encuentra dentro de la cinco primeras líneas en términos de clasificación por rendimiento esto indica la capacidad de pasar genes beneficiosos a su siguiente generación.

Otras líneas que sobresalen en todo los tratamientos son AXM35 y AXM52 hijas de SER16, AXM 91 hija de SER22, AXM172 hija de SEQ 11. Es curiosos que dentro de las mejores líneas las líneas SEC16 no tenga ni una sola línea dentro del grupo de líneas elites. Esto me indica que la habilidad combinatoria de SEC16 es bastante baja. Y tiene poca capacidad de heredar sus características de tolerancia a sequía en cruza inter-acervo.

**Tabla 6.** Mejores líneas avanzadas en el tratamiento sequia 2014CS vs otros tratamientos.

Linea	2015AR				2014CS				CLASIFICACIÓN			
	DF	DPM	YDHA	100SW	DF	DPM	YDHA	100SW	2014CS	2015AR	2013CS	2013CR
<b>SER 16</b>	33.0	66.0	2725.0	22.1	35.3	57.4	2406.1	15.9	1.0	2.0	19	3
<b>SER 8</b>	33.7	65.4	2276.9	24.7	35.7	60.1	2347.9	20.5	2.0	7.0	32	2
<b>AXM5</b>	34.3	68.0	1996.1	26.3	33.7	60.1	2341.0	17.7	3.0	15.0	5	1
<b>SER 22</b>	33.0	65.8	2758.4	24.2	34.0	55.0	2236.9	20.0	4.0	1.0	4	7
<b>AXM91</b>	34.0	67.9	1874.7	33.3	33.3	58.3	2200.9	22.6	5.0	22.0	9	62
<b>AXM52</b>	33.3	69.7	1818.9	33.4	32.7	56.4	2110.4	26.2	6.0	29.0	1	18
<b>AXM172</b>	36.0	69.5	1811.1	25.7	35.1	64.7	2029.6	19.2	7.0	31.0	2	51
<b>AXM54</b>	34.3	68.9	1380.6	33.4	34.3	60.7	1950.3	22.8	8.0	97.0	35	42
<b>AXM39</b>	34.0	69.8	1690.6	27.6	33.3	62.5	1823.0	23.3	9.0	48.0	24	16
<b>AXM179</b>	35.0	69.7	1670.1	31.6	35.7	65.2	1806.1	22.6	10.0	51.0	17	11

## 2.4 Conclusiones

- Las características que más se correlacionan con rendimiento tanto en en los tratamientos de sequía como riego suplementario son aquellas que tienen que ver con la removilización de fotoasimilados desde la parte aérea o vaina a formación y llenado de grano, tales como índice de cosecha, índice de cosecha de vaina, rendimiento de la eficiencia productiva y eficiencia en la producción de semilla.

#### 44 Identificación de QTLs de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) asociados a tolerancia a sequía

---

- Las mejores líneas en términos de rendimiento en el año 2013 en condiciones de sequía fueron AXM 52, AXM 172 y AXM 35 con rendimientos de 2136, 1805.1 y 1778 Kg/Ha respectivamente, y el tamaño de grano fue mediano para AXM 52 y AXM 35 y para AXM 172 fue de tamaño pequeño lo cual no es muy deseado en términos de mejoramiento de líneas andinas ya que el mercado andino está liderado por granos entre mediano y grande.
- Las mejores líneas en términos de rendimiento en el año 2014 en condiciones de sequía fueron SER16, SER8, AXM5 y SER22 con rendimientos de 2725.0, 2276.9, 1996.1 y 2758.4 Kg/ha respectivamente. Indicando que los controles positivos para tolerancia a sequia fueron seleccionados adecuadamente.
- Las mejores líneas para tolerancia a sequia teniendo en cuenta rendimiento como característica de selección fueron AXM52, AXM172, AXM91, SER 22, AXM5, convirtiéndolas entonces como candidatas de ser parentales en futuros procesos de mejoramiento al igual que fuentes de genes para los genes asociados a genes que confieren dicha tolerancia.

## 3. Análisis de datos genotípicos

### 3.1 Introducción

La especie *Phaseolus vulgaris* es diploide posee uno de los genomas más pequeños comparado dentro de las leguminosas, su genoma se encuentra entre 450 y 650 Mpb teniendo en cuenta su genoma haploide. Frijol común tiene 11 cromosomas (*Phaseolus vulgaris*;  $2n = 2x = 22$ ), los cuales miden entre 1 y 3 milímetros, estos a su vez pueden ser metacéntricos o submetracéntricos y se desarrollan normalmente mediante mitosis y meiosis (P Gepts, 2001). También el genoma de *Phaseolus vulgaris* presenta un 20% de secuencias altamente repetidas (SSR) que se localizan principalmente en las regiones de heterocromatina, y el ADN satelital se encuentra alrededor de los centrómeros.

El código genético se compone principalmente de 4 nucleótidos, los cuales se representan por letras: A (*Adenina*), C (*Citocina*), T (*Timina*), G (*Guanina*), y la variación de uno de estos nucleótidos en el genoma es a lo que se le llama SNP (polimorfismo de un solo nucleótido). Los SNPs son la variación en la secuencias del genoma más comunes y en mayor cantidad, por lo cual pueden ser encontradas miles de variaciones que a su vez pueden ser diferencias individuales, por lo cual hace de este tipo de marcador una herramienta muy útil en estudios de asociación genética (Ganal *et al.*, 2009; Walker, 2012). En la actualidad los SNPs, están siendo usados en diversos estudios como: mapas de ligamiento, análisis de estructura poblacional, aislamiento de genes, basado en mapas, genética asociativa y fitomejoramiento (Ganal *et al.*, 2009). Dada la utilidad de este tipo de marcadores, este estudio se basó en los mismos, a partir de secuencias genéticas obtenidas por la técnica de genotipaje por secuenciación (GBS) (Elshire *et al.*, 2011; Sonah *et al.*, 2013; Thomson, 2014).

Actualmente se cuenta con el genoma referencia de Frijol común del cual se ensamblaron 473 millones de bases de los 587 millones de bases del genoma y genéticamente anclado

el 98% de las secuencias halladas en 11 seudocromosomas. El genotipo seleccionado para la secuenciación fue Chauchachuga el cual tiene como número de accesión en el Centro internacional de Agricultura Tropical G19833 (Schmutz *et al.*, 2014). A partir de este genoma referencia se pudieron ensamblar todas las secuencias obtenidas través de la metodología de genotipaje por secuenciación (GBS) para este estudio.

Una de las formas en mejoramiento genético y de gran utilidad para acelerar los procesos de mejoramiento convencional es la selección asistida por marcadores, sin embargo para poder aplicar esta metodología en programas de mejoramiento se requiere tener marcadores moleculares bien identificados y fuertemente ligados a un gen de interés, para entonces en el proceso de selección, no seleccionar la característica a partir de evaluaciones sino elegir el marcador molecular. Esta metodología fuera de acelerar el proceso de mejoramiento es de gran precisión ya que el genoma no es afectado por el ambiente más la evaluación fenotípica puede cambiar con respecto a la variación ambiental y/o técnica utilizada en la evaluación.

Por otro lado cuando se tienen características que son controladas por diferentes genes es decir la herencia es cuantitativa la evaluación fenotípica se dificulta mediante aumentan los genes aportando a una misma característica, mediante la técnica de mejoramiento asistido por marcadores se podría evaluar la presencia de varios genes que aporten a la característica deseada acercándose cada vez más a lo deseado.

En frijol común se han estudiado criterios de selección moleculares para tolerancia a sequía en diversos estudios, uno de los estudios realizados fue por Schneider *et al.* en 1997, donde mediante análisis de varianza y regresión múltiple se pudieron identificar nueve RAPDs (ADN polimórfico amplificado al azar), que fueron asociados significativamente a rendimiento en condiciones de sequía para las poblaciones estudiadas (Schneider *et al.*, 1997). Otro estudio de gran importancia se usaron marcadores moleculares tipo SNPs, en una población de Líneas endogámicas recombinantes (RILs del inglés "*recombinant inbred lines*") en el cual se identificaron QTLs asociados a sequía, usando 2122 SNPs, y se pudo encontrar 14 regiones del genoma asociados a características que podrían conferir tolerancia a sequía (Mukeshimana *et al.*, 2014). Un estudio de asociación publicado este año en el cual se evaluaron 237 individuos con 5398

marcadores moleculares tipo SNP dio como resultado asociaciones para días a floración, días a madurez, rendimiento y índice de cosecha (Kamfwa, Cichy, & Kelly, 2015).

El presente capítulo tiene como objetivo principal mostrar todos los resultados provenientes de la evaluación fenotípica vs la evaluación genotípica que se realizó mediante un estudio de asociación (GWAS), el análisis fue realizado para los cuatro ensayos sembrados en la localidad de Palmira tanto en condiciones de riego suplementario como en sequía. Los resultados esperados a partir de este análisis, se consideran de gran valor, ya que no solo aportara conocimiento en el ámbito científico sino que también a partir de los marcadores moleculares que se encontraron asociados a características que confieren tolerancia a sequía, se podrán establecer programas de mejoramiento asistido por marcadores en el Centro Internacional de Agricultura Tropical para tolerancia a sequía en Frijol Común, conllevando a acelerar los procesos y optimización de los recursos.

## **3.2 Metodología**

### **3.2.1 Extracción de ADN y evaluación de SNP**

La toma del tejido vegetal para la extracción de ADN de la población de estudio incluyendo los parentales se realizó directamente del campo en el primer semestre de evaluación 2013C del tratamiento de riego. De cada línea se tomaron dos muestras de tejido de dos plantas individuales, las cuales fueron cosechadas individualmente y multiplicada la semilla para el siguiente semestre de evaluación. A partir de este tejido vegetal macerado se extrajo el ADN de la población completa incluyendo los parentales, por medio del método de extracción CTAB (Afanador, Haley, & Kelly, 1993). La calidad del ADN se verifico en geles de agarosa al 1% (electroforesis horizontal). La cuantificación del mismo se realizó mediante el programa Quantity One v 4.0.3.

Se realizó el análisis por medio genotipaje por secuenciación (GBS) siguiendo el protocolo de Cornell en los 200 genotipos de la población de estudio incluyendo los parentales. Después de extraído el ADN se envió a la instalación de secuenciación de la Universidad de Cornell, donde las bibliotecas de GBS se generaron utilizando ApeKI como enzima de restricción. La secuenciación se realizó en la plataforma Illumina HiSeq. Las lecturas se

obtuvieron a partir de un Next Generation Sequencing Eclipse Plugin y la información fue analizada e interpretada utilizando el software NGSEP (Duitama *et al.*, 2014).

Para alinear las lecturas dadas por el secuenciador se usó el genoma referencia de *Phaseolus vulgaris* (Schmutz *et al.*, 2014), descargado de la página de internet Phytozome ([www.phytozome.net/bean](http://www.phytozome.net/bean)). Se corrió el software NGSEP para descubrir y genotipar SNPs, utilizando los parámetros recomendados por el software para el análisis de datos provenientes de GBS como lo son: Calidad de los datos mínimo fue Q40, Valor máximo permitido para una calificación calidad base Q30, Máximo número de 100 alineaciones permitidas comenzadas en el mismo sitio referencia.

Se fijó la tasa de heterocigocidad (h option) 0.0001 para dar a priori una probabilidad mayor a genotipos homocigotos. Se usó también NGSEP para realizar la anotación funcional de variantes, el filtrado y la conversión de los archivos en formato VCF a otros formatos para correr otros análisis en diversos software.

Los software usados para realizar el análisis de asociación fueron TASSEL (Bradbury, Zhang, & Kroon, 2007) y GAPIT (Lipka *et al.*, 2012), fueron 35548 marcadores moleculares tipo SNP para realizar el análisis de componentes principales y análisis de asociación, para corregir la posibles estructuras poblacionales se a causa de relaciones entre líneas, la matriz de Kinship fue incluida dentro de los análisis de asociación, la matriz de Kinship fue calculada usando la metodología de idénticos por descendencia en GAPIT. Para determinar las asociaciones SNP-característica se usó un modelo mixto lineal (MLM) usando GAPIT y TASSEL. La siguiente MLM ecuación fue usada:

$$Y = X\alpha + P\beta + K\mu + \varepsilon$$

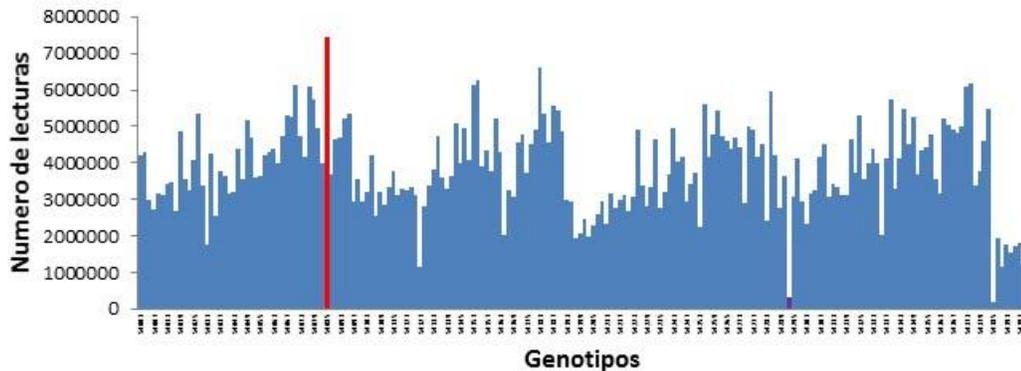
Donde Y es el fenotipo de un genotipo, X es el efecto fijo del SNP, P es el efecto fijo de la estructura poblaciones (Matriz de componentes principales), K es el efecto aleatorio de la matriz Kinship (relación entre genotipos) y  $\varepsilon$  es el error experimental. Las regiones y/o marcadores moleculares encontradas fueron analizadas usando el Jbrowse en Phytozome V10.3 (Goodstein *et al.*, 2012) para definir las anotaciones de las mismas. Para visualizar la expresión en los tejidos se usó el atlas de expresión de frijol común (O'Rourke *et al.*, 2014).

### 3.3 Resultados y discusión

#### 3.3.1 Secuenciación por GBS

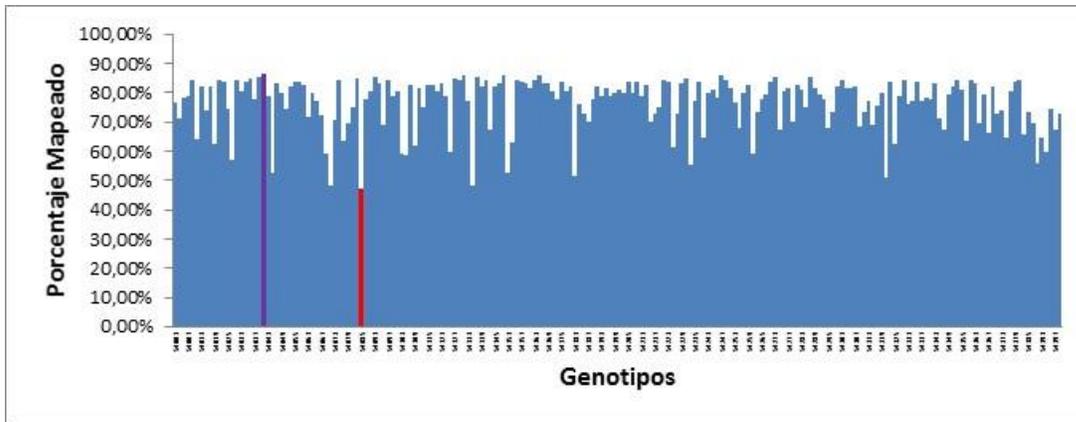
Con el fin de realizar estudios de pedigrí y mapeo asociativo se secuenció el genoma de 190 individuos pertenecientes a la población de estudio y los 10 padres que dieron origen a la misma, para un total de 200 individuos. A partir de esta secuenciación se realizó un BLASTs con el genoma referencia de Frijol (G19833) (Schmutz *et al.*, 2014) con el fin de identificar el orden de los segmentos obtenidos en la secuenciación, finalmente se obtuvo un promedio de 3'843.923.5 lecturas, donde el individuo que obtuvo más lecturas fue AXM117 con 7467622 y el genotipo con menos lecturas fue AXM185 con 136764 (Figura 15).

**Figura 15.** Total de lecturas obtenidas a partir de GBS



Lastimosamente no todas las lecturas que se obtuvieron pudieron ser mapeadas dentro del genoma referencia un caso especial por ejemplo fue AXM117 ya que fue el genotipo con mayor cantidad de lecturas pero solo fue mapeado el 46.90% por lo cual se perdió un poco más de la mitad de la información obtenida en la secuenciación y a su vez fue el genotipo que menor porcentaje de lecturas mapeadas tuvo. Por otro lado RED CANADIAN WONDER uno de los testigos andinos fue el genotipo con mayor porcentaje de lecturas mapeadas en genoma referencia con un 86.45% y un total de 2732894 lecturas (Figura 16).

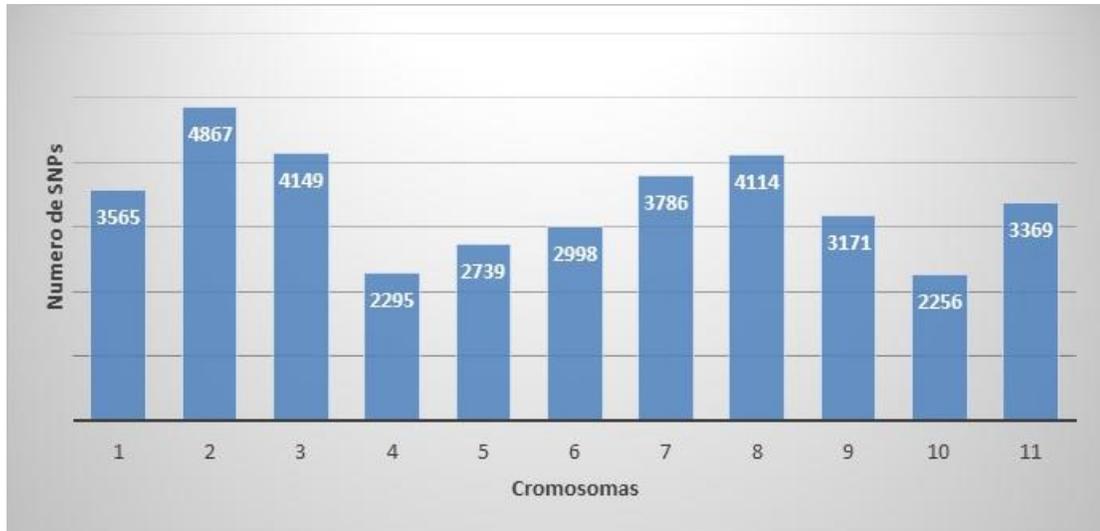
**Figura 16.** Porcentaje de lecturas mapeadas en el genoma referencia de Frijol Común (G19833).



Posteriormente se compararon las secuencias (BLASTs) de los genotipos entre ellos y así se pudieron identificar los marcadores moleculares tipo SNP presentes en la población de estudio, estos fueron determinados a partir de las diferencias entre los genotipos. A partir de este análisis se obtuvieron 35548 SNPs los cuales se encuentran distribuidos de manera diferencial en los cromosomas. El cromosoma en el que más SNPs fueron identificados fue el cromosoma 2 con un total de 4867 SNPs, por otro lado el cromosoma que menor número de SNPs se encontraron fue el número 10 con un total de 2256 SNPs (Figura 18).

También se pudo observar que en las regiones pericentroméricas se pudieron encontrar muy pocos SNPs. esto era lo esperado ya que las regiones pericentroméricas se ha comprobado que hay una poca densidad de genes por lo cual una baja recombinación, por otro lado un gran número de regiones repetitivas y/o metiladas (Fonsêca *et al.*, 2010; Schmutz *et al.*, 2014) (Figura 18). Por otro lado la enzima que se usa para realizar los cortes en la realización de la librería es ApeKI la cual es parcialmente sensible a metilación (Elshire *et al.*, 2011). Por lo cual los cortes en estas regiones del cromosoma fueron pocos impidiendo una buena lectura a causa de fragmentos muy largos.

**Figura 17.** Cantidad de Marcadores moleculares tipo SNP en la población de estudio distribuida por cromosomas



**Figura 18.** Densidad de marcadores moleculares tipo SNP encontrados en la población de estudio distribuido por posición dentro de cromosomas demarcado en millones de pares de bases. Lo que se encuentra demarcado en negro son las zonas pericentroméricas.

Mbp	Chr01	Chr02	Chr03	Chr04	Chr05	Chr06	Chr07	Chr08	Chr09	Chr10	Chr11
0 Mbp	183	164	225	201	223	44	366	220	52	130	319
1 Mbp	180	181	219	250	105	15	220	183	53	116	448
2 Mbp	182	223	156	124	159	2	196	108	28	165	310
3 Mbp	85	189	96	60	160	3	239	212	8	46	232
4 Mbp	77	154	77	42	148	33	251	148	5	109	211
5 Mbp	89	4	71	58	31	11	101	109	49	80	143
6 Mbp	102	9	82	33	32	17	82	106	102	53	74
7 Mbp	61	12	95	41	56	26	66	101	84	62	136
8 Mbp	13	17	72	35	21	29	95	68	70	33	63
9 Mbp	40	15	45	17	44	70	98	135	67	51	42
10 Mbp	42	17	49	60	51	29	25	21	105	5	69
11 Mbp	30	89	110	35	25	25	15	31	83	16	35
12 Mbp	0	39	37	5	15	24	5	34	106	9	14
13 Mbp	8	55	14	43	0	48	9	52	148	0	7
14 Mbp	15	14	18	16	3	120	17	52	76	1	42
15 Mbp	33	13	9	7	12	62	4	5	93	4	17
16 Mbp	25	4	0	7	25	85	1	4	85	16	1
17 Mbp	4	16	1	4	6	58	0	7	73	10	4
18 Mbp	1	16	17	9	5	75	12	22	93	2	18
19 Mbp	22	23	15	1	15	125	11	27	51	9	5

52 Identificación de QTLs de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) asociados a tolerancia a sequía

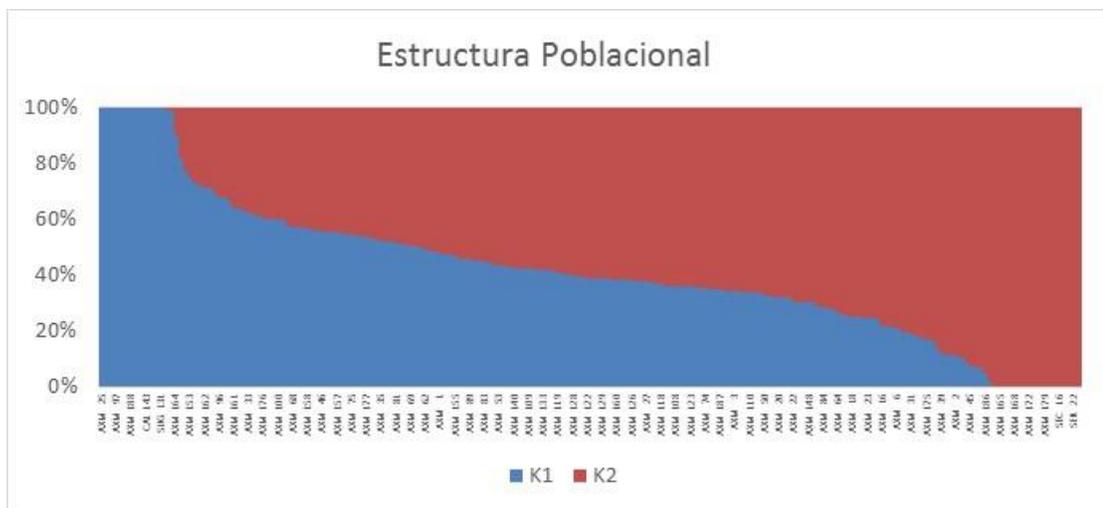
Figura 17 (Continuación)

bp	Chr01	Chr02	Chr03	Chr04	Chr05	Chr06	Chr07	Chr08	Chr09	Chr10	Chr11
20 Mbp	23	32	4	10	14	134	2	14	75	0	0
21 Mbp	21	80	0	26	0	188	2	23	138	3	3
22 Mbp	18	66	10	6	18	147	2	6	72	5	0
23 Mbp	18	112	32	5	17	171	3	15	54	9	0
24 Mbp	3	62	37	10	14	182	0	2	72	1	0
25 Mbp	6	83	27	6	14	104	1	7	50	3	0
26 Mbp	18	231	23	10	21	145	2	3	62	0	9
27 Mbp	9	79	19	13	11	121	7	4	78	0	1
28 Mbp	0	105	50	15	16	163	2	11	80	0	22
29 Mbp	16	104	61	27	6	203	1	3	88	8	8
30 Mbp	17	138	119	0	19	254	1	7	96	7	8
31 Mbp	6	50	47	0	43	285	3	13	89	13	6
32 Mbp	17	74	160	6	18		1	3	95	15	7
33 Mbp	11	124	63	6	58		47	8	123	14	25
34 Mbp	23	94	114	10	74		10	11	78	72	10
35 Mbp	41	75	108	7	102		34	2	242	58	1
36 Mbp	53	80	94	9	182		11	2	165	88	0
37 Mbp	47	107	114	62	272		69	3	83	109	7
38 Mbp	37	66	107	28	204		60	2		85	17
39 Mbp	45	110	124	75	320		88	5		182	37
40 Mbp	111	130	96	66	180		123	15		232	21
41 Mbp	89	157	67	125			69	11		215	38
42 Mbp	146	164	114	83			34	21		220	73
43 Mbp	131	176	89	244			52	39			108
44 Mbp	111	158	132	231			171	15			64
45 Mbp	122	169	93	167			120	36			163
46 Mbp	183	277	66				122	22			231
47 Mbp	132	196	61				162	34			128
48 Mbp	171	311	108				237	64			87
49 Mbp	253	3	174				188	111			85
50 Mbp	186		180				159	133			20
51 Mbp	304		211				190	120			
52 Mbp	5		37					104			
53 Mbp								117			
54 Mbp								140			
55 Mbp								145			
56 Mbp								247			
57 Mbp								322			
58 Mbp								453			
59 Mbp								176			

### 3.3.2 Estructura población

Se realizó un análisis poblacional a partir de los marcadores moleculares tipo SNP, utilizando el programa STRUCTURE (Falush, Stephens, & Pritchard, 2003; Pritchard, Stephens, & Donnelly, 2000), posteriormente a partir de la metodología propuesta por Evanno *et al.* (2005) se escogió el K óptimo que correspondió a dos poblaciones (Figura 18).

**Figura 19.** Análisis poblacional en el programa STRUCTURE para marcadores moleculares tipo SNP Bialelicos K2.



Este análisis muestra básicamente los dos acervos genéticos que tiene *Phaseolus vulgaris* (Andino y mesoamericano). Este resultado se encuentra muy acorde con lo esperado ya que el objetivo inicial de este proyecto fue introducir genes mesoamericanos a genotipos andinos con el fin de traer la tolerancia a sequía del acervo mesoamericano sin perder las características morfológicas en términos de grano de los genotipos andinos. Por lo cual se pueden ver a los extremos los genotipos parentales de cada uno de los acervos genéticos, a través de este estudio se pudo comprobar que algunos genotipos no tienen ninguna introgresión del acervo andino, por lo cual posiblemente fue a causa de una hibridación no exitosa y posteriormente la no identificación del genotipo autofecundado.

Posterior al análisis realizado por STRUCTURE se pudo identificar algunas de las líneas que no tenían introgresión de genes andinos lo que sugería que eran genotipos

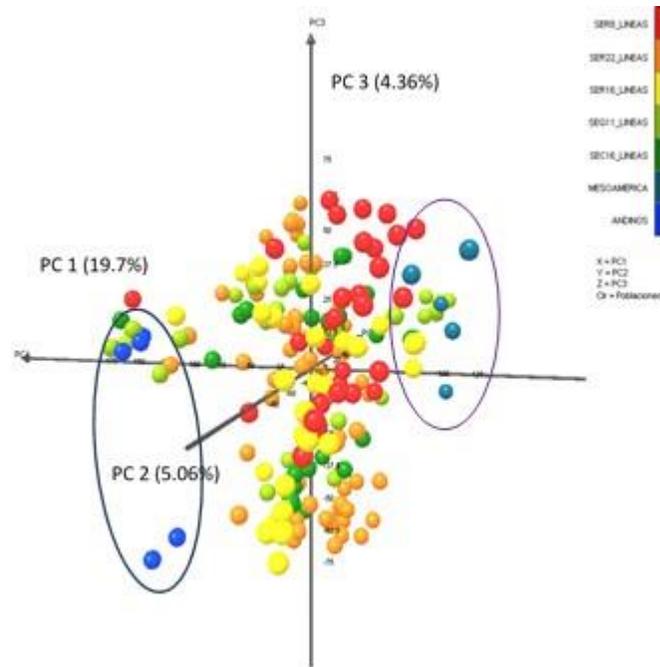
mesoamericanos más no líneas, por lo cual se realizó una comparación de la secuencia de cada uno de los genotipos contra todos los demás. A partir de este análisis se pudo observar que 8 de los genotipos dentro de la población de estudio eran genéticamente idénticos en más de un 90% a una de las líneas mesoamericanas que participo como madre en los cruzamientos, la cual fue SEQ11, por lo cual se pudo concluir que los cruzamientos realizados con este parental, realmente fueron autofecundaciones. Estas líneas fueron excluidas de los análisis de asociación, PCA y Kinship (Tabla 7).

**Tabla 7.** Líneas excluidas de análisis por similitud genética con el parental SEQ11

Línea	Pedigrí
AXM 168	SEQ 11 x NATAL SUGAR
AXM 171	SEQ 11 x NATAL SUGAR
AXM 183	SEQ 11 x PAN 127
AXM 179	SEQ 11 x PAN 127
AXM 180	SEQ 11 x PAN 127
AXM 174	SEQ 11 x NATAL SUGAR
AXM 166	SEQ 11 x NATAL SUGAR
AXM 172	SEQ 11 x NATAL SUGAR

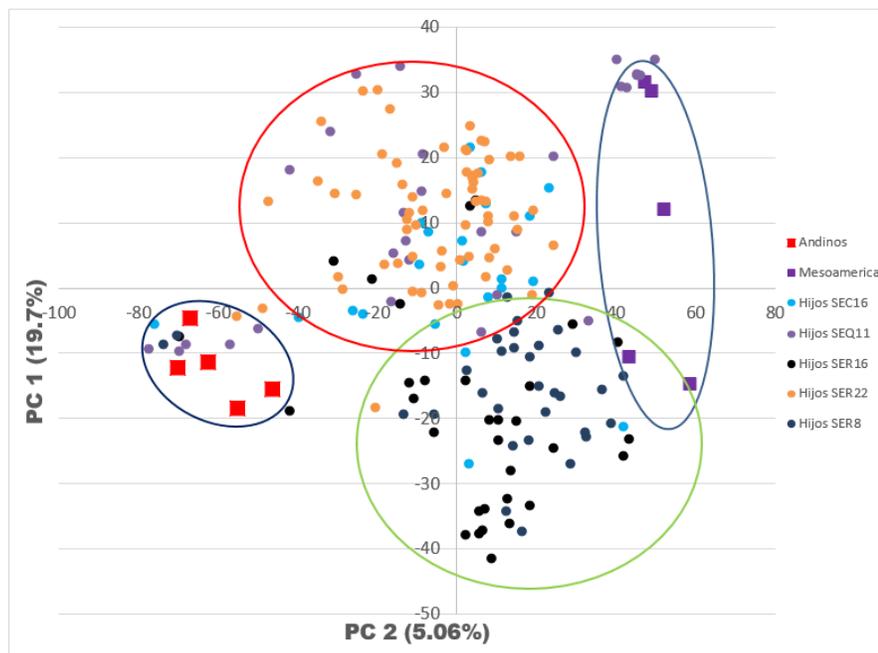
Aunque se tenía un dato de estructura poblacional de dos poblaciones, se intentaron con otras metodologías para identificar una posible estructura diferente a la ya establecida por STRUCTURE ya que la estructura poblacional es usada en los estudios de asociación como una importante herramienta de covarianza con el fin de no tener falsos positivos a causa de alelos privados y/o raros (Korte *et al.*, 2012; Malosetti, van der Linden, Vosman, & van Eeuwijk, 2007; Zhang *et al.*, 2010). Para este propósito se realizó un análisis de componentes principales el cual es más eficiente cuando se tienen miles de marcadores moleculares como es el caso de este estudio, además que fue introducido hace más de 30 años en estudios genéticos por Cavalli-Sforza (Menozzi, Piazza, & Cavalli-Sforza, 1978; Patterson, Price, & Reich, 2006; Price *et al.*, 2006).

**Figura 20.** Componentes principales demarcando los parentales pertenecientes a los dos acervos.



En los resultados dados por los componentes principales se pudieron observar dos poblaciones al igual que en STRUCTURE, sin embargo no tienen una lógica en términos de acervos genéticos como lo demarcó STRUCTURE sino que demarca el pedigrí de los genotipos estudiados, este nivel de detalle permitiría en teoría al estudio de asociación realizar una mejor estimación de los marcadores moleculares asociados a características fenotípicas. En la figura 20 se graficaron los tres primeros componentes, los cuales explican un 29.2% de la varianza de los datos. Por otro lado también se puede observar como los padres del acervo andino se encuentran al lado opuesto de los padres del acervo mesoamericano indicando que los marcadores moleculares usados permiten la separación de los mismos.

**Figura 21.** Gráfica de los dos primeros Componentes principales generados a partir de datos genotípicos (GBS)

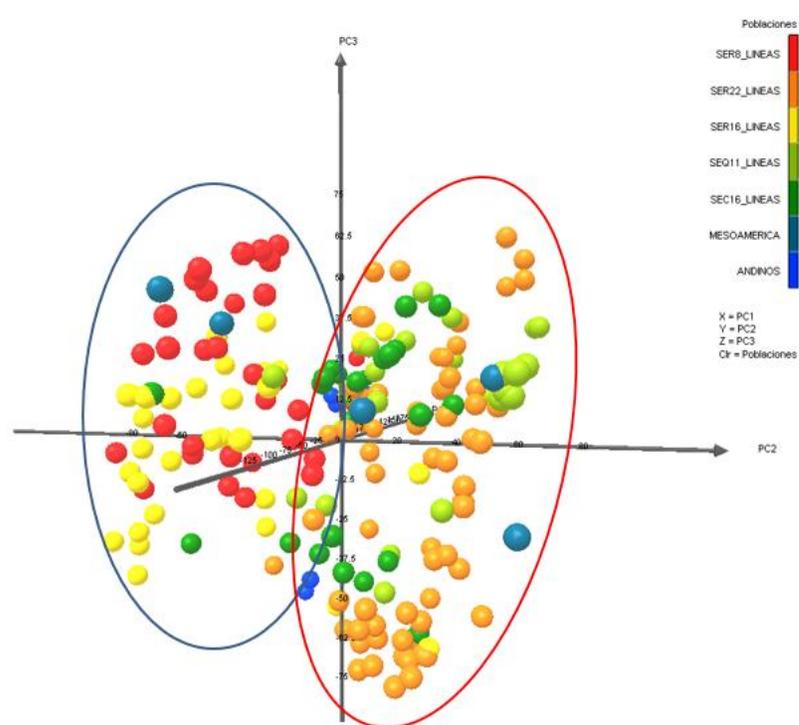


En la gráfica de dos dimensiones se puede observar más claramente como la población tiene una tendencia a separarse con respecto al pedigrí de las líneas evaluadas, como se puede ver en la figura 21, los parentales se encuentran en lados contrarios, y en el centro se encuentran las líneas evaluadas, sin embargo las líneas que son hijas de SEC16, SER22 y SEQ11, se agrupan en un grupo en la parte superior (círculo rojo) y las líneas que son hijas de SER8 y SER16 se agrupan en otro grupo en la parte inferior (círculo verde), el mismo resultado se pudo observar en la gráfica en tres dimensiones (Figura 22). Este resultado se debe a que SER8 y SER 16 comparten los mismos parentales (Tabla 8), es decir que son líneas hermanas, esta similitud en términos genéticos ocasiono que las líneas provenientes de estas líneas se agruparan claramente en términos genéticos.

**Tabla 8.** Pedigrí de parentales mesoamericanos donantes de genes para tolerancia a sequía.

Parental	Pedigrí
SER8	(RAB 651 x TIO CANELA 75) X (RAB 608 x SEA 15)
SER16	(RAB 651 x TIO CANELA 75) X (RAB 608 x SEA 15)
SER22	(SEA 22 x (TLP 35 x G 21212) X EAP 9504-30
SEC16	(SEA 15 x MD 23-24) X (TIO CANELA 75 x G 21212)
SEQ11	BAT 477xSAN CRISTOBAL 83

**Figura 22.** Gráfica de los dos primeros Componentes principales generados a partir de datos genotípicos (GBS)



### 3.3.3 Estudio de asociación por rasgos

Posterior a la limpieza de la base de datos en términos genéticos se pudo empezar el análisis de mapeo asociativo en la población de estudio, para este análisis entonces se usaron 192 individuos de la población contando los parentales, para el estudio se probaron diversos algoritmos y se pudo encontrar finalmente que la mejor opción fue utilizar modelos

lineales mixtos para realizar la asociación, ya que se ha demostrado su utilidad en el control de la estructura poblacional y las relaciones familiares en las poblaciones de estudio, lo cual en modelos lineales simples podrían ocasionar algunos errores tipo I adjudicados a la estructura poblacional (Yu *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2010). Las características: proporción de biomasa de la pared de la vaina e índice de partición de la vaina, no presentaron ninguna asociación por lo cual no se discutirán los resultados en la siguiente sección. Esto se debe a que ninguno de los marcadores moleculares responde a la variación encontrada de las características, posiblemente estas características sean parte de la estructura de la población por lo cual se toma como una característica propia de un grupo de individuos mas no como un QTL que pueda ser utilizado en mejoramiento asistido por marcadores.

Por otro lado características como SPAD las cuales no presentaron correlación con rendimiento son de poca importancia en términos de mejoramiento para tolerancia a sequía, por lo cual encontrar marcadores moleculares asociados a esta característica no es útil hasta el momento. Por tal razón para esta característica no se analizaran las regiones asociadas a profundidad.

### **3.3.3.1 Días a floración**

Se pudo encontrar la asociación de una región en el cromosoma 1 con la característica días a floración, que va desde la posición física 5940000 pb hasta la posición 6720000 pb. También se encontró una congruencia en los diferentes años y tratamientos. En el año 2013C tanto en la condición de riego como sequia se pueden observar un  $-\log_{10}(p)$  de más de 5, lo cual indica una fuerte asociación según el método de corrección para comparaciones múltiples de Bonferroni estimado con 35548 marcadores moleculares (5.8) (HOCHBERG, 1988), se tomó también el valor de 3.5 como umbral de significancia ( $p=3.1 \times 10^{-4}$ ) para tener en cuenta como una posible asociación ya que el método de Bonferroni es muy astringente cuando se tiene gran cantidad de comparaciones, como es el caso del presente estudio (Wu *et al.*, 2014).

Se pueden observar las gráficas QQ que me indican que no hay una asociación fuerte entre la característica y los marcadores moleculares evaluados y esto es porque el estimador que usa GAPIT para la proporción esperada de errores de tipo I entre las hipótesis rechazadas es FDR y Bonferroni las cuales son muy astringentes. En este caso

como ya se mencionó se utilizara el método sugerido por Wu *et al.* (2014) y usado por diversos autores (Cichy, Wiesinger, & Mendoza, 2015), donde se toma el umbral de significancia ( $p=0.0005$ ) para tener en cuenta como una posible asociación. Estos mismos valores de umbrales de significancia se tomaran para todas las características que se van a discutir en este capítulo.

Los años 2015A y 2014C que corresponden a riego y sequia respectivamente, no presentaron una probabilidad alta de asociación con días a floración, sin embargo se pudo encontrar que la similitud en los picos con el 2013C presentados en el cromosoma 1 da a entender una tendencia (Figura 23).

**Figura 23.** Gráfica Manhattan proveniente de estudio de Asociación para días a floración

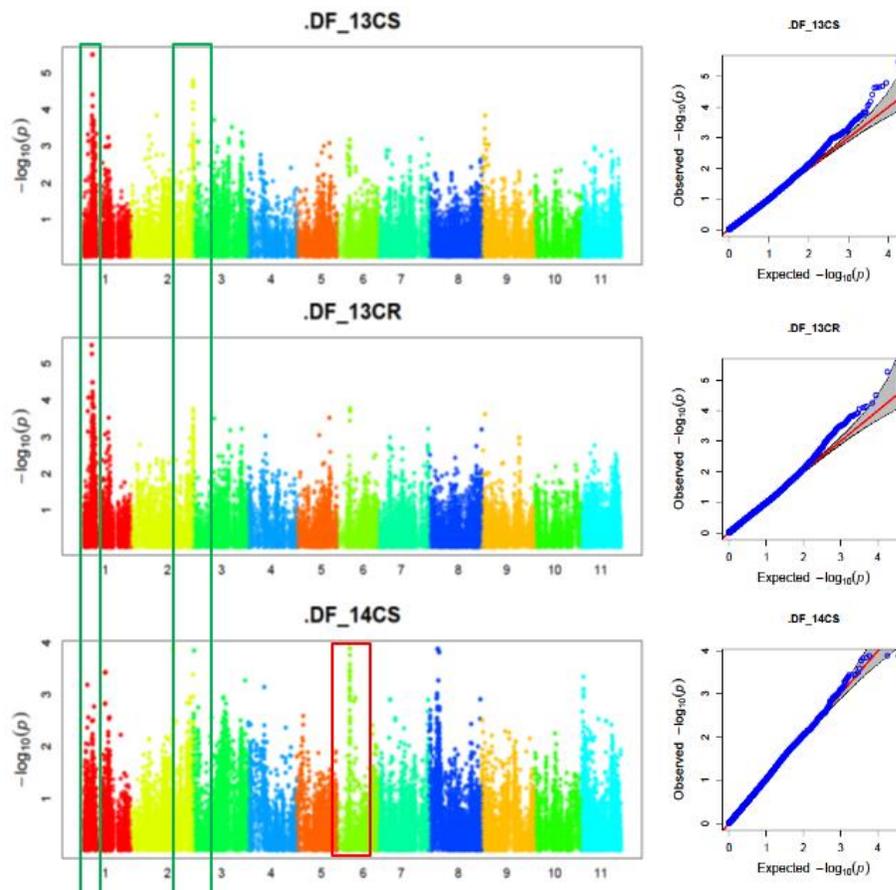
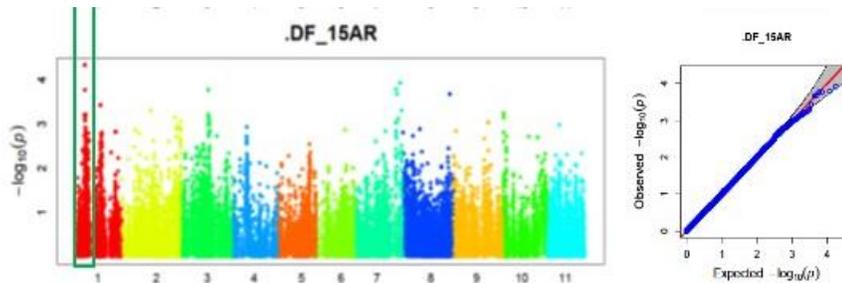


Figura 23 (Continuación)



En la tabla 9 se pueden observar los marcadores moleculares tipo SNP que tuvieron la más alta correlación con la característica días floración. Se pueden observar diversas regiones de importancia y alta significancia, la primera se encuentra en el cromosoma 1 que va desde 5940844 pb hasta 695504, en esta región se puede ver que en diversos tratamientos se presentó la asociación, por otro lado se pueden ver efectos sobre la característica de más de 1.5 días a floración. La segunda región encontrada se sitúa en el cromosoma 2 y va desde la posición física 48577687 pb hasta 48958681 pb, donde al igual que en la primera región la asociación se encontró en 2 de los cuatro tratamientos (2013CR y 2013CS) y los efectos sobre días a floración en algunos casos son mayores a 2. Aunque los efectos que tienen estas regiones sobre la característica días a floración de 1.5 y 2 respectivamente podría parecer poco, es un avance bastante significativo en mejoramiento de frijol común ya que esta característica está correlacionada negativamente con rendimiento en condiciones de estrés hídrico y aun condiciones normales (Polania, 2011; R. Rosales-Serna *et al.*, 2000; White *et al.*, 1991). Teniendo en cuenta lo anterior, el poder implementar estos marcadores moleculares en programas de mejoramiento permitirían el avance entonces no solo en términos de días a floración para mejorar precocidad sino también posiblemente en tolerancia a sequía.

**Tabla 9.** Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica días a madurez fisiológica.

SNP	Chr	Posición	-LOG(p-value)				Alelo	Efecto
			2013CR	2013CS	2014CS	2015AR		
Chr01pos3074797.1	1	3074797	4.09	3.15	2.05	1.38	C/G	1.61
Chr01pos5940844.1	1	5940844	5.5	3.61	2.15	4.32	C/T	1.65
Chr01pos6017522.1	1	6017522	5.26	3.83	2.49	3.77	C/T	1.79
Chr01pos6425320.1	1	6425320	4.06	3.04	1.73	2.90	C/A	1.74
Chr01pos6425327.1	1	6425327	4.06	3.04	1.80	2.90	A/T	1.74
Chr01pos6425330.1	1	6425330	3.9	2.41	1.73	2.28	G/C	1.67
Chr01pos6720391.1	1	6720391	4.49	5.49	2.24	2.81	G/A	1.69
Chr01pos6720418.1	1	6720418	4.49	5.49	2.24	2.81	C/A	1.68
Chr01pos6750481.1	1	6750481	3.34	4.09	1.89	2.39	A	-1.91
Chr01pos6810733.1	1	6810733	4.25	3.59	1.54	2.47	A/T	1.75
Chr01pos6835728.1	1	6835728	3.84	3.72	1.59	2.08	T/C	1.57
Chr01pos6835746.1	1	6835746	3.93	4.4	1.85	2.67	G/A	1.64
Chr01pos6900647.1	1	6900647	3.87	2.91	1.54	2.15	G/T	1.71
Chr01pos6900673.1	1	6900673	3.87	2.91	1.54	2.15	T/A	1.71
Chr01pos6900683.1	1	6900683	4.12	3.08	1.60	2.31	C/G	1.73
Chr01pos6954999.1	1	6954999	4.13	3.48	2.16	2.53	A/G	1.65
Chr01pos6955041.1	1	6955041	4.13	3.48	2.05	2.49	C/G	1.65
Chr01pos7619790.1	1	7619790	3.81	3.44	2.50	2.07	T/G	1.60
Chr01pos8906797.1	1	8906797	3.81	2.8	0.74	1.27	A/G	1.76
Chr01pos8906804.1	1	8906804	3.82	3.56	0.84	1.30	A/G	1.67
Chr02pos21248427.1	2	2124842	2.4	3.83	1.46	1.83	T/C	1.28
Chr02pos37284126.1	2	37284126	2.46	2.16	3.88	1.71	T/G	2.24
Chr02pos48577687.1	2	48577687	3.53	4.69	2.97	2.84	A/G	2.21
Chr02pos48776294.1	2	48776294	3.68	4.79	2.97	2.89	G/C	2.26
Chr02pos48852662.1	2	48852662	3.33	4.65	2.55	2.61	G/A	2.23
Chr02pos48903599.1	2	48903599	3.18	4.02	2.30	2.50	T/G	1.78
Chr02pos48956862.1	2	48956862	3.48	4.65	2.65	2.65	T/C	2.24
Chr02pos48958681.1	2	48958681	3.76	4.79	3.39	3.06	A/G	2.00
Chr03pos543085.1	3	543085	1.16	1.76	3.85	1.37	C/T	0.68
Chr07pos50304844.1	7	5030484	2.01	2.09	0.98	3.92	A/T	2.38
Chr07pos49627012.1	7	49627012	1.57	3.2	1.17	3.79	G/A	1.21
Chr08pos3021678.1	8	3021678	1.84	1.8	3.88	1.03	C/A	-0.85
Chr08pos3021702.1	8	3021702	1.84	1.8	3.88	1.03	G/T	0.85

Tabla 9 (Continuación)

SNP	Chr	Posición	-LOG(p-value)				Alelo	Efecto
			2013CR	2013CS	2014CS	2015AR		
Chr08pos3021706.1	8	3021706	1.84	1.8	3.88	1.03	T/A	-0.85
Chr08pos3021714.1	8	3021714	1.84	1.8	3.88	1.03	A/C	0.85
Chr08pos3688551.1	8	3688551	0.21	0.73	3.82	1.44	C/T	0.32
Chr08pos3688552.1	8	3688552	0.21	0.73	3.82	1.44	C/T	0.32
Chr09pos6947928.1	9	6947928	3.62	3.84	1.81	1.75	A/G	1.44
<b>Chr: Cromosoma</b>								

Para la identificación de genes dentro de las regiones de interés se usó la base de datos del genoma de frijol común V1 (Schmutz *et al.*, 2014) en el buscador Jbrowse en Phytosome V10.3 (Goodstein *et al.*, 2012). Después de la búsqueda se pudo encontrar 4 genes en cada una de las regiones de interés dentro de los cromosomas 1 y 2 para un total de 8 genes identificados de los cuales tres de ellos no tienen una anotación hasta el momento (Phvul.001G057400, Phvul.002G061400 y Phvul.002G332600), y 5 de ellos están claramente identificados (tabla 11).

**Tabla 10.** Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con días a floración en el tratamiento de sequía del 2014C.

Nombre del Gen	Arabidopsis Homologo	Anotación	Chr	Inicio (pb)	Final (pb)
Phvul.001G052300	AT5G48920.1	tracheary element differentiation-related 7	01	5,940,559	5,941,451
Phvul.001G052600	AT3G10180.1	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily protein	01	5,988,427	6,017,916
Phvul.001G057400	AT5G53045.1		01	6,718,662	6,723,632
Phvul.001G058100	AT4G31350.1	Core-2/l-branching beta-1,6-N-acetylglucosaminyltransferase family protein	01	6,803,375	6,813,176
Phvul.002G061400	AT1G04590.1		02	6,718,857	6,722,463
Phvul.002G329200	AT1G73640.1	RAB GTPase homolog A6A	02	48,776,072	48,779,672
Phvul.002G330600	AT1G18260.1	HCP-like superfamily protein	02	48,848,269	48,853,063
Phvul.002G332600	AT1G73470.1		02	48,955,350	48,960,198
<b>Chr: Cromosoma</b>					

Con el fin de identificar en que tejido y en qué momento se están expresando los genes identificados se usó la base de datos del atlas de expresión de frijol común (O'Rourke *et al.*, 2014). Para visualizar la dicha expresión (Grafica 23). Se dividió en dos gráficas, una para cada cromosoma. Se pudo ver algo interesante y es que en los dos casos tanto en el cromosoma 1 como en el 2 los picos de expresión se presentan en estados tempranos de la planta (segunda etapa trifoliada) y en el mismo tejido que corresponde a entrenudos del tallo por encima del cotiledón y meristemos apicales. Este resultado es de gran interés ya que los meristemos apicales podrán diferenciarse en nuevas hojas o flores. Posiblemente estos genes estén asociados en parte a la determinación de estas células meristematicas en flores tempranamente, lo cual permite una reducción en días a floración. Por otro lado también se pudo observar una expresión de estos genes a nivel de raíz en etapas tempranas de la planta.

**Figura 24.** Nivel y tejido en el cual se expresan los genes candidatos asociados número de vainas por planta (O'Rourke *et al.*, 2014), grafica superior cromosoma 2 y grafica inferior cromosoma 1.

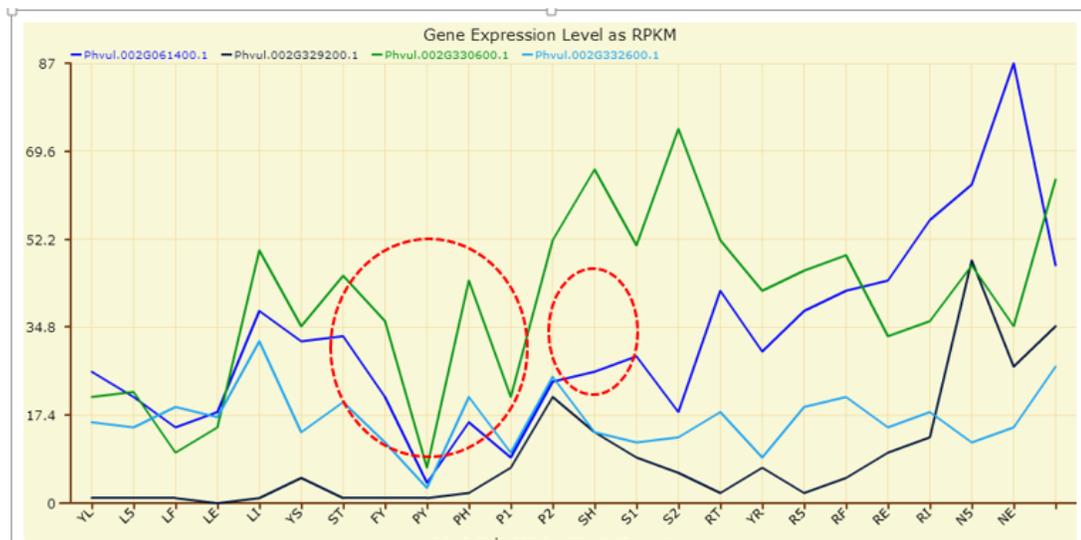
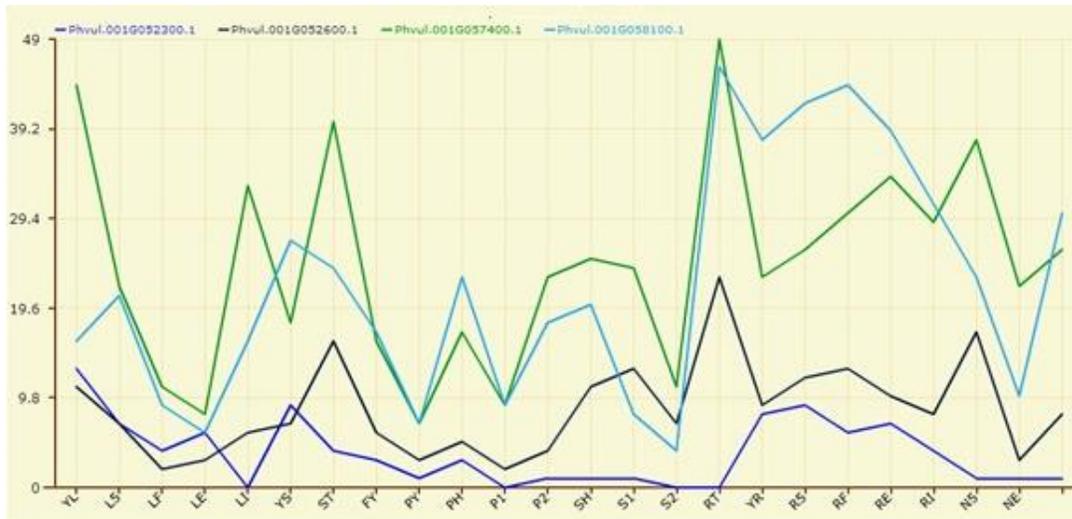


Figura 24 (Continuación)



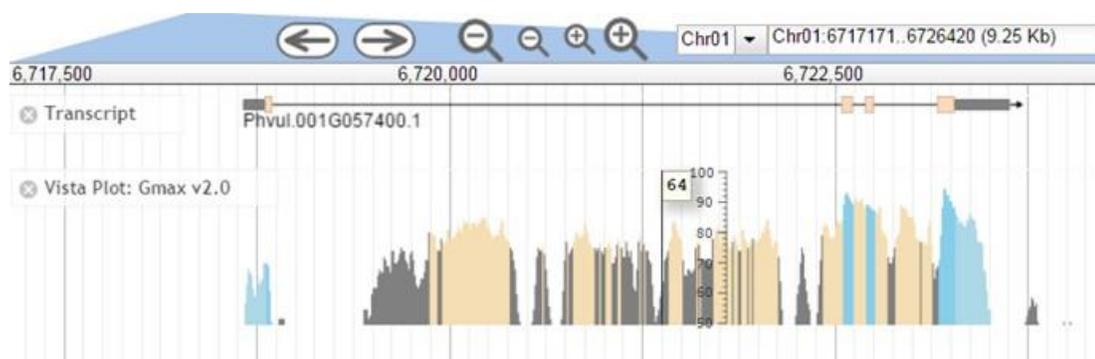
- YL- Fully expanded 2nd trifoliolate leaf tissue from plants provided with fertilizer
- L5- Leaf tissue collected 5 days after plants were inoculated with effective rhizobium
- LF- Leaf tissue from fertilized plants collected at the same time of LE and LI
- LE- Leaf tissue collected 21 days after plants were inoculated with effective rhizobium
- LI- Leaf tissue collected 21 days after plants were inoculated with ineffective rhizobium
- YS- All stem internodes above the cotyledon collected at the 2nd trifoliolate stage
- ST- Shoot tip, including the apical meristem, collected at the 2nd trifoliolate stage
- FY- Young flowers, collected prior to floral emergence
- PY- Young pods, collected 1 to 4 days after floral senescence. Samples contain developing embryos at globular stage
- PH- Pods approximately 9cm long, associated with seeds at heart stage (pod only)
- P1- Pods between 10 and 11 cm long, associated with stage 1 seeds (pod only)
- P2- Pods between 12 and 13 cm long associated with stage 2 seeds (pod only)
- SH- Heart stage seeds, between 3 and 4 mm across and approximately 7 mg
- S1- Stage 1 seeds, between 6 and 7 mm across and approximately 50 mg
- S2- Stage 2 seeds, between 8 and 10 mm across and between 140 and 150 mg
- RT- Root tips, 0.5 cm of tissue, collected from fertilized plants at 2nd trifoliolate stage of development.
- YR- Whole roots, including root tips, collected at the 2nd trifoliolate stage of development
- R5- Whole roots separated from 5 day old pre-fixing nodules
- RF- Whole roots from fertilized plants collected at the same time as RE and RI
- RE- Whole roots separated from fix+ nodules collected 21 days after inoculation
- RI- Whole roots separated from fix- nodules collected 21 days after inoculation
- N5- Pre-fixing (effective) nodules collected 5 days after inoculation
- NE- Effectively fixing nodules collected 21 days after inoculation
- NI- Ineffectively fixing nodules collected 21 days after inoculation

Por medio de *Phytosome* V10 se usó *BLAST search* para identificar similitudes de los genes analizados con secuencias de otros estudios de frijol u otras especies cercanas. Se halló que en la región del cromosoma 1 donde se presentaron las asociaciones se encuentran tres genes que son de importancia en los diversos procesos de floración tanto en Frijol común como en otras especies cercanas como es el caso de *Glycine max*.

Uno de los genes encontrados en este estudio (Phvul.001G057400) tiene una similitud del 87.5% con un gen asociado a Días a floración en soya. Este gen en la especie *Glycine max* traduce para el Factor de transcripción PCC1 (*Pathogen and Circadian Controlled 1*) que a su vez se encuentra localizado en el cromosoma 11 y se denomina como Glyma11g17990 (Zhou *et al.*, 2015), lo cual difiere de *Phaseolus vulgaris* donde esta secuencia se encontró en el cromosoma 1. El gen PCC1 en *Arabidopsis* se identificó originalmente como un gen inducido por *Pseudomonas syringae* con un control circadiano de los patrones de expresión. Otros trabajos han revelado también que el gen PCC1 es inductor del ácido salicílico el cual tiene una función potencial en el control del tiempo de floración bajo UV-C condiciones de estrés por luz y también en condiciones normales es decir de no estrés (Mir & León, 2014; Segarra, Mir, Martínez, & León, 2010). Tal vez por esta razón podemos encontrar asociación de esta región del genoma de frijol tanto en condiciones de sequía como en condiciones de riego complementario.

En los análisis fenotípicos realizados se pudo encontrar una correlación negativa altamente significativa entre días a floración y rendimiento tanto en condiciones de sequía como en condiciones de riego suplementario (Tabla 4). Este resultado a su vez fue encontrado por otros estudios indicando la reproducibilidad de los resultados en frijol común (Polania, 2011; Rigoberto Rosales-Serna *et al.*, 2004). El hecho de poder realizar una selección asistida por marcadores sería de gran ayuda en programas de mejoramiento para tolerancia a sequía, principalmente para sequia terminal. El poder seleccionar genotipos precoces no solo sería útil para los agricultores al obtener semillas en menor tiempo sino también en la selección de genotipos tolerantes a sequia terminal.

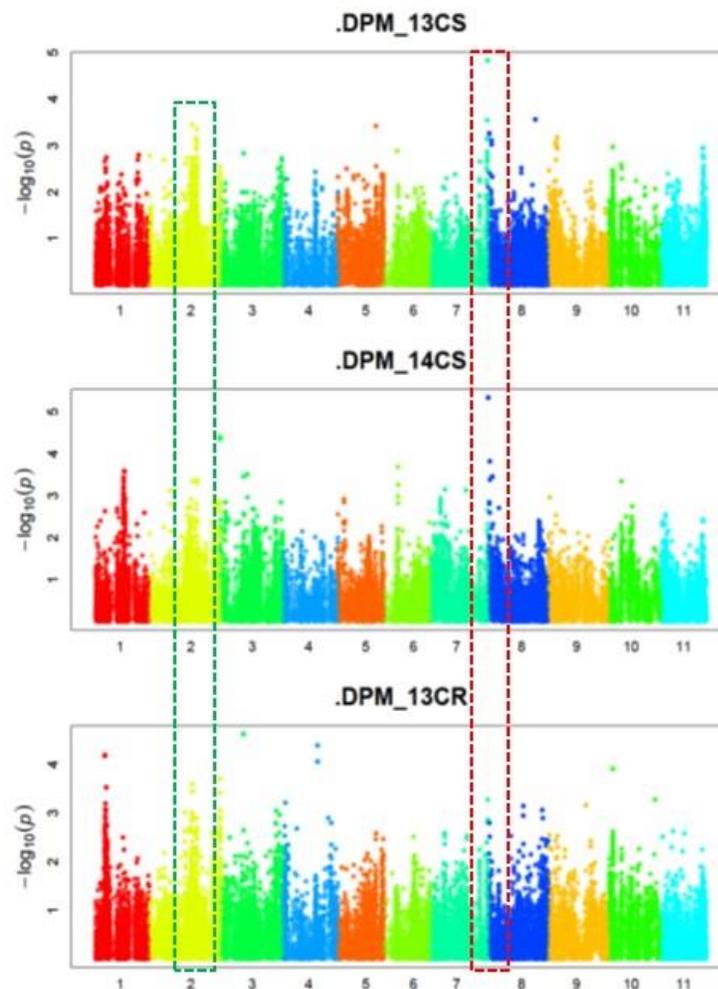
**Figura 25.** Similitud entre gen Phvul.001G057400 asociado a la característica días a floración él y gen Glyma.U011300.1.



### 3.3.3.2 Días a madurez fisiológica

Después de realizar el análisis de asociación se pudo encontrar dos picos con una alta probabilidad de ser asociaciones genéticas al rasgo días a madurez fisiológica, uno de ellos se encuentra entre los cromosomas 7 y 8 es decir al final del cromosoma 7 y al inicio del cromosoma 8, el otro pico que se pudo definir fue en el cromosoma 3 sin embargo con una probabilidad menor que la encontrada entre el cromosoma 7 y 8. Estas asociaciones fueron encontradas solamente en el tratamiento de sequía tanto del 2013 como del 2014, para el tratamiento de riego no se encontró ningún tipo de asociación en ninguno de los dos años según los umbrales de significancia anteriormente planteados (Figura 26).

**Figura 26.** Gráfica Manhattan proveniente de estudio de asociación para días a madurez fisiológica.



En la tabla 11 se pueden observar los marcadores moleculares tipo SNP que tuvieron la más alta correlación con la característica días a madurez fisiológica, se tomó el valor de 3.5 como umbral de significancia ( $p=0.0005$ ) para tener en cuenta como una posible asociación. Ninguno de los marcadores pasa el umbral en los dos tratamientos, lo cual es lo buscado ya que se busca la repetitividad del dato, sin embargo se pueden ver dos regiones definidas, una de ellas se presenta en el año 2014C ubicada en el cromosoma 8 que va desde la posición 561375 hasta 561387 pb. La segunda región identificada se encuentra en el cromosoma 7 y va desde la posición 51024687 hasta 51433178 pb.

**Tabla 11.** Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica días a madurez fisiológica.

SNP	Chr	Posición Física	-LOG(p-value)			Alelos	Efectos
			2013CR	2013CS	2014CS		
Chr01pos5940844.1	1	5940844	4.17	2.66	1.51	C/T	1.08
Chr01pos6017522.1	1	6017522	4.18	1.83	1.65	C/T	1.23
Chr01pos7619790.1	1	7619790	3.53	2.74	1.40	T/G	0.91
Chr01pos45197459.1	1	45197459	0.10	0.28	3.60	C/T	-2.34
Chr01pos45443726.1	1	45443726	0.78	0.97	3.57	T/A	-2.60
Chr02pos34120146.1	2	34120146	2.62	3.46	1.51	T/G	1.41
Chr02pos34268498.1	2	34268498	3.59	2.75	1.02	A/C	1.27
Chr02pos48822232.1	2	48822232	3.71	0.99	1.44	A/G	-1.45
Chr03pos30956.1	3	30956	0.92	1.52	4.41	T/C	-2.11
Chr03pos30965.1	3	30965	0.96	1.39	4.37	C/A	-2.11
Chr03pos12069299.1	3	12069299	4.62	2.83	3.46	A/T	-1.07
Chr03pos24611791.1	3	24611791	2.08	1.20	3.52	G/A	-3.07
Chr04pos42045108.1	4	42045108	4.06	1.60	1.33	C/T	0.92
Chr04pos42045130.1	4	42045130	4.39	1.74	1.23	C/G	-0.91
Chr05pos38348583.1	5	38348583	2.47	3.42	1.15	G/A	1.14
Chr06pos15737096.1	6	15737096	0.27	1.43	3.69	C/T	-1.83
Chr07pos51079171.1	7	51079171	2.82	3.54	2.20	A/G	2.11
Chr07pos51524615.1	7	51524615	3.28	4.83	2.65	A/G	1.23
Chr08pos206076.1	8	206076	2.03	2.11	5.34	T/C	-3.48
Chr08pos561375.1	8	561375	1.70	1.09	3.82	G/A	-2.55
Chr08pos561387.1	8	561387	1.70	1.09	3.82	A/G	-2.55
Chr08pos55416878.1	8	55416878	1.93	3.56	0.89	C/T	-1.88
Chr10pos3225621.1	10	3225621	3.91	1.82	0.40	A/G	-1.01

Chr: Cromosoma

Después de buscar en Phytosome V10.3 (Goodstein *et al.*, 2012) las anotaciones de los genes en los cuales se encontraron los SNP que presentaron asociación se pudo encontrar 17 genes candidatos de los cuales 3 de ellos no tienen anotación hasta el momento y 14 de ellos se encuentran completamente identificados (tabla 12).

Días a madurez fisiológica es una característica de adaptación muy importante en zonas con periodos cortos de siembra o temporadas de lluvia cortos como en algunas partes del trópico, en los análisis fenotípicos se encontró una alta correlación entre días a floración y madurez fisiológica por lo cual era esperado encontrar algún tipo de asociación en el cromosoma 1 ya que en Días a floración este cromosoma fue de gran importancia en términos de asociación genética.

En este caso se encontró una asociación importante en el cromosoma 1 en el año 2014CS con los marcadores moleculares Chr01pos45197459.1 y Chr01pos45443726.1 con efectos sobre la característica de -2.34 y -2.60 respectivamente. Estos resultados son muy congruentes con lo encontrado anteriormente en otros estudios de asociación y mapeo donde los genes encontrados que se asocian a esta característica se encuentran alrededor de los 48 millones de pares de bases en el cromosoma 1 (Kamfwa *et al.*, 2015; Mukeshimana *et al.*, 2014; Pérez-Vega *et al.*, 2010), sin embargo se encuentra bastante alejado de los genes encontrados para floración por más de 40 millones de pares de bases en este mismo estudio. Teniendo en cuenta la información que se ha obtenido en otros estudios estos marcadores serían los más opcionados para usarlos en programas de mejoramiento para madurez fisiológica.

En el cromosoma 7 se encontraron dos marcadores moleculares tipo SNP que son Chr07pos51079171.1 y Chr07pos51524615.1 los cuales tienen un efecto sobre la característica de 2.11 y 1.23 respectivamente, también se ha encontrado en otros estudios asociaciones en el cromosoma 7 en la región final del cromosoma al igual que en este estudio (Mukeshimana *et al.*, 2014).

Por otro lado se encontraron dos marcadores moleculares asociados a la característica en el cromosoma 3 que son Chr03pos12069299.1 y Chr03pos24611791.1 con efectos importantes sobre días a madurez de -1.07 y -3.07 días respectivamente, aunque no se

encontró en la bibliografía estudios que hayan encontrado asociaciones en este cromosoma, estos genes pueden ser propios de los genotipos evaluados por lo cual no deben ser descartados ya que si se usan los genotipos de este estudio como parentales fuentes de genes para esta característica, estos marcadores serían fundamentales ya que son los que más aportan a la misma. Tres días de disminución en días a madurez fisiológica sería un gran avance en términos de mejoramiento genético, teniendo en cuenta que al igual que días a floración esta característica está altamente correlacionada con rendimiento.

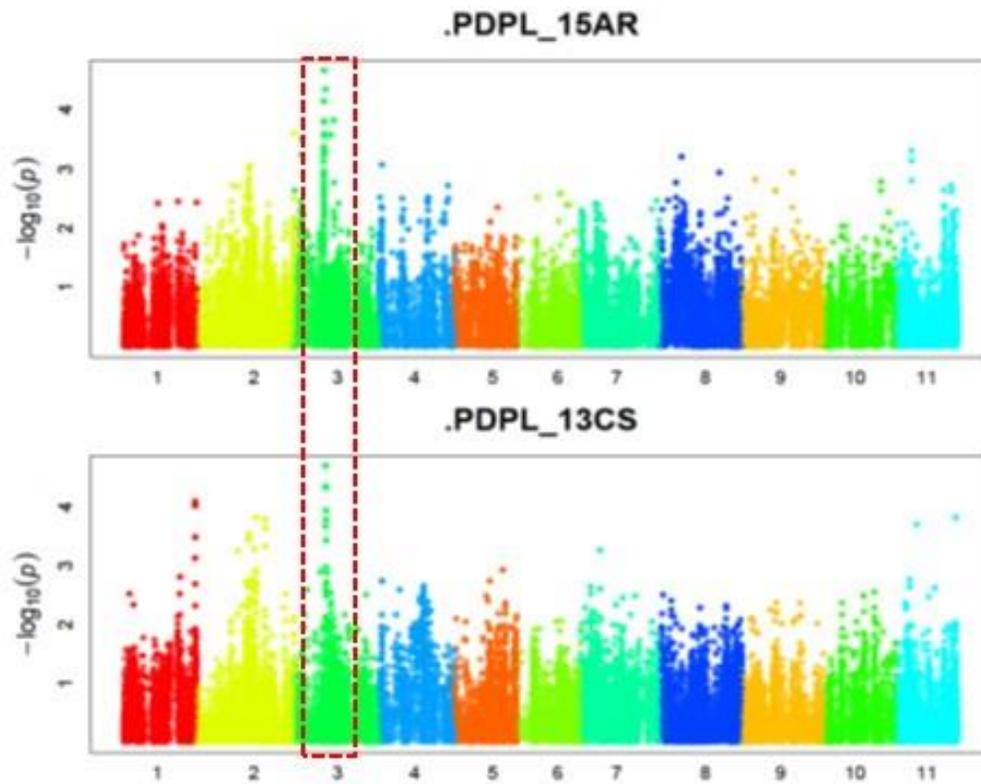
**Tabla 12.** Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con días a madurez fisiológica.

Nombre del Gen	<i>Arabidopsis</i> Homología	Anotación	Chr	Inicio (pb)	Final (pb)	Marcador Molecular	Efecto
Phvul.001G052300	AT5G48920.1	tracheary element differentiation-related 7	1	5,940,559	5,941,451	Chr01pos5940844.1	1.08
Phvul.001G052600	AT3G10180.1	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily protein	1	5,988,427	6,017,916	Chr01pos6017522.1	1.23
Phvul.001G062000	AT5G53170.1	FTSH protease 11	1	7,618,948	7,635,797	Chr01pos7619790.1	0.91
Phvul.001G186700	AT2G36480.3	ENTH/VHS family protein	1	45,192,295	45,198,674	Chr01pos45197459.1	-2.34
Phvul.001G188000	AT2G36370.1	ubiquitin-protein ligases	1	45,443,206	45,455,551	Chr01pos45443726.1	-2.60
Phvul.002G186100	AT2G36740.1	sequence-specific DNA binding transcription factors;DNA binding;DNA binding	2	34,113,108	34,120,571	Chr02pos34120146.1	1.41
Phvul.002G187500	AT5G45680.1	FK506-binding protein 13	2	34,267,806	34,270,405	Chr02pos34268498.1	1.27
Phvul.003G000600	AT1G05620.1	uridine-ribohydrolase 2	3	27,274	32,237	Chr03pos30956.1	-2.11
Phvul.003G077100	AT1G61850.2	phospholipases;galactolipases	3	12,067,608	12,076,902	Chr03pos12069299.1	-1.07
Phvul.004G141700	AT4G27760.1	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily protein	4	42,041,420	42,048,045	Chr04pos42045108.1	0.92
Phvul.006G044000	AT1G50710.1		6	15,732,392	15,738,211	Chr06pos15737096.1	-1.83
Phvul.007G272400	AT5G43460.1	HR-like lesion-inducing protein-related	7	51,078,708	51,080,889	Chr07pos51079171.1	2.11
Phvul.007G278300	AT1G04200.1		7	51,519,300	51,525,270	Chr07pos51524615.1	1.23
Phvul.008G004900	AT5G49210.1		8	560,943	563,074	Chr08pos561387.1	-2.55
Phvul.008G239900	AT1G65930.1	cytosolic NADP+-dependent isocitrate dehydrogenase	8	55,416,105	55,420,985	Chr08pos55416878.1	-1.88
Phvul.010G021600	AT4G27870.1	Vacuolar iron transporter (VIT) family protein	10	3,221,742	3,226,398	Chr10pos3225621.1	-1.01
Chr: Cromosoma							

### 3.3.3.3 Número de vainas por planta

En la figura 27 se puede observar en el cromosoma tres un pico que demarca una posible asociación con número de vainas por planta, por otro lado en el cromosoma 2 también se alcanza a dilucidar una posible asociación, sin embargo no se tendrá en cuenta ya que no es consistente en los diversos años evaluados.

**Figura 27.** Gráfica Manhattan proveniente de estudio de asociación para número de vainas por planta.



En la tabla 13 se pueden observar los marcadores moleculares tipo SNP que tuvieron la más alta correlación con la característica número de vainas por planta, se tomó el valor de 3.5 como umbral de significancia ( $p=0.0005$ ) para tener en cuenta como una posible asociación (Wu *et al.*, 2014). Las regiones con valores más significantes se encuentran en el cromosoma 3 en dos regiones bien definidas, la primera región va desde 11024002 pb hasta 11519761 pb y la segunda región importante va desde 12069299 pb hasta 12914324 pb.

**Tabla 13.** Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica número de vainas por planta para el año 2014C en el tratamiento de sequía.

SNP	Chr	Posición Física	-LOG(p-value)		Alelos	Efectos
			2015AR	2013CS		
Chr01pos51781927.1	1	51781927	1.71	4.03	C/T	0.08
Chr01pos51781938.1	1	51781938	1.60	4.03	G/T	0.08
Chr02pos28696983.1	2	28696983	2.86	3.54	T/C	0.77
Chr02pos34147817.1	2	34147817	1.72	3.83	G/T	0.98
Chr02pos48799607.1	2	48799607	3.60	2.12	C/T	-1.37
Chr03pos11024002.1	3	11024002	3.79	1.08	G/T	-0.13
Chr03pos11041075.1	3	11041075	3.59	0.96	A/G	0.13
Chr03pos11137715.1	3	11137715	4.14	0.15	C/A	0.02
Chr03pos11431862.1	3	11431862	4.66	1.00	C/A	0.15
Chr03pos11432156.1	3	11432156	3.56	0.17	T/C	0.03
Chr03pos11432246.1	3	11432246	3.81	0.19	G/A	0.01
Chr03pos11519761.1	3	11519761	4.34	0.52	T/G	0.19
Chr03pos12069299.1	3	12069299	1.36	4.70	A/T	-1.34
Chr03pos12149688.1	3	12149688	1.00	3.67	G/A	1.26
Chr03pos12149694.1	3	12149694	1.06	4.33	T/C	1.16
Chr03pos12435035.1	3	12435035	0.94	3.79	A/G	1.26
Chr03pos12818972.1	3	12818972	0.84	3.95	G/C	1.12
Chr03pos12914324.1	3	12914324	0.94	4.34	C/T	0.06
Chr03pos22185131.1	3	22185131	3.57	0.45	G/C	0.11
Chr03pos31867935.1	3	31867935	3.82	2.09	C/A	1.16

Chr=Cromosoma.

Después de usar la base de datos del genoma de frijol se pudieron identificar 4 genes en cada región de interés dentro del cromosoma 3 para un total de 8 genes identificados de los cuales dos de ellos no tienen una anotación hasta el momento (Phvul.003G074600 y Phvul.003G080500), y 6 de ellos están claramente identificados (tabla 14).

**Tabla 14.** Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con número de vainas por planta.

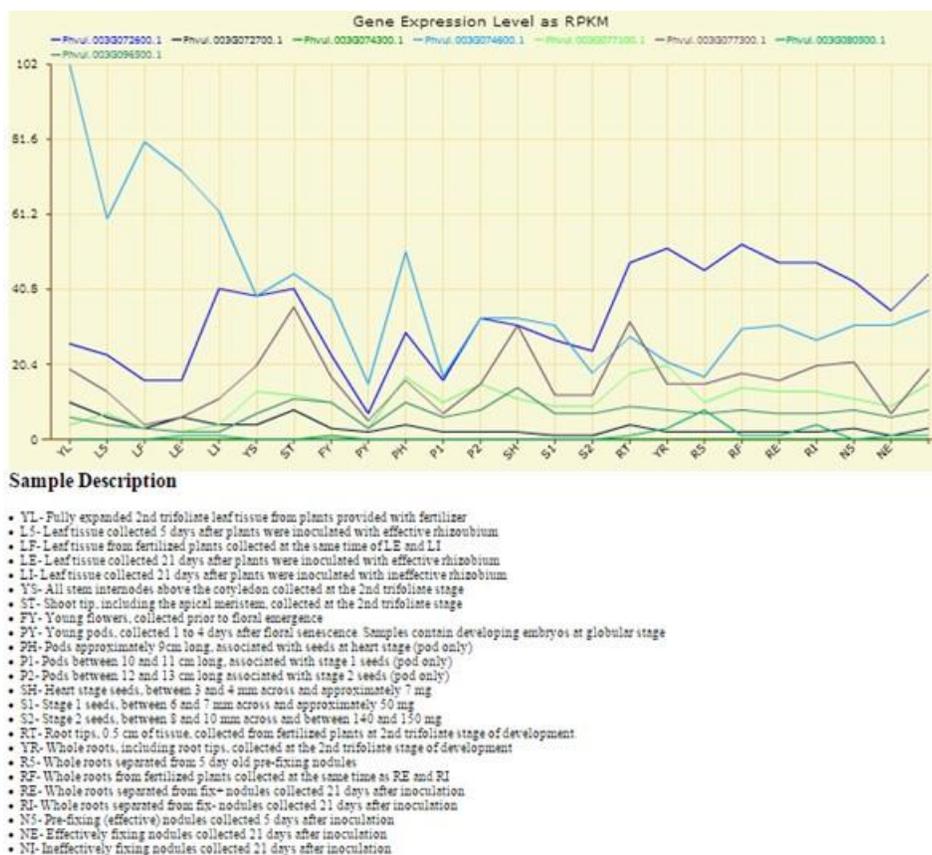
Nombre del Gen	Arabidopsis Homología	Anotación	Chr	Inicio (pb)	Final (pb)
<b>Phvul.003G072600</b>	<b>AT1G10430.1</b>	<b>protein phosphatase 2A-2</b>	<b>Chr03</b>	<b>11,018,954</b>	<b>11,026,006</b>
<b>Phvul.003G072700</b>	AT4G30720.1	FAD/NAD(P)-binding oxidoreductase family protein	Chr03	11,039,772	11,055,856
<b>Phvul.003G074300</b>	AT2G43900.1	Endonuclease/exonuclease/phosphatase family protein	Chr03	11,427,966	11,433,588
<b>Phvul.003G074600</b>	<b>AT2G43945.1</b>		<b>Chr03</b>	<b>11,517,261</b>	<b>11,521,425</b>
<b>Phvul.003G077100</b>	AT1G61850.2	phospholipases;galactolipases	Chr03	12,067,608	12,076,902
<b>Phvul.003G077300</b>	<b>AT4G04870.1</b>	<b>cardiolipin synthase</b>	<b>Chr03</b>	<b>12,147,352</b>	<b>12,149,872</b>
<b>Phvul.003G080500</b>	AT4G04480.1		Chr03	12,913,473	12,914,746
<b>Phvul.003G096500</b>	AT3G06860.1	multifunctional protein 2	Chr03	22,178,317	22,185,502

Es de gran importancia saber en qué tejido y en qué momento estos genes se empiezan a expresar, ya que los resultados fenotípicos mostraron una alta correlación positiva de esta característica con rendimiento, es decir entre más vainas por planta mayor será el rendimiento. Con el fin de cumplir este propósito se buscó en el atlas de expresión para frijol común los genes identificados y se pudo encontrar que de los ocho genes encontrados tres de ellos que son: Phvul.003G072600, Phvul.003G074600 y Phvul.003G077300 tienen una alta expresión comenzando desde estados tempranos de crecimiento en los entrenudos del tallo por encima de los cotiledones en la segunda etapa trifoliada, y continuando su expresión en los meristemas apicales que posteriormente podrán formarse en nuevas hojas o flores que darán lugar a nuevas vainas (Debouck & Hidalgo, 1985) (Gráfica 27).

Los SPNs encontrados dentro de los tres genes identificados fueron Chr03pos11024002.1, Chr03pos11519761.1, Chr03pos12149688.1 y Chr03pos12149694.1. Sin embargo los dos últimos mencionados tienen un efecto positivo sobre la característica de 1.26 y 1.16 respectivamente. Por lo cual serían los marcadores moleculares más apropiados para usarlos en mejoramiento asistido por marcadores para número de vainas por planta. Estos dos marcadores se encuentran dentro de la secuencia del gen Phvul.003G077300 que codifica para la enzima *cardiolipina sintasa*. La cardiolipina es uno de los componentes primordiales de la membrana mitocondrial interna, por esta razón la presencia de este lípido es crucial ya que juega un papel muy importante en el desarrollo de la fosforilación

oxidativa, que es el proceso por el cual la planta puede generar energía en forma de ATP. Esto conlleva a que la *cardiopilina* interactúe con un gran número de proteínas y enzimas mitocondriales (Pineau *et al.*, 2013; Schlame, Rua, & Greenberg, 2000). Esto posiblemente es a causa de que la etapa reproductiva es aquella más energía requiere fisiológicamente.

**Figura 28.** Nivel y tejido en el cual se expresan los genes candidatos asociados número de vainas por planta



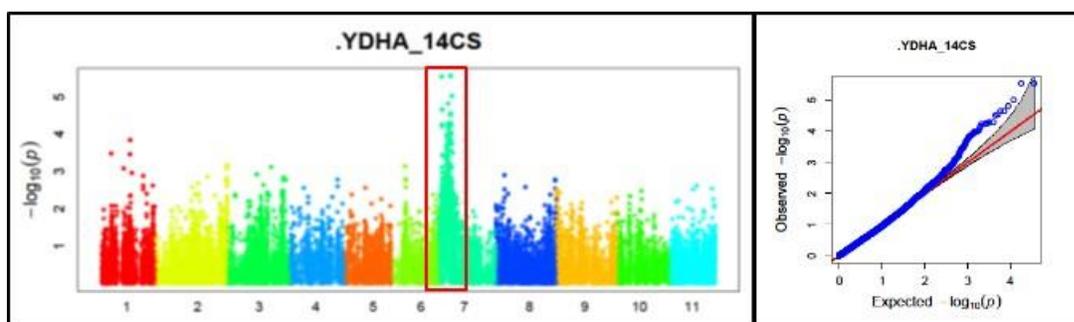
Fuente: (O'Rourke *et al.*, 2014)

### 3.3.3.4 Rendimiento (Kilogramos/hectárea)

En la gráfica 28 se pueden observar las regiones que tuvieron la más alta correlación con la característica rendimiento. En el cromosoma 7 se puede observar una gran cantidad de marcadores que muestran una asociación principalmente en el tratamiento de sequía del año 2014C, y aunque en los otros años no se encuentran los picos por encima del umbral de significancia se puede observar que hay una asociación baja. Por otro lado aunque se puede ver otras asociaciones en el cromosoma 2, nos son significantes por lo cual no se

tendrán en cuenta en la búsqueda de genes candidatos. También esta asociación se ve reflejada en la gráfica QQ donde claramente se puede ver una diferencia entre los datos esperados y los observados explicando una asociación entre la característica rendimiento y los marcadores moleculares señalados.

**Figura 29.** Gráfica Manhattan proveniente de estudio de Asociación para Rendimiento (Kg/ha).



Posterior al análisis se pudo encontrar 39 marcadores tipo SNPs en el cromosoma 7 que se encuentran asociados con rendimiento en los diferentes años, sin embargo solo se mostraran aquellos asociados en el tratamiento 2014C ya que presentaron los más altos porcentajes de asociación (Tabla 15).

**Tabla 15.** Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica rendimiento para el año 2014C en el tratamiento de sequía.

SNP	Chr	Posición Física	CM	-LOG(p-value) 2014CS	Alelo	Efecto
Chr07pos971353.1	7	971353	9.71	5.54	G/A	604.3
Chr07pos974571.1	7	974571	9.72	4.27	C/T	536.8
Chr07pos975301.1	7	975301	9.73	4.22	A/C	502.9
Chr07pos975307.1	7	975307	9.73	4.22	G/C	502.9
Chr07pos975323.1	7	975323	9.73	4.65	T/C	528.0
Chr07pos975342.1	7	975342	9.73	4.22	T/C	502.0
Chr07pos1200278.1	7	1200278	10.84	4.66	A/C	571.4
Chr07pos2680056.1	7	2680056	20.61	3.66	G/T	375.3
Chr07pos2680067.1	7	2680067	20.61	3.66	G/A	375.3
Chr07pos2744507.1	7	2744507	21.43	3.99	A/G	405.6
Chr07pos2798630.1	7	2798630	22.12	3.55	G/A	373.7

Tabla 15 (Continuación)

SNP	Chr	Posición Física	CM	-LOG(p-value) 2014CS	Alelo	Efecto
Chr07pos2917431.1	7	2917431	23.63	4.28	A/C	450.0
Chr07pos2917455.1	7	2917455	23.63	3.91	A/C	437.2
Chr07pos2917472.1	7	2917472	23.63	3.91	A/G	437.2
Chr07pos2964931.1	7	2964931	24.23	4.01	T/C	447.4
Chr07pos2964940.1	7	2964940	24.23	4.26	A/C	452.6
Chr07pos2964962.1	7	2964962	24.23	3.98	A/G	445.7
Chr07pos2964965.1	7	2964965	24.23	3.93	C/T	455.9
Chr07pos2991785.1	7	2991785	24.57	4.82	A/G	519.3
Chr07pos2994692.1	7	2994692	24.61	4.00	C/T	421.4
Chr07pos2994694.1	7	2994694	24.61	4.00	T/C	421.4
Chr07pos2994738.1	7	2994738	24.61	3.82	C/A	420.2
Chr07pos2994895.1	7	2994895	24.61	4.16	T/C	459.9
Chr07pos2994921.1	7	2994921	24.61	3.77	A/G	468.8
Chr07pos2994952.1	7	2994952	24.61	3.58	A/T	457.2
Chr07pos3446956.1	7	3446956	29.15	3.86	G/A	437.8
Chr07pos3457093.1	7	3457093	29.23	4.52	T/A	379.3
Chr07pos3489001.1	7	3489001	29.49	3.86	T/C	351.2
Chr07pos3523536.1	7	3523536	29.77	4.30	T/A	390.3
<b>Chr07pos3588916.1</b>	<b>7</b>	<b>3588916</b>	<b>30.30</b>	<b>5.55</b>	<b>G/T</b>	<b>401.1</b>
Chr07pos3588986.1	7	3588986	30.31	4.28	C/T	349.6
Chr07pos3598129.1	7	3598129	30.38	3.56	G/T	413.4
Chr07pos3617748.1	7	3617748	30.54	3.72	A/G	409.3
Chr07pos3679249.1	7	3679249	31.04	4.55	G/A	369.6
Chr07pos3829186.1	7	3829186	32.26	4.25	A/T	362.5
Chr07pos3853012.1	7	3853012	32.45	3.99	A/G	357.7
Chr07pos3894430.1	7	3894430	32.79	3.75	T/C	356.1
Chr07pos3922323.1	7	3922323	33.02	5.02	A/G	409.6
Chr07pos4136473.1	7	4136473	34.67	3.50	A/T	345.7

CM= Centimorgans, Chr = Cromosoma.

Se pudieron identificar tres regiones en el cromosoma 7 en las cuales se encontraron asociaciones las cuales son: 971353 pb hasta 975342 pb (6 marcadores), 2680056 pb hasta 2994952 pb (18 marcadores) y 3446956 pb hasta 4136473 pb (14 marcadores), a partir de las posiciones físicas en las cuales se encontraban los polimorfismos se pudo identificar que en estas regiones se encontraban 7 genes los cuales fueron identificados

por medio de Phytozome V10.3 (Goodstein *et al.*, 2012) usando el genoma referencia de frijol del genotipo G19833 (Schmutz *et al.*, 2014) (Tabla 16).

**Tabla 16.** Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con rendimiento en el tratamiento de sequía del 2014C.

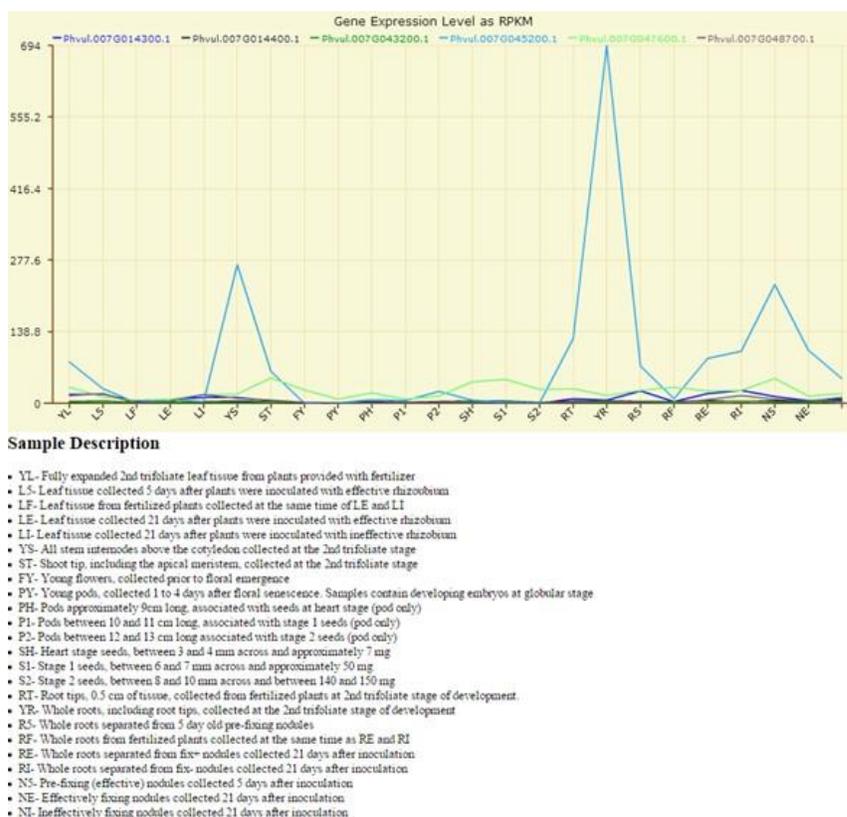
Nombre del Gen	Arabidopsis Homología	Anotación	Chr	Inicio (pb)	Final (pb)
<b>Phvul.007G014300</b>	AT3G19970.1	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein	Chr07	969,994	973,158
<b>Phvul.007G014400</b>	AT1G01290.1	cofactor of nitrate reductase and xanthine dehydrogenase 3	Chr07	974,247	976,615
<b>Phvul.007G043200</b>	AT4G15090.1	FRS (FAR1 Related Sequences) transcription factor family	Chr07	3,456,378	3,461,625
<b>Phvul.007G044400</b>			Chr07	3,522,817	3,523,584
<b>Phvul.007G045200</b>	<b>AT3G19615.1</b>		<b>Chr07</b>	<b>3,588,668</b>	<b>3,589,340</b>
<b>Phvul.007G047600</b>	AT3G22960.1	Pyruvate kinase family protein	Chr07	3,828,585	3,832,663
<b>Phvul.007G048700</b>	AT4G21410.1	cysteine-rich RLK (RECEPTOR-like protein kinase) 29	Chr07	3,919,580	3,922,968

Chr: Cromosoma

Los genes identificados fueron verificados en la base de datos del atlas de expresión de genes de frijol común (O'Rourke *et al.*, 2014), donde se pudo identificar el tejido en el cual se expresa cada gen y en qué grado en condiciones normales. Se pudo encontrar que el gen que presenta mayor probabilidad de asociación con rendimiento que es Phvul.007G045200 con un efecto sobre la característica de 401 kilogramos (Tabla 16) se expresa en una mayor proporción en la raíz al estar la planta de frijol aun en estados tempranos, específicamente cuando se encuentra formando el segundo trifolio (YR).

Este resultado ya se ha encontrado en otros estudios donde el cromosoma 7 juega un papel importante en esta característica y en peso total de semilla (Mukeshimana *et al.*, 2014), el hecho de que este gen se exprese en raíz es de gran importancia en este estudio ya que por otros estudios se ha identificado que la raíz juega un papel fundamental en la tolerancia a sequía (Montero-Tavera, Ruiz-Medrano, & Xoconostle-Cázares, 2008), donde se ha demostrado que una raíz larga puede dar cierta ventaja a genotipos de frijol al afrontar una estación seca, ya que la planta tiene la capacidad de obtener agua de suelos más profundos continuando con el proceso de fotosíntesis y a su vez con la producción y llenado de semilla (Beebe *et al.*, 2013; Polania, 2011)

**Figura 30.** Nivel y tejido en el cual se expresan los genes candidatos asociados al rendimiento



Fuente: (O'Rourke *et al.*, 2014).

### 3.3.3.5 Peso de cien semillas

Las asociaciones se presentaron en el cromosoma 1, 3 y 7. En los tres cromosomas la expresión se da de manera diferencial, sin embargo se consideran significantes. Algo para demarcar es que las regiones asociadas se presentan no solo para un año sino que en muchos casos la asociación se da en los diferentes años y tratamientos evaluados. En la gráfica QQ de los ambientes 2013CS, 2013CR y 2014CS se puede ver una diferencia entre los datos esperados y los observados explicando una alta asociación entre la característica peso de cien semillas y los marcadores moleculares señalados con cuadros rojos y azules (Gráfica 30).

La característica de peso de cien semillas es de gran importancia al momento de seleccionar genotipos andinos, ya que el mercado está regido principalmente por tipo de grano grande (mayor a 35 gramos por cien semillas) haciendo que los agricultores busquen

en su mayoría tipos de grano grande. El hecho de tener genotipos tolerantes a sequía con tamaños de grano ajustados al mercado andino, daría gran ventaja a agricultores de bajos recursos que no tienen acceso a sistemas de riego bien estructurados.

Posteriormente se pudieron identificar 33 marcadores moleculares tipo SNP que presentaban una asociación alta para peso de cien semillas, estos marcadores se encuentran distribuidos en los cromosomas 1, 3 y 7. En este caso en la tabla 17 se puede observar la probabilidad de asociación para los cuatro ensayos sembrados en los diversos ambientes. Dentro de cada cromosoma se pudieron identificar regiones específicas que presentaron una alta repetitividad a través de los diversos ensayos con un p-valor significativo, como es el caso de la región que va desde 42365661 pb hasta 42366508 pb que tiene  $-\text{LOG}(\text{p-valor})$  mayores a 3.5 en 2013CR, 2013CS y 2015AR demostrando una reproducibilidad y confiabilidad del dato (Tabla 17). Se puede notar que los tres ambientes anteriormente mencionados tienen la misma probabilidad, ya que todos los marcadores se encuentran dentro de misma región y el mismo gen que es la phytochelatin sintasa 1 (Tabla 18).

**Figura 31.** Gráfica Manhattan proveniente de estudio de Asociación para peso de cien semillas lo cual permite estimar tamaño de grano.

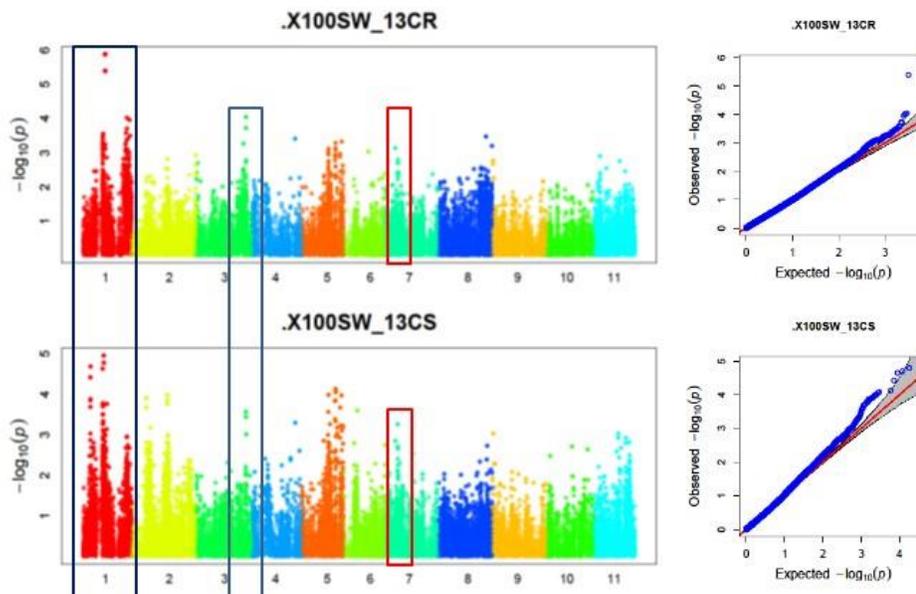
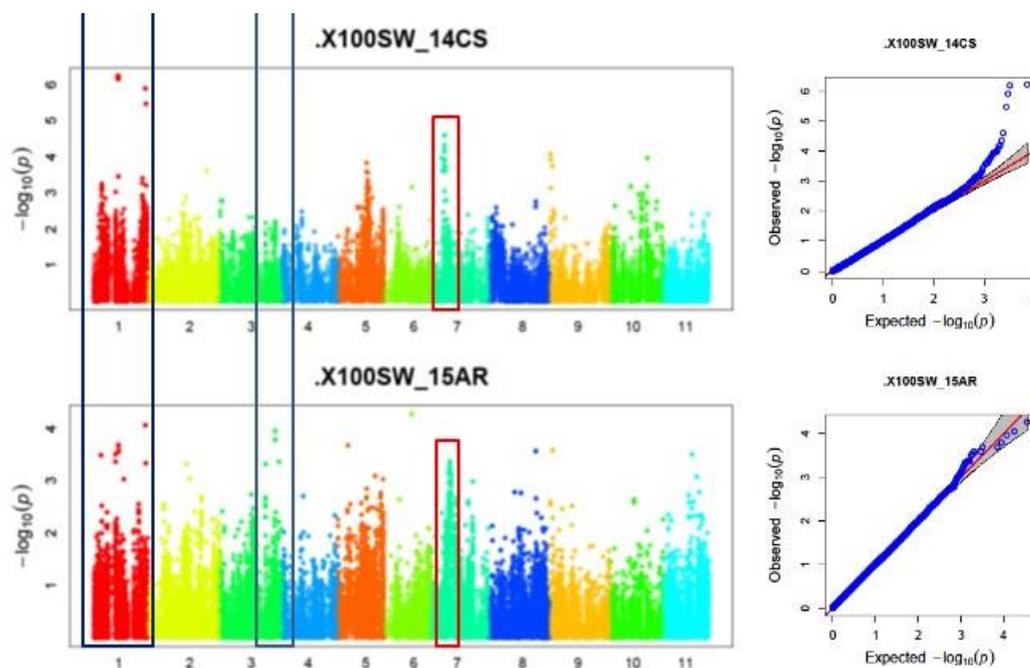


Figura 31 (Continuación)



**Tabla 17** Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica peso de cien semillas para los años 2013CS, 2013CR, 2014C y 2015AR.

SNP	Chr	Posicion Fisica	-LOG(p-Valor)				Alelo	Efecto
			2013CR	2013CS	2014CS	2015AR		
<b>Chr01pos42365661.1</b>	1	42365661	5.40	1.56	6.22	3.57	A/G	11.06
<b>Chr01pos42365673.1</b>	1	42365673	5.40	0.90	6.22	3.57	T/C	11.06
<b>Chr01pos42365677.1</b>	1	42365677	5.40	0.24	6.22	3.57	C/G	11.06
<b>Chr01pos42365685.1</b>	1	42365685	5.40	0.18	6.22	3.57	C/T	11.06
<b>Chr01pos42365694.1</b>	1	42365694	5.40	1.09	6.22	3.57	C/T	11.06
<b>Chr01pos42366422.1</b>	1	42366422	5.88	0.14	6.18	3.68	T/A	12.89
<b>Chr01pos42366436.1</b>	1	42366436	5.88	0.76	6.18	3.68	G/C	12.89
<b>Chr01pos42366469.1</b>	1	42366469	5.88	0.78	6.18	3.68	C/T	12.89
<b>Chr01pos42366471.1</b>	1	42366471	5.88	2.30	6.18	3.68	T/C	12.89
<b>Chr01pos42366472.1</b>	1	42366472	5.88	1.51	6.18	3.68	G/T	12.89
<b>Chr01pos42366508.1</b>	1	42366508	5.88	0.08	6.18	3.68	G/T	12.89

Tabla 17 (Continuación)

SNP	Chr	Posicion Fisica	-LOG(p-Valor)				Alelo	Efecto
			2013CR	2013CS	2014CS	2015AR		
Chr01pos43934452.1	1	43934452	0.12	3.77	0.04	0.36	T/G	1.19
Chr01pos44162413.1	1	44162413	0.18	4.16	0.44	0.59	G/A	0.62
Chr01pos46561194.1	1	46561194	0.34	3.71	0.53	0.09	A/G	1.29
Chr01pos48048057.1	1	48048057	0.23	4.59	0.21	0.33	G/A	0.47
Chr01pos48059093.1	1	48059093	0.23	4.59	0.11	0.05	A/G	1.38
Chr01pos50541367.1	1	50541367	3.57	0.17	2.04	0.83	T/C	4.91
Chr01pos50802928.1	1	50802928	4.02	1.26	2.82	1.56	A/G	5.24
Chr01pos50842559.1	1	50842559	3.71	1.73	3.40	1.27	T/C	5.51
Chr01pos51594832.1	1	51594832	3.96	0.77	5.89	4.05	T/A	7.63
Chr01pos51665221.1	1	51665221	3.50	2.36	5.48	3.33	C/T	7.79
Chr03pos50074524.1	3	50074524	1.64	0.41	0.83	3.96	A/T	4.13
Chr03pos50084867.1	3	50084867	3.72	2.02	2.03	1.18	G/A	5.20
Chr03pos50084894.1	3	50084894	4.04	0.15	2.22	1.32	G/A	5.79
Chr07pos3852682.1	7	3852682	2.40	0.58	3.93	1.05	A/G	4.63
Chr07pos3852898.1	7	3852898	2.24	0.90	3.77	1.24	G/C	4.32
Chr07pos3852925.1	7	3852925	1.77	0.11	3.70	0.90	G/C	4.71
Chr07pos3853078.1	7	3853078	2.42	0.53	4.16	1.24	T/A	4.64
Chr07pos3863598.1	7	3863598	2.80	0.36	4.33	1.59	C/T	4.58
Chr07pos3895073.1	7	3895073	2.32	0.53	3.90	0.95	G/A	4.63
Chr07pos3895102.1	7	3895102	2.70	0.69	4.59	1.14	G/A	4.92
Chr07pos3895149.1	7	3895149	2.70	0.23	4.59	1.14	G/A	4.92

Después de usar la base de datos del genoma de frijol se pudieron identificar 13 genes en las regiones donde se encuentran los marcadores que tuvieron asociación con la característica peso de cien semillas, dentro de los genes identificados dos de ellos que son Phvul.001G162600 y Phvul.001G261100 tienen los mayores efectos sobre la característica que son 12.89 y 7.63 gramos respectivamente, lo cual los hace unos buenos candidatos para realizar mejoramiento asistido por marcadores para el carácter peso de cien semillas.

**Tabla 18.** Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con peso de cien semillas en los ambientes 2013CS, 2013CR, 2014CS y 2015AR.

Nombre del Gen	Arabidopsis Homología	Anotación	Chr	Inicio (pb)	Final (pb)	Marcador Molecular	Efecto
<b>Phvul.001G162600</b>	AT5G44070.1	phytochelatin synthase 1 (PCS1)	1	42,363,210	42,366,861	Chr01pos42366508.1	12.89
Phvul.001G177900	AT1G08060.1	ATP-dependent helicase family protein	1	44,157,820	44,179,416	Chr01pos44162413.1	0.62
Phvul.001G200000	AT3G56150.1	eukaryotic translation initiation factor 3C	1	46,559,997	46,564,096	Chr01pos46561194.1	1.29
Phvul.001G217600	AT1G75250.1	RAD-like 6	1	48,047,833	48,048,207	Chr01pos48048057.1	0.47
Phvul.001G217800	AT4G01840.1	Ca <sup>2+</sup> activated outward rectifying K <sup>+</sup> channel 5	1	48,057,671	48,060,252	Chr01pos48059093.1	1.38
Phvul.001G246300	AT2G40330.1	PYR1-like 6	1	50,540,616	50,541,930	Chr01pos50541367.1	4.91
Phvul.001G250100	AT2G22125.1	binding	1	50,796,359	50,806,856	Chr01pos50802928.1	5.24
Phvul.001G250700	AT5G10180.1	sulfate transporter 2;1	1	50,836,917	50,843,810	Chr01pos50842559.1	5.51
<b>Phvul.001G261100</b>	<b>AT1G67400.1</b>	<b>ELMO/CED-12 family protein</b>	<b>1</b>	<b>51,592,506</b>	<b>51,596,685</b>	<b>Chr01pos51594832.1</b>	<b>7.63</b>
Phvul.003G274800	AT5G58140.1	phototropin 2	3	50,074,125	50,091,400	Chr03pos50074524.1	4.13
Phvul.007G047800	AT5G60440.1	AGAMOUS-like 62	7	3,852,475	3,853,233	Chr07pos3852682.1	4.63
Phvul.007G047900	AT5G60440.1	AGAMOUS-like 62	7	3,862,712	3,863,884	Chr07pos3863598.1	4.58
Phvul.007G048300	AT2G14620.1	xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 10	7	3,893,892	3,895,449	Chr07pos3895073.1	4.63

Al mirar la expresión de los genes identificados se pudo observar que la mayoría de ellos no tienen una expresión muy alta en los tejidos donde se esperaría para el aporte a la característica. Sin embargo el hecho de que la expresión no sea alta no quiere decir que no tenga influencia en la característica ya que algunas proteínas en bajas proporciones pueden desencadenar respuestas de la planta agresivas como es el caso de algunas hormonas.

El gen Phvul.001G162600 aunque tiene una expresión baja en comparación a los otros genes, tiene un gran efecto sobre la característica por esta razón se quiso mirar la expresión de este gen independientemente. Y se pudo encontrar que su mayor punto de expresión según el atlas de expresión (O'Rourke et al., 2014) es en los meristemas apicales después del segundo trifolio en estados tempranos de la planta (Figura 29). Otro punto interesante de esta proteína posterior a la formación de flores empieza una expresión constante en todos los estados de la vaina indicando que esta expresión posiblemente podría estar direccionada al llenado de grano y consecuentemente al tamaño de grano. El gen que mayor expresión presento en condiciones normales según el atlas de expresión de frijol común fue Phvul.001G200000 y uno de los más altos puntos de expresión se da

en la zonas apicales meristemáticas en etapas tempranas de la planta antes de la producción de vainas, y posteriormente en casi todos los estados de la vaina y semillas, indicando una posible correlación de este marcador con el tamaño de grano. Definitivamente el marcador molecular Chr01pos46561194.1 también sería un candidato para usarlo en programas de mejoramiento.

**Figura 32.** Nivel y tejido en el cual se expresan los genes candidatos asociados a peso de cien semillas

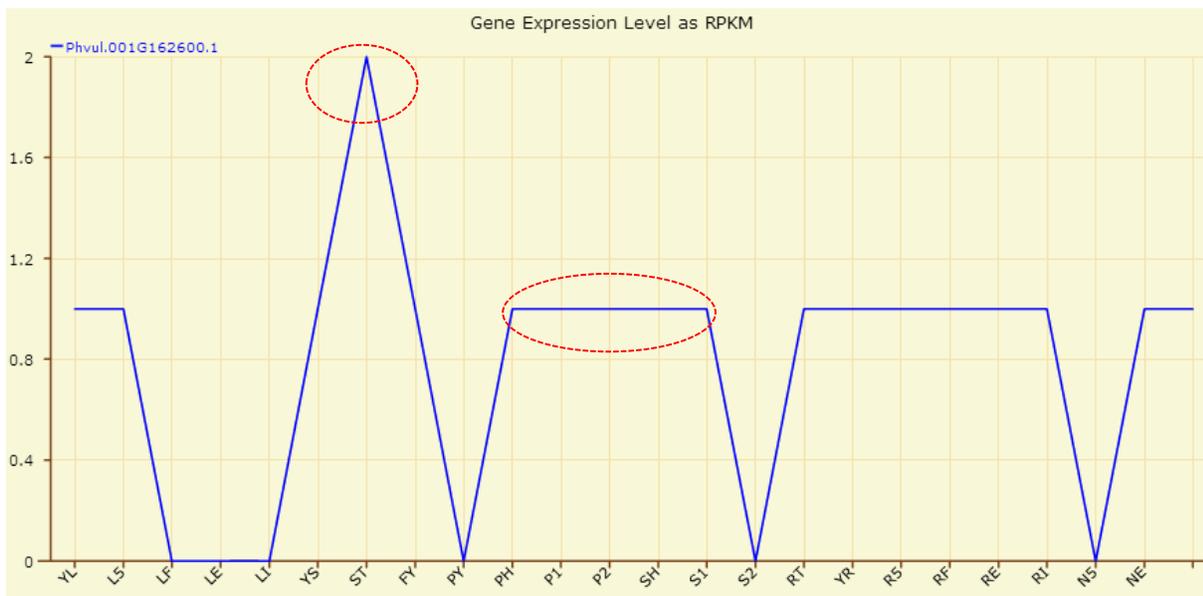
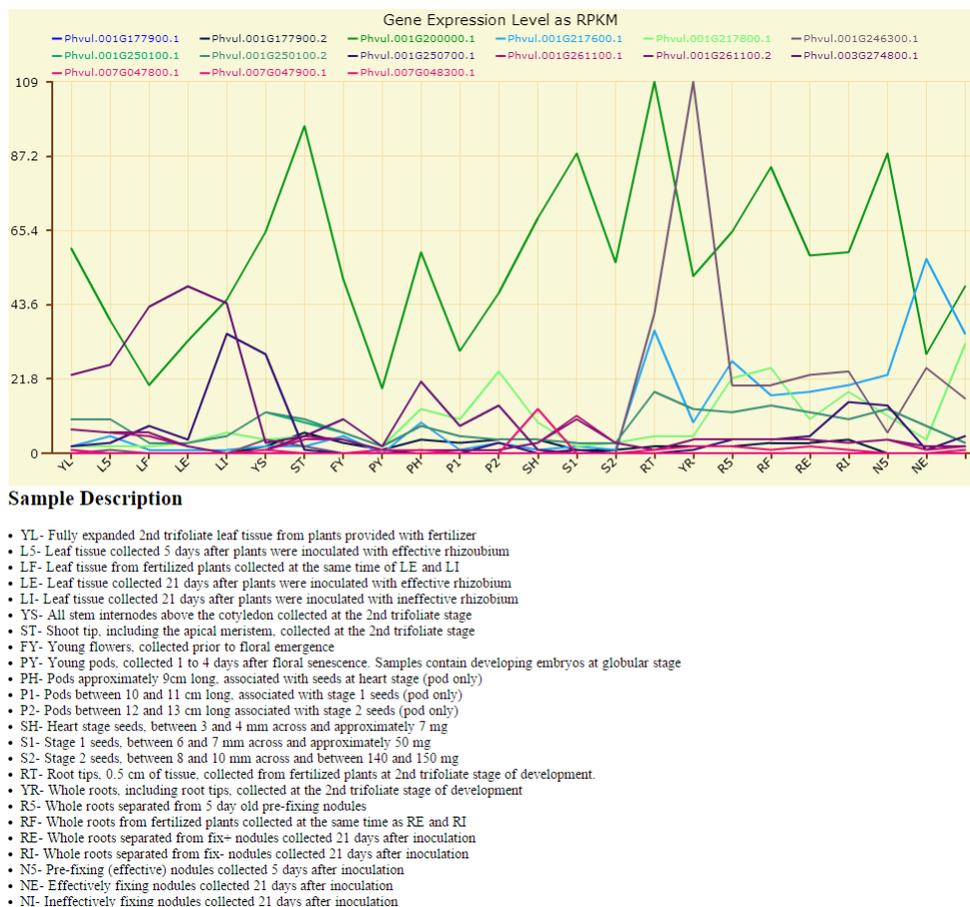


Figura 32 (Continuación)

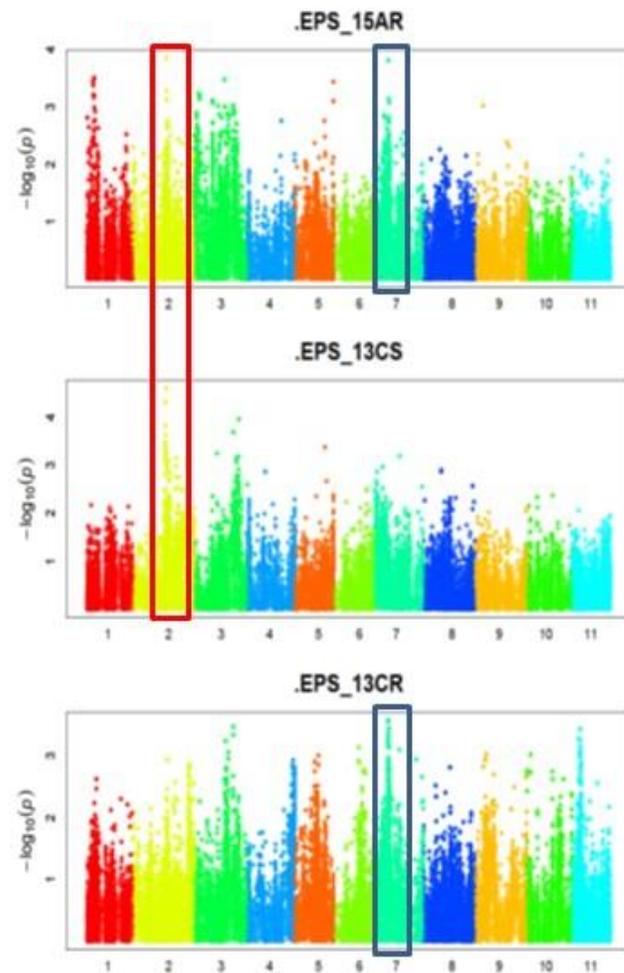


Fuente: (O'Rourke *et al.*, 2014).

### 3.5.3.6 Eficiencia de la producción de semillas (EPS)

El índice de la producción de semillas muestra básicamente que tanto de la biomasa a mitad de llenado de vainas va a la producción de semillas en términos de cantidad, esto a causa que en sequia muchas de las vainas tienden a ser vanas, disminuyendo el número de semillas considerablemente. Se pudo encontrar en los análisis fenotípicos que este índice se encuentra correlacionado en dos de los tratamientos realizados (2013CS y 2015AR) con rendimiento, lo cual es esperado ya que un número mayor de semillas podría resultar en mayor rendimiento, sin embargo se debe tener en cuenta que este índice no está mostrando número de semillas como tal, sino la relación existente entre número de semillas y biomasa aérea total a mitad de llenado de vainas. Lo ideal sería tener un material con una alta biomasa, siempre y cuando esta biomasa se vea reflejada en producción de semilla al término del ciclo.

**Figura 33.** Gráfica Manhattan proveniente de estudio de Asociación para Eficiencia de la producción de semillas.



En la gráfica 32 se pueden observar dos regiones las cuales presentan una posible asociación ya que superan el umbral de significancia establecido. La primera región se encuentra en el cromosoma 2 y los picos son más claros en los ensayos 2015AR (riego) y 2013CS (sequia) (Gráfica 32). La región se encuentra entre los 28043428 pb hasta 29985793 pb. La segunda región que presenta asociación con la característica se encuentra en el cromosoma 7 entre los 5358043 pb y 5527168 pb, la asociación se presenta en los dos tratamientos de riego suplementario sembrados 2013CR y 2015AR. En el cromosoma tres posiblemente también se encuentren algún tipo de asociación pero en menor proporción (Tabla 19).

**Tabla 19.** Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica Eficiencia de la producción de semillas para los años 2013CS, 2013CR y 2015AR.

SNP	Chr	Posición Física	-LOG(p-Valor)			Alelo	Efecto
			2013CR	2015AR	2013CS		
Chr02pos28043428.1	2	28043428	0.51	1.24	3.83	C/T	1.06
Chr02pos28212442.1	2	28212442	0.68	1.44	4.31	T/G	0.99
Chr02pos28212443.1	2	28212443	0.64	1.76	4.33	T/C	0.99
Chr02pos28696983.1	2	28696983	0.70	2.13	3.63	T/C	0.97
Chr02pos29948545.1	2	29948545	0.65	1.26	4.60	G/T	1.51
Chr02pos29985793.1	2	29985793	1.87	3.85	3.11	A/G	0.40
Chr03pos39951398.1	3	39951398	2.63	3.48	0.92	G/T	0.41
Chr03pos44217576.1	3	44217576	3.48	3.03	1.44	T/A	0.43
Chr03pos44411225.1	3	44411225	0.47	1.52	3.70	C/A	0.72
Chr07pos5358043.1	7	5358043	3.55	1.23	0.14	G/A	0.47
Chr07pos5369304.1	7	5369304	3.57	1.56	0.18	A/C	0.50
Chr07pos5369340.1	7	5369340	3.57	1.56	0.18	G/A	0.50
Chr07pos5527168.1	7	5527168	2.58	3.81	0.86	A/T	0.58

Chr = Cromosoma

Posteriormente se realizó un análisis utilizando Phytosome V10.3, para identificar que genes se encontraban en las posiciones que se presentaron los polimorfismos y resultaron estar asociados a la característica, se pudieron identificar 10 genes, de los cuales 3 de ellos no tienen hasta el momento una anotación clara y 7 de ellos se encuentran bien identificados (tabla 20).

El marcador molecular que mostro un mayor efecto a la característica fue el Chr02pos29948545.1 con 1.515 semillas por gramo de biomasa, sin embargo este marcador no se encuentra anotado, después de realizar una búsqueda de las diferentes funciones de las proteínas encontradas, se identificó una de ellas tiene un papel fundamental en la tolerancia a sequía que es Phvul.002G148300 el cual codifica para proteínas desacoplantes (uncoupling protein 5) (Tabla 20)

Las proteínas desacoplantes (UCPs) son transportadores mitocondriales presentes en la membrana interna de las mitocondrias. Se encuentran en todos los mamíferos y en las

plantas. Pertenecen a la familia de portadores de aniones mitocondriales incluyendo transportadores de nucleótidos de adenina (Rousset et al., 2004).

Estudios han demostrado a partir de análisis para tolerancias a déficit de sal y agua en plantas de tabaco transgénicas que sobreexpresan una UCP (AtUCP1) de *Arabidopsis thaliana*, que las semillas de líneas transgénicas para AtUCP1 germinaron más rápido y las plantas adultas mostraron mejores respuestas a la sequía y al estrés salino con respecto a las plantas silvestres.

Estos fenotipos se correlacionaron con el aumento de la retención de agua y altos parámetros de intercambio de gases en plantas transgénicas que sobreexpresan AtUCP1 (Begcy et al., 2011). Las plantas silvestres exhibieron una mayor respiración bajo estrés, mientras que las plantas transgénicas fueron sólo ligeramente afectadas. Al ver los resultados en esta investigación se pudo concluir que los niveles altos de UCP mejoran la tolerancia a varios estreses abióticos.

Por otro lado también se ha encontrado que altas expresiones de UCP puede desempeñar un papel en el cierre de los estomas, lo cual tiene una relación directa con fotosíntesis y por ende con producción de biomasa (Begcy et al., 2011). En este caso la producción fue expresada en número de semillas, la cual en este estudio esta correlacionada con rendimiento en condiciones de sequía.

La manipulación de la expresión de la proteína UCP en la mitocondria podría ser una opción para el mejoramiento de frijol común en condiciones de sequía, por lo cual sugeriría la utilización de este marcador en mejoramiento asistido por marcadores.

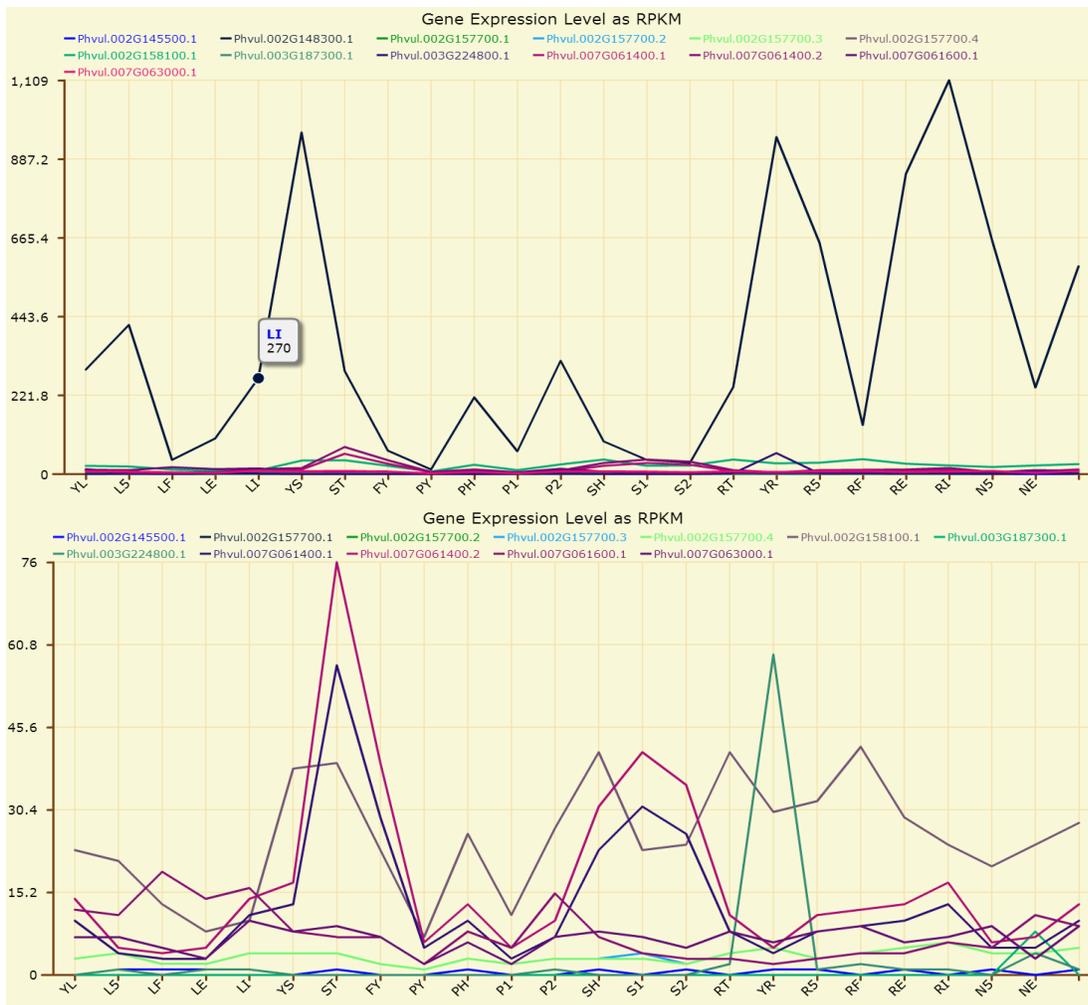
**Tabla 20.** Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con Eficiencia de producción de semillas.

Nombre del Gen	Mejor BLAST	Anotación	Chr	Inicio (pb)	Final (pb)	Marcador Molecular	Efecto
<b>Phvul.002G144200</b>	AT5G10530.1	Concanavalin A-like lectin protein kinase family protein	Chr02	28,042,759	28,043,550	Chr02pos28043428.1	1.062
<b>Phvul.002G145500</b>			Chr02	28,211,688	28,212,720	Chr02pos28212443.1	0.989
<b>Phvul.002G148300</b>	AT2G22500.1	uncoupling protein 5	Chr02	28,696,089	28,697,583	Chr02pos28696983.1	0.965
<b>Phvul.002G157700</b>	AT5G41270.1		Chr02	29,946,436	29,950,808	Chr02pos29948545.1	1.515
<b>Phvul.002G158100</b>	AT1G63690.1	SIGNAL PEPTIDE PEPTIDASE-LIKE 2	Chr02	29,984,179	29,990,383	Chr02pos29985793.1	0.402
<b>Phvul.003G187300</b>	AT1G12150.1	Plant protein of unknown function (DUF827)	Chr03	39,950,192	39,951,925	Chr03pos39951398.1	0.410
<b>Phvul.003G224800</b>	AT4G17030.1	expansin-like B1	Chr03	44,411,067	44,412,702	Chr03pos44411225.1	0.717
<b>Phvul.007G061400</b>	AT4G14720.1	TIFY domain/Divergent CCT motif family protein	Chr07	5,353,858	5,359,749	Chr07pos5358043.1	0.470
<b>Phvul.007G061600</b>	AT4G38225.3		Chr07	5,366,926	5,370,270	Chr07pos5369304.1	0.500
<b>Phvul.007G063000</b>	AT5G19910.1	SOH1 family protein	Chr07	5,525,569	5,528,087	Chr07pos5527168.1	0.584

Para corroborar lo encontrado en la bibliografía se realizó una búsqueda en el atlas de expresión de frijol y se pudo encontrar que el gen que codifica para la proteína de desacoplamiento 5, se expresa en condiciones normales en los entrenudos del tallo por encima de los cotiledones en etapas tempranas de la planta al igual que en raíces, por otro lado los otros genes tienen también una alta expresión en los mismo tejidos pero en proporciones menores como es el caso de Phvul.007G061400 y Phvul.002G157700 (gen con mayor efecto sobre la característica).

Aunque estos niveles de expresión no fueron analizados en plantas con estrés hídrico sino en condiciones normales, nos puede dar una idea de donde se está expresando este gen en mayor cantidad para futuros estudios.

**Figura 34.** Nivel y tejido en el cual se expresan los genes candidatos asociados a eficiencia de producción de semilla



**Sample Description**

- YL- Fully expanded 2nd trifoliolate leaf tissue from plants provided with fertilizer
- L5- Leaf tissue collected 5 days after plants were inoculated with effective rhizobium
- LF- Leaf tissue from fertilized plants collected at the same time of LE and LI
- LE- Leaf tissue collected 21 days after plants were inoculated with effective rhizobium
- LI- Leaf tissue collected 21 days after plants were inoculated with ineffective rhizobium
- YS- All stem internodes above the cotyledon collected at the 2nd trifoliolate stage
- ST- Shoot tip, including the apical meristem, collected at the 2nd trifoliolate stage
- FY- Young flowers, collected prior to floral emergence
- PY- Young pods, collected 1 to 4 days after floral senescence. Samples contain developing embryos at globular stage
- PH- Pods approximately 9cm long, associated with seeds at heart stage (pod only)
- P1- Pods between 10 and 11 cm long, associated with stage 1 seeds (pod only)
- P2- Pods between 12 and 13 cm long associated with stage 2 seeds (pod only)
- SH- Heart stage seeds, between 3 and 4 mm across and approximately 7 mg
- S1- Stage 1 seeds, between 6 and 7 mm across and approximately 50 mg
- S2- Stage 2 seeds, between 8 and 10 mm across and between 140 and 150 mg
- RT- Root tips, 0.5 cm of tissue, collected from fertilized plants at 2nd trifoliolate stage of development.
- YR- Whole roots, including root tips, collected at the 2nd trifoliolate stage of development
- R5- Whole roots separated from 5 day old pre-fixing nodules
- RF- Whole roots from fertilized plants collected at the same time as RE and RI
- RE- Whole roots separated from fix+ nodules collected 21 days after inoculation
- RI- Whole roots separated from fix- nodules collected 21 days after inoculation
- N5- Pre-fixing (effective) nodules collected 5 days after inoculation
- NE- Effectively fixing nodules collected 21 days after inoculation
- NI- Ineffectively fixing nodules collected 21 days after inoculation

Fuente: O'Rourke et al., 2014

### 3.5.3.7 Índice de cosecha (IC) y índice de cosecha de vaina (PHI)

El Rendimiento de la eficiencia productiva se calcula de igual manera que el índice de cosecha, sin embargo difiere en la forma de presentar el valor final, ya que el Índice de cosecha se muestra como un porcentaje. Esto hace que los resultados de asociación sean exactamente iguales, por tal motivo los resultados presentados a continuación son tanto para Índice de cosecha como para rendimiento de la eficiencia productiva.

Tras las diversas evaluaciones realizadas en el CIAT se han identificado dos tipos de líneas que usan diversas estrategias para tolerar sequía, estos grupos se identifican como ahorradores y gastadores y se les llama así a causa de su uso de agua y atributos como la discriminación de isótopo de carbono, profundidad de raíz y removilización de fotosintatos.

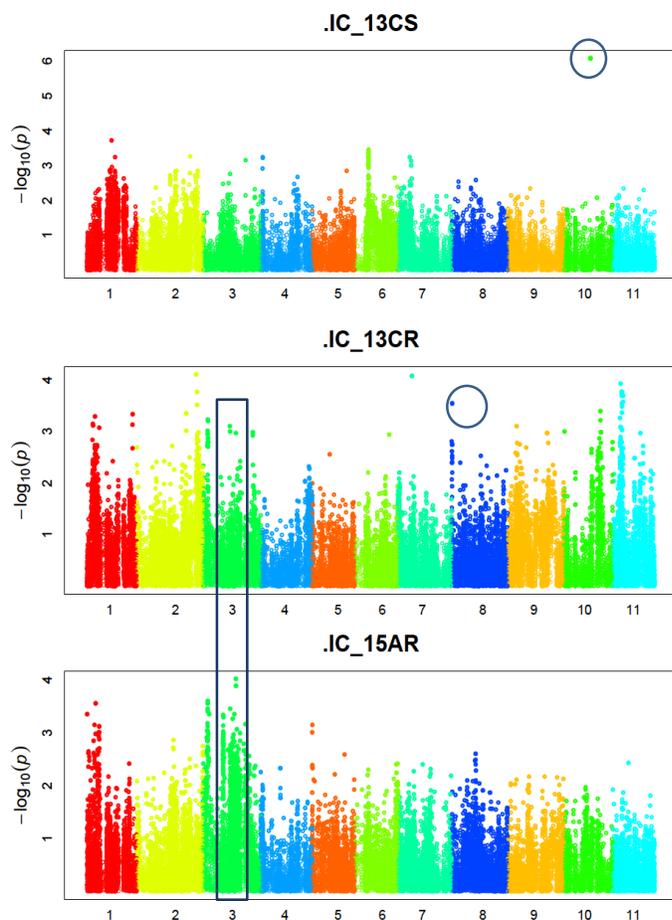
Los genotipos ahorradores se logran identificar por algunas características en su morfología y/o fisiología que les permite ahorrar agua cuando sufren estrés hídrico como: una menor apertura de estomas y hojas reducidas entre otras. Lo cual las hace muy eficientes para removilizar el carbono de la parte aérea a la producción de grano. Este tipo de genotipos son muy apropiados para ambientes semiáridos o subhúmedos los cuales se pueden encontrar en Centroamérica, África y el sur de México (Acosta-Díaz *et al.*, 2004; Beebe *et al.*, 2007, 2013).

El índice de cosecha nos indica que porcentaje de la biomasa aérea los genotipos removilizaron a producción de grano, por lo cual nos indica que muchos de los genotipos dentro de la población de evaluación son ahorradores, esto se ve reflejado en la alta correlación de índice de cosecha con rendimiento.

En cuanto a la asociaciones encontradas se puede ver en el cromosoma 1 y en el cromosoma 3 regiones asociadas en los tratamientos de riego pero con una baja significancia, por otro lado se pudo encontrar en el cromosoma 7 y en el 10 dos marcadores moleculares altamente asociados, pero el hecho de que se encuentren solos no es estadísticamente probable ya que ningún marcador a su alrededor muestra una asociación, y teniendo en cuenta el desequilibrio de ligamiento de la población al ser una

población multiparental no es bajo, se debería de ver entonces algún tipo de asociación alrededor de estos marcadores moleculares (un pico) (Figura 35).

**Figura 35.** Gráfica Manhattan proveniente de estudio de Asociación para Índice de Cosecha.



Se pudieron encontrar 24 marcadores moleculares asociados a la característica índice de cosecha, sin embargo solo en el cromosoma tres se encontraron 4 marcadores moleculares que encuentran en la región que va desde 1714171 pb hasta 1714312 pb con valores de significancia altos en los dos tratamientos de riego (2013CR y 2015AR), por otro lado en otros estudios de asociación se pudieron encontrar marcadores moleculares asociados a índice de cosecha en el cromosoma 3 (Kamfwa et al., 2015). Los ensayos realizados por Kamfwa et al, 2015, fueron realizados con riego suplementario lo cual coincide con lo encontrado en este estudio ya que las asociaciones encontradas solo fueron halladas en los tratamiento de riego. Estos resultados hacen de estos marcadores

en el cromosoma tres los más opcionados para utilizarlos en programas de mejoramiento posterior a una validación de los marcadores (tabla 21).

**Tabla 21.** Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica índice de cosecha.

SNP	Chr	Position	-LOG(p-Valor)			Alelo	Efecto
			2013CS	2013CR	2015AR		
Chr01pos6143134.1	1	6143134	1.89	2.65	3.56	T/G	15.42022
Chr01pos43586725.1	1	43586725	3.72	0.28	1.07	A/G	19.73545
Chr02pos45733605.1	2	45733605	0.04	4.1	0.38	C/A	25.9893
Chr02pos46093604.1	2	46093604	0.62	3.52	0.33	A/C	-16.5246
Chr02pos46093625.1	2	46093625	0.65	3.76	0.35	C/T	-16.6293
Chr03pos1714171.1	3	1714171	0.19	2.96	3.45	T/C	12.92263
Chr03pos1714175.1	3	1714175	0.17	3.22	3.55	T/C	13.20885
Chr03pos1714175.1	3	1714175	0.17	3.22	3.55	T/C	13.20885
Chr03pos1714312.1	3	1714312	0.08	2.05	3.6	C/T	11.78933
Chr03pos39951274.1	3	39951274	0.1	1.5	3.88	C/G	12.05143
Chr03pos39951398.1	3	39951398	0.28	1.55	4.01	G/T	12.91065
Chr07pos4519639.1	7	4519639	0.12	4.08	0.53	C/A	99.56479
Chr08pos288250.1	8	288250	0.54	3.55	1.24	C/T	-12.8834
Chr08pos288284.1	8	288284	0.54	3.55	1.24	A/T	12.88344
Chr11pos2172702.1	11	2172702	0.12	3.92	0.49	T/G	12.75003
Chr11pos2516822.1	11	2516822	0.22	3.54	0.52	T/C	12.14118
Chr11pos2531576.1	11	2531576	0.2	3.69	0.27	G/A	13.40138
Chr11pos2531577.1	11	2531577	0.24	3.77	0.24	T/A	13.45288
Chr11pos2531578.1	11	2531578	0.24	3.77	0.24	A/G	13.45288
Chr11pos2531581.1	11	2531581	0.24	3.77	0.24	C/G	13.45288
Chr11pos2531619.1	11	2531619	0.24	3.77	0.24	A/G	13.45288
Chr11pos2561102.1	11	2561102	0.13	3.73	0.25	A/G	12.77623
Chr11pos2845872.1	11	2845872	0.54	3.58	0.24	G/T	13.09192
Chr11pos2845874.1	11	2845874	0.63	3.7	0.21	A/T	13.36771

Usando Phytosome V10.3 (Goodstein *et al.*, 2012) se pudieron encontrar los genes que se encuentran en las regiones que presentaron asociación para índice de cosecha, dentro de los cuales se encuentra un gen que codifica para repeticiones armadillo (ARM repeats) la cual es una gran familia de proteínas. La súper-familia de proteínas con repeticiones armadillo o ARM desempeñan funciones en la señalización hormonal, morfogénesis, defensa y muerte celular. Se ha encontrado una relación de estas proteínas para tolerancia a sequía en especies como *Oryza sativa* y *Arabidopsis thaliana* (Kim *et al.*, 2004; Sharma, Singh, *et al.*, 2014).

La primera respuesta a factores de estrés, es activar las vías de transducción de señal que estimulan la defensa celular y mecanismos de adaptación. La ubiquitinación es el único mecanismo de degradación proteica, utilizado por las plantas para degradar eficazmente proteínas celulares perjudiciales y componentes específicos para estas señalizaciones de

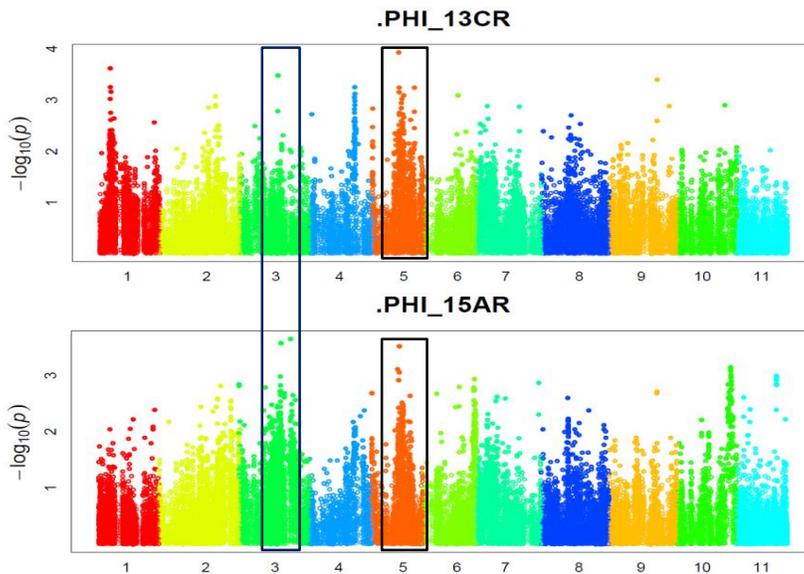
estrés. La mayoría de U-box de ubiquitina ligasa E3 están relacionadas con el estrés biótico y abiótico en plantas, ya que su rol biológico es la señalización de ácido absicico, la cual es una hormona que desata respuestas fisiológicas en momentos de estrés de la planta (Sharma, Pandey, & Pandey, 2014). y estas U-box son codificadas en general por secuencias armadillo (tabla 22).

**Tabla 22.** Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con índice de cosecha en el cromosoma 3.

Nombre del Gen	Arabidopsis	Anotación	Chr	Inicio (pb)	Final (pb)	Marcador Molecular	Efecto
Phvul.003G019400	AT2G01690.1	ARM repeat superfamily protein	3	1.713.614	1.729.571	Chr03pos1714175.1	13.20885
Phvul.003G019500	AT2G01680.1	Ankyrin repeat family protein	3	1.731.650	1.735.699	Chr03pos1735195.1	11.53948

En el caso de índice de cosecha de vaina, este expresa que tanto de la biomasa de la vaina es removilizada a la biomasa de la semilla, se pudo encontrar dos regiones bastantes interesantes ya que la asociación se da en los dos tratamiento de riego complementario al igual que índice de cosecha.

**Figura 36.** Gráfica Manhattan proveniente de estudio de Asociación para Índice de Cosecha.



La primera región se encuentra en el cromosoma 3 y se hallaron cuatro marcadores moleculares asociados al índice de cosecha de vaina, va desde la posición 37036010 pb hasta 44045244 pb, la segunda región se encuentra en el cromosoma 5 con tres

marcadores moleculares y va desde la posición física 5892108 pb hasta 9928505 pb, como se puede observar los marcadores moleculares hallados para este cromosoma se encuentran muy distanciados entre sí, por lo cual podrían ser efectos independientes, dentro del mismo cromosoma ya que no se ve un pico bien definido (Grafica 35 y Tabla 23)

**Tabla 23.** Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica índice de cosecha de vaina.

SNP	Chr	Position	2013CR	2015AR	alelo	Efecto
Chr01pos6136656.1	1	6136656	3.61760966	0.65357758	A/C	4.07322509
Chr01pos6138138.1	1	6138138	3.2501969	0.58060975	A/T	4.1878626
Chr03pos37036010.1	3	37036010	3.48159036	0.39684835	T/C	20.9672841
Chr03pos37036051.1	3	37036051	3.48159036	0.39684835	G/C	21.0067402
Chr03pos40805663.1	3	40805663	0.27059622	3.57031829	C/T	3.64652853
Chr03pos44045244.1	3	44045244	0.04842676	3.64069214	G/A	3.13526257
Chr05pos5892108.1	5	5892108	0.38841564	3.10453459	G/A	2.09418385
Chr05pos7160555.1	5	7160555	3.92715003	0.70643198	A/G	-5.48352314
Chr05pos9928505.1	5	9928505	1.36582208	3.51445661	C/A	3.22552972

Después de buscar genes que se encontraran en los lugares de polimorfismo en las secuencias se encontraron 7 genes candidatos para la característica índice de cosecha de vaina. Entre los genes se pudieron detectar dos de ellos de gran importancia, uno de ellos ya fue discutido en párrafos anteriores para índice de cosecha que corresponde al gen que codifica para repeticiones armadillo, que al igual que índice de cosecha, también se presentó una asociación alta por lo cual no se discutirá en esta sección. Ya que se cree que posiblemente tengan la misma función, además de la congruencia de los datos ya que los dos índices están enfocados a la removilización de fotoasimilados y fueron encontrados en el mismo cromosoma (tabla 24).

Por otro lado el gen que más efecto tiene sobre la característica es el gen relacionado con nodulación temprana, este gen es de gran importancia ya que la falta de nitrógeno es el factor después de la sequía que produce mayor disminución de los rendimientos, la nodulación al beneficiar la fijación de nitrógeno de la atmosfera en etapas tempranas de la planta le da una ventaja a las plantas en términos de nutrientes para la producción de biomasa. Por otro lado estudios muestran como en el cultivo de arroz el gen de nodulación

temprana se encuentra relacionado a la tolerancia a calor, que aunque no es lo mismo que sequía, normalmente en estaciones secas las temperaturas aumentan (Fu, Li, & Yu, 2010)

**Tabla 24.** Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con índice de cosecha de vaina.

Nombre del Gen	Arabidopsis	Anotación	Chr	Inicio (pb)	Final (pb)	Marcador Molecular	Efecto
Phvul.001G053400	AT5G11350.1	DNAse I-like superfamily protein	1	6.134.801	6.143.346	Chr01pos6136656.1	4.073225095
Phvul.003G162200	AT5G25940.1	early nodulin-related	3	37.035.327	37.036.335	Chr03pos37036051.1	21.0067402
Phvul.003G195400	AT5G62600.1	ARM repeat superfamily protein	3	40.791.025	40.806.736	Chr03pos40805663.1	3.646528529
Phvul.003G222600	AT2G44940.1	Integrase-type DNA-binding superfamily protein	3	44.044.998	44.045.690	Chr03pos44045244.1	3.135262566
Phvul.005G049900	AT5G45190.1	Cyclin family protein	5	5.889.644	5.895.920	Chr05pos5892108.1	2.094183853
Phvul.005G054900	AT1G79030.1	Chaperone DnaJ-domain superfamily protein	5	7.158.008	7.164.307	Chr05pos7160555.1	- 5.483523139
Phvul.005G065500	AT3G14930.1	Uroporphyrinogen decarboxylase	5	9.925.603	9.929.145	Chr05pos9928505.1	3.22552972

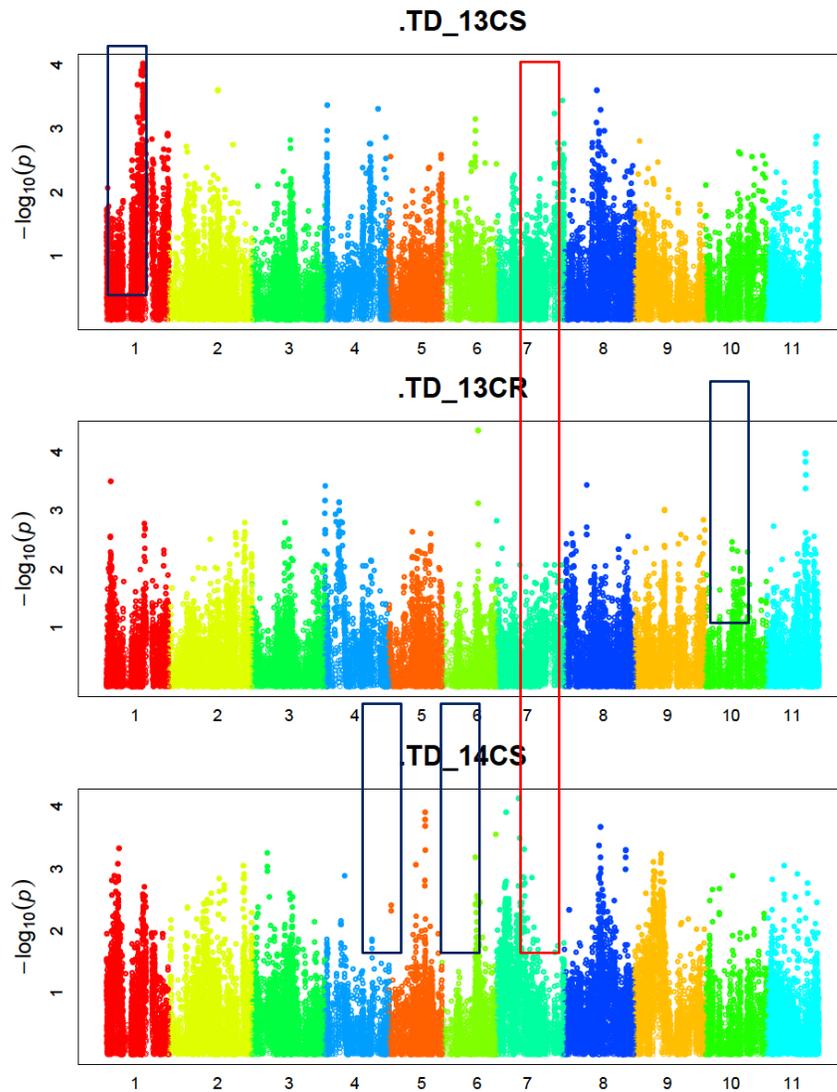
### 3.5.3.8 Depresión de la temperatura del dosel

uno de los papeles más importantes de la transpiración en las plantas es la regulación de temperatura de las hojas o refrigeración de las mismas, por lo cual la depresión de la temperatura del follaje con respecto a la temperatura ambiente es indicador que la planta por medio de la transpiración está cumpliendo adecuadamente su papel de regular temperatura en hojas, esta transpiración solo se puede realizar en presencia de agua lo que indica que los genotipos que están regulando temperatura podrían tener una mayor captación de agua en épocas de sequía, ya sea por raíces profundas o por cambios osmóticos en las células de la raíz (Amani *et al.*, 1996; Feng *et al.*, 2009). Por lo cual la temperatura del follaje refleja una interacción continua entre planta, suelo y atmosfera. Esto hace de la depresión de la temperatura del dosel sea una característica de gran importancia en la selección de genotipos tolerantes a sequía.

Aunque se presentaron diversos picos de asociación en diversos cromosomas, la mayoría de ellos no tuvieron una constancia a través de todos los ensayos sembrados, por lo cual puede ser una asociación pero posiblemente sea una respuesta de las plantas a microambientes particulares. Se puede observar asociaciones en el cromosoma 1 en el año 2013CS sin embargo esta región no coincide con las regiones asociadas en los otros dos tratamientos. En este caso no se mostró el tratamiento 2015AR porque no presento ningún tipo de asociación. Otra posible asociación fue encontrada en el año 2013CR en el

cromosoma 11, este pico se visualiza claramente y las asociaciones superan el umbral de significancia.

**Figura 37.** Gráfica Manhattan proveniente de estudio de Asociación para depresión de la temperatura del dosel con respecto a la temperatura del medio ambiente.



Se encontraron 36 marcadores moleculares asociados a depresión de la temperatura del dosel, 19 de ellos en el cromosoma 1, 3 en el cromosoma 5, 2 en los cromosomas 6, 7 y por último 6 marcadores moleculares en el cromosoma 11.

**Tabla 25.** Marcadores moleculares tipo SNP asociados a la característica depresión de la temperatura del dosel.

SNP	Chr	Position	2014CS	2013CS	2013CR	Alelo	Efecto
Chr01pos2120121.1	1	2120121	1.04	0.80	3.50	C/T	1.02
Chr01pos43643084.1	1	43643084	1.30	3.69	0.59	T/A	1.21
Chr01pos46199239.1	1	46199239	2.18	3.91	0.20	A/G	1.38
Chr01pos46204456.1	1	46204456	1.52	3.85	0.32	T/A	1.35
Chr01pos46207404.1	1	46207404	1.60	3.91	0.35	T/C	1.37
Chr01pos46835771.1	1	46835771	1.94	3.63	0.80	T/C	1.38
Chr01pos46835820.1	1	46835820	1.94	3.63	0.80	C/G	1.38
Chr01pos46871270.1	1	46871270	2.19	3.93	0.85	C/T	1.41
Chr01pos46871290.1	1	46871290	2.54	3.85	0.75	A/G	1.22
Chr01pos46871298.1	1	46871298	2.59	3.68	0.95	A/G	1.34
Chr01pos46871354.1	1	46871354	2.27	4.02	0.85	A/G	1.39
Chr01pos46936301.1	1	46936301	1.17	3.57	0.75	A/G	1.57
Chr01pos46966646.1	1	46966646	2.39	3.98	0.92	A/G	1.36
Chr01pos46968134.1	1	46968134	2.03	3.58	0.81	G/T	1.28
Chr01pos46990133.1	1	46990133	0.93	3.70	0.38	T/C	1.31
Chr01pos46990154.1	1	46990154	0.86	3.95	0.50	C/G	1.41
Chr01pos46992295.1	1	46992295	2.14	3.51	0.83	G/A	1.26
Chr01pos46994761.1	1	46994761	2.53	3.84	0.69	T/C	1.39
Chr01pos47015421.1	1	47015421	2.17	3.50	0.84	C/G	1.26
Chr01pos47016876.1	1	47016876	0.63	3.50	0.97	C/T	-1.38
Chr01pos47016883.1	1	47016883	0.63	3.50	0.97	T/G	1.38
Chr05pos34908844.1	5	34908844	3.68	0.92	2.27	A/C	0.89
Chr05pos34908867.1	5	34908867	3.79	1.15	2.01	C/T	0.92
Chr05pos34908870.1	5	34908870	3.91	0.91	2.15	A/G	0.89
Chr06pos23372204.1	6	23372204	0.28	0.18	4.35	T/G	-1.14
Chr06pos31381165.1	6	31381165	3.55	0.20	0.00	A/T	-0.91
Chr07pos2507820.1	7	2507820	3.91	0.14	0.79	C/T	1.01
Chr07pos6771031.1	7	6771031	4.12	1.88	0.05	A/G	1.14
Chr08pos19143130.1	8	19143130	1.20	3.60	0.41	C/T	0.90
Chr08pos46696870.1	8	46696870	3.66	1.34	0.16	A/T	0.90
Chr11pos39962641.1	11	39962641	0.13	0.24	3.97	T/G	-1.73
Chr11pos39962700.1	11	39962700	0.13	0.24	3.97	C/T	-1.73
Chr11pos39962701.1	11	39962701	0.13	0.24	3.97	A/C	-1.73
Chr11pos39962707.1	11	39962707	0.13	0.24	3.97	A/C	-1.73
Chr11pos39962712.1	11	39962712	0.12	0.20	3.82	C/T	-1.72
Chr11pos41242440.1	11	41242440	0.48	0.47	3.61	A/T	-1.10

Después de ver en la base de datos de Phytozome V10.3 se pudieron identificar 15 genes que se encuentran en los sitios polimórficos asociados a la característica de depresión de la temperatura del dosel. Buscando las posibles funciones de cada una de las proteínas halladas y estudios previos, se encontró que dos de ellas tienen un papel de importancia en la apertura estomatal, la cual se encuentra directamente relacionada con respiración celular y transpiración, por ende también se encuentra relacionada con regulación de la temperatura (Mustilli, 2002; Wang, Ngwenyama, Liu, Walker, & Zhang, 2007; Yoshida, 2002). Los genes identificados se encuentran en el cromosoma 7, y son: Proteína de quinasa rica en repeticiones de leucina (Phvul.007G032100) y proteínas de quinasa

(Phvul.007G074000). estos marcadores tienen un efecto de 1.01 y 1.14 grados centígrados respectivamente, indicando que posiblemente aquellas plantas que presentaron una variación en este gen estén abriendo estomas de una manera más eficiente lo que les permite continuar realizando fotosíntesis, beneficiándoles en la fijación de carbono y por ende en el aumento de la producción.

**Tabla 26.** Genes candidatos hallados en las regiones que presentaron asociaciones con depresión de la temperatura del dosel.

Nombre del Gen	Arabidopsis homólogo	Anotación	Chr	Inicio (pb)	Final (pb)	Marcador Molecular	Efecto
Phvul.001G023900	AT5G52010.1	C2H2-like zinc finger protein	1	2,118,989	2,120,626	Chr01pos2120121.1	1.02
Phvul.001G173100	AT3G12620.1	Protein phosphatase 2C family protein	1	43,640,821	43,643,456	Chr01pos43643084.1	1.21
Phvul.001G195800	AT2G35940.1	BEL1-like homeodomain 1	1	46,197,344	46,201,848	Chr01pos46199239.1	1.38
Phvul.001G202900	AT4G15630.1	Uncharacterised protein family (UPF0497)	1	46,834,864	46,836,438	Chr01pos46835771.1	1.38
Phvul.001G203400	AT3G62940.2	Cysteine proteinases superfamily protein	1	46,870,958	46,877,267	Chr01pos46871270.1	1.41
Phvul.001G204400	AT1G03000.1	peroxin 6	1	46,929,280	46,936,357	Chr01pos46936301.1	1.57
Phvul.001G204700	AT3G50700.1	indeterminate(ID)-domain 2	1	46,966,050	46,968,343	Chr01pos46966646.1	1.36
Phvul.001G205000	AT3G62770.1	Transducin/WVD40 repeat-like superfamily protein	1	46,989,620	46,992,624	Chr01pos46990133.1	1.31
Phvul.001G205100	AT2G02980.1	Pentatricopeptide repeat (PPR) superfamily protein	1	46,993,796	46,995,187	Chr01pos46994761.1	1.39
Phvul.001G205500	AT3G12290.1	Amino acid dehydrogenase family protein	1	47,013,878	47,016,376	Chr01pos47015421.1	1.26
Phvul.005G125100	AT2G27600.1	AAA-type ATPase family protein	5	34,908,608	34,914,866	Chr05pos34908844.1	0.89
Phvul.007G032100	AT2G01210.1	Leucine-rich repeat protein kinase family protein	7	2,505,655	2,508,361	Chr07pos2507820.1	1.01
Phvul.007G074000	AT5G24010.1	Protein kinase superfamily protein	7	6,768,249	6,771,809	Chr07pos6771031.1	1.14
Phvul.008G128200	AT3G07130.1	purple acid phosphatase 15	8	19,140,063	19,144,750	Chr08pos19143130.1	0.90
Phvul.008G177100	AT1G72230.1	Cupredoxin superfamily protein	8	46,696,137	46,697,372	Chr08pos46696870.1	0.90

### 3.4 Conclusiones

- Genotipaje por secuenciación resulto ser una metodología eficiente en estudios de asociación ya que se obtiene una cobertura del genoma representativa, permitiendo analizar cada región del mismo.
- Posterior al análisis de asociación se encontraron 37 marcadores moleculares asociados a Días a floración, 23 a días a madurez, 20 a número de vainas por planta, 39 a rendimiento, 33 a peso de cien semillas, 13 a eficiencia de producción

de semilla, 24 a índice de cosecha, 9 a índice de cosecha de vaina y 36 a depresión de la temperatura del dosel.

- Las características con marcadores moleculares asociados que presentaron más altos valores de significancia fueron vainas por planta y días a floración.
- La información obtenida de este trabajo y después de su validación permitiría empezar un programa de mejoramiento asistido por marcadores para tolerancia a sequía en Centro Internacional de Agricultura Tropical.

### 3.5 Recomendaciones

- Aunque a veces se piensa que analizar un número mayor de marcadores es mejor para el estudio, en muchos casos es mejor sacar del análisis aquellos marcadores que no son informativos ya que al tener un número alto de marcadores aumenta el umbral de significancia a causa de las correcciones para comparaciones múltiples, y podrían dejarse de ver datos importantes.
- En el caso de los genes de importancia encontrados como el caso de las proteínas de desacoplamiento para eficiencia de la producción de semillas sería de gran interés realizar un estudio de expresión en plantas expuestas a estrés hídrico, y así verificar lo discutido.
- El hecho de tener marcadores moleculares que presenten un alto porcentaje de heterocigotos puede influenciar en la estimación de los efectos ya que los programas de asociación como TASSEL Y GAPIT toman el heterocigoto como otro alelo. Por lo cual recomiendo poner los heterocigotos como datos perdidos o quitar los marcadores con altos porcentajes de heterocigotos.

## A. Anexo: Tabla resumen 2013cs vs 2013cr de características principales

Linea	Pedigree	2013CR				2013CS				ISS
		DF	DPM	YDHA	100SW	DF	DPM	YDHA	100SW	
AXM1	SER8xCAL143	31.1	66.0	1090.4	35.2	31.9	65.6	1082.4	27.3	0.0001
AXM2	SER8xSUG131	33.0	65.8	2394.3	29.1	33.2	61.7	1632.7	33.0	0.0034
AXM3	SER8xSUG131	33.2	65.1	2051.0	36.5	33.5	63.4	1996.8	34.9	0.0003
AXM4	SER8xSUG131	33.0	65.7	1599.7	28.4	34.7	64.1	1402.6	21.4	0.0013
AXM5	SER8xSUG131	32.7	65.8	2959.1	25.0	34.5	65.3	2333.4	26.5	0.0022
AXM6	SER8xSUG131	36.4	65.6	1252.7	24.2	35.5	63.7	1334.5	24.8	-0.0007
AXM7	SER8xSUG131	35.9	65.3	1451.4	25.0	35.8	66.1	1840.8	19.6	-0.0028
AXM8	SER8xSUG131	34.9	65.3	1193.3	25.5	35.9	65.4	1376.0	20.8	-0.0016
AXM9	SER8xSUG131	36.5	65.5	1699.0	32.4	36.0	64.2	1509.0	20.2	0.0012
AXM10	SER8xSUG131	34.2	65.4	1554.3	22.0	34.9	65.2	1321.2	17.9	0.0016
AXM11	SER8xSUG131	32.8	67.3	919.7	29.6	31.3	66.4	1138.1	26.3	-0.0025
AXM12	SER8xSUG131	36.9	67.1	1608.3	24.3	37.4	64.8	833.7	19.9	0.0051
AXM13	SER8xSUG131	34.8	66.8	1343.1	23.6	35.3	66.5	1683.9	23.3	-0.0027
AXM14	SER8xSUG131	34.0	66.4	1717.8	28.0	35.5	67.1	1901.3	27.5	-0.0011
AXM15	SER8xNATALSUGAR	35.0	67.7	785.1	27.4	35.8	67.4	922.2	27.9	-0.0018
AXM16	SER8xNATALSUGAR	33.7	65.2	1671.1	25.3	35.1	63.6	1488.9	24.2	0.0011
AXM17	SER8xNATALSUGAR	32.9	65.8	1780.2	28.4	33.1	63.1	1611.0	24.4	0.0010
AXM18	SER8xNATALSUGAR	33.3	65.6	1491.1	28.4	34.6	66.5	1889.6	29.9	-0.0028
AXM19	SER8xNATALSUGAR	33.9	67.6	979.2	25.8	35.1	63.7	772.7	22.0	0.0022
AXM20	SER8xPAN127	35.3	66.1	1256.9	22.4	38.5	63.6	857.6	20.3	0.0033
AXM21	SER8xPAN127	38.4	67.9	1128.9	20.5	36.7	67.6	654.7	19.3	0.0044
AXM22	SER8xPAN127	37.4	68.1	1293.4	23.3	39.0	68.5	2143.8	24.1	-0.0069
AXM23	SER8xPAN127	35.7	67.7	1990.2	23.3	35.9	66.4	1634.6	25.8	0.0019
AXM24	SER8xPAN127	33.9	68.1	1205.9	26.2	35.7	65.2	1226.8	21.2	-0.0002
AXM25	SER8xPAN127	33.3	65.2	1219.2	19.4	32.5	64.4	1058.7	19.4	0.0014
AXM26	SER8xPAN127	33.0	65.8	2331.0	25.2	31.8	60.0	2086.5	20.1	0.0011
AXM27	SER8xPAN127	33.4	64.8	1730.2	30.5	34.2	63.4	1652.6	20.2	0.0005
AXM28	SER8xPAN127	32.6	65.9	1820.1	30.0	33.5	65.0	2154.1	25.2	-0.0019
AXM29	SER8xRCW	37.6	68.0	697.8	39.9	36.1	68.1	880.7	33.3	-0.0028
AXM30	SER8xRCW	32.9	64.5	1655.8	29.1	33.4	62.8	1586.3	24.9	0.0004
AXM31	SER8xRCW	32.1	64.6	1514.2	29.2	31.7	64.2	1199.6	19.5	0.0022
AXM32	SER8xRCW	32.0	65.7	1703.7	30.9	32.8	63.9	1604.3	27.2	0.0006
<b>SUBTOTAL</b>		<b>34.2</b>	<b>66.2</b>	<b>1534.0</b>	<b>27.3</b>	<b>34.7</b>	<b>64.9</b>	<b>1462.8</b>	<b>24.1</b>	
<b>LINEA SER8</b>										
AXM33	SER16xCAL143	36.9	67.8	1588.9	25.8	36.1	65.9	1088.3	23.0	0.0033
AXM34	SER16xCAL143	36.5	67.7	1568.9	29.0	36.0	66.1	1270.1	24.8	0.0020
AXM35	SER16xSUG131	33.7	65.8	1778.0	27.5	35.5	65.0	2390.7	31.7	-0.0036
AXM36	SER16xSUG131	33.5	67.7	1103.9	35.6	34.2	66.0	1466.8	34.4	-0.0035
AXM37	SER16xSUG131	33.6	65.7	1027.4	30.2	34.9	63.8	1376.3	30.6	-0.0036
AXM38	SER16xSUG131	33.0	65.5	932.0	27.3	32.9	61.0	1234.2	33.5	-0.0034
AXM39	SER16xSUG131	33.3	66.0	2154.8	30.0	33.1	65.5	2064.7	24.5	0.0004
AXM40	SER16xSUG131	37.3	68.2	1218.3	27.6	35.3	68.4	683.2	22.3	0.0046
AXM41	SER16xNATALSUGAR	33.4	65.0	1643.6	34.2	34.7	64.6	1729.4	42.9	-0.0005

# 100 Identificación de QTLs de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) asociados a tolerancia a sequía

AXM42	SER16xNATALSUGAR	34.2	65.5	1689.3	26.2	35.1	65.9	2186.1	26.2	-0.0031
AXM43	SER16xNATALSUGAR	32.2	65.5	2238.3	28.2	32.6	63.1	2125.2	27.6	0.0005
AXM44	SER16xNATALSUGAR	32.7	64.9	2154.0	28.0	34.4	64.0	1512.7	26.3	0.0031
AXM45	SER16xNATALSUGAR	32.4	65.2	2176.9	45.3	32.1	63.0	1639.8	24.3	0.0026
AXM46	SER16xNATALSUGAR	36.2	66.7	631.9	15.4	35.8	64.2	824.5	23.7	-0.0032
AXM47	SER16xNATALSUGAR	33.7	66.8	1905.8	30.9	35.8	65.3	1511.1	29.2	0.0022
AXM48	SER16xNATALSUGAR	32.8	65.3	1021.7	23.5	33.5	63.9	1366.4	23.1	-0.0036
AXM49	SER16xPAN127	33.1	65.9	1208.9	24.3	34.7	63.6	1277.8	22.3	-0.0006
AXM50	SER16xPAN127	33.2	65.1	1527.6	21.5	33.9	63.5	1362.4	23.9	0.0011
AXM51	SER16xPAN127	33.1	67.0	1723.5	37.7	34.7	62.0	1547.9	25.5	0.0011
AXM52	SER16xPAN127	32.9	65.1	2136.0	34.0	31.8	64.3	2470.9	32.0	-0.0017
AXM53	SER16xPAN127	34.2	67.3	1462.3	29.3	35.7	66.1	1645.9	28.0	-0.0013
AXM54	SER16xPAN127	31.9	65.3	1878.0	35.1	32.6	64.0	1915.0	36.2	-0.0002
AXM55	SER16xPAN127	36.3	67.1	1562.4	32.4	36.1	65.6	1647.7	33.2	-0.0006
AXM56	SER16xPAN127	37.7	67.4	1086.9	31.4	36.9	66.2	1296.1	27.1	-0.0020
AXM57	SER16xPAN127	35.1	67.0	1553.6	24.6	35.4	64.1	1425.5	17.1	0.0009
AXM58	SER16xPAN127	35.7	68.4	1230.8	23.5	36.0	67.2	1461.4	26.4	-0.0020
AXM59	SER16xPAN127	36.3	68.6	1004.9	23.0	34.4	65.5	423.5	17.1	0.0061
AXM60	SER16xRCW	32.0	65.8	1979.8	33.3	32.1	63.3	2063.1	27.6	-0.0004
AXM61	SER16xRCW	33.6	67.3	1594.2	30.0	33.6	67.1	1408.5	36.2	0.0012
AXM62	SER16xRCW	34.7	68.0	1538.6	30.5	33.4	68.4	1366.4	26.7	0.0012
AXM63	SER16xRCW	33.7	66.0	1162.7	23.0	34.2	67.1	1157.5	26.8	0.0000
AXM64	SER16xRCW	33.7	67.7	2210.8	26.8	35.2	66.5	1435.5	26.9	0.0037
<b>SUBTOTAL</b>		<b>34.1</b>	<b>66.5</b>	<b>1553.0</b>	<b>28.9</b>	<b>34.5</b>	<b>65.0</b>	<b>1511.7</b>	<b>27.5</b>	
<b>LINEA SER16</b>										
AXM65	SER22xCAL143	31.5	65.4	1114.3	23.6	31.4	61.5	1073.7	23.5	0.0004
AXM66	SER22xCAL143	31.3	64.8	1589.7	34.4	29.9	65.2	1246.9	30.0	0.0023
AXM67	SER22xCAL143	32.7	65.2	1450.0	25.6	33.2	63.7	1223.6	27.8	0.0016
AXM68	SER22xCAL143	32.3	67.6	1247.2	31.6	32.5	67.2	1527.2	27.1	-0.0024
AXM69	SER22xCAL143	36.2	65.6	846.1	21.0	35.4	64.2	852.1	22.2	-0.0001
AXM70	SER22xCAL143	33.3	65.8	968.6	27.1	33.9	65.2	1082.5	17.6	-0.0012
AXM71	SER22xCAL143	32.4	64.0	1790.5	33.6	31.8	59.1	1280.9	24.6	0.0030
AXM72	SER22xCAL143	31.6	64.7	1500.4	33.5	32.9	59.0	1268.7	31.3	0.0016
AXM73	SER22xCAL143	32.2	64.3	1755.2	28.3	32.3	60.0	2177.0	29.4	-0.0025
AXM74	SER22xCAL143	33.5	64.4	1315.4	33.4	33.0	60.4	1273.9	25.5	0.0003
AXM75	SER22xCAL143	31.7	65.5	1602.8	24.3	32.2	65.7	1607.5	20.3	0.0000
AXM76	SER22xCAL143	31.3	65.6	1885.6	30.9	32.0	64.1	2083.4	33.8	-0.0011
AXM77	SER22xCAL143	31.6	64.8	1770.7	27.7	32.1	64.0	1949.6	21.8	-0.0011
AXM78	SER22xSUG131	31.0	64.4	1872.6	30.4	29.7	59.0	1668.6	30.3	0.0011
AXM79	SER22xSUG131	31.1	64.1	1949.3	31.6	30.5	62.2	1558.2	28.1	0.0021
AXM80	SER22xSUG131	30.9	64.6	1524.7	30.3	29.9	59.7	1604.1	25.0	-0.0005
AXM81	SER22xSUG131	30.9	63.3	1630.3	27.1	29.0	57.4	1458.1	23.6	0.0011
AXM82	SER22xSUG131	33.3	65.2	1834.7	24.9	34.0	65.7	2267.5	24.2	-0.0025
AXM83	SER22xSUG131	37.8	67.4	1792.7	30.1	37.1	66.5	1619.9	30.1	0.0010
AXM84	SER22xSUG131	31.0	64.7	1344.1	28.6	29.3	60.5	1402.9	25.1	-0.0005
AXM85	SER22xSUG131	31.5	66.7	1267.0	26.8	30.1	66.7	1569.7	26.8	-0.0025
AXM86	SER22xSUG131	36.7	65.7	1326.7	22.3	36.8	62.8	1102.5	28.0	0.0018
AXM87	SER22xSUG131	33.9	65.6	1731.9	28.0	34.7	64.5	1957.2	29.1	-0.0014
AXM88	SER22xSUG131	35.7	67.1	1302.3	26.1	35.2	65.3	1528.8	21.3	-0.0018
AXM89	SER22xSUG131	36.5	67.6	1399.3	22.7	35.7	66.0	1341.6	21.0	0.0004
AXM90	SER22xSUG131	31.4	65.2	1872.5	30.9	30.9	61.3	1696.6	29.4	0.0010
AXM91	SER22xSUG131	32.3	64.3	1745.5	31.0	31.3	62.9	2188.8	31.9	-0.0027
AXM92	SER22xSUG131	33.9	65.4	1593.7	25.2	33.5	62.9	1156.9	19.4	0.0029
AXM93	SER22xSUG131	34.7	65.0	1500.6	31.0	34.7	61.3	1158.7	27.4	0.0024
AXM94	SER22xSUG131	34.4	67.7	1104.6	30.2	35.7	64.5	1154.1	26.6	-0.0005
AXM95	SER22xSUG131	33.3	65.7	1607.3	34.1	35.1	66.4	1417.0	31.3	0.0012
AXM96	SER22xSUG131	34.0	66.6	1265.3	30.5	35.1	64.3	1131.9	30.0	0.0011
AXM97	SER22xSUG131	31.9	64.7	1592.1	38.9	31.8	65.6	1313.3	41.3	0.0018
AXM98	SER22xSUG131	32.1	65.6	1703.3	42.5	31.8	63.8	1494.9	38.2	0.0013
AXM99	SER22xNATALSUGAR	33.6	66.8	1331.8	28.8	34.8	65.9	1856.1	27.2	-0.0041
AXM100	SER22xNATALSUGAR	35.9	67.5	895.4	25.7	35.6	67.4	809.9	26.8	0.0010

AXM101	SER22xNATALSUGAR	38.7	69.0	620.1	25.7	38.6	68.1	667.1	23.7	-0.0008
AXM102	SER22xNATALSUGAR	32.9	67.3	1159.5	28.5	36.0	67.2	1377.2	26.8	-0.0020
AXM103	SER22xNATALSUGAR	35.9	69.1	1136.3	27.5	36.2	66.5	1310.6	25.7	-0.0016
AXM104	SER22xNATALSUGAR	34.4	67.0	1154.6	33.1	35.7	65.9	1191.2	28.7	-0.0003
AXM105	SER22xNATALSUGAR	36.3	65.4	661.9	23.5	36.3	67.5	1318.6	20.1	-0.0105
AXM106	SER22xNATALSUGAR	31.1	65.1	1845.3	26.0	30.6	64.0	1785.4	41.4	0.0003
AXM107	SER22xNATALSUGAR	30.9	64.5	1128.3	24.0	30.4	59.5	2106.6	21.7	-0.0091
AXM108	SER22xNATALSUGAR	31.8	64.3	1707.6	30.8	32.8	63.5	2148.9	21.6	-0.0027
AXM109	SER22xNATALSUGAR	34.0	64.7	1699.5	23.7	35.0	65.5	1460.2	24.9	0.0015
AXM110	SER22xPAN127	33.8	65.2	1887.3	23.8	34.3	65.6	2266.4	24.8	-0.0021
AXM111	SER22xNATALSUGAR	33.5	64.8	2100.5	22.4	32.5	60.5	1738.7	19.6	0.0018
AXM112	SER22xNATALSUGAR	33.4	65.2	1772.6	23.1	34.2	63.1	1640.4	24.0	0.0008
AXM113	SER22xNATALSUGAR	32.6	65.2	2074.1	26.7	33.6	60.0	2260.8	19.8	-0.0009
AXM114	SER22xNATALSUGAR	34.4	66.7	1668.7	28.0	35.5	66.7	1703.0	29.0	-0.0002
AXM115	SER22xNATALSUGAR	33.7	67.7	1477.6	31.4	35.9	67.3	1589.6	25.2	-0.0008
AXM116	SER22xNATALSUGAR	34.5	66.9	905.9	27.8	36.1	68.2	1029.8	22.4	-0.0014
AXM117	SER22xNATALSUGAR	34.8	67.1	540.4	20.1	34.8	66.6	804.4	18.7	-0.0052
AXM118	SER22xNATALSUGAR	36.6	68.8	1021.5	27.7	36.2	65.8	966.8	23.0	0.0006
AXM119	SER22xPAN127	34.2	65.6	1385.9	24.1	35.2	63.9	1145.1	21.2	0.0018
AXM120	SER22xPAN127	36.2	66.1	1196.3	28.7	36.1	65.3	1407.6	25.4	-0.0019
AXM121	SER22xPAN127	34.6	66.1	1491.8	25.4	36.5	64.8	1477.2	23.5	0.0001
AXM122	SER22xPAN127	35.3	68.7	1281.8	24.6	35.1	67.2	1408.0	24.8	-0.0010
AXM123	SER22xPAN127	35.5	69.0	1710.7	20.6	35.8	67.7	1215.2	22.1	0.0031
AXM124	SER22xPAN127	32.9	66.7	1567.0	36.8	35.7	66.3	1415.4	28.8	0.0010
AXM125	SER22xPAN127	33.2	65.7	1929.5	24.9	33.2	63.5	1612.6	26.3	0.0017
AXM126	SER22xPAN127	35.9	66.3	1686.2	25.1	35.5	66.1	1098.1	19.0	0.0037
AXM127	SER22xPAN127	33.7	65.9	1453.6	18.4	35.1	63.3	1202.6	21.2	0.0018
AXM128	SER22xPAN127	33.5	65.7	1674.2	27.7	34.1	65.4	1451.8	23.2	0.0014
AXM129	SER22xPAN127	34.7	65.6	1881.7	27.4	34.4	66.5	1548.3	26.3	0.0019
AXM130	SER22xPAN127	34.0	66.4	1620.9	31.6	35.0	66.5	2055.7	24.0	-0.0028
<b>SUBTOTAL</b>		<b>33.6</b>	<b>65.9</b>	<b>1476.7</b>	<b>27.9</b>	<b>33.8</b>	<b>64.2</b>	<b>1477.4</b>	<b>25.8</b>	
<b>SER22</b>										
AXM131	SEC16xCAL143	34.0	65.3	1328.9	23.8	34.5	65.5	733.2	17.1	0.0047
AXM132	SEC16xSUG131	36.5	67.8	1560.1	20.4	37.9	67.7	1246.7	21.0	0.0021
AXM133	SEC16xSUG131	37.3	67.9	1288.2	23.7	37.1	68.0	1267.9	20.6	0.0002
AXM134	SEC16xSUG131	32.6	65.0	1372.0	25.9	34.4	63.4	1162.8	24.1	0.0016
AXM135	SEC16xSUG131	33.1	65.4	1476.7	28.1	32.4	64.8	1510.2	28.6	-0.0002
AXM136	SEC16xSUG131	33.1	65.7	1122.9	20.4	33.9	65.7	1313.3	20.3	-0.0018
AXM137	SEC16xSUG131	34.5	65.7	1660.1	25.0	33.7	65.0	1564.1	17.7	0.0006
AXM138	SEC16xNATALSUGAR	37.2	68.9	928.2	22.0	40.2	66.8	1285.7	24.2	-0.0041
AXM139	SEC16xNATALSUGAR	34.4	66.5	1083.7	24.1	35.1	66.2	1359.5	25.5	-0.0027
AXM140	SEC16xNATALSUGAR	35.6	67.5	900.4	28.7	35.0	68.8	733.2	17.2	0.0020
AXM141	SEC16xNATALSUGAR	37.3	67.5	1107.9	21.9	36.3	67.4	1188.9	20.8	-0.0008
AXM142	SEC16xNATALSUGAR	37.6	69.0	1032.5	26.8	36.6	67.2	897.5	20.2	0.0014
AXM143	SEC16xPAN127	38.0	67.6	1552.5	26.8	39.9	67.9	2079.1	24.1	-0.0036
AXM144	SEC16xPAN127	33.7	67.9	930.2	19.6	35.6	66.5	935.3	23.0	-0.0001
AXM145	SEC16xPAN127	34.6	68.0	728.9	28.5	35.9	68.0	921.6	24.3	-0.0028
AXM146	SEC16xPAN127	34.7	66.2	1727.1	23.4	35.0	66.7	1345.4	20.5	0.0023
AXM147	SEC16xRCW	31.9	66.5	1510.2	29.1	32.0	65.6	1576.7	29.4	-0.0005
AXM148	SEC16xRCW	31.9	65.5	1823.9	29.7	31.8	63.4	1896.1	28.6	-0.0004
AXM149	SEC16xRCW	31.2	64.6	1574.1	28.8	31.4	64.3	1543.0	31.2	0.0002
AXM150	SEC16xRCW	34.2	66.6	1807.8	30.7	34.7	65.4	1000.9	35.1	0.0047
AXM151	SEC16xRCW	32.0	65.7	975.4	30.0	32.1	66.0	1199.0	24.7	-0.0024
AXM152	SEC16xRCW	32.4	66.9	2216.8	26.5	31.8	64.9	1445.1	27.6	0.0037
AXM153	SEC16xRCW	32.2	67.6	1572.9	29.7	32.1	64.6	1335.0	22.5	0.0016
<b>SUBTOTAL</b>		<b>34.3</b>	<b>66.8</b>	<b>1360.1</b>	<b>25.8</b>	<b>34.8</b>	<b>66.1</b>	<b>1284.4</b>	<b>23.8</b>	
<b>SEC16</b>										
AXM154	SEQ11xCAL143	30.9	64.4	1344.4	27.7	28.0	58.4	654.2	24.5	0.0054
AXM155	SEQ11xCAL143	34.0	65.7	1458.3	28.3	33.5	60.9	1208.5	27.2	0.0018
AXM156	SEQ11xCAL143	35.7	66.1	1404.0	23.1	35.7	66.3	1381.8	19.2	0.0002
AXM157	SEQ11xCAL143	33.5	66.4	1198.5	21.3	34.4	64.0	873.3	20.8	0.0029

## 102 Identificación de QTLs de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) asociados a tolerancia a sequía

AXM158	SEQ11xCAL143	34.1	67.3	1222.4	22.3	33.3	64.5	811.6	19.4	0.0035
AXM159	SEQ11xCAL143	33.3	65.3	1464.6	29.3	33.5	64.8	872.1	20.0	0.0043
AXM160	SEQ11xCAL143	32.1	65.5	1759.5	26.0	33.5	65.5	1412.3	27.9	0.0021
AXM161	SEQ11xCAL143	35.7	68.1	1391.7	26.5	36.9	66.4	1119.4	24.8	0.0021
AXM162	SEQ11xCAL143	37.8	69.0	1577.6	29.2	38.1	67.8	1658.6	29.2	-0.0005
AXM163	SEQ11xSUG131	32.7	65.7	1245.0	33.7	35.0	64.2	1309.9	30.8	-0.0005
AXM164	SEQ11xSUG131	35.4	66.7	2231.7	53.0	35.9	66.6	1449.8	42.6	0.0037
AXM165	SEQ11xSUG131	34.8	66.4	2013.8	28.5	33.7	64.7	1505.2	22.5	0.0027
AXM166	SEQ11xNATALSUGAR	34.3	66.3	2037.8	25.0	35.0	65.3	1617.3	24.6	0.0022
AXM167	SEQ11xNATALSUGAR	36.2	66.5	2003.7	26.5	35.3	64.6	1318.6	26.4	0.0036
AXM168	SEQ11xNATALSUGAR	36.3	65.3	1790.5	26.5	35.6	65.1	2167.4	29.2	-0.0022
AXM169	SEQ11xNATALSUGAR	36.5	66.5	2016.1	26.5	34.8	62.2	1832.6	22.7	0.0010
AXM170	SEQ11xNATALSUGAR	35.4	65.9	1433.6	24.3	35.3	64.6	1334.6	23.8	0.0007
AXM171	SEQ11xNATALSUGAR	36.5	66.8	2507.8	26.1	36.6	65.9	2172.5	27.8	0.0014
AXM172	SEQ11xNATALSUGAR	34.5	66.7	1805.1	25.7	35.0	65.3	2438.5	23.8	-0.0037
AXM173	SEQ11xNATALSUGAR	34.3	66.1	1683.5	25.3	34.4	63.6	1985.5	22.2	-0.0019
AXM174	SEQ11xNATALSUGAR	34.2	66.0	2059.1	24.8	34.8	64.0	1502.3	25.3	0.0029
AXM175	SEQ11xPAN127	36.0	66.1	686.1	24.3	34.9	62.6	772.2	19.6	-0.0013
AXM176	SEQ11xPAN127	35.0	67.7	774.2	23.2	34.3	65.7	517.6	16.9	0.0035
AXM177	SEQ11xPAN127	33.9	67.2	636.1	18.3	35.3	65.6	304.8	17.6	0.0055
AXM178	SEQ11xPAN127	34.9	65.3	2048.8	25.6	35.7	64.8	1450.8	23.1	0.0031
AXM179	SEQ11xPAN127	35.4	66.0	2231.6	23.9	36.3	66.2	2125.6	21.3	0.0005
AXM180	SEQ11xPAN127	37.1	66.3	1976.7	26.6	35.7	65.0	1792.4	25.1	0.0010
AXM181	SEQ11xPAN127	36.3	67.7	642.1	22.5	37.4	65.7	904.9	19.9	-0.0043
AXM182	SEQ11xPAN127	34.3	66.3	1212.5	19.8	34.8	64.2	1547.1	16.3	-0.0029
AXM183	SEQ11xPAN127	35.1	66.9	1830.4	20.8	35.4	65.7	2036.5	25.7	-0.0012
AXM184	SEQ11xPAN127	34.0	65.7	1201.4	33.6	33.7	64.0	923.0	27.2	0.0024
AXM185	SEQ11xRCW	32.7	65.0	1956.3	23.0	31.9	65.4	1602.3	21.6	0.0019
AXM186	SEQ11xRCW	35.7	66.9	1803.1	27.0	34.4	63.4	1487.9	22.5	0.0018
AXM187	SEQ11xRCW	31.2	65.6	2033.8	47.8	31.0	63.0	1194.7	44.3	0.0043
AXM188	SEQ11xRCW	30.8	65.6	1905.2	46.5	30.0	63.6	2001.3	43.8	-0.0005
AXM189	SEQ11xRCW	33.0	65.2	1910.1	53.6	32.4	63.5	1625.7	44.5	0.0016
AXM190	SEQ11xRCW	31.1	64.8	2433.9	46.0	28.2	58.0	1670.8	39.3	0.0033
<b>SUBTOTAL</b>		<b>34.5</b>	<b>66.2</b>	<b>1646.8</b>	<b>28.7</b>	<b>34.3</b>	<b>64.4</b>	<b>1421.2</b>	<b>26.0</b>	
<b>SEQ11</b>										
SEQ 11		33.3	67.0	1913.3	26.7	34.4	64.1	1977.6	23.5	-0.0004
RCW		30.9	66.2	1434.3	28.1	31.1	63.4	1408.4	23.3	0.0002
PAN 127		36.4	67.0	746.5	24.7	36.8	66.2	503.3	17.5	0.0034
SEC 16		33.1	64.7	2175.9	25.1	33.3	60.4	1412.6	23.9	0.0037
SER 22		33.0	64.2	2390.8	26.9	30.6	61.8	2362.6	21.8	0.0001
SER 16		32.3	65.0	2714.6	24.2	32.4	59.8	2117.7	20.6	0.0023
SER 8		32.5	64.7	2876.3	24.7	33.4	63.1	1962.1	24.8	0.0034
NATAL SUGAR		37.7	69.2	957.5	28.2	36.0	65.8	1498.5	24.2	-0.0060
CAL 143		34.0	67.6	1187.3	36.5	35.5	66.5	1380.3	27.2	-0.0017
SUG 131		37.1	68.3	1064.9	34.8	36.7	66.6	784.7	33.7	0.0028

## B. Anexo: Tabla resumen 2014cs vs 2015ar de características principales

Línea	Pedigree	2015AR				2014CS				ISS
		DF	DPM	YDHA	100SW	DF	DPM	YDHA	100SW	
AXM1	SER8xCAL143	32.3	69.5	548.9	25.4	34.0	65.1	896.5	21.5	-0.008522
AXM2	SER8xSUG131	34.7	69.9	1490.6	33.5	35.7	65.3	530.4	26.2	0.008672
AXM3	SER8xSUG131	33.7	68.6	1580.2	24.1	35.2	65.0	689.4	22.5	0.007589
AXM4	SER8xSUG131	34.7	70.9	835.6	29.7	34.0	65.2	1722.7	22.3	-0.014291
AXM5	SER8xSUG131	34.3	68.0	1996.1	26.3	33.7	60.1	2341.0	17.7	-0.002326
AXM6	SER8xSUG131	35.0	68.9	844.0	31.9	35.3	63.9	1242.4	19.7	-0.006354
AXM7	SER8xSUG131	35.7	71.8	1479.8	20.0	36.1	63.3	807.0	13.4	0.006121
AXM8	SER8xSUG131	35.3	69.9	787.4	28.0	35.3	63.1	1151.9	19.1	-0.006232
AXM9	SER8xSUG131	36.0	69.6	1073.4	21.9	35.3	64.9	928.4	16.4	0.001818
AXM10	SER8xSUG131	35.3	69.6	1720.5	22.6	34.3	60.8	550.3	13.8	0.009156
AXM11	SER8xSUG131	33.7	69.3	276.7	30.9	34.3	65.5	990.6	25.7	-0.034727
AXM12	SER8xSUG131	35.0	70.7	748.4	28.3	34.3	66.0	425.0	22.5	0.005818
AXM13	SER8xSUG131	35.7	70.8	1534.1	24.6	34.7	64.2	1781.2	15.8	-0.002168
AXM14	SER8xSUG131	34.0	67.2	2435.6	26.6	35.0	61.7	1342.1	15.3	0.006044
AXM15	SER8xNATALSUGAR	35.3	68.7	1109.8	27.7	34.7	65.0	629.8	23.5	0.005822
AXM16	SER8xNATALSUGAR	33.7	68.3	1097.1	29.4	34.7	64.8	802.2	19.5	0.003619
AXM17	SER8xNATALSUGAR	33.3	68.2	1548.7	24.5	34.7	64.2	1381.8	15.9	0.001450
AXM18	SER8xNATALSUGAR	34.7	70.9	1248.5	24.4	35.3	66.3	762.0	15.8	0.005245
AXM19	SER8xNATALSUGAR	34.3	69.7	945.9	23.9	35.3	63.7	223.9	15.9	0.010275
AXM20	SER8xPAN127	37.0	70.8	934.8	25.6	35.7	64.9	679.7	18.0	0.003675
AXM21	SER8xPAN127	35.3	72.6	829.0	20.9	34.7	64.6	924.5	19.0	-0.001550
AXM22	SER8xPAN127	36.7	71.1	1213.0	28.5	34.7	65.5	438.5	18.6	0.008595
AXM23	SER8xPAN127	34.3	70.1	1225.4	30.4	35.3	66.6	480.0	19.5	0.008189
AXM24	SER8xPAN127	36.3	69.7	970.6	27.5	35.3	64.2	767.5	21.7	0.002817
AXM25	SER8xPAN127	34.0	68.5	872.4	21.2	35.0	64.6	854.1	14.0	0.000282
AXM26	SER8xPAN127	32.7	69.9	1481.0	22.1	34.3	60.2	1450.9	17.8	0.000274
AXM27	SER8xPAN127	33.7	69.8	933.4	31.8	35.0	65.2	745.4	14.3	0.002711
AXM28	SER8xPAN127	34.0	70.6	1461.6	32.6	33.7	64.7	1237.2	22.3	0.002067
AXM29	SER8xRCW	36.0	72.8	869.8	44.1	34.7	67.1	239.5	25.6	0.009755
AXM30	SER8xRCW	33.3	70.2	1326.2	28.1	34.3	61.3	1793.6	21.7	-0.004745
AXM31	SER8xRCW	33.7	70.1	1308.7	27.2	33.0	63.0	1148.4	21.5	0.001649
AXM32	SER8xRCW	33.7	67.6	1561.9	24.6	34.0	56.3	1557.8	15.9	0.000035
<b>SUBTOTAL</b>		<b>34.6</b>	<b>69.8</b>	<b>1196.5</b>	<b>27.1</b>	<b>34.7</b>	<b>64.0</b>	<b>984.9</b>	<b>19.1</b>	
<b>SER8</b>										
AXM33	SER16xCAL143	35.0	72.2	1288.2	28.4	34.7	66.3	625.0	21.5	0.006930
AXM34	SER16xCAL143	35.3	71.6	1027.5	33.1	35.7	65.6	1234.2	24.8	-0.002708
AXM35	SER16xSUG131	34.3	71.5	1264.9	27.9	34.3	64.3	622.1	21.3	0.006841
AXM36	SER16xSUG131	34.7	71.0	776.7	38.8	34.0	64.8	836.4	28.7	-0.001035
AXM37	SER16xSUG131	33.7	68.5	1395.9	28.1	35.0	67.1	482.6	17.1	0.008807
AXM38	SER16xSUG131	33.3	67.6	1226.5	33.3	34.7	66.0	404.8	17.7	0.009018
AXM39	SER16xSUG131	34.0	69.8	1690.6	27.6	33.3	62.5	1823.0	23.3	-0.001054
AXM40	SER16xSUG131	35.7	69.7	1300.0	24.3	35.7	65.8	608.5	13.2	0.007160
AXM41	SER16xNATALSUGAR	33.3	71.6	1385.7	35.0	35.7	66.2	1035.7	33.6	0.003400

104 Identificación de QTLs de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) asociados a tolerancia a sequía

AXM42	SER16xNATALSUGAR	33.7	68.7	1864.2	36.5	33.7	65.2	906.2	22.3	0.006917
AXM43	SER16xNATALSUGAR	34.0	68.4	1392.2	30.5	35.0	57.3	1437.9	22.5	-0.000441
AXM44	SER16xNATALSUGAR	34.3	68.8	1645.1	28.1	34.7	61.3	1474.1	20.7	0.001399
AXM45	SER16xNATALSUGAR	34.0	67.6	1709.2	22.2	35.0	64.9	1135.0	17.2	0.004522
AXM46	SER16xNATALSUGAR	35.7	69.6	880.8	30.7	34.7	59.3	459.4	21.7	0.006441
AXM47	SER16xNATALSUGAR	35.0	68.2	1588.7	30.1	35.3	65.3	376.2	20.8	0.010274
AXM48	SER16xNATALSUGAR	35.0	70.7	1658.3	27.3	35.0	65.6	613.0	15.1	0.008485
AXM49	SER16xPAN127	34.0	69.1	1406.1	30.0	34.7	64.6	1087.5	15.2	0.003050
AXM50	SER16xPAN127	34.7	69.3	1465.7	26.7	33.7	63.7	436.7	14.9	0.009451
AXM51	SER16xPAN127	35.3	69.9	1419.7	36.5	35.0	62.1	1626.7	19.7	-0.001962
AXM52	SER16xPAN127	33.3	69.7	1818.9	33.4	32.7	56.4	2110.4	26.2	-0.002158
AXM53	SER16xPAN127	34.0	72.6	1086.1	28.4	34.7	65.4	975.9	18.2	0.001366
AXM54	SER16xPAN127	34.3	68.9	1380.6	33.4	34.3	60.7	1950.3	22.8	-0.005554
AXM55	SER16xPAN127	36.7	70.4	1031.7	30.3	35.0	65.8	421.3	18.6	0.007965
AXM56	SER16xPAN127	37.3	73.6	1280.9	32.5	35.0	65.3	883.2	20.5	0.004180
AXM57	SER16xPAN127	35.7	69.2	1322.9	22.7	34.7	66.0	595.5	13.9	0.007402
AXM58	SER16xPAN127	35.0	69.3	860.7	30.5	35.7	65.9	345.3	14.5	0.008061
AXM59	SER16xPAN127	34.7	72.7	1344.9	30.9	35.3	66.2	80.0	13.0	0.012660
AXM60	SER16xRCW	33.3	66.8	1711.6	32.4	33.0	59.1	1441.1	25.4	0.002128
AXM61	SER16xRCW	34.3	72.6	891.3	33.3	34.0	65.5	1042.9	25.8	-0.002290
AXM62	SER16xRCW	35.0	69.6	1051.7	36.1	35.3	60.7	1696.9	24.6	-0.008258
AXM63	SER16xRCW	34.7	72.7	627.7	31.7	34.0	65.6	305.0	17.5	0.006920
AXM64	SER16xRCW	33.3	70.7	1429.7	25.5	35.7	66.1	1168.4	24.4	0.002460
<b>SUBTOTAL</b>		<b>34.6</b>	<b>70.1</b>	<b>1319.5</b>	<b>30.5</b>	<b>34.7</b>	<b>64.0</b>	<b>945.0</b>	<b>20.5</b>	
<b>SER16</b>										
AXM65	SER22xCAL143	34.7	69.4	872.7	27.7	33.0	57.1	709.3	20.3	0.002520
AXM66	SER22xCAL143	30.0	66.6	1513.1	32.2	31.0	59.8	1587.8	28.5	-0.000664
AXM67	SER22xCAL143	34.3	69.8	1053.3	29.7	34.0	64.5	1048.4	25.7	0.000062
AXM68	SER22xCAL143	33.7	70.0	1821.8	32.7	34.3	65.0	820.1	22.3	0.007402
AXM69	SER22xCAL143	36.7	68.6	1100.1	30.6	34.7	64.6	744.8	23.8	0.004348
AXM70	SER22xCAL143	34.7	67.3	1324.0	29.1	35.0	64.6	608.2	18.5	0.007278
AXM71	SER22xCAL143	33.3	69.0	1428.2	38.2	34.3	62.5	962.7	24.6	0.004388
AXM72	SER22xCAL143	32.7	69.6	1217.3	35.4	32.0	55.9	1604.3	24.9	-0.004279
AXM73	SER22xCAL143	32.7	66.7	1594.4	33.4	33.3	55.8	1292.9	22.3	0.002546
AXM74	SER22xCAL143	33.3	68.8	1808.6	34.8	34.7	61.0	1479.1	24.5	0.002453
AXM75	SER22xCAL143	33.3	70.2	1359.8	24.7	35.6	66.2	866.0	21.7	0.004888
AXM76	SER22xCAL143	33.3	69.3	2597.5	28.4	34.3	65.6	1073.2	21.7	0.007900
AXM77	SER22xCAL143	31.0	68.5	2208.4	27.5	34.0	65.2	937.5	22.4	0.007747
AXM78	SER22xSUG131	31.3	67.9	1823.6	31.7	32.0	59.2	949.9	22.8	0.006449
AXM79	SER22xSUG131	33.3	70.4	902.6	29.3	32.3	63.9	1595.2	22.5	-0.010330
AXM80	SER22xSUG131	31.7	69.1	1247.7	29.7	32.3	61.2	828.3	23.0	0.004525
AXM81	SER22xSUG131	30.3	66.2	1734.7	29.6	30.7	55.6	919.1	22.1	0.006329
AXM82	SER22xSUG131	34.7	68.2	1801.0	30.8	35.0	61.5	695.1	24.7	0.008266
AXM83	SER22xSUG131	35.3	69.5	1109.4	32.4	35.3	62.7	1597.6	22.2	-0.005923
AXM84	SER22xSUG131	29.7	67.1	1655.3	28.8	31.0	57.2	1125.3	21.2	0.004310
AXM85	SER22xSUG131	31.7	69.3	1518.2	30.0	30.7	57.5	1287.8	25.0	0.002043
AXM86	SER22xSUG131	37.3	70.2	678.3	33.4	35.3	64.4	931.7	19.5	-0.005028
AXM87	SER22xSUG131	34.3	68.7	1299.1	36.9	34.7	63.6	1054.2	26.3	0.002538
AXM88	SER22xSUG131	35.3	71.0	1173.5	29.5	34.7	66.3	1011.3	22.4	0.001861
AXM89	SER22xSUG131	34.3	70.1	947.2	23.4	34.3	56.3	1239.7	17.7	-0.004157
AXM90	SER22xSUG131	33.0	68.1	1798.5	26.8	33.0	62.4	1624.0	24.6	0.001306
AXM91	SER22xSUG131	34.0	67.9	1874.7	33.3	33.3	58.3	2200.9	22.6	-0.002342
AXM92	SER22xSUG131	34.3	69.0	1242.5	24.7	34.6	63.7	1351.8	18.8	-0.001184
AXM93	SER22xSUG131	33.7	68.7	1035.7	26.1	35.0	63.5	1081.5	21.9	-0.000595
AXM94	SER22xSUG131	34.3	69.2	1101.1	24.4	35.0	66.1	583.2	17.9	0.006331
AXM95	SER22xSUG131	34.0	71.3	998.3	31.2	35.0	64.9	1154.3	21.4	-0.002104
AXM96	SER22xSUG131	35.0	69.8	1008.3	31.1	35.0	63.5	767.3	18.0	0.003217
AXM97	SER22xSUG131	32.3	72.4	960.6	42.5	33.3	62.5	722.9	27.8	0.003331
AXM98	SER22xSUG131	34.7	69.3	2186.8	27.5	35.3	65.6	746.0	16.7	0.008870
AXM99	SER22xNATALSUGAR	34.3	73.0	1335.3	28.6	34.7	66.1	934.3	21.6	0.004042
AXM100	SER22xNATALSUGAR	35.0	69.9	958.7	29.3	36.0	65.2	498.8	16.0	0.006458

AXM101	SER22xNATALSUGAR	36.7	73.8	560.5	26.9	35.7	66.5	836.7	19.8	-0.006634
AXM102	SER22xNATALSUGAR	34.3	70.7	1821.5	34.2	35.3	65.7	1204.0	22.2	0.004564
AXM103	SER22xNATALSUGAR	35.0	69.6	979.8	33.2	35.3	65.7	810.1	24.1	0.002331
AXM104	SER22xNATALSUGAR	36.3	74.3	596.4	33.4	35.3	65.6	678.5	22.6	-0.001854
AXM105	SER22xNATALSUGAR	36.0	68.2	1016.0	25.1	34.7	65.8	774.5	17.9	0.003199
AXM106	SER22xNATALSUGAR	30.7	67.6	1606.7	26.3	31.3	57.5	1266.7	21.1	0.002849
AXM107	SER22xNATALSUGAR	31.7	67.4	1446.6	24.1	31.0	55.0	1413.4	19.2	0.000309
AXM108	SER22xNATALSUGAR	33.7	66.8	1475.8	29.7	32.0	54.9	1505.5	17.8	-0.000271
AXM109	SER22xNATALSUGAR	33.7	71.8	1222.1	32.5	33.7	62.9	1537.8	19.3	-0.003477
AXM110	SER22xPAN127	35.3	69.0	2133.9	25.2	34.7	61.4	1309.9	16.6	0.005198
AXM111	SER22xNATALSUGAR	33.7	68.2	1724.4	25.9	32.7	59.4	1579.6	20.2	0.001130
AXM112	SER22xNATALSUGAR	33.3	67.7	1600.9	22.4	33.7	59.7	1716.5	20.1	-0.000972
AXM113	SER22xNATALSUGAR	34.0	68.1	1674.7	25.1	33.3	58.5	1435.7	20.0	0.001922
AXM114	SER22xNATALSUGAR	35.0	73.1	817.1	33.5	34.7	64.4	713.3	21.2	0.001710
AXM115	SER22xNATALSUGAR	34.3	73.7	975.5	36.5	35.0	65.1	1045.6	26.8	-0.000967
AXM116	SER22xNATALSUGAR	35.0	72.1	1362.0	32.0	34.7	67.0	820.5	22.7	0.005352
AXM117	SER22xNATALSUGAR	34.0	70.2	1382.6	25.2	34.3	63.3	653.0	19.2	0.007104
AXM118	SER22xNATALSUGAR	35.7	70.1	1229.9	25.3	34.6	66.5	631.4	14.9	0.006551
AXM119	SER22xPAN127	36.3	71.1	1336.4	25.1	35.7	66.4	129.8	16.0	0.012154
AXM120	SER22xPAN127	35.7	69.5	1364.6	24.5	35.0	64.1	593.8	12.5	0.007604
AXM121	SER22xPAN127	36.7	70.1	1083.5	32.1	36.0	65.8	714.6	19.7	0.004584
AXM122	SER22xPAN127	35.3	69.7	1633.6	26.1	35.3	65.4	749.1	19.3	0.007289
AXM123	SER22xPAN127	35.3	71.3	1561.9	25.8	31.7	67.3	959.5	16.6	0.005191
AXM124	SER22xPAN127	34.0	70.4	967.5	39.3	34.7	65.1	1274.8	25.8	-0.004276
AXM125	SER22xPAN127	34.3	71.0	1640.2	34.7	34.7	64.5	1661.2	19.4	-0.000172
AXM126	SER22xPAN127	36.0	73.2	1215.2	30.3	35.7	66.8	603.8	16.9	0.006773
AXM127	SER22xPAN127	35.3	67.0	1663.1	21.0	35.3	66.6	521.3	21.2	0.009242
AXM128	SER22xPAN127	35.0	69.6	1109.8	30.4	34.7	65.8	478.2	14.6	0.007661
AXM129	SER22xPAN127	36.0	70.7	898.2	30.2	35.7	66.2	387.5	17.6	0.007653
AXM130	SER22xPAN127	34.7	69.2	1456.6	29.5	34.7	67.0	1202.9	23.7	0.002345
<b>SUBTOTAL</b>		<b>34.1</b>	<b>69.6</b>	<b>1361.3</b>	<b>29.7</b>	<b>34.1</b>	<b>63.0</b>	<b>1027.9</b>	<b>21.0</b>	
<b>SER22</b>										
AXM131	SEC16xCAL143	33.7	67.7	1281.1	26.9	34.3	65.8	404.1	19.7	0.009215
AXM132	SEC16xSUG131	35.3	70.6	1407.3	23.8	35.6	67.0	460.6	13.1	0.009056
AXM133	SEC16xSUG131	35.3	70.7	1004.5	25.2	35.1	66.2	582.3	19.0	0.005658
AXM134	SEC16xSUG131	35.0	69.3	1133.7	26.6	35.0	61.9	731.8	21.4	0.004772
AXM135	SEC16xSUG131	34.3	69.2	1311.5	27.6	34.7	64.2	791.8	23.5	0.005334
AXM136	SEC16xSUG131	34.0	68.5	1073.2	19.5	34.7	64.4	632.3	16.9	0.005530
AXM137	SEC16xSUG131	35.0	69.5	1774.9	21.6	35.7	65.3	875.9	16.9	0.006818
AXM138	SEC16xNATALSUGAR	36.3	70.1	1399.4	29.2	36.0	67.7	584.1	18.6	0.007843
AXM139	SEC16xNATALSUGAR	34.7	70.7	990.4	30.1	36.0	65.3	656.2	17.8	0.004543
AXM140	SEC16xNATALSUGAR	35.7	70.9	901.4	28.9	35.3	65.8	364.0	16.8	0.008025
AXM141	SEC16xNATALSUGAR	35.0	69.4	1708.3	24.1	35.3	65.0	1279.7	20.7	0.003377
AXM142	SEC16xNATALSUGAR	35.7	73.1	1249.4	27.7	35.7	66.4	570.4	10.8	0.007315
AXM143	SEC16xPAN127	37.3	70.8	1828.8	28.2	36.0	65.7	1105.6	18.7	0.005323
AXM144	SEC16xPAN127	35.3	71.2	663.1	27.3	35.3	64.8	636.7	21.2	0.000537
AXM145	SEC16xPAN127	34.7	71.6	1227.0	31.5	33.7	64.8	836.1	22.1	0.004288
AXM146	SEC16xPAN127	33.0	70.3	1304.5	33.9	32.3	62.3	1126.0	27.7	0.001842
AXM147	SEC16xRCW	34.7	69.9	1596.5	24.9	33.0	64.1	1457.7	22.7	0.001170
AXM148	SEC16xRCW	35.3	71.3	1259.6	31.6	34.3	64.2	1121.9	19.7	0.001472
AXM149	SEC16xRCW	30.3	68.2	1150.3	29.1	31.0	62.5	1183.8	19.1	-0.000392
AXM150	SEC16xRCW	35.3	72.3	1001.7	37.8	34.7	65.5	1472.1	26.5	-0.006322
AXM151	SEC16xRCW	34.3	68.8	1798.5	33.2	34.3	62.7	1355.8	21.5	0.003314
AXM152	SEC16xRCW	33.3	69.3	1750.7	30.0	33.7	62.6	1047.2	18.7	0.005409
AXM153	SEC16xRCW	34.3	70.8	1894.3	26.5	34.3	63.2	888.3	20.6	0.007149
<b>SUBTOTAL</b>		<b>34.7</b>	<b>70.2</b>	<b>1335.2</b>	<b>28.1</b>	<b>34.6</b>	<b>64.7</b>	<b>876.7</b>	<b>19.7</b>	
<b>SEC16</b>										
AXM154	SEQ11xCAL143	30.3	66.7	1982.7	26.6	31.7	55.1	1349.6	19.3	0.004299
AXM155	SEQ11xCAL143	33.3	69.0	1727.0	29.1	34.7	65.5	1152.1	25.1	0.004482
AXM156	SEQ11xCAL143	36.7	71.4	927.2	24.2	35.0	66.3	1150.6	15.3	-0.003243
AXM157	SEQ11xCAL143	34.7	70.7	990.5	25.0	35.0	65.9	631.5	20.0	0.004879

106 Identificación de QTLs de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) asociados a tolerancia a sequía

AXM158	SEQ11xCAL143	33.7	68.8	1488.9	25.1	35.3	65.1	716.2	18.4	0.006986
AXM159	SEQ11xCAL143	34.7	69.2	1298.6	26.4	35.0	65.7	957.8	20.0	0.003532
AXM160	SEQ11xCAL143	31.3	70.2	1544.7	32.6	35.3	65.9	968.5	22.1	0.005021
AXM161	SEQ11xCAL143	36.3	73.0	1053.9	38.2	35.0	64.4	1163.9	16.3	-0.001406
AXM162	SEQ11xCAL143	36.3	72.5	985.0	29.4	35.3	65.9	908.0	22.8	0.001052
AXM163	SEQ11xSUG131	34.3	69.6	938.5	31.4	34.0	62.9	593.5	23.7	0.004948
AXM164	SEQ11xSUG131	34.0	71.6	1907.8	48.3	35.3	66.5	1142.6	40.1	0.005400
AXM165	SEQ11xSUG131	36.7	70.5	1931.4	28.2	35.3	65.8	1496.7	20.9	0.003030
AXM166	SEQ11xNATALSUGAR	35.7	67.9	2714.4	26.6	35.7	64.5	1445.8	19.2	0.006291
AXM167	SEQ11xNATALSUGAR	35.3	70.0	1659.9	26.3	35.0	64.7	1035.2	19.1	0.005066
AXM168	SEQ11xNATALSUGAR	36.3	69.0	1297.9	27.7	34.7	64.8	1455.7	21.3	-0.001637
AXM169	SEQ11xNATALSUGAR	36.0	69.8	1856.5	29.3	35.3	64.1	1439.2	19.4	0.003025
AXM170	SEQ11xNATALSUGAR	36.3	68.0	1429.6	25.3	35.3	64.9	868.8	20.1	0.005280
AXM171	SEQ11xNATALSUGAR	36.0	69.6	1414.5	27.0	35.0	65.7	983.8	19.8	0.004099
AXM172	SEQ11xNATALSUGAR	36.0	69.5	1811.1	25.7	35.1	64.7	2029.6	19.2	-0.001624
AXM173	SEQ11xNATALSUGAR	35.7	70.1	2383.6	25.0	35.7	63.8	1589.3	20.9	0.004486
AXM174	SEQ11xNATALSUGAR	35.0	69.5	1888.8	26.9	34.7	65.2	1493.2	18.4	0.002820
AXM175	SEQ11xPAN127	35.3	68.9	1104.5	25.8	36.0	65.3	563.9	13.5	0.006589
AXM176	SEQ11xPAN127	34.0	70.7	1120.2	24.5	35.0	64.0	424.6	16.8	0.008359
AXM177	SEQ11xPAN127	35.7	70.3	915.8	22.1	35.0	62.9	186.0	13.7	0.010728
AXM178	SEQ11xPAN127	35.7	68.7	2048.1	28.9	35.3	64.5	1255.9	20.4	0.005207
AXM179	SEQ11xPAN127	35.0	69.7	1670.1	31.6	35.7	65.2	1806.1	22.6	-0.001096
AXM180	SEQ11xPAN127	35.3	70.6	1987.2	29.3	35.7	65.8	1412.8	20.3	0.003891
AXM181	SEQ11xPAN127	36.7	72.1	541.3	22.1	34.7	66.9	277.8	14.6	0.006552
AXM182	SEQ11xPAN127	33.7	67.1	1519.6	22.0	35.0	64.3	1054.9	14.9	0.004117
AXM183	SEQ11xPAN127	36.0	69.3	1700.0	26.6	34.7	61.0	1595.1	23.3	0.000831
AXM184	SEQ11xPAN127	33.3	68.6	1364.3	37.0	34.0	64.7	870.6	22.8	0.004871
AXM185	SEQ11xRCW	35.3	69.5	1517.7	25.6	35.7	64.9	1410.7	18.0	0.000950
AXM186	SEQ11xRCW	36.7	70.0	1597.0	29.1	34.0	65.5	1155.1	20.9	0.003725
AXM187	SEQ11xRCW	32.0	69.6	1804.6	37.5	32.0	63.7	994.4	37.8	0.006044
AXM188	SEQ11xRCW	32.0	69.3	2035.2	43.0	31.3	60.8	1136.6	33.8	0.005944
AXM189	SEQ11xRCW	34.0	68.7	1446.5	49.1	33.3	65.8	1165.5	42.9	0.002615
AXM190	SEQ11xRCW	33.0	68.1	2260.6	44.3	31.3	55.6	1704.1	35.1	0.003314
<b>SUBTOTAL</b>		<b>34.8</b>	<b>69.7</b>	<b>1563.9</b>	<b>29.8</b>	<b>34.7</b>	<b>64.3</b>	<b>1123.9</b>	<b>22.0</b>	
<b>SEQ11</b>										
<b>SEQ 11</b>		36.0	69.0	1815.3	27.8	34.7	64.5	1272.0	20.2	0.004029
<b>RCW</b>		34.0	68.7	1224.0	29.1	32.0	63.0	981.3	20.1	0.002669
<b>PAN 127</b>		36.3	70.8	922.1	35.2	35.0	63.0	468.5	15.2	0.006622
<b>SEC 16</b>		34.3	68.4	2224.6	23.8	35.0	60.6	1452.7	20.5	0.004671
<b>SER 22</b>		33.0	65.8	2758.4	24.2	34.0	55.0	2236.9	20.0	0.002545
<b>SER 16</b>		33.0	66.0	2725.0	22.1	35.3	57.4	2406.1	15.9	0.001576
<b>SER 8</b>		33.7	65.4	2276.9	24.7	35.7	60.1	2347.9	20.5	-0.000419
<b>NATAL</b>		35.7	72.4	839.8	39.5	34.7	65.6	787.3	22.4	0.000842
<b>SUGAR</b>										
<b>CAL 143</b>		34.7	71.1	1700.2	35.8	34.3	66.0	1659.4	30.2	0.000323
<b>SUG 131</b>		35.3	70.4	847.7	43.0	35.3	65.2	341.9	24.8	0.008031
<b>PROMEDIO</b>		<b>34.5</b>	<b>69.8</b>	<b>1380.7</b>	<b>29.3</b>	<b>34.5</b>	<b>63.7</b>	<b>1025.7</b>	<b>20.7</b>	

## C. Anexo: Análisis de modelos mixtos

Tratamiento	Df	Suma de Cuadrados	cuadrados medios	F-value	Denominador	Pr(>F)	Característica	Significancia
2013CR	199	1894.5	9.52	15.2	337.08	0.0001	DF	***
	199	860.144	43.223	37.135	332.9618	0.0001	DPM	***
	199	107777505	541595.5	5.98	337.68	0.0001	YDHA	***
	199	16921.28	85.03	4.02	337.62	0.0001	100SW	***
	199	8978.32	45.11	3.54	332.96	0.0001	SCMR	***
	199	103242.3	518.8	2.33	394.98	0.0001	PDPL	***
	199	194398.7	9768778	15389	3190597	0.0003	IC	**
	199	22127.68	111.19	2.41	326.34	0.0001	PHI	***
	199	22127.64	111.19	2.42	326.34	0.0000	PBP	***
	199	339369.50	1705.37	1.35	383.01	0.0069	IPV	**
	199	19.44	0.10	1.52	383.86	0.0002	REFP	***
	199	260.55	1.31	1.71	291.95	0.00	EPS	***
199	1209.81	6.08	1.33	334.88	0.01	TD	***	
2013CS	199	2390.581	12.013	8.8927	340.8758	0.0001	DF	***
	199	2776.176	13.9506	4.5456	339.8496	0.0001	DPM	***
	199	103081008	517995	4.4511	341.0201	0.0001	YDHA	***
	199	16832.49	84.5854	4.5852	337.9985	0.0001	100SW	***
	199	7920.045	39.7992	3.7363	399.9877	0.0001	SCMR	***
	199	110206.1	553.7995	2.0518	280.1528	0.0001	PDPL	***
	199	226290.1	1137.136	1.2311	380.0122	0.0438	IC	*
	199	27869.05	140.0455	1.9572	394.0001	0.0001	PHI	***
	199	26737.17	134.3576	1.9572	394.0001	0.0001	PBP	***
	199	369225.7	1855.406	1.1395	378.0271	0.1417	IPV	
	199	22.6178	0.1137	1.2308	379.8884	0.044	REFP	*
	199	552.708	2.7774	1.4476	318.2347	0.0017	EPS	**
199	1596.04	8.0203	1.3014	335.8031	0.0173	TD	**	

108 Identificación de QTLs de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) asociados a tolerancia a sequía

2014CS	199	832.82	4.19	3.87	386.97	0.00	DF	***
	199	4937.48	24.81	5.33	320.74	0.00	DPM	***
	199	113029470.00	567987.30	6.09	317.50	0.00	YDHA	***
	199	11098.07	55.77	6.17	300.95	0.00	100SW	***
	199	203.07	1.02	1.01	328.72	0.48	SCMR	
	199	1086.87	5.46	1.89	341.07	0.00	TD	***
	199	1231.333	6.1876	6.3744	396.9598	0.0001	DF	***
	199	1479.582	7.4351	3.7799	329.5094	0.0001	DPM	***
	199	107945475	542439.6	5.3997	328.1335	0.0001	YDHA	***
	199	14823.39	74.4894	6.7376	333.0543	0.0001	100SW	***
	199	810.1354	4.071	1.0168	332.9997	0.4434	SCMR	
	199	98955.62	497.2644	2.4692	324.0497	0.0001	PDPL	***
	199	178674.8	897.8635	1.6389	333.3151	0.0001	IC	***
2015AR	199	12585.52	63.2438	2.7648	320.8954	0.0001	PHI	***
	199	12585.62	63.2443	2.7648	320.8936	0.0001	PBP	***
	199	316698.3	1591.449	1.5331	334.593	0.0003	IPV	**
	199	17.8349	0.0896	1.6372	333.1442	0.0001	REFP	***
	199	274.9438	1.3816	1.9562	331.1194	0.0001	EPS	***
	199	849.0682	4.2667	1.1815	330.2407	0.0915	TD	

DF: días a floración, DPM: Días a madures fisiológica, YDHA: rendimiento, 100SW: Peso de cien semillas, IC: Índice de cosecha, PHI: Índice de cosecha de vaina, TD: depresión de la temperatura de dosel, SCMR: SPAD, REFP: Rendimiento de la eficiencia productiva, PDPL: vainas por planta, IRON: hierro en semilla, ZINC: Zinc en semilla, CARBON: Discriminación del isotopo de carbono, EPS: Eficiencia de la producción de semilla, PBP: Proporción de Biomasa de la pared de la vaina, IPV: Índice de partición de vainas. \* Significancia a  $P < 0.05$ ; \*\* Significancia a  $P < 0.01$ ; \*\*\*Significancia a  $P < 0.001$

## Bibliografía

- Acosta, J. A., Acosta, E., Padilla, S., Goytia, M. A., Rosales, R., & López, E. (1999). Mejoramiento de la resistencia a la sequia del frijol comun en Mexico. *Agronomia Mesoamericana* 10, 10(1), 83–90. Retrieved from [http://www.mag.go.cr/rev\\_meso/v10n01\\_083.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_meso/v10n01_083.pdf)
- Acosta-Díaz, E., Trejo-López, C., Ruiz-Posadas, L. del M., Padilla-Ramírez, J. S., & Acosta-Gallegos, J. A. (2004). Adaptación del frijol a sequía en la etapa reproductiva. *Terra Latinoamericana*, 22(1), 49–58. Retrieved from <http://148.215.2.11/articulo.oa?id=57311208006>
- Acosta-Gallegos, J. A., & Adams, M. W. (1991). Plant traits and yield stability of dry bean ( *Phaseolus vulgaris*) cultivars under drought stress. *The Journal of Agricultural Science*, 117(02), 213–219. Retrieved from [http://journals.cambridge.org/abstract\\_S0021859600065308](http://journals.cambridge.org/abstract_S0021859600065308)
- Afanador, L., Haley, S., & Kelly, J. D. (1993). Adoption of a “mini-prep” DNA extraction method for RAPD marker analysis in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative*, 6(36), 10–11. Retrieved from <http://naldc.nal.usda.gov/download/IND43778543/PDF>
- Allard, R. W. (1978). *Principios de la mejora genética de las plantas*. Ediciones Omega, S.a. Retrieved from [http://books.google.com.co/books/about/Principios\\_de\\_la\\_mejora\\_gen%C3%A9tica\\_de\\_las.html?id=Q8nnXwAACAAJ&pgis=1](http://books.google.com.co/books/about/Principios_de_la_mejora_gen%C3%A9tica_de_las.html?id=Q8nnXwAACAAJ&pgis=1)
- Amani, I., Fischer, R. A., & Reynolds, M. P. (1996). Canopy Temperature Depression Association with Yield of Irrigated Spring Wheat Cultivars in a Hot Climate. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 176(2), 119–129. <http://doi.org/10.1111/j.1439-037X.1996.tb00454.x>
- Ambachew, D., Mekbib, F., Asfaw, A., Beebe, S. E., & Blair, M. W. (2015). Trait associations in common bean genotypes grown under drought stress and field infestation by BSM bean fly. *The Crop Journal*. <http://doi.org/10.1016/j.cj.2015.01.006>

- Assefa, T., Beebe, S. E., Rao, I. M., Cuasquer, J. B., Duque, M. C., Rivera, M., ... Lucchin, M. (2013). Pod harvest index as a selection criterion to improve drought resistance in white pea bean. *Field Crops Research*, 148(null), 24–33. <http://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.04.008>
- Babar, M. A., Reynolds, M. P., van Ginkel, M., Klatt, A. R., Raun, W. R., & Stone, M. L. (2006). Spectral Reflectance to Estimate Genetic Variation for In-Season Biomass, Leaf Chlorophyll, and Canopy Temperature in Wheat. *Crop Science*, 46(3), 1046. <http://doi.org/10.2135/cropsci2005.0211>
- Baethgen, W. E. (2010). Climate Risk Management for Adaptation to Climate Variability and Change. *Crop Science*, 50(Supplement 1), S–70–S–76. Retrieved from <http://crop.scijournal.org/cgi/doi/10.2135/cropsci2009.09.0526>
- Beebe, S. E., Makunde, G. S., Blair, M. W., Chirwa, R., & Lungu, D. (2007). Inheritance of drought tolerance traits in andean x andean and andean x Mesoamerican F2 populations. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative*, 50, 159–160. Retrieved from <http://ciat-library.ciat.cgiar.org:8080/xmlui/handle/123456789/5130>
- Beebe, S. E., Rao, I. M., Blair, M. W., & Acosta-Gallegos, J. a. (2013). Phenotyping common beans for adaptation to drought. *Frontiers in Physiology*, 4(March), 35. <http://doi.org/10.3389/fphys.2013.00035>
- Beebe, S. E., Rao, I. M., Cajiao, C., & Grajales, M. (2008). Selection for Drought Resistance in Common Bean Also Improves Yield in Phosphorus Limited and Favorable Environments. *Crop Science*, 48(2), 582. <http://doi.org/10.2135/cropsci2007.07.0404>
- Begcy, K., Mariano, E. D., Mattiello, L., Nunes, A. V, Mazzafera, P., Maia, I. G., & Menossi, M. (2011). An Arabidopsis mitochondrial uncoupling protein confers tolerance to drought and salt stress in transgenic tobacco plants. *PloS One*, 6(8), e23776. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0023776>
- Blair, M. W., Astudillo, C., Grusak, M. A., Graham, R., & Beebe, S. E. (2008). Inheritance of seed iron and zinc concentrations in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Molecular Breeding*, 23(2), 197–207. <http://doi.org/10.1007/s11032-008-9225-z>
- Blair, M. W., Diaz, L. M., & Acosta-Gallegos, J. A. (2013). Race Structure in the Mexican Collection of Common Bean Landraces. *Crop Science*. <http://doi.org/10.2135/cropsci2012.07.0442>

- Blair, M. W., Giraldo, M. C., Buendía, H. F., Tovar, E., Duque, M. C., & Beebe, S. E. (2006). Microsatellite marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *TAG. Theoretical and Applied Genetics. Theoretische Und Angewandte Genetik*, 113(1), 100–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16614831>
- Blair, M. W., Soler, A., & Cortés, A. J. (2012). Diversification and population structure in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *PloS One*, 7(11), e49488. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0049488>
- Bradbury, P., Zhang, Z., & Kroon, D. (2007). TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. ..., 1–2. <http://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030004.4>
- Broughton, W. J., Hernández, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., & Vanderleyden, J. (2003). Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes. *Plant and Soil*, 252(1), 55–128. <http://doi.org/10.1023/A:1024146710611>
- CIAT. (2001). *Bean Improvement for sustainable productivity, Input use efficiency, and poverty alleviation: Annual Report: Project IP-1*. Cali, Colombia.
- Cichy, K. A., Wiesinger, J. A., & Mendoza, F. A. (2015). Genetic diversity and genome-wide association analysis of cooking time in dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *TAG. Theoretical and Applied Genetics. Theoretische Und Angewandte Genetik*, 128(8), 1555–67. <http://doi.org/10.1007/s00122-015-2531-z>
- CIMMYT. (2013). *Fitomejoramiento fisiológico I: enfoques interdisciplinarios para mejorar la adaptación del cultivo*. (M. Reynolds, A. Pask, D. Mullan, & P. Chávez, Eds.). Mexico D.F: CIMMYT. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=FgWhMhLxhzoC&pgis=1>
- Debouck, D., & Hidalgo, R. (1985). *Morfología de la Planta de frijol Comun (Segunda)*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia. Retrieved from [https://books.google.com.co/books?id=AtOLF2NhJogC&printsec=frontcover&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.co/books?id=AtOLF2NhJogC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
- Duitama, J., Quintero, J. C., Cruz, D. F., Quintero, C., Hubmann, G., Foulquié-Moreno, M. R., ... Tohme, J. (2014). An integrated framework for discovery and genotyping of genomic variants from high-throughput sequencing experiments. *Nucleic Acids Research*, 42(6), e44. <http://doi.org/10.1093/nar/gkt1381>

- Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. A., Kawamoto, K., Buckler, E. S., & Mitchell, S. E. (2011). A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS One*, 6(5), e19379. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0019379>
- Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2003). Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164(4), 1567–87. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1462648&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Feng, B., Yu, H., Hu, Y., Gao, X., Gao, J., Gao, D., & Zhang, S. (2009). The physiological characteristics of the low canopy temperature wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under simulated drought condition. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(6), 1229–1235. <http://doi.org/10.1007/s11738-009-0358-4>
- Fernández, F., Gepts, P., & Lopez, M. (1986). *Etapas de desarrollo de la planta de frijol común (Phaseolus vulgaris L.)*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical. Retrieved from [http://ciat-library.ciat.cgiar.org/ciat\\_digital/CIAT/28093.pdf](http://ciat-library.ciat.cgiar.org/ciat_digital/CIAT/28093.pdf)
- Fischer, R. A., Rees, D., Sayre, K. D., Lu, Z.-M., Condon, A. G., & Saavedra, A. L. (1998). Wheat Yield Progress Associated with Higher Stomatal Conductance and Photosynthetic Rate, and Cooler Canopies. *Crop Science*, 38(6), 1467. <http://doi.org/10.2135/cropsci1998.0011183X003800060011x>
- Fonsêca, A., Ferreira, J., dos Santos, T. R. B., Mosiolek, M., Bellucci, E., Kami, J., ... Pedrosa-Harand, A. (2010). Cytogenetic map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Chromosome Research: An International Journal on the Molecular, Supramolecular and Evolutionary Aspects of Chromosome Biology*, 18(4), 487–502. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2886897&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Fu, Q., Li, S., & Yu, D. (2010). Identification of an Arabidopsis Nodulin-related protein in heat stress. *Molecules and Cells*, 29(1), 77–84. <http://doi.org/10.1007/s10059-010-0005-3>
- Ganal, M. W., Altmann, T., & Röder, M. S. (2009). SNP identification in crop plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(2), 211–7. <http://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.12.009>
- Gepts, P. (2001). *Phaseolus vulgaris* ( Beans ). *Encyclopedia of Genetics*, 1444–1445.

- Gepts, P., & Debouck, D. (1991). Origin, Domestication, and Evolution of the Common Bean. In *Common Beans Research for Crop Improvement* (pp. 7–53). Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical. Retrieved from [https://books.google.com.co/books?id=CvcbUopfa54C&pg=PA7&lpg=PA7&dq=Origin,+Domestication,+and+Evolution+of+the+Common+Bean&source=bl&ots=ggzKZyuVN1&sig=h-5IJEOR3-k2pkfJz-5CR\\_\\_2IU&hl=es-419&sa=X&ved=0CDYQ6AEwAmoVChMIqe3coKSExwIVic2ACh2tEQZi#v=onepage&q=O](https://books.google.com.co/books?id=CvcbUopfa54C&pg=PA7&lpg=PA7&dq=Origin,+Domestication,+and+Evolution+of+the+Common+Bean&source=bl&ots=ggzKZyuVN1&sig=h-5IJEOR3-k2pkfJz-5CR__2IU&hl=es-419&sa=X&ved=0CDYQ6AEwAmoVChMIqe3coKSExwIVic2ACh2tEQZi#v=onepage&q=O)
- Goodstein, D. M., Shu, S., Howson, R., Neupane, R., Hayes, R. D., Fazo, J., ... Rokhsar, D. S. (2012). Phytozome: a comparative platform for green plant genomics. *Nucleic Acids Research*, *40*(Database issue), D1178–86. <http://doi.org/10.1093/nar/gkr944>
- Herrera, M. L., Peña-Valdivia, C. B., Aguirre-Rivera, J. R., López, C. T., & Escamilla, A. L. (2007). Comparative study gas exchange and photosynthetic parameters in two leaf types of wild and domesticated bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Científica UDO Agrícola*. Retrieved from [http://www.researchgate.net/publication/26503867\\_Comparative\\_study\\_gas\\_exchange\\_and\\_photosynthetic\\_parameters\\_in\\_two\\_leaf\\_types\\_of\\_wild\\_and\\_domesticated\\_bean\\_\(Phaseolus\\_vulgaris\\_L.\)](http://www.researchgate.net/publication/26503867_Comparative_study_gas_exchange_and_photosynthetic_parameters_in_two_leaf_types_of_wild_and_domesticated_bean_(Phaseolus_vulgaris_L.))
- HOCHBERG, Y. (1988). A sharper Bonferroni procedure for multiple tests of significance. *Biometrika*, *75*(4), 800–802. <http://doi.org/10.1093/biomet/75.4.800>
- Huntingford, C., Lambert, F. H., Gash, J. H. C., Taylor, C. M., & Challinor, A. J. (2005). Aspects of climate change prediction relevant to crop productivity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, *360*(1463), 1999–2009. <http://doi.org/10.1098/rstb.2005.1748>
- Kamfwa, K., Cichy, K. A., & Kelly, J. D. (2015). Genome-Wide Association Study of Agronomic Traits in Common Bean. *The Plant Genome*, *8*(2). <http://doi.org/10.3835/plantgenome2014.09.0059>
- Kim, S., Choi, H., Ryu, H.-J., Park, J. H., Kim, M. D., & Kim, S. Y. (2004). ARIA, an Arabidopsis arm repeat protein interacting with a transcriptional regulator of abscisic acid-responsive gene expression, is a novel abscisic acid signaling component. *Plant Physiology*, *136*(3), 3639–48. <http://doi.org/10.1104/pp.104.049189>
- Klaedtke, S. M., Cajiao, C., Grajales, M., Polanía, J., Borrero, G., Guerrero, A., ... León, J. (2012). Photosynthate remobilization capacity from drought-adapted common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lines can improve yield potential of interspecific populations within the secondary gene pool. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, *4*(4), 49–61. <http://doi.org/10.5897/JPBCS11.087>

- Konrad, B. (1994). Tansley Review No. 63. Molecular Markers in Plant Ecology. *New Phytologist*, 126(3), 403–418. <http://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1994.tb04242.x>
- Korte, A., Vilhjálmsson, B. J., Segura, V., Platt, A., Long, Q., & Nordborg, M. (2012). A mixed-model approach for genome-wide association studies of correlated traits in structured populations. *Nature Genetics*, 44(9), 1066–71. <http://doi.org/10.1038/ng.2376>
- Lipka, A. E., Tian, F., Wang, Q., Peiffer, J., Li, M., Bradbury, P. J., ... Zhang, Z. (2012). GAPIT: genome association and prediction integrated tool. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 28(18), 2397–9. <http://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts444>
- López, M., Fernández, F., & Schoonhoven, A. van. (1985). *Frijol: investigación y producción : referencia de los cursos de capacitación sobre frijol dictados por el Centro Internacional de Agricultura Tropical*. CIAT. Retrieved from <http://books.google.com.co/books/about/Frijol.html?id=xufu4GVNHDUC&pgis=1>
- Malosetti, M., van der Linden, C. G., Vosman, B., & van Eeuwijk, F. A. (2007). A mixed-model approach to association mapping using pedigree information with an illustration of resistance to *Phytophthora infestans* in potato. *Genetics*, 175(2), 879–89. <http://doi.org/10.1534/genetics.105.054932>
- Mencuccini, M., Mambelli, S., & Comstock, J. (2000). Stomatal responsiveness to leaf water status in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is a function of time of day. *Plant, Cell and Environment*, 23(10), 1109–1118. <http://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2000.00617.x>
- Menozzi, P., Piazza, A., & Cavalli-Sforza, L. (1978). Synthetic maps of human gene frequencies in Europeans. *Science*, 201(4358), 786–792. <http://doi.org/10.1126/science.356262>
- Miklas, P. N., Kelly, J. D., Beebe, S. E., & Blair, M. W. (2006). Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: From classical to MAS breeding. *Euphytica*, 147(1-2), 105–131. Retrieved from <http://www.springerlink.com/content/u6w235m7337n477/>
- Miklas, P. N., & Singh, S. P. (2007). 1 Common Bean. *Molecular Breeding*, 3.
- Mir, R., & León, J. (2014). Pathogen and Circadian Controlled 1 (PCC1) Protein Is Anchored to the Plasma Membrane and Interacts with Subunit 5 of COP9 Signalosome in Arabidopsis. *PLoS ONE*, 9(1), e87216. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0087216>

- Mishra, V., & Cherkauer, K. A. (2010). Retrospective droughts in the crop growing season: Implications to corn and soybean yield in the Midwestern United States. *Agricultural and Forest Meteorology*, 150(7-8), 1030–1045. <http://doi.org/10.1016/j.agrformet.2010.04.002>
- Mohan, M., Nair, S., Bhagwat, A., Krishna, T. G., Yano, M., Bhatia, C. R., & Sasaki, T. (1997). Genome mapping , molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Genome Research*, 87–103.
- Montero-Tavera, V., Ruiz-Medrano, R., & Xoconostle-Cázares, B. (2008). Systemic nature of drought-tolerance in common bean. *Plant Signaling & Behavior*, 3(9), 663–6. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2634550&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Mukeshimana, G., Butare, L., Cregan, P. B., Blair, M. W., & Kelly, J. D. (2014). Quantitative Trait Loci Associated with Drought Tolerance in Common Bean. *Crop Science*, 54(3), 923. <http://doi.org/10.2135/cropsci2013.06.0427>
- Muñoz-Perea, C. G., Allen, R. G., Westermann, D. T., Wright, J. L., & Singh, S. P. (2007). Water use efficiency among dry bean landraces and cultivars in drought-stressed and non-stressed environments. *Euphytica*, 155(3), 393–402. <http://doi.org/10.1007/s10681-006-9340-z>
- Muñoz-Perea, C. G., Terán, H., Allen, R. G., Wright, J. L., Westermann, D. T., & Singh, S. P. (2006). Selection for Drought Resistance in Dry Bean Landraces and Cultivars. *Crop Science*, 46(5), 2111. <http://doi.org/10.2135/cropsci2006.01.0029>
- Mustilli, A.-C. (2002). Arabidopsis OST1 Protein Kinase Mediates the Regulation of Stomatal Aperture by Abscisic Acid and Acts Upstream of Reactive Oxygen Species Production. *The Plant Cell Online*, 14(12), 3089–3099. <http://doi.org/10.1105/tpc.007906>
- O'Rourke, J. A., Iniguez, L. P., Fu, F., Bucciarelli, B., Miller, S. S., Jackson, S. A., ... Vance, C. P. (2014). An RNA-Seq based gene expression atlas of the common bean. *BMC Genomics*, 15(1), 866. <http://doi.org/10.1186/1471-2164-15-866>
- Patterson, N., Price, A. L., & Reich, D. (2006). Population structure and eigenanalysis. *PLoS Genetics*, 2(12), e190. <http://doi.org/10.1371/journal.pgen.0020190>

- Peng, S., Huang, J., Sheehy, J. E., Laza, R. C., Visperas, R. M., Zhong, X., ... Cassman, K. G. (2004). Rice yields decline with higher night temperature from global warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(27), 9971–5. <http://doi.org/10.1073/pnas.0403720101>
- Pérez-Vega, E., Pañeda, A., Rodríguez-Suárez, C., Campa, A., Giraldez, R., & Ferreira, J. J. (2010). Mapping of QTLs for morpho-agronomic and seed quality traits in a RIL population of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *TAG. Theoretical and Applied Genetics. Theoretische Und Angewandte Genetik*, *120*(7), 1367–80. <http://doi.org/10.1007/s00122-010-1261-5>
- Pineau, B., Bourge, M., Marion, J., Mauve, C., Gilard, F., Maneta-Peyret, L., ... Danon, A. (2013). The importance of cardiolipin synthase for mitochondrial ultrastructure, respiratory function, plant development, and stress responses in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, *25*(10), 4195–208. <http://doi.org/10.1105/tpc.113.118018>
- Polania, J. A. (2011). *Identificación de características morfofisiológicas asociadas a la adaptación a sequía para ser usadas como criterios de selección en mejoramiento de frijol común Phaseolus vulgaris L.* Universidad Nacional de Colombia. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/6663/1/josearnulfopolaniaperdomo.2011.pdf>
- Price, A. L., Patterson, N. J., Plenge, R. M., Weinblatt, M. E., Shadick, N. A., & Reich, D. (2006). Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nature Genetics*, *38*(8), 904–9. <http://doi.org/10.1038/ng1847>
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, *155*(2), 945–59. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1461096&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Ramirez-Vallejo, P., & Kelly, J. D. (1998). Traits related to drought resistance in common bean. *Euphytica*, *99*(2), 127–136. <http://doi.org/10.1023/A:1018353200015>
- Rao, I. M. (2001). Role of physiology in improving crop adaptation to abiotic stresses in the tropics: the case of common bean and tropical forages. In *Handbook of Plant and Crop Physiology* (pp. 583–613). New York, NY, Marcel Dekker, US: M. Pessaraki (Ed.). <http://doi.org/10.1201/9780203908426.ch29>
- Rao, I. M., Polania, J., Rivera, M., & Ricaurte, J. (2008). Phenotyping protocol for evaluation of beans under drought stress. Palmira: Centro Internacional de Agricultura Tropical.

- Rosales-Serna, R., Kohashi-Shibata, J., Acosta-Gallegos, J. A., Trejo-López, C., Ortiz-Cereceres, J., & Kelly, J. D. (2004). Biomass distribution, maturity acceleration and yield in drought-stressed common bean cultivars. *Field Crops Research*, *85*(2-3), 203–211. [http://doi.org/10.1016/S0378-4290\(03\)00161-8](http://doi.org/10.1016/S0378-4290(03)00161-8)
- Rosales-Serna, R., Ramírez-Vallejo, P., Acosta-Gallegos, J. A., Castillo-González, F., & Kelly, J. D. (2000). Grain yield and drought tolerance of common bean under field conditions. *Agrociencia*, *34*(2), 153–165. Retrieved from <http://www.cabdirect.org/abstracts/20001611442.html>
- Rousset, S., Alves-Guerra, M.-C., Mozo, J., Miroux, B., Cassard-Doulier, A.-M., Bouillaud, F., & Ricquier, D. (2004). The Biology of Mitochondrial Uncoupling Proteins. *Diabetes*, *53*(Supplement 1), S130–S135. <http://doi.org/10.2337/diabetes.53.2007.S130>
- Safari, A. (1974). New genes for seed coat color in American and Iranian blotch bean varieties. *Journal of Heredity*, *65*(5), 316–319.
- Schlame, M., Rua, D., & Greenberg, M. L. (2000). The biosynthesis and functional role of cardiolipin. *Progress in Lipid Research*, *39*(3), 257–288. [http://doi.org/10.1016/S0163-7827\(00\)00005-9](http://doi.org/10.1016/S0163-7827(00)00005-9)
- Schmutz, J., McClean, P. E., Mamidi, S., Wu, G. A., Cannon, S. B., Grimwood, J., ... Jackson, S. A. (2014). A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. *Nature Genetics*, *46*(7), 707–13. <http://doi.org/10.1038/ng.3008>
- Schneider, K. A., Brothers, M. E., & Kelly, J. D. (1997). Marker-Assisted Selection to Improve Drought Resistance in Common Bean. *Crop Science*, *37*(1), 51. <http://doi.org/10.2135/cropsci1997.0011183X003700010008x>
- Segarra, S., Mir, R., Martínez, C., & León, J. (2010). Genome-wide analyses of the transcriptomes of salicylic acid-deficient versus wild-type plants uncover Pathogen and Circadian Controlled 1 (PCC1) as a regulator of flowering time in Arabidopsis. *Plant, Cell & Environment*, *33*(1), 11–22. <http://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.02045.x>
- Sharma, M., Pandey, A., & Pandey, G. K. (2014). B-Catenin in Plants and Animals: Common Players But Different Pathways. *Frontiers in Plant Science*, *5*(April), 143. <http://doi.org/10.3389/fpls.2014.00143>

- Sharma, M., Singh, A., Shankar, A., Pandey, A., Baranwal, V., Kapoor, S., ... Pandey, G. K. (2014). Comprehensive expression analysis of rice Armadillo gene family during abiotic stress and development. *DNA Research: An International Journal for Rapid Publication of Reports on Genes and Genomes*, 21(3), 267–83. <http://doi.org/10.1093/dnares/dst056>
- Sonah, H., Bastien, M., Iquira, E., Tardivel, A., Légaré, G., Boyle, B., ... Belzile, F. (2013). An improved genotyping by sequencing (GBS) approach offering increased versatility and efficiency of SNP discovery and genotyping. *PLoS One*, 8(1), e54603. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0054603>
- Sponchiado, B. N. (1985). *Avaliacao do sistema radicular do feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.) como um mecanismo de tolerancia ao deficit hidrico*. Pelotas, Universidade Federal de Pelotas. Universidade Federal de Pelotas.
- Terán, H., & Singh, S. P. (2002). Comparison of Sources and Lines Selected for Drought Resistance in Common Bean. *Crop Science*, 42(1), 64–70. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11756255>
- Thomson, M. J. (2014). High-Throughput SNP Genotyping to Accelerate Crop Improvement. *Plant Breeding and Biotechnology*, 2(3), 195–212. <http://doi.org/10.9787/PBB.2014.2.3.195>
- Uddling, J., Gelang-Alfredsson, J., Piikki, K., & Pleijel, H. (2007). Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. *Photosynthesis Research*, 91(1), 37–46. <http://doi.org/10.1007/s11120-006-9077-5>
- Valderrama, Y., Ñustez, C. E., & Duarte, A. (1997). Evaluación de 26 genotipos de frijol caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en la zona de vega del río Arauca. *Agronomía Colombiana*, 14(2), 127–137. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/24330/1/21479-73370-1-PB.pdf>
- Vallejo, F. A., & Salazar, E. I. (2002). *Mejoramiento Genético de Plantas* (Universida). Palmira.
- Voysest, O. (2000). *Mejoramiento genético del frijol (Phaseolus vulgaris L.): legado de variedades de América Latina 1930-1999*. CIAT. Retrieved from [http://books.google.com.co/books/about/Mejoramiento\\_gen%C3%A9tico\\_del\\_frijol\\_Phaseolus\\_vulgaris\\_L.\\_legado\\_de\\_variedades\\_de\\_Am%C3%A9rica\\_Latina\\_1930-1999.html?id=VzxXI2TL9YcC&pgis=1](http://books.google.com.co/books/about/Mejoramiento_gen%C3%A9tico_del_frijol_Phaseolus_vulgaris_L._legado_de_variedades_de_Am%C3%A9rica_Latina_1930-1999.html?id=VzxXI2TL9YcC&pgis=1)
- Walker, J. M. (2012). *Methods in molecular biology*. (S. A. Rifkin, Ed.). New York: Springer New York Heidelberg Dordrecht London. <http://doi.org/10.1007/978-1-61779-785-9>

- Wang, H., Ngwenyama, N., Liu, Y., Walker, J. C., & Zhang, S. (2007). Stomatal development and patterning are regulated by environmentally responsive mitogen-activated protein kinases in Arabidopsis. *The Plant Cell*, *19*(1), 63–73. <http://doi.org/10.1105/tpc.106.048298>
- White, J. W., Singh, S. P., Schoonhoven, A. van, & Voysest, O. (1991). Breeding for adaptation to drought., 501–560. Retrieved from <http://www.cabdirect.org/abstracts/19911622518.html;jsessionid=0C78A476624FCA7E1669E5889D6375BA>
- Wu, Y., Fan, H., Wang, Y., Zhang, L., Gao, X., Chen, Y., ... Gao, H. (2014). Genome-wide association studies using haplotypes and individual SNPs in Simmental cattle. *PLoS One*, *9*(10), e109330. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0109330>
- Yoshida, R. (2002). ABA-Activated SnRK2 Protein Kinase is Required for Dehydration Stress Signaling in Arabidopsis. *Plant and Cell Physiology*, *43*(12), 1473–1483. <http://doi.org/10.1093/pcp/pcf188>
- Yu, J., Pressoir, G., Briggs, W. H., Vroh Bi, I., Yamasaki, M., Doebley, J. F., ... Buckler, E. S. (2006). A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. *Nature Genetics*, *38*(2), 203–8. <http://doi.org/10.1038/ng1702>
- Zhang, Z., Ersoz, E., Lai, C.-Q., Todhunter, R. J., Tiwari, H. K., Gore, M. A., ... Buckler, E. S. (2010). Mixed linear model approach adapted for genome-wide association studies. *Nature Genetics*, *42*(4), 355–60. <http://doi.org/10.1038/ng.546>
- Zhou, L., Wang, S.-B., Jian, J., Geng, Q.-C., Wen, J., Song, Q., ... Zhang, Y.-M. (2015). Identification of domestication-related loci associated with flowering time and seed size in soybean with the RAD-seq genotyping method. *Scientific Reports*, *5*, 9350. <http://doi.org/10.1038/srep09350>