

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.

JOSÉ A. POLANÍA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
SEDE PALMIRA
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.

JOSÉ A. POLANÍA

Trabajo de grado para optar al título de Magister en Ciencias Agrarias, Área de
Fitomejoramiento

DIRECTORES

IDUPULAPATI M. RAO, Ph.D.

SARA MEJIA DE TAFUR, M.Sc.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
SEDE PALMIRA

2011



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE PALMIRA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ACTA DE JURADO DE TESIS

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRARIAS
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN FITOMEJORAMIENTO

En Palmira a los 08 días del mes de Noviembre de 2011, se reunió en esta Sede el Jurado Calificador de Tesis, integrado por los doctores Jaime Eduardo Muñoz Flórez y Edgar Iván Estrada Salazar,

Para calificar la Tesis de Grado de:

JOSE ARNULFO POLANIA PERDOMO

Titulada:

"IDENTIFICACIÓN DE CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS ASOCIADAS A LA ADAPTACIÓN A SEQUÍA PARA SER USADAS COMO CRITERIOS DE SELECCIÓN EN MEJORAMIENTO DE FRIJOL COMUN *Phaseolus vulgaris L.*" bajo la dirección de Irupulapai M. Rao Ph.D. y María Sara Mejía de Tafur, M.Sc.

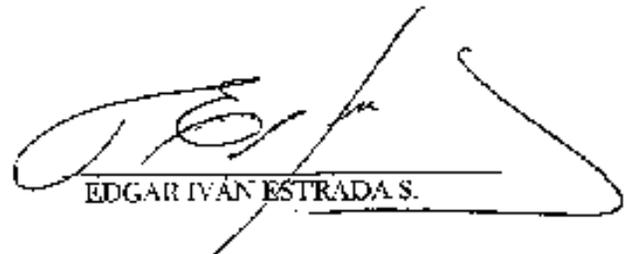
Después de oír el informe del jurado evaluador compuesto por los doctores Jaime Eduardo Muñoz Flórez y Edgar Iván Estrada Salazar, y de haber cumplido con el proceso de evaluación, la tesis fue calificada como:

APROBADA

REPROBADA



JAIMÉ EDUARDO MUÑOZ F.



EDGAR IVÁN ESTRADA S.

AGRADECIMIENTOS

I. M. Rao, por su dirección en este trabajo, por compartir su conocimiento y ser el Maestro del cual he aprendido mucho

Sara Mejía de Tafur, por su dirección, dedicación, enseñanzas y paciencia durante mi formación académica y ejecución del trabajo de grado

Steve Beebe por acogerme profesionalmente en el programa de frijol, por compartir su conocimiento y paciencia

Al Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) por acogerme durante estos años, el Fondo de Capacitación del CIAT y CRECIAT por todo su apoyo.

Al Generation Challenge Programme y la fundación Bill and Melinda Gates, en el proyecto Tropical Legumes I (TLI): Improving tropical legume productivity for marginal environments in sub-Saharan Africa and South Asia por la financiación del proyecto

A mis colegas Cesar Cajiao, Juan Cardoso, Miguel Grajales, Gonzalo Borrero, Mariela Rivera y María del Pilar Hurtado por su apoyo y asistencia profesional.

A mi familia, en especial a Nacho, por su apoyo, alegría, paciencia, compañía y ánimo.

La facultad y los jurados de tesis
no se hacen responsables de las ideas
emitidas por el autor
Articulo 24, Resolución 04, de 1974.

TABLA DE CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN.....	13
1. JUSTIFICACIÓN.....	17
2. OBJETIVOS.....	18
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3. MARCO TEÓRICO.....	19
3.1 FRIJOL COMÚN.....	19
3.2 CARACTERÍSTICAS PARA EVALUAR LAS RESPUESTAS DE LA PLANTA A ESTRÉS ABIÓTICO.....	22
3.2.1 CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS CON SISTEMA RADICAL.....	22
3.2.2 PROFUNDIZACIÓN DE RAÍZ.....	23
3.2.3 RAÍCES FINAS.....	24
3.2.4 USO EFICIENTE DE AGUA, EFICIENCIA DE TRANSPIRACIÓN Y USO EFECTIVO DE AGUA.....	24
3.2.5 TEMPERATURA DEL FOLLAJE Y DEPRESIÓN DE TEMPERATURA DEL FOLLAJE.....	25
3.2.6 DISCRIMINACIÓN ISÓTOPO DE CARBONO.....	26
3.2.7 CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA.....	27
3.2.8 LECTURA DE VALOR DE CLOROFILA SPAD.....	28
3.2.9 MOVILIZACIÓN DE FOTOASIMILADOS.....	28
4. METODOLOGÍA.....	30
4.1 LOCALIZACIÓN.....	30
4.2 POBLACIÓN.....	30
4.3 ENSAYOS.....	31

4.3.1 EVALUACIÓN DE RAÍCES - ENSAYO EN INVERNADERO	31
4.3.1.1 Profundización visual de la raíz	32
4.3.1.2 Biomasa aérea de la planta y área foliar	33
4.3.1.3 Longitud total de raíz y distribución de raíces a través del perfil del suelo.....	33
4.3.1.4 Diámetro promedio de raíz y proporción de raíces finas	33
4.3.1.5 Longitud específica de raíz	34
4.3.2 EVALUACIÓN DE TRANSPIRACIÓN, VIGOR, MOVILIZACIÓN Y RENDIMIENTO - ENSAYOS EN CAMPO	34
4.3.2.1 Contenido de clorofila en la hoja (SPAD)	36
4.3.2.2 Temperatura del follaje	36
4.3.2.3 Conductancia estomática	37
4.3.2.4 Biomasa del cultivo	37
4.3.2.5 Índice de área foliar	37
4.3.2.6 Contenido de P y carbohidratos totales no estructurales (CTN).....	37
4.3.2.7 Discriminación isótopo de carbono	38
4.3.2.8 Biomasa de tallo y vaina en cosecha.....	39
4.3.2.9 Índice de partición a vaina (IPV).....	39
4.3.2.10 Índice de cosecha de vaina (ICV).....	39
4.3.2.11 Índice de cosecha (IC).....	39
4.3.2.12 Reducción de biomasa de tallo (RBT).....	40
4.3.2.13 Producción de grano.....	40
4.4 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE DATOS	40
4.4.1 CARACTERÍSTICAS DE RAÍCES EN INVERNADERO	41
4.4.2 CARACTERÍSTICAS DE VIGOR, TRANSPIRACIÓN Y MOVILIZACIÓN EN CAMPO 41	
4.4.3 HEREDABILIDAD EN SENTIDO AMPLIO	42
4.5 PROTOCOLO DE EVACUACIÓN DE FRIJOL BAJO ESTRÉS POR SEQUÍA.....	43
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
5.1 ENSAYO EN INVERNADERO.....	44
5.2 ENSAYO DE CAMPO.....	51
5.3 ESTIMACIÓN DE LA HEREDABILIDAD	66

6. CONCLUSIONES	72
BIBLIOGRAFÍA.....	74
ANEXOS	84

LISTA DE TABLAS

pág.

Tabla 1 Origen, habito de crecimiento y color de las 21 líneas de frijol evaluadas	30
Tabla 2 Coeficientes de correlación entre peso parte aérea (hoja, tallo y vaina) y área foliar con otras características morfológicas de raíz bajo condiciones de riego y sequía en 21 genotipos de frijol en Invernadero 2010	46
Tabla 3 Coeficientes de correlación entre rendimiento de grano y biomasa del cultivo con otras características morfo-fisiológicas en 21 genotipos de frijol en Palmira 2009.	53
Tabla 4 Índice de área foliar, lectura de clorofila SPAD y conductancia estomática de 21 líneas bajo condiciones de riego y sequía en Palmira 2009	56
Tabla 5 Días a floración, días a madurez fisiológica y peso de 100 semillas de 21 líneas de frijol bajo condiciones de riego y sequía en Palmira 2009	66
Tabla 6 Cuadrados medios y heredabilidad en sentido amplio de 5 características de raíces bajo estrés por sequía.....	67
Tabla 7 Cuadrados medios y heredabilidad en sentido amplio de 4 características de foliares bajo estrés por sequía.....	68

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1 Etapas de desarrollo del frijol. Tomado de: IICA, 2009.....	20
Figura 2 Distribución de la precipitación y evaporación en la estación Palmira del CIAT (promedios de los últimos 20 años).....	35
Figura 3 Temperatura máxima, temperatura mínima y humedad en el suelo (capacidad de campo) durante crecimiento y desarrollo de 21 líneas de frijol en invernadero 2010.....	44
Figura 4 Relación entre longitud total de raíz y biomasa aérea bajo sequía de 21 líneas de frijol en invernadero 2010.....	47
Figura 5 Relación entre profundización visual de raíz a los 35 días después de siembra y biomasa aérea bajo sequía de 21 líneas de frijol en invernadero 2010.....	49
Figura 6 Relación entre longitud de raíz en la profundidad 60-75 cm y biomasa aérea bajo sequía de 21 líneas de frijol en invernadero 2010.....	50
Figura 7 Relación entre proporción de raíces finas y biomasa aérea bajo sequía de 21 líneas de frijol en invernadero 2010.....	51
Figura 8 Temperatura máxima y mínima, evaporación y precipitación durante crecimiento y desarrollo de 21 líneas de frijol en Palmira 2009.....	52
Figura 9 Relación entre rendimiento de grano bajo riego y sequía de 21 líneas de frijol en Palmira 2009.....	57
Figura 10 Relación entre biomasa del cultivo y rendimiento de grano bajo sequía de 21 líneas de frijol en Palmira 2009.....	58
Figura 11 Relación entre índice de partición a vaina y rendimiento de grano bajo sequía de 21 líneas de frijol en Palmira 2009.....	60
Figura 12 Relación entre índice de cosecha de vaina y rendimiento de grano bajo sequía de 21 líneas de frijol en Palmira 2009.....	61
Figura 13 Relación entre discriminación de isótopo de carbono 13 y rendimiento de grano bajo sequía de 21 líneas de frijol en Palmira 2009.....	63
Figura 14 Relación entre días a floración y rendimiento de grano bajo sequía de 21 líneas de frijol en Palmira 2009.....	65

LISTA DE ANEXOS

pág.

Anexo A Protocolo para evaluación fenotípica de frijol bajo estrés por sequía - CIAT.....84

Anexo B Análisis de Varianza de las características morfo-fisiológicas pre seleccionada para cálculos de heredabilidad.....102

RESUMEN

Para contribuir a la seguridad alimentaria de zonas productoras de frijol bajo estrés por sequía, es pertinente encontrar estrategias que permitan minimizar esta limitante, como el desarrollo de variedades adaptadas. Para aumentar la eficiencia y precisión en el programa de mejoramiento de frijol, es importante establecer buenos criterios de selección, con este objetivo se evaluaron diferentes características morfo-fisiológicas relacionadas con adaptación a sequía para identificar si algunas de ellas son útiles para ser incorporadas como criterios de selección en el programa de mejoramiento. Se evaluaron 21 líneas avanzadas de frijol por sus características morfo-fisiológicas bajo condiciones de sequía e irrigación; usando un sistema de tubos plásticos desarrollado por el CIAT, se evaluaron un grupo de 11 características morfo-fisiológicas de raíces en condiciones de invernadero tales como enraizamiento visual de raíz, producción de raíz en términos de longitud total y biomasa total, diámetro promedio de raíz, proporción de raíces finas y distribución de raíz a través del perfil del suelo. En condiciones de campo se evaluaron 17 características relacionadas con vigor de la planta, transpiración, contenido de clorofila, movilización de fotoasimilados y producción de grano. Resultados de la evaluación en invernadero, se encontró que seis de las características evaluadas mostraron correlación con biomasa aérea de la planta bajo estrés por sequía, entre ellas profundización visual de raíz y proporción de raíces finas. Bajo condiciones de campo nueve de las características evaluadas mostraron correlación con producción de grano bajo estrés por sequía, destacándose discriminación de isótopo de carbono, índice de cosecha de vaina e índice de partición a vaina. Se recomendó un grupo de características morfo fisiológicas para ser incorporadas como criterios de selección basados en su correlación con producción de grano combinado con una alta heredabilidad.

Palabras claves: profundización de raíz, discriminación de isótopo de carbono, clorofila SPAD, movilización de fotoasimilados, índice de cosecha de vaina, días a floración

ABSTRACT

Development of drought adapted common bean cultivars is an important strategy to improve food security and to minimize crop failure in the face of climate change. Identification of key plant traits and mechanisms that contribute to improved drought adaptation in common bean can increase the efficiency of breeding programs through selection of superior genotypes. We evaluated different morpho-physiological traits that are related to drought adaptation, to identify whether some of them are useful as selection criteria for inclusion in the breeding program. Twenty one bean genotypes were evaluated for their differences in morpho-physiological traits under both rainfed (drought) and irrigated conditions, using a soil cylinder system developed at CIAT. We evaluated a group of 11 morpho-physiological root traits under greenhouse conditions, such as visual rooting depth, root production in terms of total length and total biomass, mean root diameter, fine root proportion and root distribution through the soil profile. Under field conditions, we evaluated 17 morpho-physiological traits related to plant vigor, transpiration, chlorophyll content, photosynthate mobilization and grain production. Under greenhouse conditions, we found that visual rooting depth and fine root proportion correlated positively with shoot biomass when water supply was limiting. Under field conditions, grain yield under drought stress was positively associated with carbon isotope discrimination in grain, harvest index, pod partitioning index and pod harvest index. We recommend a group of morpho-physiological traits (pod harvest index, carbon isotope discrimination, and visual rooting depth) to be incorporated as selection criteria in bean breeding programs, based on their high heritability and correlation with grain yield.

Key words: visual rooting depth, carbon isotope discrimination, chlorophyll SPAD, photosynthate mobilization, harvest index, days to flowering.

INTRODUCCIÓN

El cambio climático amenaza con aumentar progresivamente el número de personas con hambre en las próximas décadas, debido a los nuevos inconvenientes causados en la agricultura y la alimentación por este fenómeno. La temperatura alrededor del mundo podría incrementarse hasta 6°C en el 2050, desencadenando una serie de amenazas en la agricultura y alimentación. Entre éstas amenazas se encuentran sequías e inundaciones cada vez más severas y frecuentes, aumento en la población de insectos y aparición de enfermedades (GIPB, 2009). Algunos de los impactos más fuertes del cambio climático se sentirán en los “pequeños agricultores” o de “agricultura de subsistencia” de países en desarrollo (Morton 2007). La producción de los cultivos bajo el efecto del cambio climático -principalmente sequía- presentará reducción en su rendimiento, incremento en el costo de producción y consecuentemente hambre y desplazamiento.

El frijol común *Phaseolus vulgaris* L. es la leguminosa alimenticia más importante en el trópico de América Latina y África oriental y meridional; es cultivado por pequeños agricultores en América Latina y África oriental y occidental, donde es a menudo expuesto a condiciones no favorables y mínimo uso de insumos (Beebe *et al.*, 2008); es una fuente poco costosa de proteína y calorías para pequeños agricultores de países con pobreza endémica (Rao, 2001), sus rendimientos se ven afectados por varias causas, entre las cuales, la sequía genera pérdidas entre 10 y 100%. Cerca del 60% de las regiones productoras de frijol presentan periodos prolongados de sequía, el segundo factor más importante de reducción en rendimiento después de las enfermedades (Thung y Rao, 1999; Rao, 2001).

El desarrollo de cultivares adaptados a estas amenazas son esenciales para contribuir a la seguridad alimentaria de una población creciente que requiere

incrementos significativos en la producción de alimentos (Polanía *et al.*, 2009). El mejoramiento convencional y la selección asistida con marcadores ofrecen una oportunidad para incrementar significativamente la generación de nuevos genotipos adaptados a sequía; sin embargo, el uso de marcadores para mejorar características complejas es aún uno de los retos para los mejoradores de cultivos (Sorrells, 2007). Una constante que nunca cambiará es que el progreso en los programas de mejoramiento depende de la selección precisa de los genotipos poco frecuentes que poseen atributos nuevos o mejorados (Sorrells, 2007); esto significa que una precisa caracterización fenotípica seguirá siendo uno de los pilares del mejoramiento.

El mejoramiento genético para tolerancia a sequía en frijol, tiene una gran historial en países como México, Honduras, Brasil y en Colombia (CIAT); y avances significativos con evaluaciones de líneas avanzadas en países como Cuba, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Nicaragua, y Kenia, Sudan, Etiopía y otros países en el oriente de África. Gran parte de la investigación se ha concentrado en la evaluación de germoplasma, por ejemplo White *et al* 1994 realizaron estudios genéticos en materiales parentales procedentes de México y CIAT, encontrando que la habilidad combinatoria estaba determinada por la adaptación local; es decir que líneas Mexicanas son buenos padres en México, y líneas de Colombia son buenos padres en Colombia, indicando que los genes que son específicos para sequía requieren un antecedente genético adaptado para su expresión.

Se han reportado resultados en el mejoramiento genético por tolerancia a sequía en frijol, liberándose materiales como SEA 5, Pinto Villa y Pinto Saltillo, y algunas líneas promisorias como SEQ 12, SER 16, Negro Cotaxtha 91 y Negro Veracruz (Beebe *et al*, 2010). Igualmente se han reportando recientes avances en mejoramiento por sequía en líneas meso americanas tipo comercial (grano rojo y negro pequeño, crema y tipo carioca), basado en mejor rendimiento bajo sequía, estas líneas seleccionadas también presentan un periodo más corto a madurez

fisiológica, mejor rendimiento o ganancia en grano por día, y en algunos casos, mejor potencial de rendimiento bajo condiciones favorables de humedad en el suelo (Beebe et al, 2008 y 2010).

Los trabajos de investigación realizados durante las últimas décadas han brindando un amplio conocimiento sobre la genética de los cultivos importantes, pero poco se ha detallado sobre cómo una característica hace a un genotipo mejor adaptado a estrés por sequía y mucho menos acerca de cómo esa característica se compara a través de cultivos. Para que una característica sea útil en un programa de mejoramiento debe cumplir una serie de requisitos: estar genéticamente correlacionado con rendimiento de grano y con heredabilidad, que el rendimiento en sí mismo (menor interacción genotipo x ambiente), tener suficiente variabilidad genética y no estar asociado con bajos rendimientos en condiciones de no estrés; estos son requisitos que deberían estar incluidos en las metodologías para determinar las características. Por lo tanto debería ser posible medir la característica con rapidez, de manera más económica que el mismo rendimiento y de una manera confiable, y preferiblemente con evaluaciones no destructivas (Banziger *et al.*, 2006). Algunos programas de mejoramiento para adaptación a sequía han incluido algunas características fisiológicas como herramientas de selección, entre los que están: eficiencia de transpiración, depresión de la temperatura del follaje, expansión de la hoja, enraizamiento profundo y absorción de agua, movilización de fotoasimilados y llenado de grano.

Basados en la importancia de las características fisiológicas en la adaptación a sequía en los cultivos y por consiguiente para el mejoramiento genético, se evaluará un grupo de características relacionadas con raíces y parte aérea de la planta y se identificarán las más significativas y de mayor importancia para ser incorporadas como criterios de selección en el programa de mejoramiento de frijol común.

1. JUSTIFICACIÓN

El frijol común *Phaseolus vulgaris* L. es una leguminosa de consumo directo de gran importancia en la seguridad alimentaria, con una producción mundial de 19'723.330 toneladas (FAOSTAT 2010, <http://faostat.fao.org>); nutricionalmente es rica en hierro y proteína, además es fuente de fibra y carbohidratos, esencial en la nutrición de la población especialmente en países en desarrollo. La producción de esta leguminosa se localiza en fincas de pequeños agricultores de escasos recursos en Latinoamérica, Asia y África bajo ambientes marginales afectados por sequías que provocan grandes pérdidas en la producción. Se estima que debido al cambio climático se presentarán en las siguientes décadas sequías más frecuentes y fuertes que a su vez generarán grandes pérdidas en la producción de frijol, poniendo en riesgo la seguridad alimentaria de pobladores de estas regiones.

El desarrollo de variedades de frijol adaptadas a condiciones de estrés por sequía por medio de mejoramiento genético es una estrategia muy útil para afrontar los nuevos retos y garantizar la seguridad alimentaria en zonas marginales. Por lo tanto, el implementar herramientas que permitan acelerar y hacer más eficientes los programas mejoramiento, tales como los marcadores moleculares y la ampliación de los criterios de selección mediante la identificación de características morfo-fisiológicas de la planta altamente relacionadas con rendimiento.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

- Identificar características morfo-fisiológicas asociadas con la adaptación a sequía en frijol común útiles como criterios de selección en mejoramiento para tolerancia a sequía

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Seleccionar indicadores morfo-fisiológicos relacionados con adaptación a sequía del cultivo de frijol
- Validar características morfo-fisiológicas críticas en adaptación a sequía para ser incorporados como criterios de selección en programas de mejoramiento de frijol común
- Desarrollar un protocolo fenotípico estándar de evaluación de características morfo-fisiológicas relacionados con adaptación a sequía en frijol común

3. MARCO TEÓRICO

3.1 FRIJOL COMÚN

El frijol común *Phaseolus vulgaris* L. es una leguminosa de la familia *Fabaceae*, originario y domesticado en América. Posee dos grandes acervos el Mesoamericano y el Andino, basados en sus centros de origen Centro y Sur América respectivamente (Gepts and Debouck 1991). Estos acervos presentan diferencias en la proteína faseolina, en características morfológicas y moleculares (Blair *et al.* 2006). Existen seis razas en frijol común distribuidas en los dos acervos, en el acervo andino están las razas Nueva Granada, Chile y Perú, y el acervo mesoamericano las razas Durango, Jalisco y Mesoamérica (Gepts *et al.* 1991).

Actualmente, se cultiva ampliamente en todos los continentes, se puede encontrar desde los 52° latitud norte a los 32° latitud sur, y desde el nivel del mar hasta más de 3000 m.s.n.m. (Graham 1997). El ciclo vegetativo a frijol seco está entre 90 a 100 días en los cuales el cultivo requiere entre 350 a 500 mm de agua dependiendo de la profundidad del suelo, clima y el cultivar (Beebe *et al.* 2010). La falta de agua durante las etapas de pre floración, formación y llenado de vainas afecta seriamente el rendimiento (Muñoz *et al.* 2007). El cultivo del frijol se distribuye en 10 etapas de desarrollo, de las cuales cinco son para desarrollo vegetativo y cinco para desarrollo reproductivo (Figura 1), para desarrollo vegetativo están: Germinación (Vo), Emergencia (V1), Hojas primarias (V2), Primera hoja trifoliada (V3) y Tercera hoja trifoliada (V4); y en desarrollo reproductivo: Prefloración (R5), Floración (R6), Formación de vainas (R7), Llenado de vainas (R8) y Maduración (R9). (IICA-RED SICTA-COSUDE 2009)

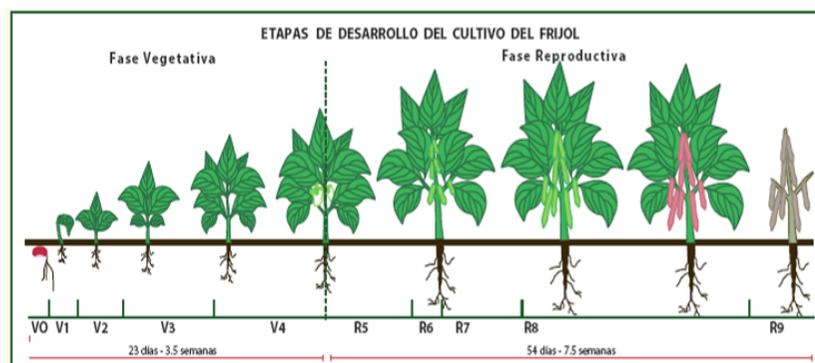


Figura 1 Etapas de desarrollo del frijol. Tomado de: IICA, 2009

En el 2009 la producción mundial de frijol común seco alcanzó 19'723.330 toneladas, siendo los mayores productores Brasil (3'522.979 t), India, (2'310.000 t) China (1'543.151 t), Estados Unidos (1'150.310 t) y México (1'051.400 t). Colombia ocupa el puesto 17 en el mundo como productor de frijol con 133576 t (FAOSTAT, 2009). El frijol es un cultivo de pequeños agricultores en América Latina y África oriental y occidental, donde a menudo crece en condiciones no favorables y con mínimos insumos (Beebe *et al.*, 2008); es una fuente poco costosa de proteína y calorías para pequeños agricultores de países con pobreza endémica en especial para mujeres y niños (Rao, 2001). El rendimiento de grano se ve afectado por varias causas tanto bióticas como abióticas, entre las cuales la sequía puede generar pérdidas entre 10 y 100%. Cerca de 60% de las regiones productoras de frijol sufre condiciones de sequía, que es el segundo factor más importante de reducción en rendimiento después de las enfermedades (Thung y Rao, 1999; Rao, 2001).

La investigación y desarrollo de variedades de frijol adaptadas a condiciones de sequía, mediante mejoramiento genético, es una estrategia acertada para la seguridad alimentaria de los pequeños agricultores de América Latina, África y Asia. El mejoramiento por tolerancia a sequía puede incrementar a mediano plazo la productividad en zonas propensas a sequía (Girdthai *et al.* 2010). Los programas de mejoramiento genético para tolerancia a estrés por sequía,

generalmente seleccionan los mejores genotipos bajo condiciones de estrés hídrico, basados únicamente en el rendimiento de grano como es en el caso de frijol, siendo este la característica más importante en los criterios de selección. Mientras la fisiología de cultivos se concentra en como un cultivar o un genotipo difieren y como unos pueden ser superiores que otros bajo una condición ambiental o de estrés particular (Rao, 2001; Evans, 1984), por lo tanto el conocimiento de las bases fisiológicas de la tolerancia a sequía podría contribuir a los procesos de selección por tolerancia a sequía proponiendo nuevos indicadores fisiológicos - para aumentar la eficiencia en la selección de genotipos superiores tolerantes a sequía (Girdthai *et al.* 2010).

La combinación de varias características fisiológicas y morfológicas originaría a un genotipo adaptado a condiciones de sequía. Existen algunos procesos claves que pueden ser explotados para mejoramiento por estrés hídrico; (i) mayor movimiento del agua disponible en la zona de cultivo, actividad realizada por las raíces, (ii) adquisición de mas carbono (biomasa) a cambio del agua transpirada por el cultivo, ej. Eficiencia de transpiración, (iii) mayor movilización de la biomasa acumulada al producto cultivado (Condon *et al.* 2004). El genotipo ideal de frijol común adaptado a sequía mediante mejoramiento seria aquel con un sistema radical vigoroso que le permita mayor adquisición de agua y nutrientes, y estos contribuyan a un mayor desarrollo foliar de la planta, que combinado con una mayor movilización de estas reservas a la formación de vaina y grano terminaría en mayor rendimiento (Rao *et al.* 2010). Se han reportado diversas características utilizadas por diferentes programas de mejoramiento para caracterizar la respuesta de la planta bajo condiciones de estrés abiótico.

Se ha realizado significativos esfuerzos de investigación, en especial en las últimas tres décadas, para mejorar la adaptación de frijol común a sequia, estos esfuerzos incluyen: estudios de los efectos de la sequia en el desarrollo de la planta, desarrollo de métodos de evaluación en campo, evaluación e identificación

de germoplasma tolerante y evaluación de características fisiológicas relacionadas a la adaptación a sequía (Beebe *et al.* 2010). Igualmente, este tipo de investigaciones se han realizado en otras especies de *Phaseolus*, como el frijol tépari *Phaseolus acutifolius*, la cual es la cuarta leguminosa domesticada, nativa del suroeste de USA y noroeste de México (Beebe *et al.* 2010). Presenta resistencia a enfermedades como *Xanthomonas* y plagas que no se encuentran en frijol común, alta tolerancia a sequía, temperatura y salinidad (Muñoz *et al.* 2004). Estudios han demostrado, que la alta resistencia del frijol tépari a la sequía, es debido a que, presenta una alta producción raíces finas, con una mayor conductividad hidráulica, que le permite un ajuste de potencial hídrico, y una mayor eficiencia en el uso del agua, de esta manera retrasando la deshidratación (Beebe *et al.* 2010). Con la tolerancia a sequía presente en frijol tépari, se han realizado híbridos interespecíficos entre *P. vulgaris* y *P. acutifolius*, los cuales, tienen diferentes grados de introgresión de la tolerancia a sequía, pero esta tolerancia no es al nivel de *P. acutifolius* y no es superior a la disponible en *P. vulgaris*. Por lo tanto, una alternativa puede ser la clonación de genes de tolerancia de *P. acutifolius* para ser usados en frijol común (Beebe *et al.* 2010).

3.2 CARACTERÍSTICAS PARA EVALUAR LAS RESPUESTAS DE LA PLANTA A ESTRÉS ABIÓTICO

3.2.1 CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS CON SISTEMA RADICAL

Las raíces son importantes por varias funciones fisiológicas como son: a) nutrición vegetal, cuya función tiene una relación directa con la cantidad y calidad de biomasa a cosechar (follaje, frutas, flores, granos, etc.); b) como órgano de reserva; c) como órgano de sostén; d) como órgano involucrado en la regulación fisiológica de la planta (Morales, 1997). El frijol al igual que la mayoría de las dicotiledóneas herbáceas tiene una raíz principal con una corona de raíces basales desde las cuales emergen las raíces laterales (Lynch 1995). La

caracterización de las raíces requiere diversos estudios tanto de arquitectura, morfológicos, topológicos y de distribución. Los morfológicos hacen referencia a la superficie de la raíz como órgano, incluyendo características de la epidermis como pelos radicales, diámetro de la raíz, punta de la raíz, patrón de crecimiento de las raíces hijas; topología se refiere a como las raíces están conectadas entre sí a través de la ramificación y distribución se refiere a la presencia de raíces siguiendo un gradiente, generalmente los estudios de distribución están concentrados en biomasa o longitud de raíces en función de profundidad del suelo (Lynch, 1995).

3.2.2 PROFUNDIZACIÓN DE RAÍZ

Un sistema radical vigoroso es importante para mantener la absorción de agua en suelos secos como característica de adaptación (Turner, 1979; Huang y Gao, 2000). Las raíces profundas y extensas en los perfiles bajos del suelo son fundamentales para el buen comportamiento de los cultivos en limitaciones de suministro de agua siempre y cuando exista agua disponible en perfiles profundos del suelo (Sponchiado *et al.*, 1989; Blum, 2002). Los sistemas radicales superficiales son más efectivos en la absorción de nutrientes en los primeros 20 cm del suelo donde los nutrientes están concentrados, y los sistemas de raíces profundas favorecen la adquisición de agua y la resistencia a sequía (Ho *et al.* 2005). En el caso particular de frijol, diferentes trabajos de investigaciones han concluido que sistema de raíces profundas es una estrategia para tolerancia a sequía (Polania *et al.* 2009; Beebe *et al.* 2008; White *et al.* 1994, Sponchiado *et al.* 1989). Existen diferentes métodos para evaluar raíces, como excavaciones directas en campo, submuestreos en campo, rizotrones, potes, sistemas hidropónicos y columnas con suelo; algunos de estos métodos como los directos en campo suelen ser muy costosos y con alta demanda de mano de obra. Tales metodologías cuantifican el vigor y la profundización del sistema radical en términos de biomasa y longitud y la distribución de estas a través del perfil del suelo. El CIAT desarrollo un sistema de cuantificación, que usa cilindros de

acetato transparente llenos de suelo, el cual permite la determinación de la profundización de la raíz tomada desde la superficie del suelo en diferentes etapas del desarrollo de la planta e igualmente la cuantificación de la producción de raíces en términos de biomasa y longitud total (Polania *et al.* 2009).

3.2.3 RAÍCES FINAS

Raíces finas en cultivos bajo condiciones de campo son definidas como las raíces de menos de 2 mm de diámetro (Liu *et al.* 2010). Las raíces finas son una característica fisiológica importante para las plantas cultivadas por que estas comprenden la mayoría de la longitud de la raíz y del área de las raíces responsables de la absorción de agua y nutrientes; igualmente la raíces finas son un importante vertedero de carbono y uno de los mayores contribuidores a las reservas de carbono en suelos orgánicos (Liu *et al.* 2010). La producción de raíces finas puede ser una estrategia para permitir la adquisición de agua y la entrada de minerales cuando el agua en el suelo es limitada; las raíces finas “son económicas de construir”, pero son esenciales para la adquisición de agua y nutrientes debido a su alta área superficial por unidad de masa (Eissenstat, 1992; Huang y Fry, 1998).

3.2.4 USO EFICIENTE DE AGUA, EFICIENCIA DE TRANSPIRACIÓN Y USO EFECTIVO DE AGUA

El uso eficiente de agua, es la relación entre producción de grano y agua utilizada, es considerado como un factor determinante de el rendimiento de grano bajo condiciones de sequía y por lo tanto un componente importante de la tolerancia de los cultivos a la sequía. Esta característica ha sido utilizada con el objetivo que la producción puede incrementar por unidad de agua, resultado en lo que se llama “más cultivo por gota” (Blum 2009). Apreciación que ha sido muy utilizada por diferentes programas de mejoramiento, tratando de lograr que sus cultivares

produzcan más con menos agua. Caso similar con eficiencia de transpiración que es definida como la relación entre la biomasa producida y agua transpirada durante determinado periodo de tiempo, dando como resultado la identificación de aquellos materiales con mayor producción de biomasa por unidad de agua usada. Generalmente las metodologías para determina eficiencia de transpiración y de uso de agua requieren de tiempo, cuidado y mucha precisión, convirtiéndose en una característica fisiológica compleja y costosa (Nigam *et al.* 2007). Blum 2009 opina que seleccionar plantas por mayor eficiencia de uso de agua bajo condiciones de sequía, muy probablemente esté conllevando, a reducir la producción de grano y por lo tanto a reducir la tolerancia a sequía; debido a que mayor eficiencia de transpiración y el uso eficiente de agua requiere que la planta que reduzca la tasa de transpiración y uso de agua del cultivo, procesos que son de crucial importancia para la asimilación de carbono, crecimiento y producción de la planta. Como la producción de biomasa está ligada a transpiración, el mejoramiento para maximizar la captura de humedad del suelo para transpiración es el objetivo más importante para mejorar rendimiento bajo estrés por sequía (Blum 2009). Uso efectivo de agua implica máxima captura de humedad del suelo para transpiración, también disminución de la transpiración no estomática y pérdidas mínimas de agua por evaporación del suelo (Blum 2009).

3.2.5 TEMPERATURA DEL FOLLAJE Y DEPRESIÓN DE TEMPERATURA DEL FOLLAJE

Uno de los papeles importantes de la transpiración es la refrigeración de las hojas, la depresión de temperatura del follaje respecto a la temperatura del ambiente es el reflejo de cuanto es capaz la transpiración enfriar las hojas bajo condiciones ambientales normales. Temperatura del follaje relativamente baja bajo condiciones de sequía podría indicar mejor capacidad de tomar agua y mantener un estado hídrico relativamente mejor (Polania *et al.* 2010). La temperatura del follaje refleja la interacción del continuo planta, suelo y atmosfera (Feng *et al.* 2009). El uso de

termómetros infrarrojos se ha popularizado mucho para realizar las determinaciones de temperatura del follaje, debido a que es un eficiente método por ser rápido, un monitoreo no destructivo del estado hídrico de la planta bajo estrés por sequía y altamente eficiente (Feng *et al.* 2009). La depresión de temperatura del follaje es bastante útil como indicador de rendimiento y tolerancia a estrés por sequía; se ha reportado en el caso de trigo *Triticum aestivum* L. que genotipos con baja temperatura del follaje tiene aspectos fisiológicos y metabólicos superiores que genotipos con alta temperatura del follaje bajo condiciones ambientales (Feng *et al.* 2009). Investigaciones realizadas en trigo han mostrado una relación directa entre rendimiento y depresión de temperatura del follaje (Balota *et al.* 2007; Feng *et al.* 2009; Fisher *et al.* 1998).

3.2.6 DISCRIMINACIÓN ISÓTOPO DE CARBONO

Los isótopos son variantes en las que se puede presentar los átomos de un elemento químico. En la naturaleza existen tres isótopos en el caso del carbono: el ^{12}C , el ^{13}C y el ^{14}C . Son tres variantes del carbono, cuyos núcleos contienen el mismo número de protones (seis), pero un número diferente de neutrones (seis, siete y ocho), por lo tanto a pesar de tener propiedades químicas semejantes, tienen una masa atómica diferente: doce, trece y catorce (Uriarte 2003). La mayoría del carbono natural es ^{12}C con un 98.9%, y una pequeña parte es ^{13}C con el 1.1% (Farquhar *et al.* 1989). Finalmente en una muy pequeña proporción esta el ^{14}C , que es radiactivo e inestable, y su aplicación ha sido paleocronológicas. Durante la fotosíntesis, las plantas realizan una discriminación prefiriendo la molécula de CO_2 con el carbono más liviano ^{12}C , por lo tanto la mayor proporción de carbono contenido en la biomasa vegetal es de este carbono (Farquhar *et al.* 1989). Una aplicación en fisiología vegetal de la discriminación de isótopo de carbono es como indicador indirecto de cierre de estomas y uso eficiente de agua, debido que durante periodos de estrés hídrico algunas plantas tienden a cerrar sus estomas para perder menos agua; por lo tanto, al haber disponible menos CO_2

entrante, las plantas discriminan menos al carbono 13 y su concentración en los azúcares aumenta (Uriarte 2003).

La discriminación de isótopo de carbono, ha sido usada para determinar respuestas genóticas y ambientales de uso eficiente de agua en varias especies de leguminosas. La selección por baja discriminación de ^{13}C ha sido propuesta como un método de selección para mejorar uso eficiente de agua en programas de mejoramiento de cultivos C3 (Khan *et al.* 2007). En haba *Vicia faba* L. se observó que estrés hídrico conllevó la reducción de discriminación ^{13}C e incrementó la eficiencia de transpiración, indicando que sequía altera el balance entre la conductancia estomática y la capacidad interna de la hoja para fotosíntesis, lo cual determina la concentración interna de CO_2 y discriminación ^{13}C (Khan *et al.* 2007). En el caso de frijol común, genotipos evaluados bajo estrés hídrico mostraron una mayor discriminación de ^{13}C , igualmente se encontró una relación positiva entre discriminación ^{13}C y densidad de longitud de raíz (White *et al.*, 1990), la hipótesis desarrollada a partir de este resultado en frijol común sugiere que, las plantas bajo estrés hídrico que tienen posibilidad de producir raíces más profundas, y por lo tanto acceder a más agua, sufren menos el estrés hídrico, resultando en una mayor conductancia estomática y por lo tanto mayor discriminación de ^{13}C ; sin embargo es una hipótesis que aun requiere más estudios y pruebas (Hall 2004; White *et al.* 1990; White 1993).

3.2.7 CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA

La apertura de los estomas normalmente varía como respuesta a cambios en la intensidad de la luz, déficit de saturación de vapor de agua del aire y la disponibilidad de humedad del suelo; con este cambio en el tamaño de apertura de los estomas, las tasas de fotosíntesis y la transpiración puede variar, debido a que el tamaño de estos poros proporciona una resistencia a la entrada de CO_2 y salida H_2O en la hoja. El inverso de esta resistencia se puede calcular como la

conductancia de estos dos gases a través de la hoja. Algunas investigaciones, han sugerido, que respuesta a sequía están asociadas con evitación de la deshidratación por medio del control de estomas, al encontrar considerables diferencias genotípicas en transpiración. Estas investigaciones sugieren, que baja tasas de transpiración contribuyen a la tolerancia por sequía; por lo tanto, el uso de conductancia estomática puede ser criterio útil en la evaluación de materiales más eficiente en el uso de agua (Khan *et al.* 2007).

3.2.8 LECTURA DE VALOR DE CLOROFILA SPAD

El valor SPAD (Soil Plant Analysis Development) es una unidad que genera el medidor de clorofila SPAD-502. El SPAD-502 determina la cantidad relativa de clorofila presente en la hoja mediante la medida 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), sin transmitancia en la región cercana a la infrarroja. El SPAD-502 mide la absorbencia de la hoja en la región roja y cercana a infrarrojo. Usando esas dos transmitancias, el medidor calcula un valor numérico SPAD (Soil Plant Analysis Development), en un rango de 0 a 80 el cual es proporcional a la cantidad de clorofila en la hoja (Manual Minolta SPAD 502). Al igual que algunas características anteriores, el valor de SPAD ha sido usado por varios programas de mejoramiento como sustituto de eficiencia de transpiración (Nigam *et al.* 2007). Se ha reportado que valor de clorofila (el cual es fácil y rápido de medir) tiene una alta correlación positiva con eficiencia de transpiración, resultados obtenidos en evaluación de maní *Arachis hypogaea* (Nigam *et al.* 2007).

3.2.9 MOVILIZACIÓN DE FOTOASIMILADOS

El mejoramiento convencional, ha mostrado mucho interés en favorecer la movilización de las reservas de la planta a su vertedero natural sea este fruto u

otro órgano, haciéndolas más productivas. En el caso del trigo, se ha atribuido que el incremento en la producción en las variedades actuales comparado con variedades tradicionales se debe al incremento de la movilización de biomasa a grano, es decir alto índice de cosecha (White *et al.* 2006). Altos valores de Índice de cosecha expresa reproducción y rendimiento exitosos de la planta en términos de funciones reproductivas y partición de asimilados hacia reproducción. En la mayoría de los ambientes con sequía, el estrés hídrico se presenta en la etapa de desarrollo reproductivo afectando así el índice de cosecha (Blum 2009). En el caso de frijol común se han propuesto dos índices para determinar la partición de asimilados; uno de ellos, es el índice de partición a vaina (pod partitioning index) el cual indica la movilización de asimilados desde las reservas de la planta (tallos, hojas) hacia vaina; el otro, corresponde al índice de cosecha de vaina (pod harvest index), el cual indica movilización de asimilados desde la cáscara hacia la formación de grano (Polania *et al.* 2010). Se ha encontrado que mayor movilización de fotoasimilados hacia semilla bajo condiciones de sequía es un atributo importante para evaluar la adaptación a sequía en frijol común (Beebe *et al.* 2010; Rao, 2001; Beebe *et al.* 2008, Polania *et al.* 2010).

4. METODOLOGÍA

4.1 LOCALIZACIÓN

Los ensayos de campo e invernadero se realizaron en las instalaciones del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) situado en Palmira (Valle del Cauca, Colombia), a 3°31' N y 76°19' W a 965 msnm.

4.2 POBLACIÓN

Se utilizó una población conformada por 21 genotipos de frijol, de los cuales, 20 genotipos son de frijol mesoamericano común *Phaseolus vulgaris*, que representan cuatro grandes grupos de frijol por su color de grano, siendo estos: negro, rojo, mulato (crema) y cariocas (crema-marrón), los cuales fueron seleccionados por ser líneas avanzadas de mejoramiento genético por sequía, adicionalmente se incluyeron los testigos comerciales en Centro América y Brasil para cada tipo de color de grano. Se incluyo una accesión de *Phaseolus acutifolius* G40001, debido que es una especie con alta tolerancia a sequía. Las características de los 21 genotipos de frijol son presentadas en la tabla 1.

Tabla 1 Origen, habito de crecimiento y color de las 21 líneas de frijol evaluadas

Línea	Origen	Habito de crecimiento	Color semilla	Observación
BAT 477	Colombia	2	Crema	Línea histórica- Testigo tipo mulato
Carioca	Brasil	3	Crema-marrón	Testigo tipo carioca
DOR 390	Colombia	2	Negro	Testigo tipo negro
G 40001	México	4	Blanco	<i>Phaseolus acutifolius</i>
NCB 226	Colombia	2B	Negro	Línea avanzada
NCB 280	Colombia	2A	Negro	Línea avanzada
RCB 273	Colombia	2B	Rojo	Línea avanzada
SEA 15	Colombia	2	Púrpura	Línea histórica
SEN 36	Colombia	2	Negro	Línea avanzada

Línea	Origen	Habito de crecimiento	Color semilla	Observación
SEN 56	Colombia	2	Negro	Línea avanzada
SER 109	Colombia	2A	Rojo	Línea avanzada
SER 113	Colombia	2	Rojo	Línea avanzada
SER 118	Colombia	2A	Rojo	Línea avanzada
SER 125	Colombia	2A	Rojo	Línea avanzada
SER 16	Colombia	2	Rojo	Línea avanzada
SER 78	Colombia	2A	Rojo	Línea avanzada
SXB 405	Colombia	2B	Crema	Línea avanzada
SXB 412	Colombia	2A	Crema	Línea avanzada
SXB 415	Colombia	2A	Crema-marrón	Línea avanzada
SXB 418	Colombia	2B	Crema-marrón	Línea avanzada
Tío Canela 75	Honduras	2	Rojo	Testigo tipo rojo

4.3 ENSAYOS

Para evaluar y validar las características morfo-fisiológicas relacionadas a raíces se realizó un ensayo en condiciones de invernadero y para las características de transpiración, vigor, movilización de fotoasimilados, fenología, componentes de rendimiento y rendimiento se realizó un ensayo en campo.

4.3.1 EVALUACIÓN DE RAÍCES - ENSAYO EN INVERNADERO

Bajo condiciones de invernadero se realizó un ensayo durante los meses de febrero a mayo del 2010, usando la metodología de cilindros plásticos transparentes con suelo insertados en tubos de PVC desarrollada en CIAT (Polania *et al.* 2009), la cual permitió evaluar características como profundización visual de la raíz, cuantificar el enraizamiento en términos de biomasa longitud de raíz y producción de raíces finas.

Las plantas fueron establecidas en cilindros de plástico transparente de 8 cm de diámetro y 80 cm de alto, de los cuales 75 cm van con suelo; durante todo el ensayo los cilindros estaban insertados en tubos de PVC amarillo. Se uso un suelo

Oxisol proveniente de Santander de Quilichao (Colombia) sin problemas de aluminio (pH, Saturación Al 35%) ni compactación (densidad aparente 1.1 g/cc). El suelo se fertilizó en kg ha^{-1} con 80 N, 50 P, 100 K, 101 Ca, 29,4 Mg, 20 S, 2 Zn, 2 Cu, 0,1 B y 0,1 Mo, para evitar deficiencias nutricionales.

El experimento se estableció en un diseño de bloques completos al azar con dos niveles de suministro de agua: 1) Riego: suministro de 80% capacidad de campo (CC), 2) Sequía terminal: sin aplicación de riego desde el momento de establecimiento de las plantas hasta la cosecha (38 días sin riego), con tres repeticiones. Las plantas de los dos tratamientos crecieron en condiciones óptimas de riego (80% CC) durante los primeros 10 días y después de este periodo de establecimiento fueron sometidas a los tratamientos de suministro de agua. El tratamiento con riego (80% CC) consistía en pesar los cilindros cada 2 días (lunes, miércoles y viernes) y aplicar la cantidad de agua consumida (completar el peso de nuevo al 80% CC), mientras que a los cilindros bajo sequía terminal no se les aplicará riego después del periodo de establecimiento, sin embargo estos también eran pesados con la misma frecuencia que los cilindros de riego para poder determinar el nivel final de humedad del suelo al momento de cosecha. El ensayo se cosechó a los 48 días después de siembra (estado de formación de vainas), tiempo en el cual se observaron mayores diferencias fenotípicas en raíces, especialmente en el tratamiento de sequía terminal. Las características de raíces determinadas en este ensayo fueron las siguientes:

4.3.1.1 Profundización visual de la raíz

Simultáneamente al peso de los cilindros para monitoreo de humedad, se determinó la profundización visual de la raíz, ventaja que permitió el sistema de cilindros plásticos transparentes, mediante una cinta métrica se registro en cm la profundización alcanzada por las raíces visibles. Esta determinación se realizó a los 16, 21, 28, 35, 42 y 48 días después de siembra.

4.3.1.2 Biomasa aérea de la planta y área foliar.

En tiempo de la cosecha, en cada cilindro la planta fue cortada al nivel de la superficie del suelo y luego fue separada en hojas (sin pecíolo), tallo y estructuras reproductivas. Se determinó área foliar usando un medidor de área foliar LICOR modelo LI-3000. Las diferentes estructuras de las plantas fueron puestas en bolsa de papel para secado en horno a 60° C por 2 días. Después del secado de la muestras, se determino el peso seco de cada una de estas. Los datos de biomasa aérea de la planta se determino en g/planta y los de área foliar en cm²/planta.

4.3.1.3 Longitud total de raíz y distribución de raíces a través del perfil del suelo.

Cada cilindro con suelo fue cortado en 5 profundidades (0-10, 10-20, 20-40, 40-60 y 60-75 cm). Luego las raíces fueron separadas del suelo por lavado a mano, limpiadas y procesadas en un escáner Epson Expression 10000 XL. Con la ayuda del sistema de análisis de imágenes WinRHIZO versión 2007, se determinó longitud de raíz por cada perfil del suelo expresada en m/planta, estos valores se totalizaron por cada cilindro (suma de todas las profundidades) para tener lo producción total de raíces en términos de longitud por cada planta. Después de escanear las raíces, fueron puestas en bolsa de papel para secado en horno a 60° C por 2 días y peso seco de raíces fue determinado en g/planta.

4.3.1.4 Diámetro promedio de raíz y proporción de raíces finas.

De las mismas imágenes escaneadas y analizadas con el WinRHIZO, este programa igualmente ofrece datos de diámetro promedio de las raíces expresado en mm, y longitud de raíces con diámetro inferior o igual a 0.5 mm expresado en metro/planta, con este último dato se determino proporción de raíces finas expresado en % y calculado mediante la relación: longitud de raíces con diámetro ≤ 0.5 mm/ longitud total de raíz X 100.

4.3.1.5 Longitud específica de raíz.

Es un estimador de raíces finas, el cual es la relación entre longitud total de raíz /peso seco de raíz, resultado es expresado en las unidades metro/gramo

4.3.2 EVALUACIÓN DE TRANSPIRACIÓN, VIGOR, MOVILIZACIÓN Y RENDIMIENTO - ENSAYOS EN CAMPO

Se realizó 1 ensayo de campo en el 2009 durante los meses de junio a septiembre, para determinar rendimiento y componentes de rendimiento bajo estrés por sequía y riego de los diferentes genotipos, al igual que ciertas características fisiológicas relacionados con movilización de fotoasimilados, vigor de la planta, conductancia estomática, uso efectivo de agua y uso eficiente de agua, entre otros. El suelo del CIAT es clasificado como Mollisol (Aquic Hapludoll) sin problemas mayores de fertilidad ($\text{pH} = 7.7$), con una capacidad estimada de almacenaje de agua disponible de 130 mm hasta 1 metro de profundidad (agua entre capacidad de campo -0.03Mpa y punto de marchitez permanente -15Mpa). El ensayo de campo en CIAT para evaluación de sequía se realizó en los meses de Junio, Julio, Agosto y Septiembre, debido a que son los meses de menor precipitación durante el año, como se puede observar en la figura 2 en la cual se muestra los promedios de 20 años de datos meteorológicos del CIAT.

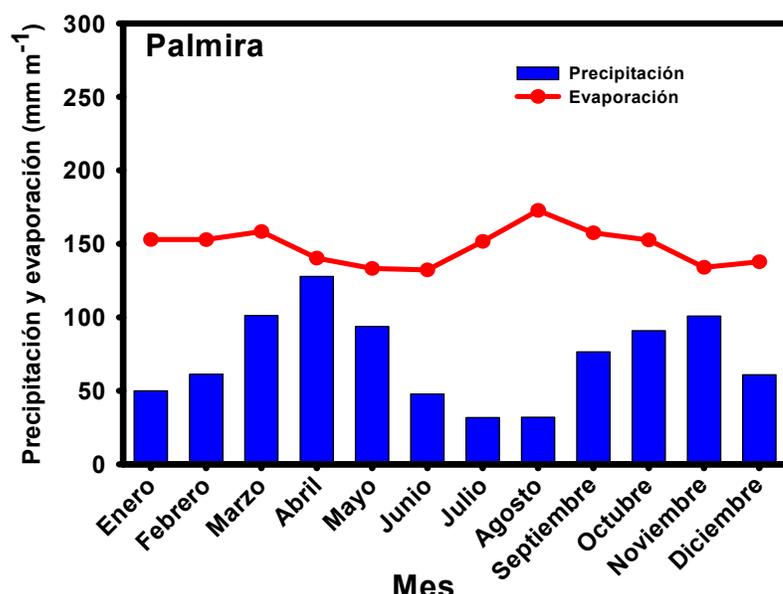


Figura 2 Distribución de la precipitación y evaporación en la estación Palmira del CIAT (promedios de los últimos 20 años)

Se estableció un ensayo en un diseño de Lattice de 6X6 (36 genotipos, el ensayo comprendió los 21 líneas de este estudio y 15 líneas adicionales de observación) con 3 repeticiones; cada repetición con 4 surcos por genotipo de 3.72 m de longitud con una distancia entre surcos de 0.6 m y un espaciamento entre plantas de 0.075 m (15 semillas por 1 m de longitud del surco para tener un número final de 10 a 15 plantas por metro). Las plantas se sometieron a dos tratamientos o niveles de humedad: riego y estrés por sequía, los cuales estaban en lotes completamente diferentes y espaciados entre ellos.

En el tratamiento de sequía se aplicaron 3 riegos por gravedad (alrededor de 35 mm en cada riego) para el buen establecimiento de las plantas, estos riegos fueron aplicados a los dos días antes de siembras, 10 días después de siembra y el último a los 23 días después de siembra, comenzando el tratamiento de sequía desde este momento. Para el tratamiento de riego o control se aplicaron un total de ocho riegos con un espaciamento entre ellos de máximo 10 días.

Durante el crecimiento y desarrollo de las planta se tomaron muestras de suelo, con una frecuencia semanal, hasta los 60 cm de profundidad, distribuidas de la siguiente manera 0-10, 10-20, 20-40 y 40-60 cm, para cuantificar el contenido de humedad gravimétrica, y posteriormente el contenido de humedad volumétrico usando determinaciones de densidad aparente para cada profundidad del suelo.

Un número de características fisiológicas fueron medidos en el estado mitad de llenado de vainas (alrededor de 50 días después de siembra) bajo condiciones de riego y sequía, las determinaciones se realizaron en este estado debido a que es la etapa donde el cultivo de frijol presenta su máximo crecimiento y vigor, igualmente se registraron características fenológicas como días a floración y días a madurez fisiológica. Y otro numero de características entre ellas rendimiento de grano fueron determinadas en momento de cosecha (entre los 75 a 80 días después de siembra). Las características determinadas en mitad de llenado de grano y cosecha fueron:

4.3.2.1 Contenido de clorofila en la hoja (SPAD)

Fue determinado usando un medidor de clorofila de mano (SPAD-502 Chlorophyll Meter, Minolta Camera Co., Ltd., Japón) no destructivo. El valor de SPAD fue medido sobre la hoja joven completamente expandida de una planta por cada repetición. Esta característica es expresada en unidades SPAD.

4.3.2.2 Temperatura del follaje

Se determinó usando un termómetro infrarrojo (Telatemp modelo AG-42D, Telatemp CA, USA) el cual fue sostenido a 50 cm desde la superficie del cultivo con un ángulo de 45° con el objetivo de medir tanto la temperatura del follaje como la depresión de temperatura del follaje, la cual corresponde a la diferencia entre temperatura de follaje y temperatura del aire alrededor. Esta medida fue

realizada sobre un surco por cada repetición, entre las 11 a.m. y 3 p.m. temperatura del follaje y depresión de temperatura son expresadas en °C.

4.3.2.3 Conductancia estomática

Fue determinada en la hoja joven completamente expandida de una planta por cada repetición usando un porómetro SC 1 Decagon entre las 10 a 11:30 am. La conductancia estomática se reporta en $\text{mmol/m}^2/\text{s}$.

4.3.2.4 Biomasa del cultivo

Esta estimación de vigor del cultivo se determino mediante muestreo destructivo en el cual se tomo una longitud de 0.5 m de un surco (equivalente a una área de muestreo de 0.3 m^2) por cada unidad experimental, las plantas en estos 50 cm fueron cortadas a la altura de la superficie del suelo, y separadas en hojas (sin pecíolos); tallos y vainas. Cada estructura de la planta se puso en bolsas de papel y se dejaron en el horno a 60°C por 48 horas para determinar la biomasa seca. Con estos pesos secos, se cuantifico producción total de biomasa (biomasa del cultivo) y distribución de biomasa en diferentes componentes de la planta (hojas, tallos, vaina) en mitad de llenado de vainas. Las anteriores biomاسas son expresadas en kg/ha.

4.3.2.5 Índice de área foliar

Con las hojas frescas separadas del muestreo destructivo de los 50 cm por surco por cada repetición, se determino área foliar con un LICOR modelo LI-3000, después fueron introducidas al horno para su respectivo peso seco. Índice de área foliar es la relación entre el área foliar y el área de muestreo y se expresa en m^2/m^2 .

4.3.2.6 Contenido de P y carbohidratos totales no estructurales (CTN)

Durante el estado de mitad de llenado de vainas, una planta adicional por cada unidad experimental fue seleccionada al azar para muestreo destructivo. La planta

se corto a nivel del suelo, lavada con agua desionizada y puesta en bolsa de papel para secar en horno a 60°C por 2 días. Después de secado en horno la planta fue molida, la muestra molida se envió al laboratorio de servicios analíticos del CIAT, en el cual se determinaron P y CTN.

4.3.2.7 Discriminación isótopo de carbono

La determinación de isótopo de carbono se realizó en dos diferentes estructuras de las plantas, hoja y semilla. En mitad de llenado de vaina se tomaron 10 hojas trifoliadas jóvenes por cada parcela, las cuales se lavaron con agua desionizada, secaron en horno y molieron. Y en tiempo de cosecha, una muestra de grano por cada repetición fue tomada, el grano se seco el horno a 60°C por dos días y molido; las muestras molidas fueron enviadas a Universidad de California (UC Davis) que cuenta con un espectrómetro de masas para análisis de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, igualmente determinaron contenido de nitrógeno tanto en hoja y semilla con las mismas muestras.

La composición isotópica absoluta de una muestra no es fácil de determinar, por esta razón, el espectrofotómetro de masas, mide la desviación $\delta^{13}\text{C}$ de la concentración isotópica en cualquier muestra, viva o fósil, con respecto a una medida estándar. Esta medida estándar es el carbono contenido en el carbonato cálcico de la concha de un determinado fósil marino denominado PDB (Pee Dee Belemnite), o VPDB, cuyo valor 0.01124 ha sido establecido por la Agencia Internacional de la Energía Atómica (Farquhar *et al.* 1989).

$$\delta^{13}\text{C} (\text{‰}): \frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C}) \text{ muestra} - (^{13}\text{C}/^{12}\text{C}) \text{ estándar}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C}) \text{ estándar}} \times 1000$$

La discriminación de $\Delta^{13}\text{C}$, se calcula mediante la siguiente relación, que refleja la magnitud del fraccionamiento isotópico entre la fuente y el producto, siendo en este caso la fuente el aire, la composición isotópica estable del aire $\delta^{13}\text{C}$ es de -8 0/00.

$$\Delta^{13}\text{C}: \delta^{13}\text{C} \text{ aire} - \delta^{13}\text{C} \text{ muestra} / [1 + \delta^{13}\text{C} \text{ muestra} / 1000]$$

La discriminación de carbono Δ , es presentada en la literatura en unidades (‰) (“por mil”), que es un equivalente a 10^{-3} , es de anotar que “por mil” no es una unidad, y es análoga a porcentaje; por lo tanto, discriminación de isótopo de carbono es adimensional (Farquhar *et al.* 1989).

4.3.2.8 Biomasa de tallo y vaina en cosecha

En el momento de la cosecha se realizó otro muestreo destructivo para determinar algunas biomasa y así generar determinados índices, el muestreo se realizó cortando las plantas en 0.5 m longitud de surco (equivalente a una área 0.3 m^2). Las plantas se separaron en tallos, vainas y éstas a la vez en cáscara y semilla, se contó número de vainas y número de semillas por el área cosechada. Estas muestras se secaron en horno a 60°C por 2 días y los pesos secos fueron registrados. Las biomasa provenientes de este muestreo y del muestreo en mitad de llenado de grano, tiene la función especialmente para calcular índices relacionados con la movilización de fotoasimilados, los cuales son:

4.3.2.9 Índice de partición a vaina (IPV)

Es un 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 %. El IPV para cada genotipo fue determinado por peso seco de vainas en cosecha/ Peso seco de biomasa aérea (hojas + tallos + vainas) en mitad de llenado de vainas x 100.

4.3.2.10 Índice de cosecha de vaina (ICV)

Con este índice se explica cuanto del total de la vaina en términos de biomasa fue movilizado a la formación de semilla, se expresa en %. El ICV para cada genotipo fue determinado por peso seco de semilla/ Peso seco de vainas en cosecha x 100

4.3.2.11 Índice de cosecha (IC)

Es un índice para estimar directamente cuanto del vigor de la planta en mitad de llenado de grano en términos de biomasa fue movilizado a la formación de grano,

se expresa en %. El IC para cada genotipo fue peso seco de semillas en cosecha/ Peso seco de biomasa aérea (hojas + tallos + vainas) en mitad de llenado de vainas x 100.

4.3.2.12 Reducción de biomasa de tallo (RBT)

Es un índice para determinar la reducción de fotoasimilados acumulados en el tallo en la época de mitad de llenado a vainas, que serían fotoasimilados movilizados a la formación de vainas, se expresa en %. Este atributo para cada genotipo es estimado por peso seco de tallo en mitad de llenado de vainas – peso seco de tallo en cosecha/ peso seco de tallo en mitad de llenado de vainas x 100

4.3.2.13 Producción de grano

Los dos surcos del centro de los cuatro que se tenían por parcela se cosecharon para estimar rendimiento de grano, en una área efectiva de 3.6 m², se determinó la humedad de semilla en momento de cosecha y el peso de esta, con los cuales se estimó la producción de grano al mismo nivel de humedad y se expresó en kg/ha. Del grano cosecha se tomó una muestra para determinar el peso de 100 semillas, expresado en g.

4.4 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE DATOS

Con el objetivo de identificar que características morfo-fisiológicas están relacionadas con la adaptación a sequía, estas deben de cumplir con los siguientes requisitos: que estén correlacionadas con rendimiento de grano, o en el caso de características de raíces que estén correlacionadas con biomasa foliar, que sean de alta heredabilidad (baja interacción genotipo x ambiente) y no estar asociado con bajos rendimientos en condiciones óptimas.

4.4.1 CARACTERÍSTICAS DE RAÍCES EN INVERNADERO

Con la ayuda del programa estadístico SAS, se estimaron correlaciones entre las diferentes características de raíces evaluadas en invernadero y biomasa foliar en invernadero; aquellas características que presentaron correlaciones significativas ($P \leq 0.05$) con biomasa foliar bajo condiciones de sequía fueron seleccionadas. Las correlaciones en el tratamiento de riego son para determinar si las características están afectando o no la producción de biomasa en el invernadero. A estas características seleccionadas en sequía se les realizó un análisis de varianza para determinar si se presentaron diferencias significativas entre los genotipos evaluados y posteriormente graficadas para observar la relación entre las diferentes características y producción de biomasa foliar, así mismo poder observar los genotipos que están combinando características, con el objetivo de identificar materiales sobresalientes para ser usados potencialmente como padres.

4.4.2 CARACTERÍSTICAS DE VIGOR, TRANSPIRACIÓN Y MOVILIZACIÓN EN CAMPO

Al igual que las variables evaluadas en invernadero, a estas con la ayuda del programa estadístico SAS, se realizaron correlaciones entre las diferentes características evaluadas en campo y rendimiento de grano; aquellas características que presentaron correlaciones significativas ($P \leq 0.05$) con rendimiento de grano bajo condiciones de sequía fueron seleccionadas. Las correlaciones en el tratamiento de riego son para determinar si las características están afectando o no la producción de grano en campo. A estas características seleccionadas en sequía se les realizó un análisis de varianza para determinar si se presentaron diferencias significativas entre los genotipos evaluados y posteriormente graficadas para observar la relación entre las diferentes características, observar los genotipos que están combinando características, e identificar materiales sobresalientes para ser usados potencialmente como padres.

4.4.3 HEREDABILIDAD EN SENTIDO AMPLIO

Para cumplir otro de los requisitos para que una característica sea útil en un programa de mejoramiento, debe de ser de alta heredabilidad, a un grupo de características tanto de invernadero y de campo que presentaron una correlación altamente significativa ($P < 0.001$) se les calculo heredabilidad en sentido amplio. La heredabilidad se define como una relación proporcional de la variación fenotípica total observada que se debe a causas genéticas. Es de aclarar, que la heredabilidad se atribuye específicamente a la población de referencia en la que se midió, y se mide o calcula para las condiciones ambientales en que se realizó la evaluación (Ceballos 1996).

Para el cálculo de heredabilidad en sentido amplio se requirió estimar la varianza genética (σ^2G) y la varianza fenotípica (σ^2F). La varianza genética, mide la variación debida a efectos genéticos, y la varianza fenotípica es la variación total del carácter, tanto la que se debe a efectos genéticos y ambientales, esta heredabilidad es en sentido amplio debido a que tiene en el numerador una varianza que agrupa todos los factores genéticos que afectan la expresión de un determinado carácter (Ceballos 1996).

El cálculo de heredabilidad se realizo de acuerdo a la siguiente ecuación: $h^2 = \sigma^2G / \sigma^2F$. La estimación de la varianza genética y fenotípica se realizara a partir de análisis de varianza para cada característica, usando la esperanza de los cuadrados medios, presentados en la tabla a continuación y mediante los siguientes procedimientos (Ceballos 1996).

Fuente de variación	G.L.	Suma de Cuadrados (SC)	Cuadrado Medio (CM)	Esperanza del CM
Genotipos			CM1	$\sigma^2 + r \sigma^2_{Geno}$
Repetición				$\sigma^2 + g \sigma^2_{Rep}$
Error			CM2	σ^2
Total				

$$\sigma^2 \text{ Genética} = \sigma^2 \text{ Genótipos} = (CM1 - CM2) / r$$

$$\sigma^2 \text{ Ambiental} = (\sigma^2 / r) = (CM2 / r)$$

$$\sigma^2 \text{ Fenotípica} = \sigma^2 \text{ Genética} + \sigma^2 \text{ Ambiental}$$

CM1: Cuadrado medio de genotipos; CM2: Cuadrado medio del error

4.5 PROTOCOLO DE EVACUACIÓN DE FRIJOL BAJO ESTRÉS POR SEQUÍA

Durante el establecimiento de cada ensayo se registraron todos los procedimientos realizados, tanto de manejo agronómico, como los de tiempo y metodologías de inducción de estrés y condiciones para realizar la evaluación. Con esta información se procedió a elaborar un protocolo estándar para evaluar diferentes características fisiológicas relacionadas a estrés por sequía en frijol, el cual pueda ser aplicado fácilmente por cualquier otra organización o grupo de investigación; EL protocolo se escribió en español y se presenta en el anexo A de este trabajo de grado.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 ENSAYO EN INVERNADERO

Durante el crecimiento y desarrollo del ensayo en el invernadero, se registraron en promedio una temperatura máxima de 32.4 °C y una mínima de 19.1 °C (Figura 3). El contenido de humedad al final del ensayo (48 días después de siembra) fue del 52% de Capacidad de Campo (Figura 3). En promedio la producción de biomasa de la parte aérea de la planta bajo estrés por sequía fue de 1.67 g/planta mientras en condiciones optimas de riego la producción de biomasa aérea fue de 4.65 g/planta, lo equivalente a un reducción por el estrés del 73% sobre la producción de biomasa aérea (tallo, hoja y vaina) de la planta, indicando la severidad del estrés por sequía terminal.

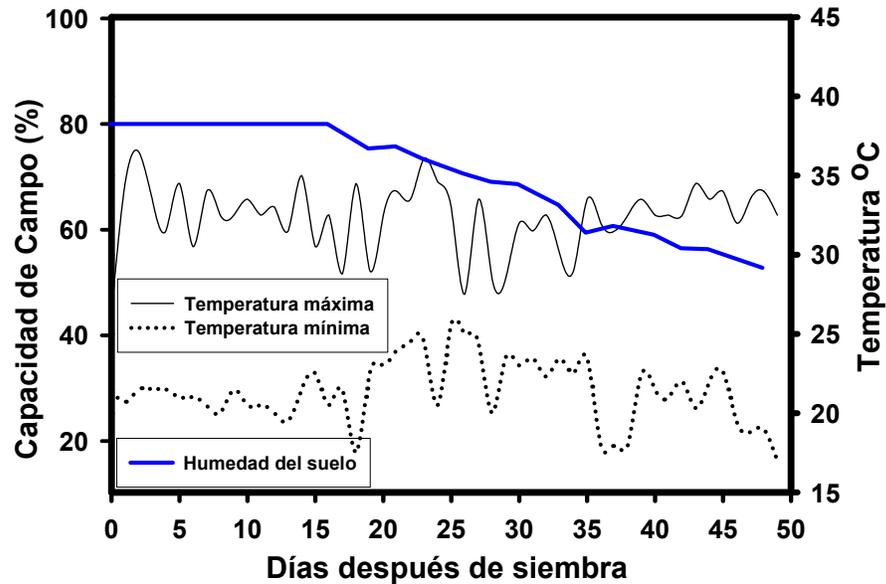


Figura 3 Temperatura máxima, temperatura mínima y humedad en el suelo (capacidad de campo) durante crecimiento y desarrollo de 21 líneas de frijol en invernadero 2010

Con el objetivo de probar la hipótesis que un sistema radicular profundo y vigoroso ayuda a un mayor desarrollo de la parte aérea de la planta, se realizaron correlaciones entre las características morfológicas de la raíz determinadas en el sistema de tubos con suelo en invernadero con la biomasa aérea y área foliar de la planta bajo ambas condiciones de humedad (Tabla 2). Varias características morfológicas de la raíz, en especial las relacionadas con enraizamiento profundo, mostraron una alta y significativa correlación con la biomasa aérea bajo ambas condiciones de humedad.

Algunas relaciones en la tabla 2, como, longitud total de la raíz y peso seco de raíz, mostraron una correlación positiva y significativa bajo condiciones de riego y sequía, pero su magnitud fue mayor bajo condiciones de riego (en el caso de longitud de raíz, el r fue de 0.57 para riego y 0.29 para sequía), indicando que estas características tienen una contribución a mayor vigor bajo condiciones de riego, pero, bajo condiciones de sequía, son afectadas por el estrés. Igualmente con aquellas características como diámetro promedio de la raíz, la cual presentó correlación con biomasa foliar únicamente bajo condiciones de riego y no bajo sequía, siendo una característica afectada por el estrés. Las características que presentaron correlaciones significativas y magnitudes similares en condiciones de riego y sequía, son características constitutivas de la planta.

La característica longitud total de raíz bajo sequía, que es la producción total de raíz en términos de longitud, sin discriminar por profundidades, mostró una correlación positiva con producción de biomasa aérea (Tabla 2), indicando una relación directa que a mayor producción de raíces bajo sequía mayor vigor de la planta en términos de biomasa aérea. Trabajos previos en frijol común, han mostrado relación entre características aéreas de la planta y características de raíz, y la importancia de estas últimas en la adaptación de frijol a sequía (White *et al.* 1989). Entre los genotipos evaluados, los que sobresalieron en longitud total de raíz y combinaron con mayor producción de biomasa aérea bajo estrés por sequía

fueron SER 118, SER 113, SER 109, SEA 15, SEN 56, NCB 226 y SXB 412 (Figura 4). La línea DOR 390 combinó baja producción de raíces con bajo desarrollo foliar bajo condiciones de sequía (Figura 4).

Tabla 2 Coeficientes de correlación entre peso parte aérea (hoja, tallo y vaina) y área foliar con otras características morfológicas de raíz bajo condiciones de riego y sequía en 21 genotipos de frijol en Invernadero 2010

Característica	Correlación con Peso Parte Aérea		Correlación con Área Foliar	
	Riego	Sequía	Riego	Sequía
Longitud total de raíz (m planta)	0.57***	0.29*	0.66***	0.22
Diámetro promedio de raíz (mm)	0.31*	0.04	0.52***	0.11
Peso seco de raíz (g planta)	0.60***	0.35**	0.71***	0.41**
Longitud específica de raíz (m g)	-0.18	-0.15	-0.25*	-0.38**
Proporción de raíces finas (%)	-0.44***	-0.29*	-0.64***	-0.40**
Profundización visual de raíz a los 16 días después de siembra (dds)	0.45***	0.70***	0.36**	0.36**
Profundización visual de raíz a los 21 dds	0.05	0.64***	0.05	0.43***
Profundización visual de raíz a los 28 dds	0.49***	0.56***	0.50***	0.47***
Profundización visual de raíz a los 35 dds	0.47***	0.57***	0.56***	0.38***
Profundización visual de raíz a los 42 dds	0.51***	0.56***	0.59***	0.43***
Profundización visual de raíz a los 48 dds	0.50***	0.57***	0.62***	0.44***
Longitud de raíz en la profundidad 0-10 cm (m planta)	0.21	-0.15	0.22	-0.27*
Longitud de raíz en la profundidad 10-20 cm (m planta)	0.21	0.09	0.23	-0.09
Longitud de raíz en la profundidad 20-40 cm (m planta)	0.35**	-0.09	0.35**	-0.07
Longitud de raíz en la profundidad 40-60 cm (m planta)	0.62***	0.48***	0.75***	0.46***
Longitud de raíz en la profundidad 60-75 cm (m planta)	0.48***	0.50***	0.60***	0.58***

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

Se observaron correlaciones positivas y altamente significativas entre biomasa aérea de la planta con la característica profundización visual de raíz a diferentes tiempos de desarrollo de la planta, tanto bajo condiciones óptimas de riego como

de sequía (Tabla 2); igualmente la característica área foliar también se correlaciona positiva y altamente significativa con profundización visual de raíz (Tabla 2).

La deshidratación de las plantas se retarda, hecho que podría explicarse muy posiblemente a características de las raíces, como la profundización de la raíz, entre más profundas, se puede continuar con la extracción de agua de perfiles profundos del suelo, cuando las raíces superficiales ya han agotado el agua a su disposición (Khan *et al.* 2010). Las correlaciones observadas entre profundización visual de la raíz con biomasa foliar, están indicando que bajo estrés por sequía las plantas que están profundizando más sus raíces están logrando tener una mayor vigor tanto en términos de biomasa aérea como de área foliar.

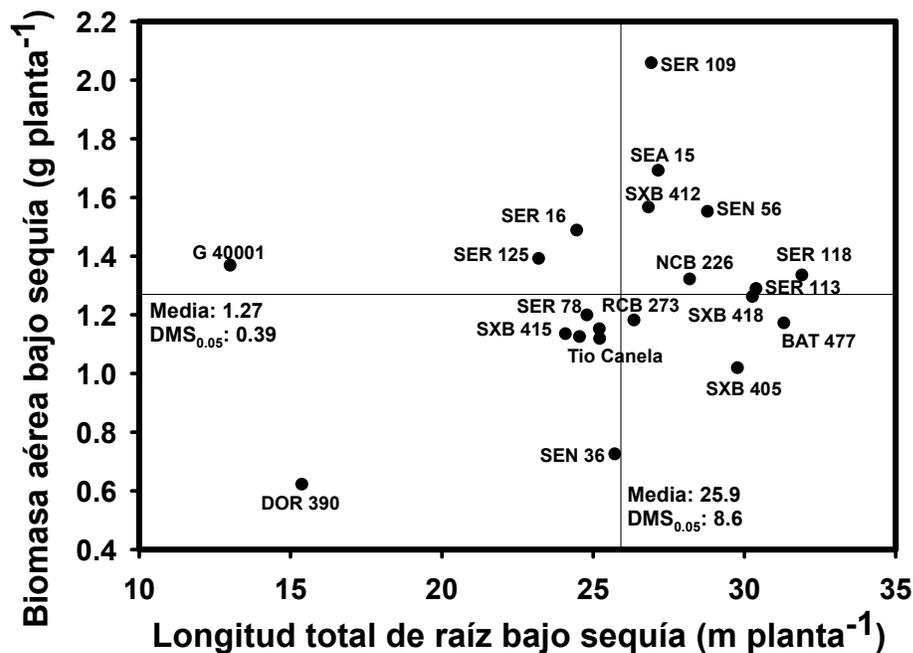


Figura 4 Relación entre longitud total de raíz y biomasa aérea bajo sequía de 21 líneas de frijol en invernadero 2010. Las líneas que combinan mayor longitud de raíz con mayor biomasa aérea bajo sequía están en el cuadrante superior derecho.

Se procedió a graficar la relación entre profundización visual de raíces a los 35 días después de siembra con biomasa aérea debido a que el estrés se encuentra en un estado avanzado (25 días sin riego) y las plantas se encuentran en un periodo crítico como lo es floración. De esta relación, bajo estrés por sequía, los genotipos que profundizaron sus raíces y expresaron un mayor vigor de la parte aérea en términos de biomasa son SER 109, SEA 15, SXB 412, SEN 56 y SER 16 (Figura 5). Varias investigaciones han concluido que un sistema radical profundo y vigoroso es una característica de adaptación importante en sequía, ya que raíces profundas favorecen la adquisición de agua y resistencia a sequía (Ho *et al.* 2005; Turner, 1979; Huang y Gao, 2000; Sponchiado *et al.* 1989 y Blum, 2002). En el caso particular de frijol se ha encontrado que raíces profundas es una estrategia para mejorar adaptación a sequía (Polania *et al.* 2009; Beebe *et al.* 2008; White *et al.* 1994, Sponchiado *et al.* 1989). Resultados obtenidos en este trabajo, son similares a lo reportado en frijol, al observarse que las raíces profundas están ayudando a tener un mayor vigor de la planta bajo condiciones de sequía terminal (Figura 5 y 6).

Algunos genotipos se caracterizaron por presentar raíces profundas, pero no un gran desarrollo de biomasa aérea como lo son Tío Canela 75, NCB 280 y BAT 477, indicando que la planta está invirtiendo una gran cantidad de energía en producir raíces para encontrar agua pero no está tomando ventaja para desarrollar tallos y hojas. Otros genotipos, presentaron una baja profundización de raíces combinado con una baja producción de biomasa aérea (Figura 6). Khan *et al.* 2010 y Bruce *et al.* 2002, comentan sobre el riesgo que puede existir cuando una planta bajo estrés por sequía, incrementa la masa de raíces, con un alto uso de fotoasimilados, reduciendo en general el crecimiento aéreo y la producción de grano, pero este riesgo, en algunos genotipos, es balanceado por una mayor eficiencia de absorción de agua (Khan *et al.* 2010)

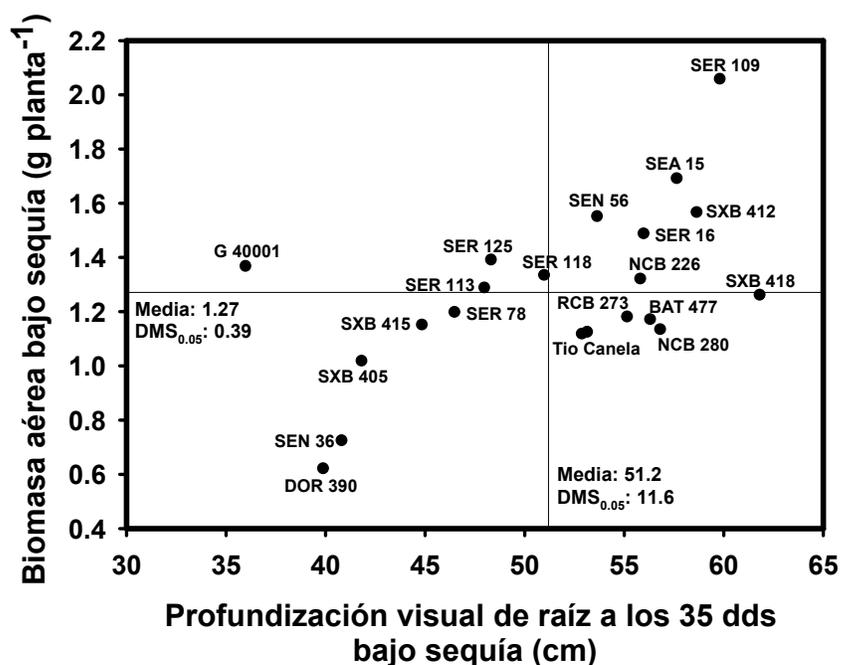


Figura 5 Relación entre profundización visual de raíz a los 35 días después de siembra y biomasa aérea bajo sequía de 21 líneas de frijol en invernadero 2010. Las líneas que combinan mayor profundización visual de raíz con mayor biomasa aérea bajo sequía están en el cuadrante superior derecho.

Como se menciona anteriormente, otra característica de la raíz relacionada con la profundización, es la producción de raíces en términos de longitud en el perfil del suelo 60-75 cm (última profundidad del cilindro plástico). Esta característica mostró una correlación altamente significativa ($P < 0.001$) y positiva con biomasa de la parte aérea bajo condiciones de riego y sequía y con área foliar igualmente bajo riego y sequía (Tabla 2). Indicando nuevamente que a mayor profundización de raíz, mayor vigor de la planta (biomasa aérea y/o área foliar). Las líneas de frijol que sobresalieron en la combinación de estas características bajo estrés por sequía fueron SEA 15, SEN 56, SER 16, SXB 412 y NCB 226 (Figura 6).

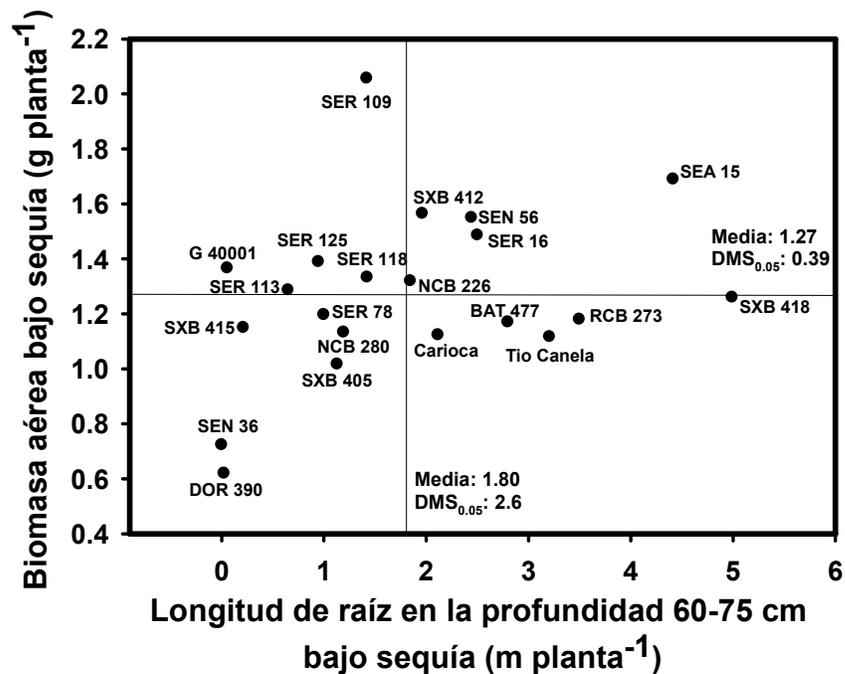


Figura 6 Relación entre longitud de raíz en la profundidad 60-75 cm y biomasa aérea bajo sequía de 21 líneas de frijol en invernadero 2010. Las líneas que combinan mayor profundización de raíz con mayor biomasa aérea bajo sequía están en el cuadrante superior derecho.

La característica proporción de raíces finas mostró una correlación significativa y negativa con biomasa aérea y área foliar bajo condiciones de riego y sequía (Tabla 2), indicando que a mayor cantidad de raíces gruesas mayor producción de biomasa aérea. Otras investigaciones han concluido que el estrés por sequía puede disminuir la producción de raíces finas debido al incremento de la mortalidad de estas, por lo tanto las raíces finas son más afectadas por la sequía, en cierta parte debido a que estas no están completamente suberizadas, incrementando su vulnerabilidad al estrés (Konopka *et al.* 2007). Otros autores han propuesto que en raíces de mayor diámetro, se pueden tener mayor número de polos del xilema y estos a la vez más gruesos, lo cual incrementa la habilidad de conducción o transporte del agua, e incrementando la tasa de fotosíntesis (Kulkarni *et al.* 2008). Las líneas que se caracterizaron por tener raíces gruesas

(menor valor en proporción de raíces finas) combinada con mayor producción de biomasa aérea bajo estrés por sequía fueron SEA 15, SEN 56, SER 109, NCB 226 y SER 16 (Figura 7); la línea DOR 390 se caracterizó por presentar mayor cantidad de raíces finas con baja producción de biomasa aérea (Figura 7).

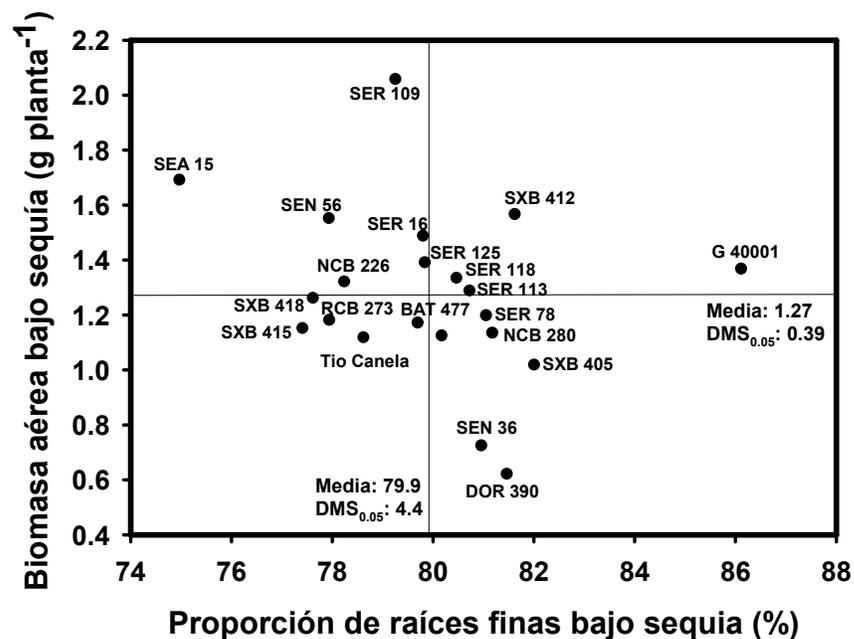


Figura 7 Relación entre proporción de raíces finas y biomasa aérea bajo sequía de 21 líneas de frijol en invernadero 2010. Las líneas que combinan raíces gruesas con mayor biomasa aérea bajo sequía están en el cuadrante superior izquierdo.

5.2 ENSAYO DE CAMPO

Durante el crecimiento y desarrollo del cultivo en campo, se registraron en promedio una temperatura máxima de 32.5 °C y una mínima de 19.41 °C (Figura 8). El rango de radiación solar fue de 11.7 MJ m⁻² d⁻¹ a 25.7 MJ m⁻² d⁻¹. La precipitación total en todo el periodo del cultivo fue 58.7 mm y la evaporación potencial fue 462.5 mm. La relación en la distribución de los datos de precipitación y evaporación potencial indican que el cultivo sufrió sequía terminal durante su

crecimiento y desarrollo (Figura 8). En promedio la producción estimada de grano bajo estrés por sequía fue de 989 kg/ha mientras en condiciones optimas de riego la producción fue de 2516 kg/ha, lo equivalente a un reducción por el estrés del 61% sobre la producción de grano, confirmando de nuevo que el cultivo sufrió de estrés severo por sequía durante este ensayo.

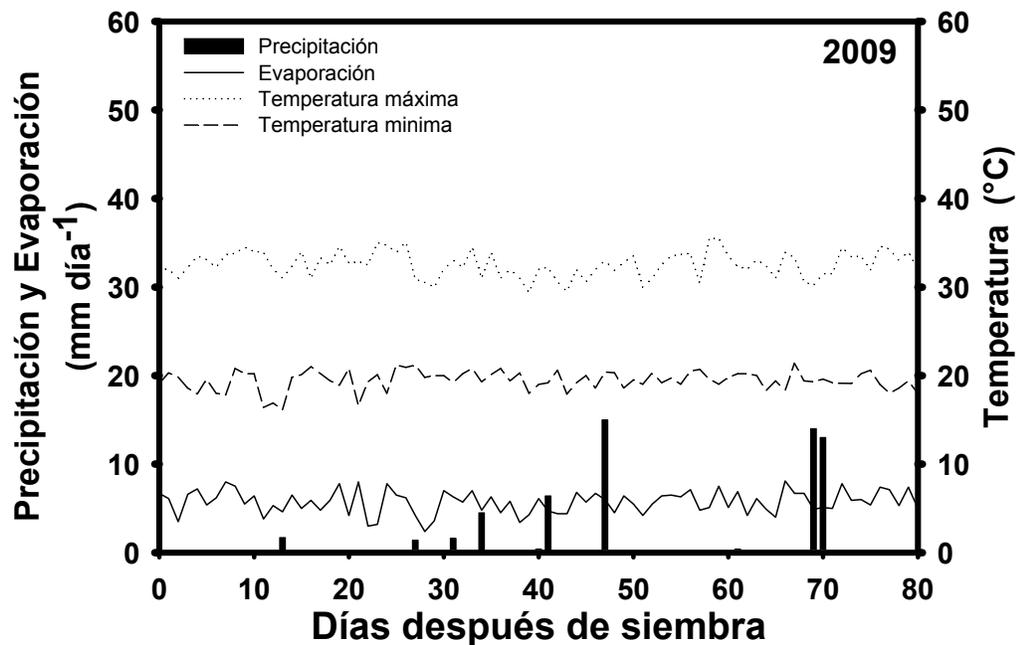


Figura 8 Temperatura máxima y mínima, evaporación y precipitación durante crecimiento y desarrollo de 21 líneas de frijol en Palmira 2009

De las características morfo-fisiológicas determinadas en campo, ninguna a excepción de reducción de biomasa del tallo presento correlación significativa con producción de grano bajo condiciones de riego (Tabla 3). Las características que mostraron correlación bajo estrés por sequia y no bajo riego, son caracterices inducidas por el estrés, no son constitutivas. Bajo condiciones de estrés por sequía, las características días a floración y días a madurez fisiológica mostraron una correlación negativa altamente significativa con producción de grano (Tabla 3), indicando la importancia de la precocidad como mecanismo de escape del

estrés en frijol. Las características discriminación de isótopo de carbono en grano, índice de área foliar, biomasa del cultivo, índice de partición a vaina, índice de cosecha, índice de cosecha de vaina y peso de 100 semillas mostraron una correlación positiva y significativa con rendimiento de grano bajo condiciones de sequía (Tabla 3); por lo tanto estas características cumplen un requisito para su utilización como criterio de selección.

Tabla 3 Coeficientes de correlación entre rendimiento de grano y biomasa del cultivo con otras características morfo-fisiológicas en 21 genotipos de frijol en Palmira 2009.

Características	Correlación con Rendimiento de grano	
	Riego	Sequía
Lectura de clorofila SPAD	0.01	0.22
Depresión de temperatura del follaje (°C)	0.15	-0.03
Conductancia estomática (mmol m ⁻² s ⁻¹)	-0.03	-0.10
Días a floración	-0.00	-0.56***
Días a madurez fisiológica	0.04	-0.48***
Discriminación de isótopo de carbono en hoja (0/00)	-0.02	0.11
Discriminación de isótopo de carbono en grano (0/00)	0.04	0.32**
Índice de área foliar (m ² m ⁻²)	0.07	0.25*
Biomasa del cultivo (kg ha ⁻¹)	0.15	0.45***
Índice de partición a vaina (%)	-0.17	0.26*
Índice de cosecha (%)	-0.15	0.32**
Índice de cosecha de vaina (%)	0.13	0.42***
Reducción de biomasa del tallo (%)	0.29*	0.15
Peso de 100 semillas (g)	0.21	0.36**
Contenido de P en la parte aérea (%)	-0.16	-0.24
Contenido de CTN en parte aérea (mg g ⁻¹)	-0.10	0.15
Contenido de N en hojas (%)	0.12	0.04
Contenido de N en semilla (%)	0.08	-0.10

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

Características ampliamente usadas en diferentes programas de mejoramiento genético como lo son lectura de clorofila SPAD y conductancia estomática no presentaron ninguna relación con la producción de grano bajo condiciones de

riego y sequía; sin embargo, el estrés por sequía aumento el contenido de clorofila SPAD en las hojas al pasar de valores 33.5 bajo riego a 38.6 bajo sequía (Tabla 4), equivalente a un incremento del 15%, comportamiento presentado debido que bajo condiciones de estrés por sequía la expansión foliar se ve afectada, lo cual se puede comprobar con el índice de área foliar que pasa de 3.06 m²/m² bajo riego a 2.53 m²/m² bajo sequía, hay reducción del 17% (Tabla 4). Rosales-Serna *et al.* 2004 encontraron un comportamiento similar al evaluar algunos genotipos de frijol bajo estrés hídrico, observando un incremento de los valores de SPAD bajo condiciones de sequía en contraste con las condiciones de riego, y asocio este aumento con la reducción del área foliar individual, los investigadores concluyen que en el caso de frijol común las lecturas de clorofila SPAD permiten discriminar genotipos por contenido de clorofila, pero su uso en selección por tolerancia a sequía es incierto.

En el caso de conductancia estomática, se observó que el estrés por sequía induce un cierre estomático, al tener en promedio una tasa de 300.7 mmol m² s⁻¹ bajo condiciones optimas de riego, llegando a una tasa de 199.0 mmol m² s⁻¹ (Tabla 4), con una disminución del 34% en la apertura de los estomas. El cierre estomático es un mecanismo para evitar sequía y es uno de los primeros pasos en la adaptación de las plantas al estrés hídrico, permitiendo que el estado hídrico se mantenga (Khan *et al.* 2010), según datos de las tabla 4, el frijol común bajo estrés hídrico cierra sus estomas, evitando sequía, pero esta característica no se está relacionando con mayor producción y no se observa diferencias significativas entre genotipos bajo estrés por sequía (Tabla 4). Al ser una lectura tan dependiente de las condiciones ambientales y estas a la vez pueden variar mucho a través del momento de evaluación en campo, se puede presentar un gran efecto del ambiente sobre esta característica, por lo tanto su aplicación en programas de mejoramiento está dirigida al entendimiento de la bases fisiológicas mas no como criterio de selección.

Se observaron diferencias significativas en rendimiento de grano entre genotipos bajo condiciones de riego y sequía; la figura 9 muestra la relación entre rendimiento con sequía y rendimiento con riego, permitiendo identificar las líneas que son adaptadas a sequía y a la vez responden bien a condiciones de irrigación. Estas líneas que están combinando adaptación a las dos condiciones son SEN 36, SEN 56, SER 16, SER 113 y NCB 226, indicando que la selección por sequía no necesariamente reduce el rendimiento bajo condiciones óptimas, y seleccionar para estrés hídrico no es excluyente para riego. Un grupo de líneas presentaron una muy buena adaptación a condiciones de sequía, pero no respondieron a la irrigación, estas son SER 78, NCB 280, SEA 15 y SER 125.

La característica biomasa del cultivo presentó una correlación positiva altamente significativa con rendimiento de grano bajo condiciones de sequía. Algunas investigaciones han reportado que la acumulación de biomasa aérea es considerada como una característica importante para lograr mayores producciones de grano en leguminosas (Samper y Adams, 1985; Saxena *et al.*, 1990; Rosales-Serna *et al.* 2004). Resultados similares se encontraron en este ensayo realizado bajo condiciones de campo, en el cual una mayor acumulación de biomasa aérea ayuda a obtener un mayor rendimiento de grano bajo condiciones de sequía.

En la figura 10, se muestra la relación entre biomasa del cultivo y producción de grano bajo condiciones de sequía. Esta característica no mostró diferencias significativas entre genotipos, sin embargo las líneas NCB 226, SER 78, SEN 56, SER 113, SER 16, NCB 280 y SEN 36 fueron sobresalientes en biomasa del cultivo combinado con alta producción de grano bajo sequía; a diferencia de líneas como DOR 390 y SXB 418 que mostraron un alta biomasa del cultivo pero baja producción de grano, indicado que estas líneas tienen limitaciones en la movilización de fotoasimilados de hojas o tallos a la formación de grano.

Tabla 4 Índice de área foliar, lectura de clorofila SPAD y conductancia estomática de 21 líneas bajo condiciones de riego y sequía en Palmira 2009

Línea	Índice de área foliar (m ² m ⁻²)		Lectura de clorofila SPAD		Conductancia estomática (mmol m ⁻² s ⁻¹)	
	Riego	Sequía	Riego	Sequía	Riego	Sequía
BAT 477	3.17	2.41	31.2	35.9	280.2	177.4
Carioca	2.48	2.35	33.7	41.3	219.9	195.9
DOR 390	3.19	1.99	37.8	39.8	321.0	186.8
G 40001	2.77	1.67	35.8	44.4	261.8	155.4
NCB 226	3.19	3.35	36.8	39.7	357.7	199.1
NCB 280	3.02	2.47	32.9	37.9	352.1	166.7
RCB 273	2.71	2.22	36.4	41.1	347.9	224.4
SEA 15	2.71	2.23	33.0	38.9	202.5	215.9
SEN 36	4.06	2.77	34.7	39.6	274.2	252.4
SEN 56	2.02	2.48	36.4	41.8	294.9	206.2
SER 109	2.95	2.47	31.0	38.5	345.2	139.8
SER 113	3.36	2.94	30.6	37.6	202.4	228.3
SER 118	3.00	2.42	31.5	39.0	226.3	153.9
SER 125	3.64	2.26	31.3	34.1	370.7	207.2
SER 16	3.17	2.51	31.1	35.5	298.8	206.3
SER 78	2.62	2.75	35.2	38.3	304.4	215.2
SXB 405	2.39	2.64	32.3	40.1	414.4	255.6
SXB 412	3.13	2.62	33.5	38.1	252.3	186.3
SXB 415	3.27	2.72	33.0	38.6	381.6	239.4
SXB 418	4.19	3.64	31.6	33.4	235.2	215.0
Tío Canela 75	3.13	2.17	34.1	36.8	370.8	150.9
Promedio	3.06	2.53	33.5	38.6	300.7	199.0
DMS_{0.05}	NS	0.84*	3.4**	3.8***	177.5**	NS

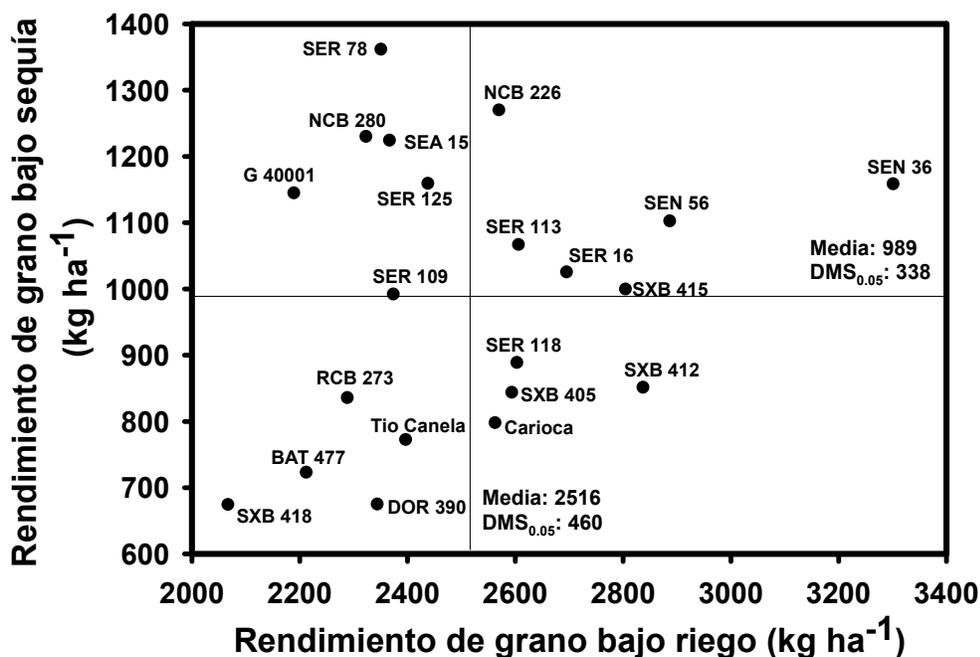


Figura 9 Relación entre rendimiento de grano bajo riego y sequía de 21 líneas de frijol en Palmira 2009. Las líneas que combinan adaptación a sequía y respuesta a la irrigación están en el cuadrante superior derecho.

Según la evaluación en cilindros con suelo en invernadero, líneas sobresalientes en biomasa y producción de grano bajo sequía terminal en campo, SEN 56, SER 16 y NCB 226 presentan una mayor profundización de raíces (figura 6), combinado con un sistema de raíces menos fino (Figura 7). Las líneas BAT 477, Tío Canela 75 y Carioca mostraron un bajo desarrollo de biomasa del cultivo (vigor), por lo tanto baja producción de grano bajo condiciones de estrés hídrico. Trabajos previos de investigación como los desarrollados por Sponchiado *et al.* 1989, y la evaluación de raíces en condiciones de invernadero presentadas en este trabajo, permiten concluir que hay un comportamiento sobresaliente de la línea BAT 477 en profundización y producción de raíces bajo estrés por sequía (Figura 6); sin embargo, esta línea no está desarrollando estructuras aéreas y mucho menos alcanza una alta producción de grano. La anterior situación, permite resaltar la importancia de combinación de diferentes características para lograr

una mejor adaptación a sequía. En condiciones de irrigación no se presentó correlación entre biomasa del cultivo y rendimiento de grano (Tabla 3).

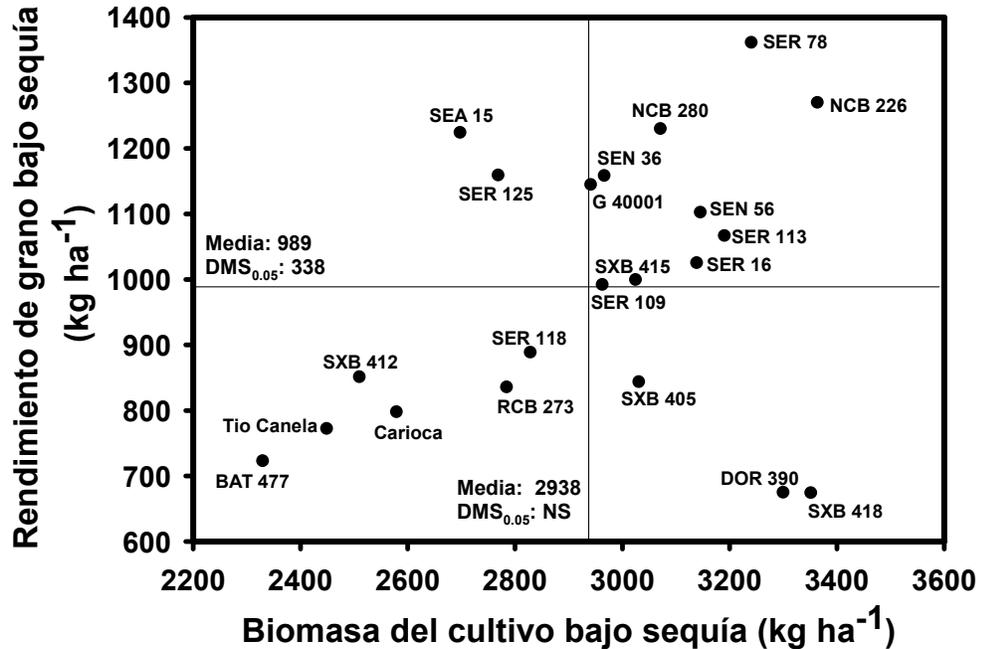


Figura 10 Relación entre biomasa del cultivo y rendimiento de grano bajo sequía de 21 líneas de frijol en Palmira 2009. Las líneas que combinan mayor biomasa del cultivo con mayor rendimiento de grano bajo sequía están en el cuadrante superior derecho.

Las características relacionadas con movilización de fotoasimilados, tales como Índice de partición a vaina que indica la movilización de estructuras aéreas a la formación de vaina, el índice de cosecha de vaina que indica la movilización de vaina a la formación de semilla e índice de cosecha que indica la movilización de parte aérea de la planta a la formación de semilla, mostraron correlación significativa y positiva con producción de grano bajo condiciones de sequía, destacando la importancia que tiene una buena movilización de fotoasimilados bajo condiciones de estrés (Tabla 3). Trabajos previos indican que una caracteriza importante en la adaptación a sequía es la capacidad que presentan los cultivares

a redistribuir los foto-asimilados almacenados a semilla, los cultivares tolerantes a sequía son más eficientes en la producción y movilización de fotoasimilados a semilla (Samper y Adams, 1985; Rosales-Serna *et al.* 2000; Rao 2001; Rosales-Serna *et al.* 2004; Beebe *et al.* 2008; Beebe *et al.* 2010.). La característica reducción de biomasa del tallo que indica la movilización de fotoasimilados desde el tallo, no presentó correlación con producción de grano bajo estrés por sequía (Tabla 3), las plantas bajo estrés por sequía presentaron una mayor reducción de biomasa del tallo en promedio de 31.4 % que bajo condiciones de irrigación que fue del 2.5%, indicando la importancia de la movilización de fotoasimilados desde el tallo; sin embargo al ser una característica que muestra una gran variación (CV: 62%), no se observan diferencias entre genotipos y tampoco correlación con producción de grano.

Las líneas que sobresalieron en la movilización de fotoasimilados de estructuras aéreas como hojas y tallos a la formación de vainas bajo estrés por sequía fueron SEA 15, NCB 226, SER 125, SER 113, SER 78, SEN 36 y SEN 56 (Figura 11). Las líneas SEN 56, NCB 226 y SEA 15 siguen combinando características deseables como buena profundización de raíz (Figura 6), buen vigor (Figura 10) combinando con una buena movilización de fotoasimilados a la formación de vaina y semilla (Figura 11 y 12). Las líneas SXB 405, SXB 418 y DOR 390 mostraron una deficiente capacidad de movilizar fotoasimilados a la formación de vainas, nótese que estos mismo genotipos presentan un buen vigor bajo estrés por sequía (biomasa del cultivo figura 10) e igualmente en el caso de SXB 418 presenta un buen sistema de raíces bajo sequía (Figura 6), lo que le permite la formación de esa biomasa, pero no son capaces de movilizarlo a la formación de vainas, limitando el rendimiento.

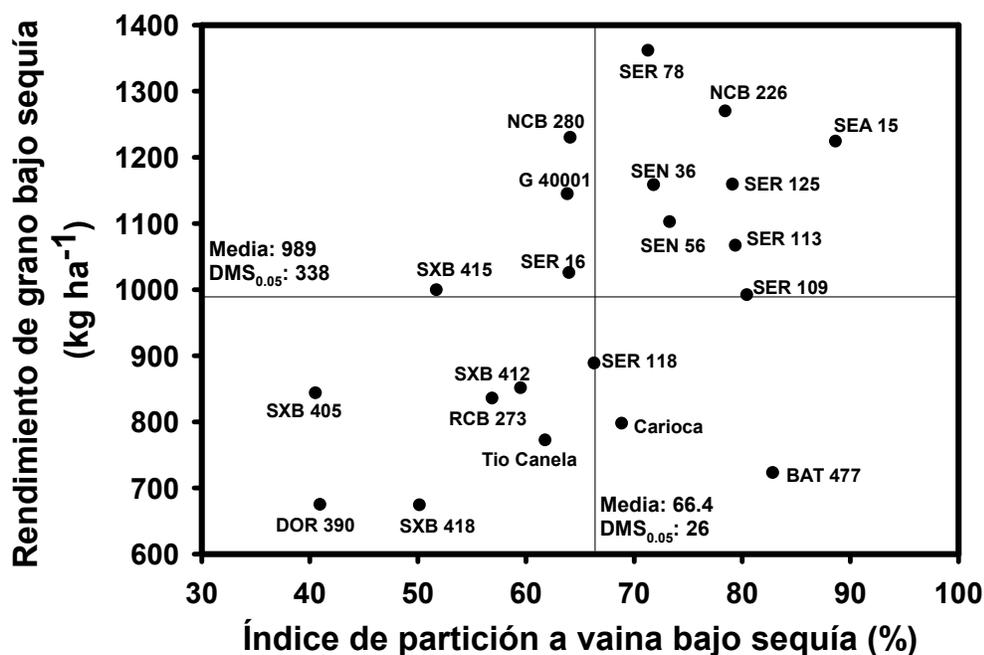


Figura 11 Relación entre índice de partición a vaina y rendimiento de grano bajo sequía de 21 líneas de frijol en Palmira 2009. Las líneas que combinan mayor movilización de fotoasimilados a la formación de vaina con mayor rendimiento de grano bajo sequía están en el cuadrante superior derecho.

De igual manera, las mismas líneas, excepto SEN 36, presentaron una mayor movilización de fotoasimilados de vaina a la formación de grano, el cual es determinado por el índice de cosecha de vaina (Figura 12), siendo mucho más productivas bajo condiciones de estrés por sequía. El genotipo SEN 36 que ha presentado buena adaptación combinada con buen vigor y buena movilización de fotoasimilados a vaina, no se presenta una alta conversión de este carbono a semilla, dejando mucho de este en la cáscara; es un genotipo que puede ser mucho más productivo si se mejora esta característica.

En general las líneas SXB (405, 418 y 412) mostraron una pobre movilización de fotoasimilados de vaina a formación de grano bajo estrés por sequía (Figura 12),

siendo una característica a mejorar ya que son materiales que presentan un buen vigor en especial SXB 405 y SXB 418. Nuevamente DOR 390 y Tío Canela 75 combinaron poca adaptación con baja movilización de fotoasimilados de vaina a grano bajo sequía.

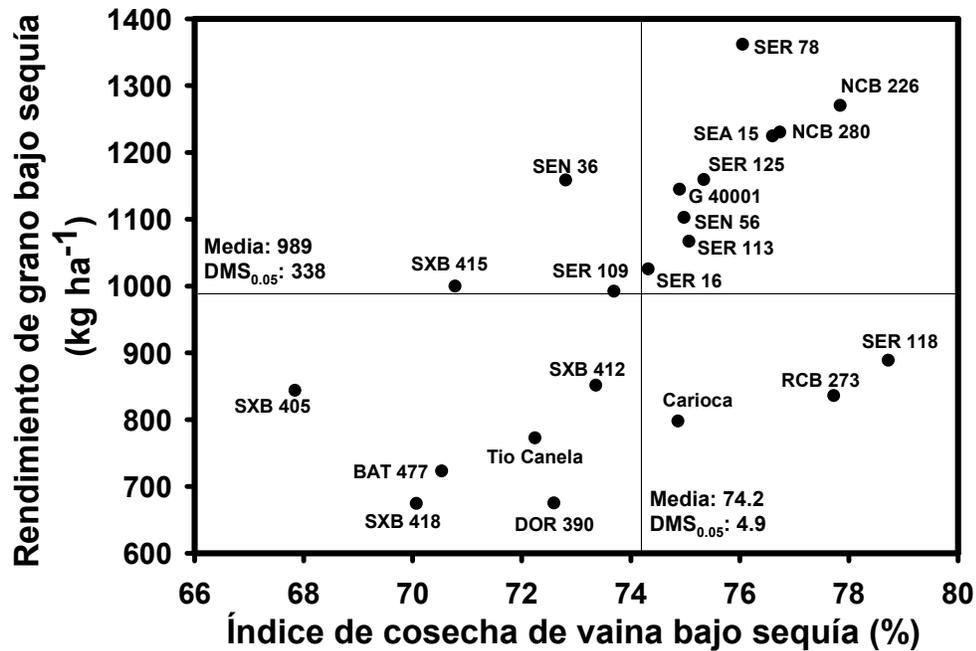


Figura 12 Relación entre índice de cosecha de vaina y rendimiento de grano bajo sequía de 21 líneas de frijol en Palmira 2009. Las líneas que combinan mayor movilización de fotoasimilados de vaina a la formación de semilla con mayor rendimiento de grano bajo sequía están en el cuadrante superior derecho.

Discriminación de isótopo de carbono ¹³C presenta una correlación significativa y positiva con rendimiento de grano bajo condiciones de sequía (Tabla 3); esta es una variable que se relaciona con uso eficiente de agua en plantas C3 como el frijol; a mayor discriminación de ¹³C, menor eficiencia de uso de agua; esta correlación positiva indica que en frijol común los materiales más productivos de grano, son aquellos que están transpirando más, usando menos eficiente el agua.

Resultados similares a los reportados por White *et al.* 1990, quien encontró una relación entre los mayor rendimiento con una mayor discriminación de ^{13}C bajo estrés por sequía en frijol.

Entre los genotipos que están combinando alto rendimiento de grano con alta discriminación de ^{13}C bajo sequía (menos uso eficiente de agua), están: NCB 226, SER 125, SXB 415, NCB 280, SER 16, SEN 36, SEN 56 y SEA 15 (Figura 13); igualmente estos genotipos también presentan mayor biomasa del cultivo bajo estrés (Figura 10), indicando que son líneas que presentan una mayor transpiración, uso de agua, mayor intercambio de gases para obtener un mayor vigor y producción de grano.

Algunos genotipos que mostraron alta discriminación de ^{13}C , NCB 226, SER 16, SEN 56 y SEA 15 presentaron una mayor profundización de raíces en términos de longitud en el perfil 60-75 cm del suelo bajo estrés por sequía en evaluación en invernadero (Figura 6), mostraron que son genotipos que están combinando raíces profundas que le permiten extraer más agua si está disponible en perfiles inferiores del suelo, y así mantener unas tasas altas de transpiración e intercambio gaseoso, resultando en un mayor crecimiento (Figura 10). White *et al.* 1990 igualmente encontraron una relación positiva entre discriminación ^{13}C y densidad de longitud de raíz, la hipótesis desarrollada a partir de este resultado en frijol común sugiere que, las plantas bajo estrés hídrico que tienen posibilidad de producir raíces más profundas, y por lo tanto acceder a más agua, sufriendo menos el estrés hídrico, resultando en una mayor conductancia estomática y por lo tanto mayor discriminación de ^{13}C (A. E. Hall 2004; White *et al.* 1990; White 1993).

La línea SER 78, la cual fue sobresaliente en la producción de grano bajo estrés por sequía, presenta una muy baja discriminación de ^{13}C , indicando que es una línea que usa eficientemente el agua. DOR 390, Tío Canela 75 y Carioca están en el grupo de líneas con uso eficiente de agua pero con bajo rendimiento (Figura

13), posiblemente debido a un cierre estomático que disminuyó la tasa de intercambio de gases afectando el crecimiento. Bajo condiciones de irrigación esta característica no mostró correlación con producción de grano (Tabla 3).

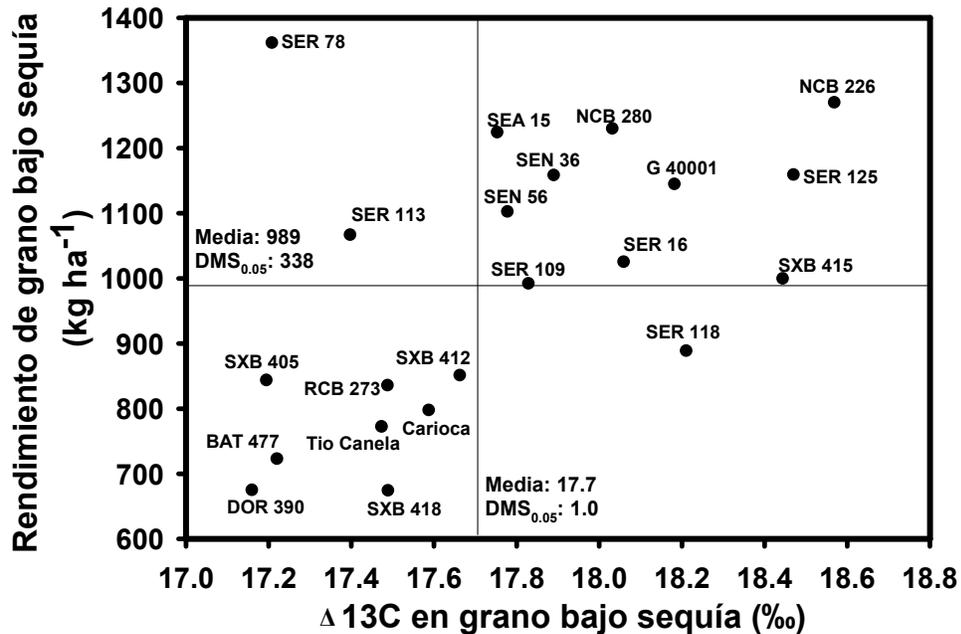


Figura 13 Relación entre discriminación de isótopo de carbono 13 y rendimiento de grano bajo sequía de 21 líneas de frijol en Palmira 2009. Las líneas que combinan mayor discriminación de ^{13}C (menor uso eficiente de agua) con mayor rendimiento de grano bajo sequía están en el cuadrante superior derecho.

Entre las variables fenológicas determinadas, días a floración y días a madurez fisiológica mostraron una correlación altamente significativa y negativa con rendimiento de grano bajo condiciones de estrés por sequía (Tabla 3), destacando la importancia de la precocidad, combinado con una mayor formación de grano por día, como mecanismo de adaptación al estrés por sequía en frijol común. Resultados similares en frijol común fueron obtenidos por Mayor 2010, en donde los genotipos más productivos de grano bajo estrés por sequía, presentaban

mayor precocidad. Bajo estrés por sequía terminal, la alta producción de grano es favorecido por la capacidad de la planta de acelerar los días a madurez manteniendo alto índice de cosecha (movilización de fotoasimilados a grano), de igual manera temprana floración y madurez reduce el impacto negativo del estrés (Acosta-Gallegos y White, 1995, Rosales-Serna *et al.* 2004). El menor tiempo a madurez está asociado a bajo potencial de rendimiento, debido que por cada día menos de desarrollo se perdía 74 kg/ha de rendimiento de grano (White y Singh 1991). Investigación recientes, en donde se selecciono materiales precoces en floración y madurez bajo estrés por sequía terminal, combinado con mayor producción de grano, indicaron que la ganancia en rendimiento por día es superior, sugiriendo cambios en la planta relacionados a una mayor eficiencia en la acumulación de fotoasimilados (Beebe *et al.* 2008).

Las líneas que presentaron mayor precocidad en días a floración, combinado con un mayor rendimiento de grano bajo sequía fueron SEA 15, G 40001, NCB 280, SER 16, SEN 56 y SER 125 (Tabla 5, Figura 14). Las líneas SXB 405, Carioca, DOR 390 y Tío Canela 75 se encuentran entre las más tardías bajo estrés por sequía (Figura 14). Las líneas con mayor precocidad en días a madurez fisiológica fueron las mismas que días a floración descritas anteriormente (Tabla 5). Las variables días a floración y días a madurez fisiológica, tampoco mostraron alguna relación con rendimiento de grano bajo condiciones de riego (Tabla 3).

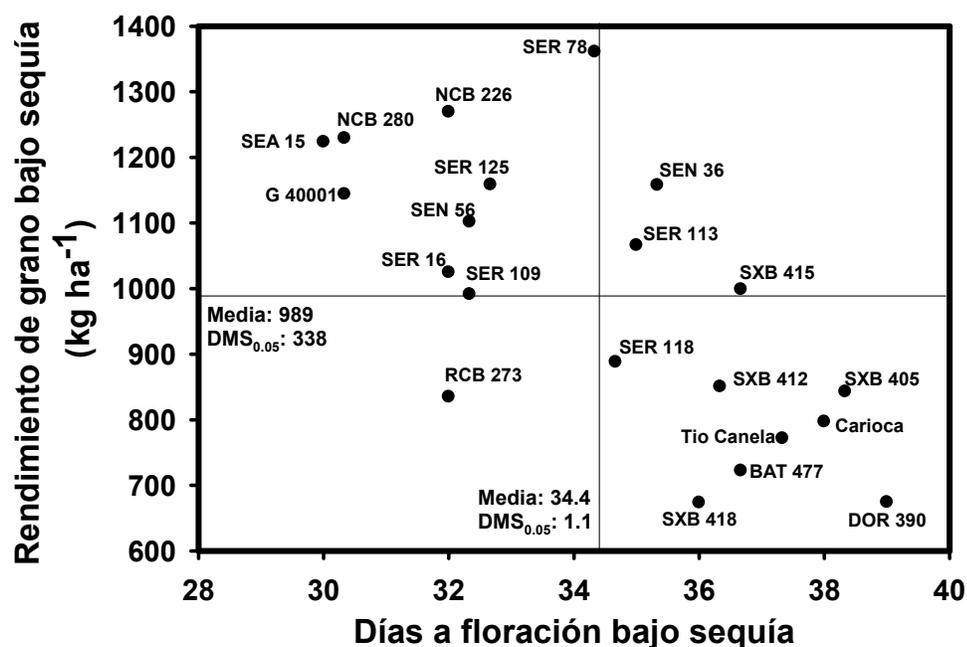


Figura 14 Relación entre días a floración y rendimiento de grano bajo sequía de 21 líneas de frijol en Palmira 2009. Las líneas que combinan menor tiempo a floración con mayor rendimiento de grano bajo sequía están en el cuadrante superior izquierdo.

En promedio, el peso de 100 semillas bajo condiciones de sequía fue inferior en un 33% al peso de 100 semillas bajo condiciones de riego, información que permite concluir, que el estrés por sequía tiene un marcado efecto sobre el llenado de grano. Se observó una correlación altamente significativa y positiva entre rendimiento de grano y peso de 100 semillas bajo condiciones de sequía (Tabla 3), resaltando la importancia que tiene la movilización de fotoasimilados al llenado de semillas, resultados que concuerdan con los encontrados por Mayor 2010. Igualmente el peso de 100 semillas en frijol es un componente de rendimiento que ha mostrado una alta heredabilidad (White *et al.* 1994, Muñoz *et al.* 2006). Las líneas que presentaron grano más grande y pesado bajo condiciones de sequía fueron SEA 15, NCB 226, SER 125, SER 113 y NCB 280 (Tabla 5).

Tabla 5 Días a floración, días a madurez fisiológica y peso de 100 semillas de 21 líneas de frijol bajo condiciones de riego y sequía en Palmira 2009

Línea	Días a floración		Días a madurez fisiológica		Peso de 100 semillas (g)	
	Riego	Sequía	Riego	Sequía	Riego	Sequía
BAT 477	36	37	71	64	23.7	16.0
Carioca	38	38	75	65	26.3	17.0
DOR 390	39	39	72	66	22.0	14.3
G 40001	32	30	60	56	12.7	11.7
NCB 226	32	32	65	65	33.7	23.3
NCB 280	31	30	64	57	32.7	21.7
RCB 273	31	32	65	60	28.3	18.3
SEA 15	30	30	62	56	35.3	25.0
SEN 36	34	35	68	65	27.7	18.3
SEN 56	32	32	64	58	30.3	20.0
SER 109	31	32	64	59	29.3	20.7
SER 113	36	35	68	61	31.7	22.0
SER 118	34	35	68	61	31.3	20.7
SER 125	31	33	64	59	30.0	23.0
SER 16	31	32	64	57	28.0	19.3
SER 78	33	34	64	59	24.7	17.7
SXB 405	37	38	71	65	31.3	19.3
SXB 412	37	36	71	62	27.7	19.3
SXB 415	37	37	69	63	33.0	19.0
SXB 418	37	36	71	66	32.7	18.3
Tío Canela 75	38	37	75	66	24.7	16.0
Promedio	34	34	67	61	28.4	19.1
DMS_{0.05}	1.16***	1.15***	1.33***	1.43***	1.71***	2.56***

5.3 ESTIMACIÓN DE LA HEREDABILIDAD

De las características de raíces evaluadas en el invernadero, se seleccionaron algunas para estimar su heredabilidad, basado en la alta correlación significativa que mostraron con producción de biomasa foliar, estas características fueron, longitud total de raíz bajo estrés (cm/planta), proporción de raíces finas bajo estrés (%), profundización visual de raíz bajo estrés a los 35 días después de siembra

(cm), longitud de raíz en la profundidad del suelo 40-60 cm (m/planta) y longitud de raíz en la profundidad del suelo 60-75 cm (m/planta).

Tabla 6 Cuadrados medios y heredabilidad en sentido amplio de 5 características de raíces bajo estrés por sequía

Fuentes de variación	Grados libertad	longitud total de raíz (cm/planta)	Proporción de raíces finas (%)	Profundización visual de raíz a los 35 dds (cm)	Longitud de raíz en la profundidad del suelo 40-60 cm (m/planta)	Longitud de raíz en la profundidad del suelo 60-75 cm (m/planta)
Repetición	2	35.8319	24.8668	65.3125	4.1092	5.7377
Genotipos	20	64.5424	15.2796	157.6458	12.5440	5.9492
Error	40	27.3329	7.1745	49.8527	4.9268	2.6348
h^2		0.58	0.53	0.68	0.61	0.56

dds: días después de siembra

Otras de las características seleccionadas para estimar la heredabilidad fueron las siguientes: índice de cosecha de vaina (%), índice de partición a vaina (%), días a floración y discriminación de isotopo de carbono (0/00), basados en su alta y significativa correlación con rendimiento y la facilidad en su determinación, a estas características se le calculo la heredabilidad en sentido amplio en base a los cuadrados medios expresados en la tabla 7. Las características biomasa del cultivo e índice de área foliar que mostraron una alta correlación con producción de grano bajo sequía terminal, no se tuvieron en cuenta para la estimación de heredabilidad debido a que no presentaron diferencias significativas entre genotipos. Los análisis de varianza completos para las características que se calculo heredabilidad en sentido amplio son mostrados en el anexo b.

Tabla 7 Cuadrados medios y heredabilidad en sentido amplio de 4 características de foliares bajo estrés por sequía

Fuentes de variación	Grados libertad	Índice de cosecha de vaina (%)	Índice de partición a vaina (%)	Días a floración	Discriminación de isotopo de carbono (0/00)
Repetición	2	0.6939	164.70	2.5873	2.3438
Genotipos	20	23.5851	546.78	23.5968	0.6078
Error	40	9.1064	256.26	0.4873	0.3900
h^2		0.61	0.53	0.98	0.36

Las estimaciones de heredabilidad en las 21 líneas mesoamericanas de frijol bajo estrés por sequía, indican, que características de raíces como: longitud total de raíz bajo estrés (cm/planta), proporción de raíces finas bajo estrés (%), profundización visual de raíz bajo estrés a los 35 días después de siembra (cm), longitud de raíz en la profundidad del suelo 40-60 cm (m/planta) y longitud de raíz en la profundidad del suelo 60-75 cm (m/planta) presentan una alta heredabilidad mayor a 0.5 (Tabla 6). Araujo *et al.* 2005 reportaron una heredabilidad similar para longitud total de raíz bajo estrés abiótico en frijol común. Otros investigadores han reportado heredabilidades entre 0.5 y 0.6 para longitud de raíz en maní bajo estrés por sequía (Songsri *et al.* 2008; Painawadee *et al.* 2009). Las características anteriores mostraron una alta correlación con producción de biomasa foliar bajo estrés por sequía, y no estuvieron relacionadas con baja producción de biomasa bajo condiciones óptimas de riego (Tabla 2). Adicionalmente, características como profundización visual de raíz, son de muy fácil y de bajo costo para determinar.

Las características de movilización de fotoasimilados como índice de cosecha de vaina (%) e índice de partición a vaina (%), presentaron una heredabilidad alta de 0.61 y 0.53 respectivamente (Tabla 7), Ramírez-Vallejo *et al.* 1998, han reportado heredabilidad alta bajo estrés por sequía en frijol común para una característica de movilización de fotoasimilados como lo es índice de cosecha; de estas dos

caracteres, índice de cosecha de vaina presentan una alta facilidad en su determinación. La características fenológica días a floración, mostró la más alta heredabilidad. Investigaciones previas, han reportado que días a floración es una característica de alta heredabilidad en frijol común (Balcha 2010, Ramírez-Vallejo *et al.* 1998, Singh *et al.* 1991, White & Singh 1991). Una característica promisoría relacionada con eficiencia de uso de agua, que es discriminación de isotopo de carbono ($0/00$), presento una leve heredabilidad, es una característica muy fácil de determinar la cual amerita realizar más estudios.

De las 11 características morfo-fisiológicas de raíces evaluadas en condiciones de invernadero, solo seis presentaron correlaciones significativas y positivas con producción de biomasa foliar bajo estrés por sequía terminal. Sobresalen longitud total de raíz (cm/planta), proporción de raíces finas (%), profundización visual de raíz a los 35 días después de siembra (cm), longitud de raíz en la profundidad del suelo 40-60 cm (m/planta) y longitud de raíz en la profundidad del suelo 60-75 cm (m/planta). Las anteriores características también presentaron una alta heredabilidad y son de gran potencial como criterio de selección para adaptación a sequía en frijol común.

Es de resaltar lo acertada que es la metodología de cilindros plásticos con suelo, desarrollada por CIAT, ya que permite observar variabilidad genética en producción y profundización de raíces bajo condiciones óptimas y estrés, por lo tanto poder caracterizar líneas de frijol por estas características. De manera complementaria se debe realizar muestreos en campo para poder comprobar el comportamiento en raíces de algunos materiales evaluados en invernadero.

Entre las características relacionadas con vigor, eficiencia de uso de agua, fenología y movilización de fotoasimilados evaluadas bajo condiciones de campo, solo nueve mostraron correlación significativa con rendimiento de grano bajo estrés por sequía terminal; sobresaliendo días a floración, días a madurez fisiológica, biomasa del cultivo, índice de área foliar, índice de cosecha de vaina y

discriminación de isótopo de carbono en grano. En este grupo de características correlacionadas con producción de grano, algunas de ellas sobresalen por su alta heredabilidad como lo son Índice de cosecha de vaina (%), Índice de partición a vaina (%), Días a floración y Discriminación de isótopo de carbono (0/00), su determinación es de bajo costo y de fácil implementación por cualquier institución, por lo tanto presentan un gran potencial para ser usadas como criterios de selección en el programa de mejoramiento por adaptación a sequía en frijol común.

Los diferentes ensayos realizados permitieron caracterizar el grupo de 21 líneas de frijol por sus expresiones fisiológicas; algunas fueron sobresalientes en varias características y otros genotipos, solo fueron sobresalientes en una o un par de características fisiológicas. Dos líneas de grano negro pequeño como SEN 56 y NCB 226 se caracterizaron por presentar una buena profundización de raíces, mayor proporción de raíces gruesas, un mayor vigor en campo, combinado con una mayor movilización de fotoasimilados a la formación de vaina y grano, resultado en un mayor rendimiento de grano bajo condiciones de sequía terminal. SER 16 y SER 109, fueron dos líneas de grano rojo pequeño que presentaron una buena profundización de raíz que le permitía tener una buena tasa de transpiración y vigor, pero presentaron un comportamiento promedio en movilización de este vigor a la formación de vaina y grano bajo condiciones de sequía terminal. La línea SEA 15, fue sobresaliente en producción y profundización de raíces bajo sequía, con gran proporción de raíces gruesas, combinado con mayor transpiración, siendo un buen candidato a ser usado como padre para estas características.

La líneas SER 118, de grano rojo pequeño, presenta una sobresaliente tasa de movilización de fotoasimilados a la formación de vaina y grano, pero mostró deficiencias en el desarrollo de vigor (biomasa del cultivo). Es una línea que puede

ser involucrada en el programa de mejoramiento como padre para las características de movilización.

Algunas líneas, como los testigos BAT 477 y Tío Canela 75, se caracterizaron por una buena producción y profundización de raíces bajo estrés por sequía terminal, sin embargo presentaron un cierre estomático (discriminación de isotopo de carbono) y baja acumulación de biomasa foliar; lo que evidencia que selección únicamente por vigor de raíces no es suficiente para lograr mayor adaptación a sequía en frijol común. Es pertinente combinar diferentes características como movilización de fotoasimilados y vigor.

6. CONCLUSIONES

- Se identificaron nueve características morfo-fisiológicas asociadas con la adaptación a sequía en frijol común, las cuales presentaron una alta correlación con vigor y producción de grano, combinado con una alta heredabilidad en sentido amplio, entre estas características están: longitud total de raíz (cm/planta), proporción de raíces finas (%), profundización visual de raíz (cm), longitud de raíz en la profundidad 40-60 y 60-75 cm del suelo (m/planta), índice de cosecha de vaina (%), índice de partición a vaina (%), días a floración y discriminación de isotopo de carbono (0/00).
- En frijol común, mayor profundización de raíces bajo estrés por sequía está contribuyendo a un mayor uso de agua (mayor transpiración y discriminación de ^{13}C), resultando en un mayor vigor de la planta en términos de mayor producción de follaje
- La movilización de fotoasimilados es de alta importancia para mejorar la adaptación a sequía en frijol común. Genotipos más productivos, están combinando una alta movilización de fotoasimilados desde diferentes estructuras de la planta como tallo y hojas a la formación de vainas (índice de partición de vaina), con una alta movilización de estos desde la cascara de la vaina a la formación de semilla (índice de cosecha de vaina). Para obtener materiales más productivos es apropiado una combinación de estas características con un mayor vigor de la planta.
- Los genotipos de frijol con mayor producción de grano bajo estrés por sequía se caracterizaron por presentar un ciclo fenológico más corto, menor días a floración y menor días a madurez fisiológica, indicando un ajuste en

su ciclo fenológico para escapar del estrés combinado con mayor producción de grano por día

- Para mejorar adaptación a sequía en frijol es pertinente combinar características morfo-fisiológicas tanto de raíces como de vigor y movilización, selección por una única característica no siempre puede conllevar a una mayor producción de grano.
- Las líneas NCB 226, SER 16, SEN 56 y SEA 15 se caracterizaron por presentar una mayor producción de raíces bajo estrés por sequía, permitiéndoles una mayor transpiración, combinado con un mayor vigor de la planta y una sobresaliente tasa de movilización de fotoasimilados resultado en una alta producción de grano. Estas líneas mostraron una sobresaliente adaptación a sequía y pueden ser incluidas como padres en el programa de mejoramiento de frijol.
- La línea SEA 15 sobresale por su mayor profundización de raíces, producción de raíces y mayor proporción de raíces gruesas bajo estrés por sequía, mientras la línea SER 118 sobresale por sus altas tasas de movilización de fotoasimilados. En su conjunto se convierten en padres potenciales para programas de hibridación que tienda a mejorar estas características.

BIBLIOGRAFÍA

Acosta-Gallegos J. A, and White J. W., 1995. Phenological plasticity as an adaptation by common bean to rainfed environments. *Crop Science* 35:199–204

Abbate, P.; Dardanelli, J.; Cantare-ro, M.; Maturano, M.; 2004. Climatic and water availability effects on water use efficiency in wheat. *Crop Sci.* 44: 474-483

Araujo, A. P., Ferreira, I., and Grandi M., 2005. Inheritance of root traits and phosphorus uptake in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under limited soil phosphorus supply. *Euphytica* 145: 33–40

Balcha, Alemayehu. 2010. Genetic variation for grain yield and water absorption in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Afr. J. Food Sci. Technol.* Vol. 1(6) pp. 128-131

Balota, M. Payne, W. A. Evett, S. R. and Lazar, M. D. 2007. Canopy temperature depression sampling to assess grain yield and genotypic differentiation in winter wheat. *Crop Sci.* 47: 1518-1529

Bänziger M., P. S. Setimela, D. Hodson, and B. Vivek. 2006. Breeding for improved drought tolerance in maize adapted to southern Africa. *Agricultural Water Management* 80: 212-224

Beebe, S., I.M. Rao, C. Cajiao y M. Grajales. 2008. Selection for drought resistance in common bean also improves yield in phosphorus limited and favorable environments. *Crop Sci.* 48, 582-592

Beebe, S. E., I. M. Rao, M. W. Blair and J. A. Acosta-Gallegos. 2010. Phenotyping common beans for adaptation to drought. In: J. M. Ribaut and P. Monneveux (eds.) Drought phenotyping in crops: from theory to practice. Generation Challenge Program Special Issue on Phenotyping, pp. 311-334

Blair M.W., M.C. Giraldo, H.F. Buendia, E. Tovar, M.C. Duque and S. Beebe 2006. Microsatellite marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L). Theoretical and Applied Genetics 113:100–109.

Blum, A. 2002. Drought tolerance - is it a complex trait? pp. 17-22. En: Saxena, N.P. y J.C. O'Toole (eds.). Field screening for drought tolerance in crop plants with emphasis on rice. Proc. International Workshop on Field Screening for Drought Tolerance in Rice, 11-14 Dic. 2000. ICRISAT, Patancheru y Rockefeller Foundation, New York, NY.

Blum, A. 2009. Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. Field Crops Research 112, 119-123

Bruce, W. B., Edmeades, G. O., Barker, T. C. 2002. Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. J. Exp. Bot. 53, 13-25

Ceballos, H. 1996. Quantitative Genetics and Plant Breeding Manual. Universidad Nacional de Colombia. Palmira. 337 pp. (In Spanish)

Condon A. G., R. A. Richards, G. J. Rebetzke and G. D. Farquhar. 2004. Breeding for high water-use efficiency. Journal of Experimental Botany, Vol. 55, 2447–2460

Eissenstat, D.M. 1992. Costs and benefits of constructing roots of small diameter. J. Plant Nutr. 15, 763-782

Evans, L. T. 1984. Physiological aspects of varietal improvement. In: JP Gustafson, ed. Gene Manipulation in Plant Improvement. New York: Plenum, pp 121-146

FAOSTAT. Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO). 2010. FAOSTAT ProdSTAT, Crops, <http://faostat.fao.org> (ingresado septiembre 2010).

Farquhar, G. D., Ehleringer, J. R. And Hubick, K. T. 1989. Carbon Isotope discrimination and photosynthesis, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 40:503-37

Feng, Baili. Yu, H. Hu, Y. Gao, X. Gao, J. Gao, D and Zhang S. 2009. The physiological characteristics of the low canopy temperature wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under simulated drought condition. Acta Physiol Plant 31:1229-1235

Fischer, R. A., D. Reed, K. D. Sayre, Z.-M. Lu, A. G. Condon, and A. Larque Saavedra. 1998. Wheat yield progress associated with higher stomatal conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies. Crop Sci. 38:1467-1475

Gepts, P. and Debouck, D. 1991. Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: Schoonhoven AV (ed) Common beans: research for crop improvement. CIAT, Cali, pp7-53

GIPB, 2009. Tackling climate change through plant breeding and better use of plant genetic resources. Global Partnership Initiative for Plant Breeding Capacity Building (GIPB)

Girdthai, T., S. Jogloy, T. Kesmala, N. Vorasoot, C. Akkasaeng, S. Wongkaew, C.C. Holbrook, and A. Patanothai. 2010. Relationship between root characteristics of peanut in hydroponics and pot studies. *Crop Sci.* 50:159-167

Guo S.-W., Zhou Y., Song N., Shen Q.-R., Zhao Q. 2006. Some Physiological Processes Related to Water Use Efficiency of Higher Plants. *Agricultural Sciences in China*, 5 (6), pp. 403-411

Graham, P. H. and Ranalli, P. 1997. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Field Crops* 53: 131-146

Hall A. E. 2004. Comparative ecophysiology of cowpea, common bean and peanut. En: *Physiology and biotechnology integration for plant breeding* (Editado Nguyen HT y Blum A.). Marcel Dekker Inc. New York, 271-325

Ho, M.D., J.C. Rosas, K.M. Brown y J.P. Lynch. 2005. Root architecture tradeoffs for water and phosphorus acquisition. *Funct. Plant Biol.* 32, 737-748

Huang, B. y H. Gao. 2000. Root physiological characteristics associated with drought resistance in tall fescue cultivars. *Crop Sci.* 40, 196-203.

Huang, B. y J.D. Fry. 1998. Root anatomical, physiological, and morphological responses to drought stress for tall fescue cultivars. *Crop Sci.* 38, 1017-1022

IICA-RED SICTA-COSUDE, 2009, Guía técnica para el cultivo de frijol en los municipios de Santa Lucía, Teustepe y San Lorenzo del Departamento de Boaco, Nicaragua

Khan, H., W. Link, T.J. Hocking and F.L. Stoddard, 2007. Evaluation of physiological traits for improving drought tolerance in faba bean (*Vicia faba* L.). *Plant Soil.*, 292: 205-217.

Khan H. R., J. G. Paull, K. H. M. Siddique, F. L. Stoddard. 2010. Faba bean breeding for drought-affected environments: a physiological and agronomic perspective. *Field Crops Research.* 115: 279-286.

Konopka, B., Noguchi, K., Sakata, T., Takahashi, M., Konopkavá, Z. 2007. Effects of simulated drought stress on the fine roots of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) in a plantation forest on the Kanto Plain, eastern Japan. *J For Res.* 12: 143-151

Kulkarni, M., Borse, T., Chaphalkar, S. 2008. Mining anatomical traits: a novel modeling approach for increased water use efficiency under drought conditions in plants. *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 44, 11-21

Liu, L., Y. Gan, R. Bueckert, K.V. Rees, and T. Warkentin. 2010. Fine root distributions in oilseed and pulse crops. *Crop Sci.* 50:222-226.

Lynch, J. 1995. Update on root biology: Root architecture and plant productivity. *Plant Physiol.* 109:7-13.

Mayor, D. Victor Manuel. 2010. Evaluación de líneas de frijol común andino (*Phaseolus vulgaris*) provenientes de cruzas intra/inter acervo para tolerancia a

sequía. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Tesis M.Sc. Ciencias Agrarias.

Morales E. A., 1997. Apuntes metodológicos para el estudio de raíces en plantaciones forestales y bosques naturales. Simposio internacional “posibilidades de manejo forestal sostenible en América tropical” Bolivia

Morton, J. F. (2007). The impact of climate change on smallholder and subsistence agriculture. Proceedings of the National Academy of Sciences, 104, 19680-19685.

Muñoz L.C., M.W. Blair, M.C. Duque, J. Tohme and W. Roca. 2004. Introgression in common bean x tepary bean interspecific congruity-backcross lines as measured by AFLP markers. Crop Science 44:637–645.

Muñoz-Perea C. G., Terán H., Allen R. G., Wright J. L., Westermann D. T. and Singh S. P., 2006. Selection for drought resistance in dry bean landraces and cultivars. Crop Science 46:2111–2120.

Muñoz, C. G., Allen, R. G., Westermann, D. T., Wright, J. L. and Sing, S. P. 2007. Water use efficiency among dry beans landraces and cultivars in drought stressed and non stressed environments. Euphytica 155: 393-402

Nigam , S. N. and Aruna, R. 2007. Stability of soil plant analytical development (SPAD) chlorophyll meter reading (SCMR) and specific leaf area (SLA) and their association across varying soil moisture stress conditions in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Euphytica 160: 111-117

Painawadee, M., Jogloy, S., Kesmala, T., Akkasaeng, C., Patanothai, A. 2009. Heritability and correlation of drought resistance traits and agronomic traits in Peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Asian Journal of Plant Sciences*

Polanía J A., I. M. Rao, S. Beebe y R. García, 2009, Desarrollo y distribución de raíces bajo estrés por sequía en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en un sistema de tubos con suelo; *Agronomía Colombiana* 27(1), 25-32

Polania J., M. Rivera, M. Grajales, C. Cajiao, S. Beebe and I. M. Rao. 2010. Photosynthate remobilization to grain in common bean contributes to improved resistance to terminal drought stress. Póster en la semana del compartir el conocimiento, CIAT, Mayo, 2010

Polley W. H. 2002. Implications of atmospheric and climate change for crop yield and water use efficiency. *Crop Science* 42: 131-140

Ramírez-Vallejo P. and Kelly J. D. 1998. Traits related to drought resistance in common bean. *Euphytica* 99:127–136.

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. p.583-613. In Pessaraki, M. (ed.) *Handbook of Plant and Crop Physiology*. Marcel Dekker, Inc., New York, USA.

Rao, I.M., Beebe, S., Polania, J., Grajales, M., Cajiao, C., Ricaurte, J., Borrero, G. y Rivera, M. 2010. Avances en caracterización fenotípica en adaptación a sequía en frijol común. I Curso Nacional para resistencia a factores bióticos y abióticos. Universidad Nacional de Colombia, Palmira 2 al 4 de Junio de 2010

Rosales-Serna, R., Ramirez, R., Acosta-Gallegos, P. V., Castillo F. G., Kelly, J. D. 2000. Rendimiento de grano y tolerancia a la sequía del frijol común en condiciones de campo. *Agrociencia*, 34, 153-165

Rosales-Serna R, Kohashi-Shibata J, Acosta-Gallegos J. A., Trejo, C., Ortiz, J. and Kelly, J. 2004. Biomass distribution, maturity acceleration and yield in drought-stressed common bean cultivars. *Field Crops Research*. 85:203–211.

Samper, C., Adams, M. W., 1985. Geometric mean of stress and control yield as a selection criterion for drought tolerance. *Ann. Rep. Bean Improv. Cop.* 28, 53-54

Saxena, C. M., Silim. S. N., Sing, B. K., 1990. Effect of supplementary irrigation during reproductive growth on winter and spring chickpea (*Cicer arietium*) I a Mediterranean environment. *J. Agric. Sci.* 114, 285-293

Singh. S. P., Teran. H., Molina, A. and Gutierrez, J. A. 1991. Genetics of seed yield and its components in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) of Andean origin. *Plant Breeding* 107. 254-257

Songsri, P., Jogloy, S., Kesmala, T., Vorasoot, N., Akkasaeng, C., Patanothai, A., and Holbrook, C. 2008. Heritability of drought resistance traits and correlation of drought resistance and agronomic traits in Peanut. *Crop Sci.* 48, 2245-2253

Sorrells, M.E. 2007. Application of new knowledge, technologies, and strategies to wheat improvement. *Euphytica* 157:299-306.

Sponchiado, B., J. White, J. Castillo y P. Jones. 1989. Root growth of four common bean cultivars in relation to drought tolerance in environments with contrasting soil types. *Exp. Agric.* 25, 249-257.

Tambussi E.A., Nogués S., Ferrio P., Voltas J., Araus J.L. (2004) Does a higher yield potential improve barley performance under Mediterranean conditions? A case study. *Field Crops Research*, 91, 149–160.

Thung, M. e I. Rao. 1999. Integrated management of abiotic stresses. pp. 331-370. En: Singh, S. (ed.) *Common bean improvement in the twenty-first century*. Kluwer Academic Publ., Dordrecht, The Netherlands.

Turner, N.C. 1979. Drought resistance and adaptation to water deficits in crop plants. pp. 343-372. En: Mussell, H. y R.C. Staples, (eds.). *Stress physiology in crop plants*. Wiley Interscience, New York, NY.

Uriarte C. A. 2003. *Historia del Clima de la Tierra*. 1a Edición. Servicio central de publicaciones del gobierno Vasco. ISBN: 84-457-2079-1. 306p

White J. W. and Castillo J. A. 1989. Relative effect of root and shoot genotypes and yield on common bean under drought stress. *Crop Science* 29:360-362

White J. W., Castillo J. A., Ehleringer J. R., 1990. Associations between productivity, root growth and carbon isotope discrimination in *Phaseolus vulgaris* under water deficit. *Aust J. Plant Physiol* 17: 189-198

White J. W. and Singh S. P., 1991. Sources and inheritance of earliness in tropically adapted indeterminate common bean. *Euphytica* 55:15–19.

White J. W. 1993. Implications of carbon isotope discrimination studies for breeding common bean under water deficits. En: *Stable Isotopes and plant carbon-water relations*, editado: Ehleringer JR, Hall AE, Farquhar GD. Academic press. San Diego 387-398

White J. W., Ochoa M. R., Ibarra P. F. and Sing S. P. 1994. Inheritance of seed yield, maturity and seed weight of common bean (*Phaseolus vulgaris*) under semi-arid rainfed conditions. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 122: 265-273

White, E.M. and Wilson, F.E.A. 2006. Responses of grain yield, biomass and harvest index and their rates of genetic progress to nitrogen availability in ten winter wheat varieties. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 45: 85–101

ANEXOS



ANEXO A

PROTOCOLO PARA EVALUACIÓN FENOTÍPICA DE FRÍJOL BAJO ESTRÉS POR SEQUÍA

Contactos: Idupulapati M. Rao: i.rao@cgiar.org; José A. Polanía: j.a.polania@cgiar.org; Jaumer Ricaurte: j.ricaurte@cgiar.org; Mariela Rivera: m.rivera@cgiar.org y Gonzalo Borrero: g.a.borrero@cgiar.org

EVALUACIÓN EN CAMPO DE ATRIBUTOS AÉREOS Y DE RAÍCES

Introducción: Los ensayos de campo requieren ser establecidos en la temporada seca del año para determinar diferencias genotípicas en resistencia a sequía en frijol común. Los ensayos pueden incluir accesiones de germoplasma, líneas mejoradas, y líneas recombinantes. Se requiere imponer dos niveles de suministro de agua; irrigado para no estrés y sin riego (solo ambiente) para estrés por sequía, con el objetivo de cuantificar los efectos de intensidad y duración de la sequía sobre crecimiento del cultivo y rendimiento de grano. Es necesario monitorear durante el tiempo de crecimiento del cultivo el contenido de agua en el suelo y los parámetros climáticos (precipitación, temperatura máxima, mínima y media, humedad relativa, evaporación potencial y radiación solar). Estas medidas permitirán la cuantificación del grado de estrés por sequía en diferentes etapas de crecimiento.

Diseño experimental: Dependiendo del número de genotipos a ser evaluados, los ensayos se establecen en diseños de lattice tales como (4 x 5, 6 x 5 o 11 x 10, 4 x 4, 5 x 5 o 6 x 6) con 3 repeticiones en cada tratamiento. Los genotipos en los ensayos pueden ser sembrados en surcos, cada repetición puede estar representada por 2 surcos por genotipo (o 4 para ensayos pequeños) de 3.72 m de longitud con una distancia entre surcos de 0.6 m y un espaciamiento entre plantas de 0.075 m (15 semillas por 1 m de longitud del surco para tener un número final de 10 a 15 plantas por metro) (Figura 1).

Monitoreo de condiciones climáticas: Los parámetros climáticos diarios tales como: precipitación diaria, temperatura mínima y máxima, humedad relativa y evaporación potencial, requieren ser registrados con una estación climatológica automática (Ejemplo: Davis advantage Pro2 Weather station Series 6162C, Davis Instruments). Estas medidas climatológicas y los contenidos de agua en el suelo a través del tiempo son parámetros útiles, para determinar qué tipo de sequía se presentó durante el desarrollo y crecimiento del cultivo (Figura 2) y así mismo identificar genotipos de frijol resistentes a estos tipos de estrés por sequía.

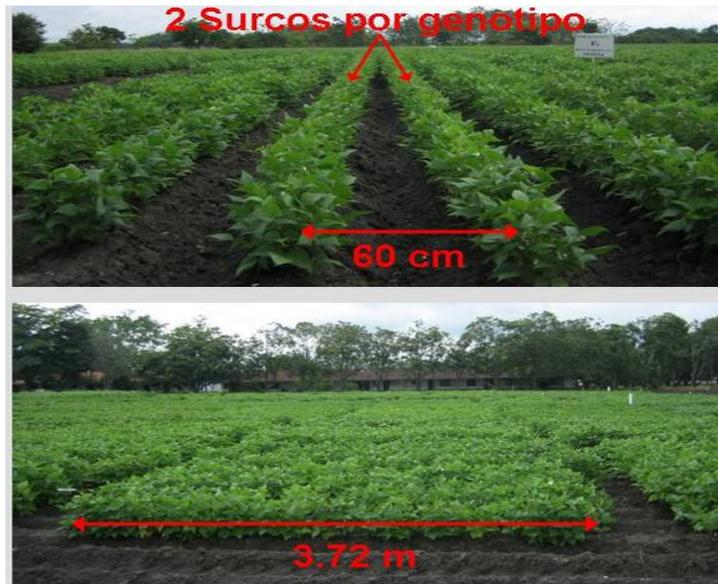


Figura 1. Longitud del surco y distancia entre surcos usada en ensayos de campo en CIAT – Palmira.

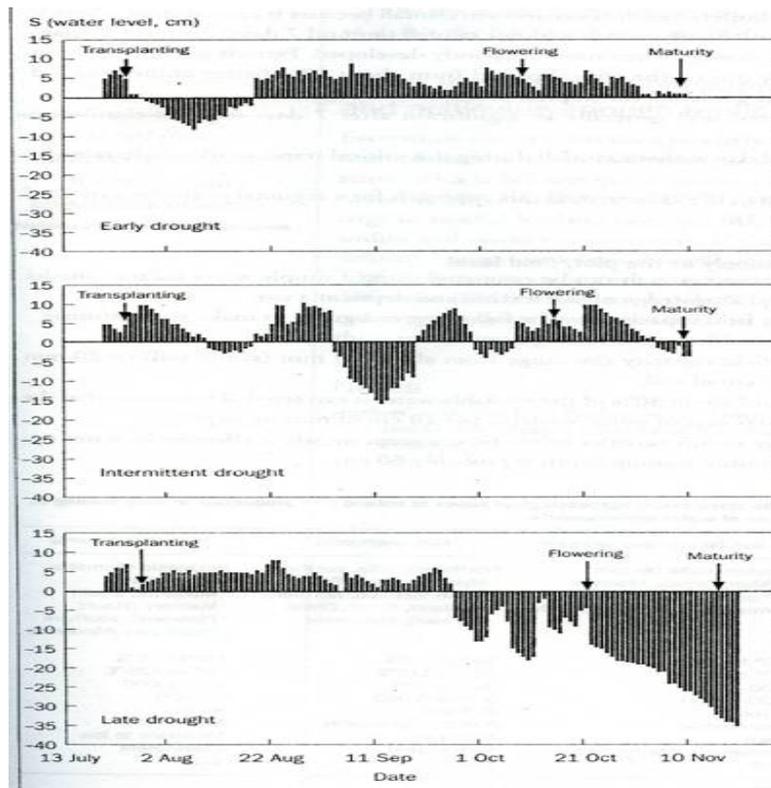


Figura 2. Tipos de estrés por sequía (Fischer *et al.*, 2003).

Inducción de estrés por sequía: Dependiendo de la precipitación, es necesario aplicar de 2 a 3 riegos por gravedad (alrededor de 35 mm en cada riego) para asegurar un buen establecimiento del cultivo. La distribución de estos riegos en sequía es la siguiente: un primer riego de siembra aplicado 4 días antes de siembra, un segundo riego alrededor de los 10 a 12 días después de siembra y un tercer riego máximo 25 días después de siembra. El tratamiento de control requiere de riegos adicionales (4 a 5) dependiendo de la precipitación. Es importante monitorear la cantidad de agua aplicada (Ej. 35 a 50 mm de agua) por cada riego.

Con el objetivo de monitorear el nivel de humedad en el suelo y determinar la intensidad del estrés por sequía, se requiere determinar contenido de humedad gravimétrica en el suelo, para lo cual se toman muestras de suelo con un barreno hasta los 80 cm de profundidad, muestras estratificadas en las siguientes profundidades (0-5, 5-10, 10-20, 20-40, 40-60 y 60-80 cm). El suelo es muestreado con un volumen conocido (cilindros de 5 cm alto x 5 cm de diámetro) para cada profundidad del suelo, este es inmediatamente pesado (peso húmedo) y luego secado en un horno a 105° C hasta un obtener un peso constante, el cual es encontrado entre 24-48 horas. Con los datos anteriores se puede determinar contenido gravimétrico de humedad en el suelo (%) y densidad aparente (g cm^{-3}) (Figura 3).



Figura 3. Muestreo de suelo, determinación de peso seco y formulas para obtener contenido de agua en el suelo y densidad aparente.

Contenido gravimétrico de agua (%), $\theta_m = \frac{M_a * 100}{M_s}$

M_a = peso del agua en la muestra, g y M_s = peso del suelo seco, g

Densidad aparente (g cm^{-3}), $D_a = \frac{M_s}{V_s}$

M_s = peso del suelo seco, g, y V_b = volumen de la muestra de suelo, cm^3

En el mercado se encuentran disponibles equipos para determinar contenido de humedad en el suelo como Watermark-Irrrometer (Figura 4A), El sensor Watermark (sensor de matrix granular) es un método indirecto, calibrado que mide el contenido de humedad en el suelo. Este usa un tipo de sensor de resistencia eléctrica, el cual es leído por un dispositivo lector (Data Logger), quien convierte las medidas de resistencia eléctrica en lecturas calibradas de tensión de agua en KPa. Estos sensores deben de ser instalados en sitio estratégicos en el ensayo, tanto en condiciones de riego como de sequía, y posicionados en diferentes profundidades del suelo (0-10, 10-20, 20-40 y 40-60 cm), las lecturas de contenido de humedad se pueden registrar diariamente desde el momento de instalación de los sensores hasta el tiempo de cosecha de grano.

Complementario a las determinación de humedad en el suelo, la variación en la evapotranspiración por el cultivo de frijol debe de ser monitoreada usando la ayuda de un equipo llamado ET-Gage (Figura 4B). Este es un instrumento útil para monitorear el uso de agua por el cultivo durante su crecimiento y desarrollo, este muestra que cantidad de agua está siendo usada a través de la evapotranspiración. Este equipo cuenta con una cerámica de evaporación en la parte superior del instrumento la cual responde a las condiciones ambientales y sol de la misma manera que las plantas lo hacen; por lo tanto el agua en el reservorio disminuye, y estos cambios son cuantificados en un pequeño tubo medidor que tiene el equipo, registros de agua evapotranspirada son llevados a diario.



Figure 4. Watermark irrometer (A) y ET gage (B) instalados en campo para determinar contenido de humedad en el suelo (A) y evapotranspiración (B).

Detalles de muestreo: Parámetros fenológicos del cultivo como días a floración y días a madurez son de gran importancia y requieren ser registrados. Determinado número de características de la planta son medidas en mitad de llenado de vainas tanto en riego como en sequía con el objetivo de determinar variación genotípica

en resistencia a sequía. Estas características de la planta incluyen contenido de clorofila en la hoja (en unidades SPAD), eficiencia fotosintética, conductancia estomática, temperatura del follaje, depresión de temperatura del follaje, índice de área foliar, biomasa del cultivo y distribución de biomasa en las diferentes estructuras de la planta, contenido y absorción de nutrientes en la parte aérea y contenido CTN en la parte aérea (Carbohidratos totales no estructurales).

Contenido de clorofila en la hoja (SPAD): es determinado usando un medidor de clorofila de mano no destructivo (SPAD-502 Chlorophyll Meter, Minolta Camera Co., Ltd., Japan). El SPAD-502 determina la cantidad relativa de clorofila presente en la hoja mediante la medida 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 transmitancia en la región cercana a la infrarroja. El SPAD-502 mide la absorbancia de la hoja en las regiones rojo y cercana a infrarrojo, y usando esas 2 transmitancias, el medidor calcula un valor numérico SPAD (Soil Plant Analysis Development), en un rango de 0 a 80 el cual es proporcional a la cantidad de clorofila en la hoja. El valor de SPAD es medido sobre la hoja joven completamente expandida de una planta por cada repetición (Figura 5).

Temperatura del follaje: Es determinada con la ayuda de un termómetro infrarrojo (Ejem. Telatemp model AG-42D, Telatemp CA, USA) el cual es sostenido a 50 cm desde la superficie del cultivo con un ángulo de 45° (Figura 5) con el objetivo de medir temperatura del cultivo, el mismo termómetro proporciona la medida de diferencia entre temperatura de cultivo y temperatura del aire alrededor (depresión de temperatura del follaje) en modelos que no cuenten con esta opción es necesario registrar la temperatura del ambiente para poder calcular de diferencia entre temperaturas.

Conductancia estomática: Conductancia es una medida de la apertura de los estomas. Es determinada en la hoja joven usando un porómetro SC 1 Decagon. El porómetro mide la conductividad estomática de las hojas usando la técnica del Estado Estacionario. Esta técnica mide la presión de vapor y el flujo de vapor sobre la superficie de la hoja. La pinza del porómetro, que incorpora una cámara con un recorrido de difusión conocido, se fija a la superficie de las hojas, y a continuación se empieza a medir la presión de vapor entre dos puntos de esta trayectoria, para calcular el flujo y el gradiente con las medidas de presión de vapor y conductancia de difusión conocida. Este parámetro es determinado en la etapa de floración, mitad de llenado de vainas, antes y después de inducción de estrés o los determinados por el investigador. El porómetro SC1 es proporcionado por Decagon Devices, Inc, www.decagon.com .

Medidor de clorofila SPAD-502 – sobre hoja joven completamente expandida



Temperatura del cultivo con termómetro infrarrojo Telatemp modelo AG-42D

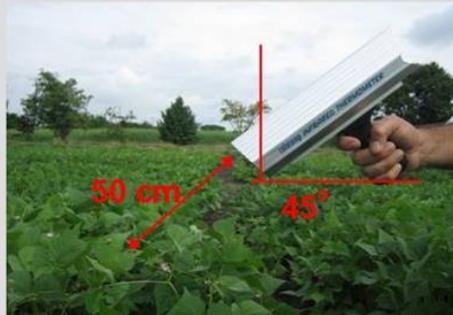


Figura 5. Contenido de clorofila en la hoja (unidades SPAD) y temperatura del follaje medida bajo condiciones de campo.

Eficiencia fotosintética: La eficiencia máxima del fotosistema II y la eficiencia operativa del fotosistema II representan la capacidad de energía de los fotones absorbidos por el fotosistema II para ser utilizado en la fotoquímica. La eficiencia del fotosistema II en hojas adaptadas a la luz (F_v'/F_m') es determinado con un FLUORPEN FP100 en la hoja joven completamente expandida. El equipo proporciona una medida de rendimiento cuántico real o efectivo (F_v'/F_m'). Esta relación es una estimación de la proporción efectiva de cuantos absorbidos utilizados en los centros de reacción PSII. Este parámetro es determinado en tiempo de floración, mitad de llenado de vainas, antes y después de inducción de estrés o los determinados por el investigador. El fluorpen - handheld chlorophyll fluorometer es proporcionado por la compañía Qubit Systems, www.qubitsystems.com.

Para cuantificar diferencias fenotípicas en tolerancia a sequía, ciertas características de la planta mencionados a continuación pueden ser determinados mediante muestreos destructivos en el estado de mitad de llenado de vainas (entre 45 a 55 días después de siembra). Para determinar estas características, una longitud de surco de 0.5 m lineales (0.3 m^2) por cada repetición es seleccionada, las plantas en esta área son cortadas a nivel del suelo y estas contadas (número por 0.5 m), puestas en una bolsa plástica y transportada a la estación de trabajo para ser procesada (Figura 6).



Mitad de llenado de vainas

Figura 6. Muestreo destructivo de 50 cm de longitud del surco en mitad de llenado de vainas para cuantificar diferencias fenotípicas a través de genotipos.

Las plantas son separadas en sus diferentes estructuras: hojas (sin pecíolos); tallos y remanente (vainas y estructuras reproductivas) (Figura 7). Si un medidor de área foliar está disponible (Ej. LICOR modelo LI-3000), se puede determinar el área foliar (Figura 8). Las diferentes estructuras de la planta necesitan ponerse por separado en bolsas de papel para secado en horno a 60 °C por 2 días (Figura 7). Después del secado de las muestras, el peso seco de cada muestra es registrado (Figura 8). Con estos pesos secos, se puede cuantificar producción total de biomasa (biomasa del cultivo) y distribución de biomasa en diferentes estructuras de la planta (hojas, tallos, vaina) en mitad de llenado de vainas.

Para determinar absorción de nutrientes en la parte aérea (N, P, K, Ca y Mg); contenido de ceniza; y contenido de CTN (carbohidratos totales no estructurales) una planta adicional por cada unidad experimental en el estado de mitad de llenado de vainas debe de ser seleccionada para muestreo destructivo (Figura 9). La planta es cortada a nivel del suelo y puesta en una bolsa de papel para ser transportada al laboratorio; la planta es lavada con agua desionizada y puesta nuevamente en la bolsa de papel para secar en horno a 60°C por 2 días (si se requiere determinar contenido de nutrientes por estructura de la planta, esta es separada antes de ser puesta en el horno). Después del secado en horno la planta es molida con la ayuda de un molino, la muestra molida es empacada en tubos de vidrio y enviada al laboratorio para análisis (Figura 9). La concentración de CTN en diferentes partes de la planta es determinada usando NaOH como medio de extracción y anthrone como reactivo. La absorbancia de la solución es medida con un espectrofotómetro a 620 nm y la concentración de CTN es determinada por

comparación con glucosa estándar (Adaptado de Kand and Brink, 1995, Crop Sci 35: 264-269)



Figura 7. Separación de hojas, tallos y vainas, empacado en bolsas de papel y secado.



Figura 8. Determinación de área foliar, y determinación de pesos secos de hojas y vainas después de 48 horas de secado en horno.



Figura 9. Corte, lavado, secado y molida de planta adicional para análisis de nutrientes.

Para determinar diferencias en crecimiento y desarrollo de raíces a través del perfil del suelo, muestras de raíces son tomadas en la época de mitad de llenado de vainas en los dos tratamientos de suministro de agua (riego y sequía). Las muestras son tomadas en 5 profundidades del suelo (0-5, 5-10, 10-20, 20-40 y 40-60 cm), usando un barreno de 5 cm de diámetro. Por cada repetición se realizan 5 muestras de barrenos, tres de ellas entre los surcos y dos en los surcos (Figura 10). Las muestras de la misma profundidad por cada unidad experimental son depositadas en la misma bolsa plástica y transportada a la estación para procesamiento. Para facilitar el lavado, las muestras son agitadas por 30 minutos en una solución del 5% de hexametáfosfato de sodio. El suelo y raíces son separados mediante lavado a mano, y posteriormente las raíces son separadas de materia orgánica, y escaneadas (Figura 11). Las imágenes obtenidas son analizadas con WinRHIZO y determinada longitud de raíz y diámetro promedio de raíz. Después que las raíces son escaneadas estas son puestas en bolsas de papel para secado en horno a 60°C por 2 días y determinar su peso seco.

Diferencias en enraizamiento a través de genotipos puede ser estimada usando un modelo de distribución de raíces vertical desarrollado por Gale y Grigal (1987: Can. J. For. Res. 17, 829-834), el cual es basado en la siguiente ecuación:

$$Y = 1 - \beta^d$$

Donde Y= fracción de biomasa acumulada o longitud de raíces (una proporción entre 0 y 1) desde la superficie del suelo a una profundidad d (cm), y β = "coeficiente de extinción". β es el único parámetro estimado en el modelo. Este

parámetro provee un simple índice numérico de la distribución de biomasa o longitud de raíces, donde altos valores de β (Ej. 0.98) corresponden a grandes proporciones de biomasa o longitud de raíces en lo profundo del suelo y bajos valores de β (Ej. 0.91) implica grandes proporciones de biomasa o longitud de raíces cerca de la superficie del suelo.

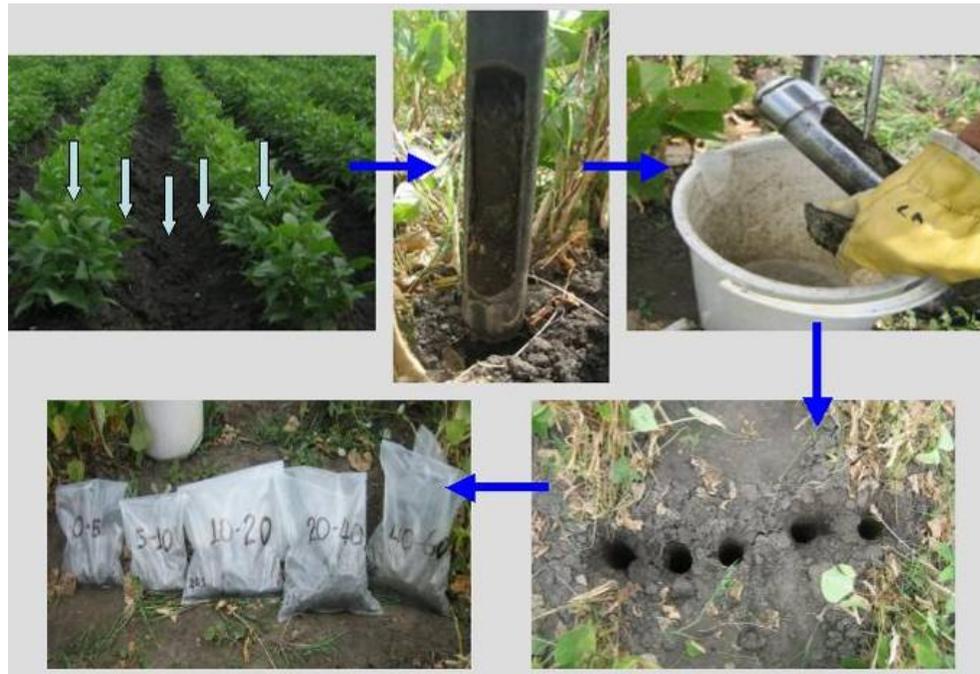


Figura 10. Muestreo de raíces en campo: cinco muestras con barreno son tomadas, tres entre los surcos y dos en los surcos. Muestras de raíces tomadas en 5 profundidades (0-5, 5-10, 10-20, 20-40 y 40-60 cm), usando un barreno de 5 cm de diámetro y colectadas en bolsas plásticas.

En tiempo de cosecha, para determinar otras características de la planta y componentes de rendimiento, nuevamente 0.5 m longitud de surco (área 0.3 m²) son seleccionados y número de plantas contadas y cortadas a nivel de la superficie del suelo. Las plantas son puestas en una bolsa de papel y transportadas a la estación de trabajo. Las plantas son separadas en tallos y vainas y estas en cáscara y semilla, se cuenta número de vainas y número de semillas por el área cosechada. Estas muestras son secadas en horno a 60°C por 2 días y los pesos secos son registrados (Figura 12). El restante de los dos surcos son cosechados para determina rendimiento de grano, peso seco de 100 semilla y humedad de grano.

Para determinación de contenido de nutrientes en semilla (N, P, K, Ca y Mg), contenido de ceniza en semilla y contenido de CTN en semilla, después de secado en horno y registro de peso seco, las semillas son molidas, la muestra empacada en tubo de vidrio y enviada al laboratorio para análisis.



Figura 11. Agitación de las muestras con hexametáfosfato de sodio, lavado, limpieza, escaneado y secado de la muestras de raíces colectadas en campo.



Figura 12. Muestreo destructivo de 50 cm de longitud de surco en tiempo de cosecha, separación de partes de la planta, secado y registro de pesos secos.

Atributos de la planta para evaluar adaptación a sequía:

Del anterior protocolo, se puede cuantificar los siguientes atributos.

Índice de intensidad de sequía (DII): el DII para cada ensayo puede ser calculado $DII = 1 - X_s / X_r$, donde X_s y X_r es la media de todos los genotipos bajo tratamientos de sequía (s) y riego (r) respectivamente.

Índice de susceptibilidad a sequía (DSI) para rendimiento de grano: el DSI para cada genotipos es calculado $DSI = (1 - Y_s / Y_r) / DII$, donde Y_s y Y_r son las medias de cada genotipo en condiciones de sequía y riego respectivamente (Fisher y Maurer, 1978, Aust. J. Agric. Res. 29:897-912).

Rendimiento de grano: la semilla es pesada, registrado el contenido de humedad y el rendimiento es expresado en kg/ha a justado al 14% de contenido de humedad en grano.

Media geométrica (GM): la GM es determinada para rendimiento de grano, peso de 100 semilla y días a madurez como $MG = (r \times s)^{1/2}$.

Índice de cosecha (HI sigla en inglés): el HI por cada repetición para cada genotipo es determinado por peso seco de semillas en cosecha/ Peso seco de biomasa aérea (hojas+tallos+vainas) en mitad de llenado de vainas x 100.

Índice de particionamiento de vaina (PPI sigla en inglés): el PPI por cada repetición para cada genotipo es determinado por peso seco de vainas en cosecha/ Peso seco de biomasa aérea (hojas+tallos+vainas) en mitad de llenado de vainas x 100.

Índice de cosecha de vaina (PHI): el PHI por cada repetición para cada genotipo es determinado por peso seco de semilla en cosecha/ Peso seco de vainas en cosecha x 100

Índice de llenado de grano (GFI): el GFI para cada genotipo es estimado por peso de 100 semillas bajo condiciones de sequía/ peso de 100 semillas bajo condiciones de riego x 100.

Proporción de biomasa de cáscara (PWB): este atributo para cada genotipo puede ser estimado mediante peso seco de cáscara/ peso seco de vaina en cosecha x 100.

Reducción de biomasa de tallo (SBR): este atributo para cada genotipo es estimado por peso seco de talo en mitad de llenado de vainas – peso seco de tallo en cosecha/ peso seco de tallo en mitad de llenado de vainas x 100

Eficiencia producción rendimiento ($g\ g^{-1}$): es determinado por peso seco de semillas en cosecha/ Peso seco de biomasa aérea (hojas+tallos+vainas) en mitad de llenado de vainas. (Adaptado de Board and Maricherla, 2008).

Eficiencia producción semilla (no. g^{-1}): es determinado por numero de semilla por área/ Peso seco de biomasa aérea (hojas+tallos+vainas) en mitad de llenado de vainas. (Adaptado de Board and Maricherla, 2008)

Eficiencia producción de vainas (no. g^{-1}): es determinado por numero de vainas por área/ Peso seco de biomasa aérea (hojas+tallos+vainas) en mitad de llenado de vainas. (Adaptado de Board and Maricherla, 2008)

Análisis estadístico: el análisis de varianza es calculado usando el programa computacional SAS (SAS/STAT, 2001). Una probabilidad en el nivel de 0.05 es considerada estadísticamente significativa.

EVALUACIÓN EN INVERNADERO PARA DESARROLLO DE RAÍCES

Suelo: El suelo es colectado de un sitio de interés para el tipo de evaluación a realizar, este es homogenizado (molido y tamizado – Figura 13) y mezclado con arena de río en un proporción de suelo arena 2:1 con base peso. La presencia de arena ayuda para inducir el tratamiento de sequía más rápido que teniendo el suelo solo y para mejorar las condiciones físicas del suelo. La mezcla de suelo arena es fertilizada con adecuado nivel de nutrientes (kg/ha de 80 N, 50 P, 100 K, 101 Ca, 29.4 Mg, 20 S, 2 Zn, 2 Cu, 0.1 B y 0.1 Mo) usando diferentes fuentes de nutrientes (Tabla 1) y mezclado con la ayuda de un mezclador (Figura 13).

Table1. Fuentes y nivel de nutrientes por fuente.

Fuente	Nutriente	Contenido de nutriente por fuente (%)	Nivel de nutriente por hectárea de suelo (kg/ha)
Urea	N	46.0	80.0
Súper fosfato triple	P	20.0	50.0
	Ca	14.0	35.0
KCl	K	52.0	100.0
Cal dolomítica	Ca	22.0	66.0
	Mg	9.8	29.4
Flor de azufre	S	86.0	20.0
ZnCl ₂	Zn	47.0	2.0
CuCl ₂ 2H ₂ O	Cu	37.1	2.0
H ₃ BO ₃	B	17.4	0.1
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	Mo	39.4	0.1

El sistema de tubos de suelo incluye cilindros plásticos (transparentes) pequeños de 80 cm longitud y 8 cm de diámetro que son insertados dentro de tubos de PVC (Figura 14). Todos los cilindros son llenados con la misma cantidad de mezcla de suelo – arena, dependiendo del tipo y la densidad aparente del suelo esta cantidad puede ser entre de 4 a 6 kg de la mezcla. Los cilindros son cuidadosamente llenados con la mezcla suelo-arena hasta los 75 cm de altura del cilindro usando la cantidad de suelo pesada (Figura 14), después de lleno el cilindro, a este se le aplica cuidadosamente agua hasta llegar al 80% de capacidad de campo la cual ha sido determinada previamente. Las semillas son esterilizadas usando una solución de hipoclorito de calcio a 5% por 5 minutos y se ponen a germinar en papel de germinación en el sistema de sánduche (papel de germinación en medio de espuma retenedora de humedad). Después de 48 horas, las semillas de raíz pequeña son transplantadas a los cilindros, cada semilla germinada es colocada en el centro del cilindro (Figura 14).



Figure 13. Moida de suelo, tamizada y fertilización para llenado de cilindros.

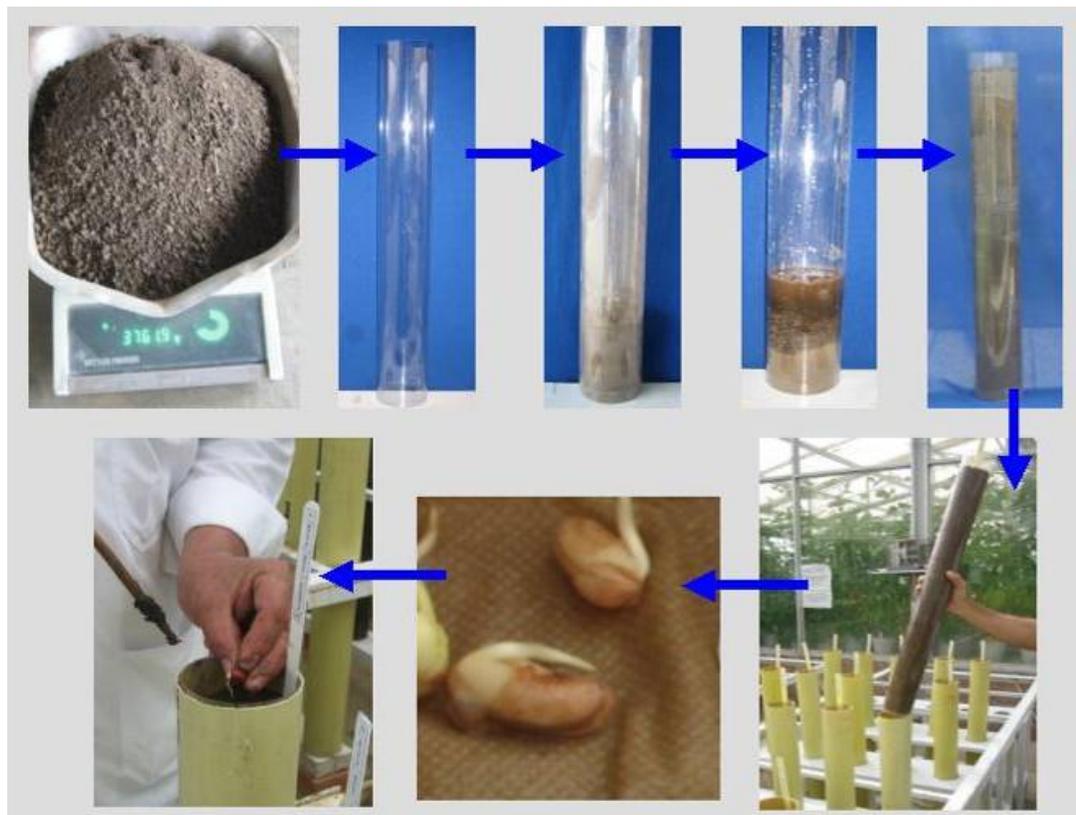


Figura 14. Metodología para llenar cilindros con la mezcla de suelo – arena, germinación de semilla y transplante a los cilindros.

Los ensayos son mantenidos bajo condiciones de invernadero y los tratamientos distribuidos en un diseño completamente al azar con dos niveles de suministro de agua: 80% de capacidad de campo (riego) y sin riego (simulación de sequía terminal) con 3 repeticiones. La capacidad de campo es determinada regando los cilindros y permitir el drenaje del agua de los cilindros hasta que esté, momento en el cual el cilindro está al 100% de capacidad de campo. Los tratamientos de suministro de agua son impuestos después de 10 días de crecimiento inicial de las plantas, durante estos 10 días la humedad del suelo inicial para los dos tratamientos es de 80% de capacidad de campo (CC). La humedad de las plantas bajo condiciones de riego (80% CC) es mantenida mediante peso de cada cilindro cada 2 días (Ej. lunes, miércoles y viernes) y aplicando agua necesaria para alcanzar nuevamente el 80% CC al suelo por la parte superior del cilindro (Figura 15). Las plantas bajo sequía terminal no vuelven a recibir aplicación de riego y cada cilindro es igualmente pesado cada 2 días para determinar la disminución de la humedad en el suelo a través del ensayo hasta la cosecha. Las plantas son cosechadas a los 45 días después de siembra (35 días sin suministro de agua).

La capacidad de campo es determinada aplicando agua suficiente a 5 cilindros sin plantas y dejando drenar libremente hasta que cese (24-48 horas), y determinada mediante diferencia con el suelo seco y expresada en %.



Figura 15. Mediciones de enraizamiento profundo, medida de contenido de clorofila de la hoja y mantenimiento del 80% capacidad de campo.

Un número de características fisiológicas son medidas durante el periodo de crecimiento y desarrollo de la planta (Figura 15). Esos parámetros incluyen:

Profundización visual de la raíz: simultánea al monitoreo de humedad, se puede determinar profundización visual de la raíz usando la ayuda de una regla y registrado la profundización alcanzada por las raíces visibles (ventaja del método de cilindros plásticos transparentes).

Contenido de clorofila en la hoja (SPAD): es determinado con un medidor de clorofila de mano no destructivo (SPAD-502 Chlorophyll Meter, Minolta Camera Co., Ltd., Japan). Valores SPAD son medidos en la hoja joven completamente expandida de la planta por cada repetición, este parámetro es determinado cada semana hasta el momento de cosecha.

Conductancia estomática: Es determinado en la hoja joven usando un porómetro SC 1 Decagon. Este parámetro es determinado cada semana hasta el momento de cosecha. El porómetro SC1 es proporcionado por Decagon Devices, Inc,

Eficiencia fotosintética: La eficiencia del fotosistema II en hojas adaptadas a la luz (F_v'/F_m') es determinado con un FLUORPEN FP100 en la hoja joven completamente expandida. Este parámetro es determinado cada semana hasta el momento de cosecha. El fluorpen - handheld chlorophyll fluorometer es proporcionado por la compañía Qubit Systems.

En tiempo de cosecha (45 días después de siembra, 35 días sin aplicación de agua), la planta es cortada al nivel de la superficie del suelo y luego es separada en hojas (sin pecíolo), tallo y remanente (vainas y estructuras reproductivas) (Figura 16). Si un medidor de área foliar es disponible (Ej. LICOR modelo LI-3000), el área foliar es determinada. Las partes de la plantas son puestas en bolsa de papel para secado en horno a 60° C por 2 días; después del secado de la muestras, peso seco es registrado. Con estos pesos secos se puede determinar distribución de biomasa en las diferentes estructuras de la planta y producción total de biomasa de la planta. El cilindro con suelo es cortado en 6 profundidades (0-5, 5-10, 10-20, 20-40, 40-60 y 60-75 cm). El suelo y raíces son separados por lavado a mano, las raíces son limpiadas (libre de materia orgánica) y escaneadas (Figura 16). Mediante un sistema de análisis de imágenes (WinRHIZO V. 2003b) se determina longitud total de raíz y diámetro promedio. Después de escanear las raíces, estas son puestas en bolsa de papel para secado en horno a 60° C por 2 días y peso seco de raíces es determinado. Con los datos de longitud de raíz (m/planta) y peso de raíz (g/planta) se puede calcular longitud específica de raíz (m/g).

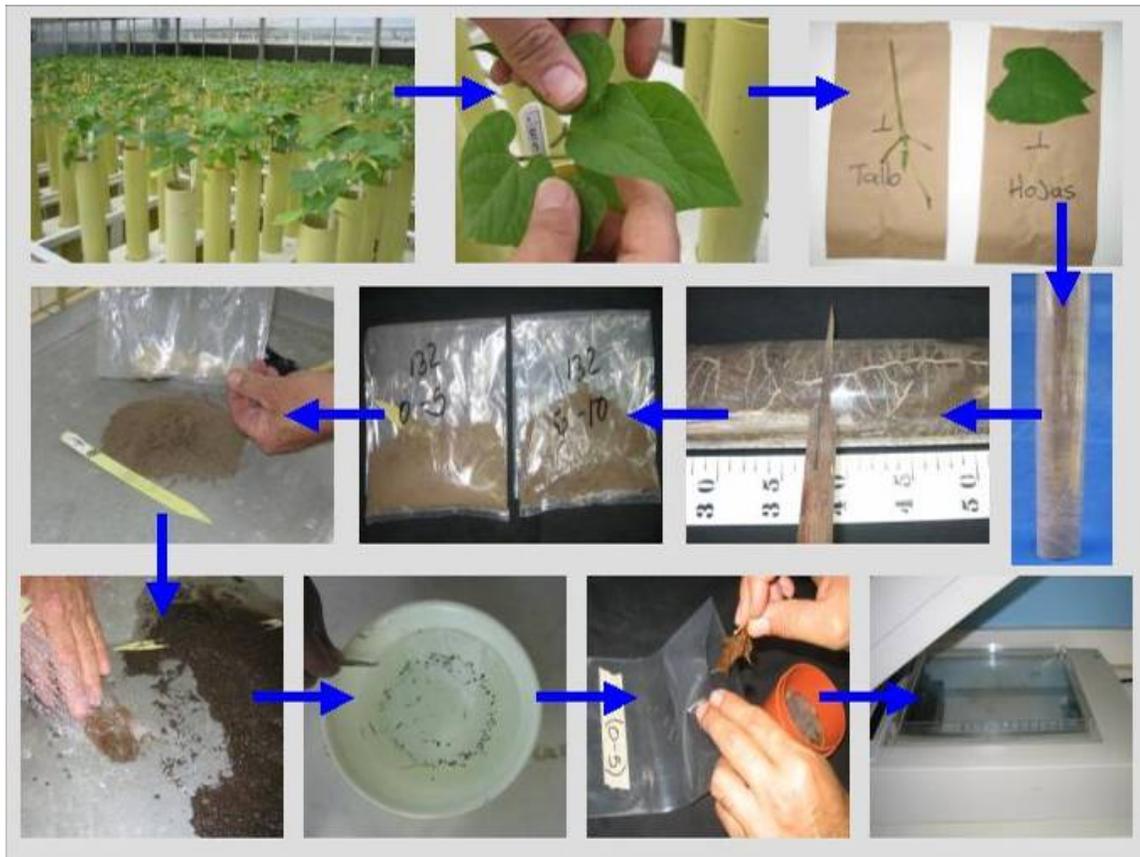


Figura 16. En época de cosecha, la planta es cortada al nivel del suelo, separada en hojas, tallos y estructuras reproductivas; el cilindro es cortado en 6 profundidades, las raíces son lavadas, limpiadas y escaneadas para análisis de imágenes.

Para determinar absorción de nutrientes en la parte aérea (N, P, K, Ca y Mg), contenido de cenizas, y contenido de CTN, las plantas secas son molidas con la ayuda de un molino y empacadas en tubos de vidrio y enviadas al laboratorio para su posterior análisis. Concentración de CTN es determinada usando NaOH como medio de extracción y anthrone como reactivo. La absorbancia de la solución es medida con un espectrofotómetro a 620 nm y concentración de CTN es determinada mediante comparación con glucosa estándar (Adaptado de Kand y Brink, 1995, Crop Sci 35: 264-269). Análisis de varianza es calculado usando sistema computacional SAS (SAS/STAT, 2001). Una probabilidad del nivel de 0.05 es considerada estadísticamente significativa.

ANEXO B

Análisis de Varianza

Análisis de Varianza Características de Raíces - Invernadero

Longitud total de raíz en riego:

```

----- NivelR=Riego -----
                          The GLM Procedure
Dependent Variable: LRZ   LRZ

Source              DF          Sum of Squares    Mean Square    F Value    Pr > F
Model                22         8970.47459          407.74884        3.87    0.0001
Error                40         4213.79735          105.34493
Corrected Total      62         13184.27193

R-Square          Coeff Var      Root MSE      LRZ Mean
0.680392          20.03168      10.26377      51.23768

Source              DF          Type I SS      Mean Square    F Value    Pr > F
Rep                  2           177.223672        88.611836        0.84    0.4387
Linea                20          8793.250915       439.662546        4.17    <.0001

Source              DF          Type III SS     Mean Square    F Value    Pr > F
Rep                  2           177.223672        88.611836        0.84    0.4387
Linea                20          8793.250915       439.662546        4.17    <.0001
    
```

Proporción raíces finas en riego:

```

----- NivelR=Riego -----
                          The GLM Procedure
Dependent Variable: PRZFn PRZFn

Source              DF          Sum of Squares    Mean Square    F Value    Pr > F
Model                22          375.9567694       17.0889441        4.62    <.0001
Error                40          148.0676319        3.7016908
Corrected Total      62          524.0244013

R-Square          Coeff Var      Root MSE      PRZFn Mean
0.717441          2.428617      1.923978      79.22114

Source              DF          Type I SS      Mean Square    F Value    Pr > F
Rep                  2           34.5001267       17.2500633        4.66    0.0152
Linea                20          341.4566427       17.0728321        4.61    <.0001

Source              DF          Type III SS     Mean Square    F Value    Pr > F
Rep                  2           34.5001267       17.2500633        4.66    0.0152
Linea                20          341.4566427       17.0728321        4.61    <.0001
    
```

Profundización visual de raíz a los 35 días después de siembra en riego

----- NivelR=Riego -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: PROF35 PROF35

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	2077.991111	94.454141	2.46	0.0066
Error	40	1538.791111	38.469778		
Corrected Total	62	3616.782222			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	PROF35 Mean
	0.574541	12.65509	6.202401	49.01111

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	116.775556	58.387778	1.52	0.2316
Línea	20	1961.215556	98.060778	2.55	0.0058

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	116.775556	58.387778	1.52	0.2316
Línea	20	1961.215556	98.060778	2.55	0.0058

Longitud de raíz en la profundidad 40-60 cm en riego

----- NivelR=Riego -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: LRZ60 LRZ60

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	1251.151598	56.870527	3.57	0.0002
Error	40	637.981038	15.949526		
Corrected Total	62	1889.132636			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	LRZ60 Mean
	0.662289	36.09080	3.993686	11.06566

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	25.831767	12.915884	0.81	0.4521
Línea	20	1225.319831	61.265992	3.84	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	25.831767	12.915884	0.81	0.4521
Línea	20	1225.319831	61.265992	3.84	0.0001

Longitud de raíz en la profundidad 60-75 cm en riego

----- NivelR=Riego -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: LRZ75 LRZ75

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	486.8011267	22.1273239	2.09	0.0212
Error	40	424.0391655	10.6009791		
Corrected Total	62	910.8402922			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	LRZ75 Mean
	0.534453	113.6648	3.255914	2.864487

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	22.8425937	11.4212968	1.08	0.3502
Línea	20	463.9585331	23.1979267	2.19	0.0173

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	22.8425937	11.4212968	1.08	0.3502
Línea	20	463.9585331	23.1979267	2.19	0.0173

Longitud total de raíz en sequía

----- NivelR=Sequía -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: LRZ LRZ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	1362.512877	61.932404	2.27	0.0121
Error	40	1093.316735	27.332918		
Corrected Total	62	2455.829612			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	LRZ Mean
	0.554808	20.18485	5.228089	25.90106

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	71.663992	35.831996	1.31	0.2809
Línea	20	1290.848885	64.542444	2.36	0.0102

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	71.663992	35.831996	1.31	0.2809
Línea	20	1290.848885	64.542444	2.36	0.0102

Proporción raíces finas en sequía

----- NivelR=Sequía -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: PRZFn PRZFn

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	355.3265143	16.1512052	2.25	0.0126
Error	40	286.9812778	7.1745319		
Corrected Total	62	642.3077921			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	PRZFn Mean
	0.553203	3.353582	2.678532	79.87078

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	49.7337267	24.8668634	3.47	0.0409
Línea	20	305.5927876	15.2796394	2.13	0.0207

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	49.7337267	24.8668634	3.47	0.0409
Línea	20	305.5927876	15.2796394	2.13	0.0207

Profundización visual de raíz a los 35 días después de siembra en sequía

----- NivelR=Sequía -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: PROF35 PROF35

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	3283.541587	149.251890	2.99	0.0013
Error	40	1994.108254	49.852706		
Corrected Total	62	5277.649841			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	PROF35 Mean
	0.622160	13.79075	7.060645	51.19841

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	130.625079	65.312540	1.31	0.2811
Línea	20	3152.916508	157.645825	3.16	0.0010

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	130.625079	65.312540	1.31	0.2811
Línea	20	3152.916508	157.645825	3.16	0.0010

Longitud de raíz en la profundidad 40-60 cm en sequía

----- NivelR=Sequía -----
 The GLM Procedure

Dependent Variable: LRZ60 LRZ60

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	259.1001536	11.7772797	2.39	0.0081
Error	40	197.0746628	4.9268666		
Corrected Total	62	456.1748164			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	LRZ60 Mean
	0.567984	41.97113	2.219655	5.288528

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	8.2184350	4.1092175	0.83	0.4417
Linea	20	250.8817187	12.5440859	2.55	0.0059

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	8.2184350	4.1092175	0.83	0.4417
Linea	20	250.8817187	12.5440859	2.55	0.0059

Longitud de raíz en la profundidad 60-75 cm en sequía

----- NivelR=Sequía -----
 The GLM Procedure

Dependent Variable: LRZ75 LRZ75

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	130.4603115	5.9300142	2.25	0.0127
Error	40	105.3957194	2.6348930		
Corrected Total	62	235.8560309			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	LRZ75 Mean
	0.553135	90.10574	1.623235	1.801478

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	11.4754164	5.7377082	2.18	0.1266
Linea	20	118.9848951	5.9492448	2.26	0.0140

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	11.4754164	5.7377082	2.18	0.1266
Linea	20	118.9848951	5.9492448	2.26	0.0140

Análisis de Varianza Características de movilización y vigor - Campo

Biomasa del cultivo (kg/ha) en riego:

----- Estres=Riego -----

Dependent Variable: C BIO C BIO

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	44438819.23	2019946.33	2.35	0.0092
Error	40	34349182.74	858729.57		
Corrected Total	62	78788001.97			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	C BIO Mean
	0.564030	20.83073	926.6766	4448.603

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	2124711.19	1062355.59	1.24	0.3011
Línea	20	42314108.04	2115705.40	2.46	0.0075

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	2124711.19	1062355.59	1.24	0.3011
Línea	20	42314108.04	2115705.40	2.46	0.0075

Índice de cosecha de vaina (%) en riego

----- Estres=Riego -----

Dependent Variable: PHI PHI

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	300.1851299	13.6447786	4.78	<.0001
Error	40	114.1220739	2.8530518		
Corrected Total	62	414.3072037			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	PHI Mean
	0.724547	2.097365	1.689098	80.53429

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	10.4971062	5.2485531	1.84	0.1721
Línea	20	289.6880236	14.4844012	5.08	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	10.4971062	5.2485531	1.84	0.1721
Línea	20	289.6880236	14.4844012	5.08	<.0001

Índice de partición a vaina (%) en riego

----- Estres=Riego -----

The GLM Procedure

Dependent Variable: PPI PPI

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	32302.82111	1468.31005	1.06	0.4270
Error	40	55552.14602	1388.80365		
Corrected Total	62	87854.96713			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	PPI Mean
	0.367683	35.29557	37.26666	105.5845

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	3087.52482	1543.76241	1.11	0.3390
Línea	20	29215.29628	1460.76481	1.05	0.4314

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	3087.52482	1543.76241	1.11	0.3390
Línea	20	29215.29628	1460.76481	1.05	0.4314

Días a floración en riego

----- Estres=Riego -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: DAF DAF

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	508.8253968	23.1284271	46.11	<.0001
Error	40	20.0634921	0.5015873		
Corrected Total	62	528.8888889			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	DAF Mean
	0.962065	2.069498	0.708228	34.22222

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	1.9365079	0.9682540	1.93	0.1584
Línea	20	506.8888889	25.3444444	50.53	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	1.9365079	0.9682540	1.93	0.1584
Línea	20	506.8888889	25.3444444	50.53	<.0001

Días a madurez fisiológica en riego

----- Estres=Riego -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: DAM DAM

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	1071.968254	48.725830	75.05	<.0001
Error	40	25.968254	0.649206		
Corrected Total	62	1097.936508			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	DAM Mean
	0.976348	1.198046	0.805733	67.25397

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	5.365079	2.682540	4.13	0.0234
Línea	20	1066.603175	53.330159	82.15	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	5.365079	2.682540	4.13	0.0234
Línea	20	1066.603175	53.330159	82.15	<.0001

Peso de 100 semillas (g) en riego

----- Estres=Riego -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: P100S P100S

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	1538.190476	69.917749	64.68	<.0001
Error	40	43.238095	1.080952		
Corrected Total	62	1581.428571			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	P100S Mean
	0.972659	3.657196	1.039689	28.42857

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	0.095238	0.047619	0.04	0.9569
Línea	20	1538.095238	76.904762	71.15	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	0.095238	0.047619	0.04	0.9569
Línea	20	1538.095238	76.904762	71.15	<.0001

Discriminación de isotopo de carbono (0/00) en grano en riego

----- Estres=Riego -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: d13Cg d13Cg

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	10.82349081	0.49197685	0.73	0.7861
Error	40	27.08519424	0.67712986		
Corrected Total	62	37.90868505			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	d13Cg Mean
	0.285515	4.315511	0.822879	19.06794

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	0.59560953	0.29780476	0.44	0.6472
Línea	20	10.22788128	0.51139406	0.76	0.7464

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	0.59560953	0.29780476	0.44	0.6472
Línea	20	10.22788128	0.51139406	0.76	0.7464

Biomasa del cultivo (kg/ha) en sequía

----- Estres=Sequía -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: CBIO CBIO

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	9349987.86	424999.45	1.18	0.3143
Error	40	14370819.15	359270.48		
Corrected Total	62	23720807.01			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	CBIO Mean
	0.394168	20.40275	599.3918	2937.799

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	3949873.961	1974936.981	5.50	0.0078
Línea	20	5400113.898	270005.695	0.75	0.7503

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	3949873.961	1974936.981	5.50	0.0078
Línea	20	5400113.898	270005.695	0.75	0.7503

Índice de cosecha de vaina (%) en sequía

----- Estres=Sequía -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: PHI PHI

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	473.0915987	21.5041636	2.36	0.0089
Error	40	364.2594529	9.1064863		
Corrected Total	62	837.3510516			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	PHI Mean
	0.564986	4.069397	3.017696	74.15583

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	1.3879545	0.6939773	0.08	0.9268
Línea	20	471.7036442	23.5851822	2.59	0.0051

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	1.3879545	0.6939773	0.08	0.9268
Línea	20	471.7036442	23.5851822	2.59	0.0051

Índice de partición a vaina (%) en sequía

----- Estres=Sequía -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: PPI PPI

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	11265.00696	512.04577	2.00	0.0281
Error	40	10250.53782	256.26345		
Corrected Total	62	21515.54478			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	PPI Mean
	0.523575	23.67147	16.00823	67.62668

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	329.40138	164.70069	0.64	0.5312
Línea	20	10935.60558	546.78028	2.13	0.0205

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	329.40138	164.70069	0.64	0.5312
Línea	20	10935.60558	546.78028	2.13	0.0205

Días a floración en sequía

----- Estres=Sequía -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: DAF DAF

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	477.1111111	21.6868687	44.50	<.0001
Error	40	19.4920635	0.4873016		
Corrected Total	62	496.6031746			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	DAF Mean
	0.960749	2.031335	0.698070	34.36508

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	5.1746032	2.5873016	5.31	0.0090
Línea	20	471.9365079	23.5968254	48.42	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	5.1746032	2.5873016	5.31	0.0090
Línea	20	471.9365079	23.5968254	48.42	<.0001

Días a madurez fisiológica en sequía

----- Estres=Sequía -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: DAM DAM

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	753.3333333	34.2424242	45.08	<.0001
Error	40	30.3809524	0.7595238		
Corrected Total	62	783.7142857			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	DAM Mean
	0.961235	1.417633	0.871507	61.47619

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	4.9523810	2.4761905	3.26	0.0488
Línea	20	748.3809524	37.4190476	49.27	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	4.9523810	2.4761905	3.26	0.0488
Línea	20	748.3809524	37.4190476	49.27	<.0001

Peso de 100 semillas (g) en sequía

----- Estres=Sequía -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: P100S P100S

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	582.8571429	26.4935065	10.97	<.0001
Error	40	96.5714286	2.4142857		
Corrected Total	62	679.4285714			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	P100S Mean
0.857864	8.137093	1.553797	19.09524

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	0.0952381	0.0476190	0.02	0.9805
Línea	20	582.7619048	29.1380952	12.07	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	0.0952381	0.0476190	0.02	0.9805
Línea	20	582.7619048	29.1380952	12.07	<.0001

Discriminación de isotopo de carbono (0/00) en grano en sequía

----- Estres=Sequía -----
The GLM Procedure

Dependent Variable: d13Cg d13Cg

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	22	16.84396844	0.76563493	1.96	0.0314
Error	40	15.60349406	0.39008735		
Corrected Total	62	32.44746250			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	d13Cg Mean
0.519115	3.518758	0.624570	17.74972

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	4.68775179	2.34387589	6.01	0.0052
Línea	20	12.15621665	0.60781083	1.56	0.1146

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Rep	2	4.68775179	2.34387589	6.01	0.0052
Línea	20	12.15621665	0.60781083	1.56	0.1146