

Análisis fenotípico y genético de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) para tolerancia a factores bióticos y abióticos

por

Iveth Yassmin Rodriguez

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

en

AGRONOMÍA

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO

RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ

2017

Aprobada por:

James Beaver, Ph.D.
Presidente, Comité Graduado

Fecha

Timothy Porch, Ph.D.
Co-Presidente, Comité Graduado

Fecha

Angela Linares Ramírez, Ph.D.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Gloribell Ortiz Rios, Ph.D.
Representante, Estudios Graduados

Fecha

Roberto Vargas, Ph.D.
Director Asociado del Dept. de Ciencias
Agro-ambientales

Fecha

ABSTRACT

High temperatures, drought and diseases are critical factors that limit the production of grain legumes, especially in tropical countries. Tepary beans (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) is a species that is highly tolerant to drought, high temperatures and resistant to common bacterial blight caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. The objectives of the study were to identify morphological characteristics and Quantitative Trait Loci (QTL) associated with stress tolerance due to terminal drought and high temperatures, and resistant to common bacterial blight in a population. Recombinant inbred lines (RIL) from the cross between the tepary bean accessions G40001 x G40022 were evaluated under stress conditions for terminal drought and high temperatures at the UPR, Juana Díaz, Experimental Station, Puerto Rico during 2015 and 2016. Evaluations of reactions to common bacterial blight were performed during 2016 in a greenhouse at the USDA-ARS Tropical Agriculture Research Station in Mayagüez, Puerto Rico. The evaluated characteristics were: seed yield components, phenological characteristics, vegetation indices, pollen shed, carbon isotope discrimination and in the greenhouse study the phenotypic reaction to the *Xap* strains 3353 and 484A. Significant differences were observed between the evaluated characteristics and there were positive correlations between seed yield, weight of one hundred seeds and seed dimensions ($p \leq 0.05$). The genetic linkage map of the RIL population was constructed using 1343 SNPs with a length of 1448 cM. QTLs associated with seed yield components, phenological characteristics, harvest indices, seed size and color were identified mainly on chromosomes 3, 7 and 8; a number of these QTLs have been previously reported in common bean. A QTL was identified for the first time for carbon isotope discrimination on chromosome 7 in a *Phaseolus* species and most QTL were the first reported in tepary bean. This study demonstrates the genetic similarity between tepary bean and common bean and it becomes a useful resource to understand the genetics of tepary beans and to develop breeding strategies for the improvement of the crop including the color and size of the seed.

RESUMEN

Las altas temperaturas, la sequía y las enfermedades son factores críticos que limitan la producción de leguminosas de grano, especialmente en países tropicales. El frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) es una especie altamente tolerante a sequía, altas temperaturas y resistente a bacteriosis común causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. Los objetivos del estudio fueron identificar características morfo-fisiológicas y QTL asociados con tolerancia a estrés por sequía terminal, altas temperaturas y resistencia a bacteriosis común en una población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) proveniente de la cruce entre las accesiones G40001 x G40022 de frijol tépari. Se evaluó en condiciones de estrés por sequía terminal y altas temperaturas en la Estación Experimental de la UPR, Juana Díaz, Puerto Rico durante los años 2015 y 2016. La evaluación de la resistencia a bacteriosis común se realizó en el invernadero de TARS en 2016. Mientras que para estrés por sequía terminal y altas temperaturas las características evaluadas fueron: componentes de rendimiento de semilla, características fenológicas, índices de vegetación, liberación de polen, discriminación de isótopo de carbono y en el invernadero se estudió la reacción fenotípica a las cepas de *Xap* 3353 y 484A. Se observó diferencias significativas entre las características evaluadas y una correlación positiva entre rendimiento de semilla, peso de cien semillas y dimensiones de semilla ($p \leq 0.05$). El mapa de ligamiento genético de la población RIL se construyó usando 1343 SNPs con una longitud de 1448 cM. Se identificaron QTLs asociados a componentes de rendimiento de semilla, características fenológicas, índices de partición, dimensiones y color de semilla principalmente en cromosomas 3, 7 y 8; un número de estos QTL han sido reportados previamente en frijol común. Se identificó por primera vez un QTL para discriminación de isótopo de carbono en cromosoma 7 en una especie de *Phaseolus* y la mayoría de QTL fueron reportados por primera vez en frijol tépari. Este estudio demuestra la similitud genética que existe entre frijol tépari y frijol común y se convierte en un recurso útil para entender la genética del frijol tépari y desarrollar estrategias para mejorar el cultivo particularmente el color y tamaño de la semilla.

© Iveth Yassmin Rodriguez, 2017

AGRADECIMIENTOS

A Dios por todas las bendiciones que me ha dado y por guiarme hasta donde estoy. Al equipo Mano de Dios y la iglesia Episcopal de Danli, Honduras; por ser parte de los primeros pasos en mi formación espiritual y profesional.

A Legume Innovation Lab por haber financiado mis estudios de maestría en la UPRM.

Al Dr. Juan Carlos Rosas, de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano; por todo el apoyo que me ha brindado y por haber contribuido a mi formación profesional.

A mis asesores Timothy Porch, James Beaver y Angela Linares por la ayuda incondicional que me brindaron durante el desarrollo de mi tesis y estadía en Puerto Rico.

A la Universidad de Puerto Rico-Recinto de Mayagüez y a cada uno de los profesores que contribuyeron a mi formación profesional durante la maestría; es grato poder decir que fue una excelente experiencia y aprendí mucho.

Al equipo del programa de frijol de TARS: John Hart, Stephanie Cosme, Kelvin González, Jesús Linares, José Ramón Ortiz, Hernán Santiago y Darwin Colón; por su amistad y ayuda en la parte molecular y en la toma de datos de campo de mi tesis.

Al Dr. Ricardo Goenaga, Dr. Hugo Cuevas y todo el personal de TARS por facilitar recursos durante el desarrollo de mi tesis y por ser parte de mi familia durante mi estadía en Puerto Rico.

A mi familia, amistades y compañeros; con las que he tenido el agrado de compartir esta grata experiencia.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	4
REVISIÓN DE LITERATURA	5
Factores limitantes en la producción de frijol.....	5
Sequía.....	7
Altas Temperaturas	12
Bacteriosis común.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS	17
Germoplasma	17
Experimento de estrés por sequía terminal	18
Experimento de estrés por altas temperaturas.....	24
Reacción fenotípica a las cepas 3353 y 484A de bacteriosis común	25
Análisis genético	28
Genotipado por secuenciación (GBS).....	29
Mapeo de ligamiento genético	29
Análisis de loci de características cuantitativas (QTL).....	30
RESULTADOS.....	31
Estrés por sequía terminal (ES) y sus efectos en el comportamiento de la población RIL	31
Análisis de componentes principales (ACP) para estrés por sequía terminal.....	34
Análisis de correlación para estrés por sequía terminal.....	36
Comportamiento de la población RIL en condiciones de estrés por altas temperaturas (EAT).....	38
Análisis de componentes principales (ACP) para estrés por altas temperaturas	42
Análisis de correlación para estrés por altas temperaturas	44
Reacción fenotípica de la población RIL a las cepas 3353 y 484A de Xap	46
Análisis genético e identificación de QTL para estrés por sequía terminal y altas temperaturas	47
Identificación de QTL para resistencia a bacteriosis común	60
DISCUSIÓN	63
CONCLUSIONES	69
BIBLIOGRAFÍA	72

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Rendimiento de semilla y los componentes de rendimiento, índices de partición, características fenológicas, dimensiones de semilla, color de semilla e isótopos de la población RIL y los padres sembrada bajo estrés por sequía terminal en Juana Díaz, Puerto Rico en 2015.33

Tabla 2. Rendimiento de semilla y los componentes de rendimiento, índices de partición, características fenológicas, dimensiones de semilla y color de semilla de la población RIL y los padres sembrados bajo estrés por altas temperaturas en Juana Díaz, Puerto Rico en 2016. 41

Tabla 3. Número, distribución y distancia de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en cromosomas individuales del mapa de ligamiento genético de la población RIL de frijol tépari proveniente de la cruza G40001 x G40022..... 48

Tabla 4. Ubicación y descripción de loci de características cuantitativas (QTL) para características de rendimiento, fenología, índices de partición, dimensiones de semilla, color de semilla y discriminación de isotopo de carbono, en la población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) provenientes de la cruza entre G40001 x G40022, sembrado bajo condiciones de estrés por sequía terminal en Juana Díaz, Puerto Rico, 2015..... 56

Tabla 5. Ubicación y descripción de loci de características cuantitativas (QTL) para características de rendimiento, fenología, índices de partición, dimensiones de semilla y color de semilla, en la población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) sembrado bajo condiciones de estrés por altas temperaturas en Juana Díaz, Puerto Rico, 2016. 58

Tabla 6. Ubicación y descripción de loci de características cuantitativas (QTL) para resistencia a bacteriosis común, en la población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) sembrado bajo condiciones de invernadero en 2016..... 62

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Área de estudio de experimento de estrés por sequía terminal (ES) y altas temperaturas (EAT). La flecha indica el área donde se realizaron los experimentos de campo. 18
- Figura 2. Carro de detección proximal para tomar datos de temperatura del dosel, altura de planta e índices de vegetación (NDVI e NDRE). 22
- Figura 3. Escala de evaluación visula para bacteriosis común (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Smith), Vauterin et al. (Xap)]; (Schoonhoven y Pastor-Corrales, 1987). 27
- Figura 4. Análisis de componentes principales para peso de cien semillas (PCS), días a floración (DF), días a madurez fisiológica (DMF), biomasa (kg/ha), índice de cosecha (IC), índice de cosecha de vaina (ICV), vigor, discriminación de isotopo de carbono ^{13}C (DIC), temperatura del dosel (35 y 42 DDS), color de semilla (L, croma y hue) y dimensiones de semilla (área, perímetro, largo, ancho y circularidad) evaluados en la población RIL de frijol tépari, bajo condiciones de estrés por sequía terminal. 35
- Figura 5. Gráfico de Análisis de correlación de los fenotipos evaluados en condiciones de estrés por sequía terminal, que muestran la correlación positiva (≥ 0.25) y negativa (≤ 0.25) en líneas endogámicas recombinantes de frijol tépari. Los fenotipos que se incluyen son: Biomasa (BM kg/ha), índice de cosecha (IC), índice de cosecha de vaina (ICV), peso de cien semillas (PCS), dimensiones de semilla, color de semilla, características fenológicas como: días a floración (DF), días a madurez fisiológica (DMF), vigor y temperatura del dosel (TD) a los 35 y 42 DDS. 37
- Figura 6. Análisis de componentes principales para rendimiento (kg/ha), rendimiento por planta (RPP), peso de cien semillas (PCS), días a floración (DF), días a madurez fisiológica (DMF), biomasa por planta (BMP), índice de cosecha (IC), vigor, temperatura del dosel (TD 32), color de semilla (L, croma y hue) y dimensiones de semilla (área, perímetro, largo, ancho y circularidad) evaluados en la población RIL de frijol tépari, bajo condiciones de estrés por altas temperaturas. 43
- Figura 7. Gráfico de Análisis de correlación de los fenotipos evaluados bajo condiciones de estrés por altas temperaturas, que mostraron correlación positiva (≥ 0.25) y negativa (≤ 0.25) en líneas endogámicas recombinantes (RIL) de frijol tépari. Los fenotipos que se incluyen son: Rendimiento, rendimiento por planta (RPP), número de vainas por planta, número de semillas por vaina, biomasa por planta (BMP), índice de cosecha (IC), peso de cien semillas (PCS), dimensiones de semilla, color de semilla, características fenológicas como: días a floración (DF), días a madurez fisiológica (DMF), vigor, temperatura del dosel (TD) a los 32 DDS y SPAD a los 21, 27 y 32 DDS. 45

Figura 8. Histogramas mostrando la distribución de características cuantitativas: Vigor (V), días a floración (DF), días a madurez fisiológica (DMF), temperatura del dosel (TD) a los 32, 35 y 42 DDS, altura de la planta (Alt) a los 27 y 47 DDS e índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI); evaluadas en la población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) derivadas del cruce G40001 x G40022 bajo condiciones de estrés por sequía terminal (ES) y estrés por altas temperaturas (EAT). 49

Figura 9. Histogramas mostrando la distribución de características cuantitativas: índice de vegetación de diferencia normalizada borde rojo (NDRE), SPAD (21, 27 y 32 DDS), biomasa por planta (BMP), rendimiento, rendimiento por planta (RPP), número de vainas por planta (NVP), número de semillas por vaina (NSV) y peso de cien semillas (PCS), evaluadas en la población RIL derivadas del cruce G40001 x G40022 bajo condiciones de estrés por sequía terminal (ES) y estrés por altas temperaturas (EAT). 50

Figura 10. Histogramas mostrando la distribución de características cuantitativas: peso de cien semillas (PCS), índice de cosecha (IC), índice de cosecha de vaina (ICV), discriminación de isótopo de carbono (DIC) y color de semilla (L, croma y hue); evaluadas en la población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) derivadas del cruce G40001 x G40022 bajo condiciones de estrés por sequía terminal (ES) y estrés por altas temperaturas (EAT). 51

Figura 11. Histogramas mostrando la distribución de las dimensiones de semilla: área, perímetro, largo, ancho y circularidad; evaluadas en la población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) derivadas del cruce entre G40001 x G40022 bajo condiciones de estrés por sequía terminal (ES) y estrés por altas temperaturas (EAT). 52

Figura 12. Histogramas mostrando la distribución de reacción fenotípica de la población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) y los padres G40001 x G40022 a las cepas de Xap 3353 y 484A evaluadas a los 14 y 21 días después de la inoculación (DDI). 61

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Cantidad de lluvia (mm) y datos de temperatura ambiental promedio, temperaturas máximas y mínimas (°C) registradas para experimento de estrés por sequía terminal en Juana Díaz, Puerto Rico en 2015. Se utilizaron los promedios de días a floración y madurez para representarlos en la gráfica. 31

Gráfico 2. Datos de temperatura ambiental promedio diaria, temperatura ambiental máxima y mínima (°C) y precipitación (mm) para experimento de estrés por altas temperaturas para la población RIL en Juana Díaz, Puerto Rico en 2016. Se usaron promedios para representar días a floración y madurez. 39

GLOSARIO DE TÉRMINOS

ACP	Análisis de componentes principales
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AFLP	Polimorfismo de Longitud de Fragmento Amplificado
Alt	Altura de la planta
cM	Centimorgan
CIM	Mapeo de Intervalos Compuestos
DF	Días a Floración
DDI	Días Después de la Inoculación
DDS	Días Después de la Siembra
DIC	Discriminación de Isotopo de Carbono
DMF	Días a Madurez Fisiológica
EAT	Estrés por Altas Temperaturas
ES	Estrés por Sequía Terminal
GBS	Genotipado por secuenciación
IC	Índice de cosecha
ICV	Índice de cosecha de vaina
L	Componente de luminosidad
LOD	Logaritmo de probabilidades
NDRE	Índice de vegetación de diferencia normalizada borde rojo
NDVI	Índice de vegetación de diferencia normalizada
NSV	Número de semillas por vaina
NSPP	Número de semillas por planta
PCS	Peso de cien semillas
QTL	Loci de características cuantitativas
R ²	Coeficiente de correlación de Pearson
RIL	Líneas endogámicas recombinantes
SNP	Polimorfismos de un solo nucleótido
SPAD	Desarrollo de analizadores de suelo y plantas
TARS	Estación de Investigación de Agricultura Tropical
TD	Temperatura del dosel

INTRODUCCIÓN

El aumento de las temperaturas atmosféricas, la sequía y las enfermedades como consecuencia del cambio climático, son factores críticos que limitan la producción de leguminosas a nivel mundial, especialmente los sistemas agrícolas en países tropicales. Estimaciones actuales sobre el cambio climático, predicen que para el 2100 habrá un incremento de las temperaturas entre 2-6 °C y mayores variaciones en precipitación; dando como resultado cambios en zonas agroecológicas e interrupción en los sistemas de producción de cultivos (Rowlands et al., 2012; IPCC, 2007). Es probable que a finales del siglo XXI la temperatura global de la atmósfera exceda 1.5 °C, comparado con el período de 1850 a 1900 para la mayoría de escenarios (IPPC, 2013).

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), es originario de las regiones Andina y Mesoamericana y es la leguminosa de grano más importante para la población de zonas tropicales de América Latina, Este y Sur de África, debido a que representa la principal fuente de proteína. Generalmente se adapta a temperaturas entre 18 y 24 °C y condiciones moderadas de humedad en el suelo. Las altas temperaturas contribuyen al aborto de flores, generando una reducción en el rendimiento (Rosas, 2003). Es cultivado principalmente por pequeños agricultores que tienen acceso limitado a uso de insumos (Beebe, 2012; Beebe et al., 2013), en adición la variabilidad del clima y el aumento de la presión de plagas y enfermedades hacen que haya pérdidas en el rendimiento. Después de las enfermedades, la sequía es el factor más importante de reducción en rendimiento, debido a que cerca del 60% de las áreas productoras de frijol a nivel mundial presentan periodos prolongados de sequía (Thung y Rao, 1999; Rao, 2001). Otro problema asociado a la reducción de rendimiento son las altas temperaturas, se espera que para el 2030 las

temperaturas promedio en algunos países de América Latina y África serán $\geq 25^{\circ}\text{C}$, debido a esto, se estima que los siguientes países tendrán pérdidas en áreas de producción de frijol: Malawi (36%), DR Congo (22%), Tanzania (12%), Uganda (8%), Kenya (6%), Nicaragua (68%), Haití (40%), Brasil (30%), Honduras (26%), Guatemala (12%) y México (12%) (Beebe et al., 2013). Recientes estudios predicen que aumentos en temperatura de 3°C para 2100, generaran una reducción en el área de producción de frijol en África Sub-sahariana del 60% (Rippke et al., 2016).

A consecuencia de que el frijol común esta menos adaptado a condiciones de estrés por sequía y altas temperaturas, el uso de especies relacionadas como progenitores, ha sido una estrategia muy utilizada en los programas de mejoramiento. El frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) es una leguminosa subutilizada que puede servir como fuente de alimento o como grano forrajero. Debido a su alta resistencia a la sequía, maximiza eficientemente el uso de agua (Thomas et al., 1983). Es originario de Mesoamérica, que comprende el suroeste de Estados Unidos y noroeste de México. Se adapta a zonas áridas por su tolerancia a sequía y altas temperaturas, por lo tanto, bajo estas condiciones es más productivo que el frijol común (Freeman, 1912).

El frijol tépari es un cultivo con alto valor nutritivo, mostrando menor concentración de grasa y alta concentración de sucrosa (Porch et al., 2016), en estudios previos reportaron que el contenido de proteína de frijol tépari en 100 g de semilla esta entre 21.5-25.3 g (Benitez et al., 1994; Nabhan et al., 1980; Tinsley et al., 1985). Bhardwaj y Hamama (2004) reportaron que el contenido de proteína en la semilla de frijol tépari (24%) y hierro (10.7 mg/100 g) fue comparable con el promedio de proteína y hierro para frijol blanco pequeño (22.3%, 6.4 mg/100 g), rojo arriñonado (22.5%, 6.7 mg/100 g) y pinto (20.9%, 5.9 mg/100 g).

El frijol tépari, además de mostrar tolerancia a sequía y altas temperaturas, también ha mostrado resistencia a bacteriosis común, saltahojas y bruchidos (Mejía-Jiménez et al., 1994). En

los últimos años se ha seleccionado germoplasma de frijol tépari (TARS-Tep 22 y TARS-Tep 32) con tolerancia a múltiples estreses, incluyendo altas temperaturas, sequía, resistencia a bacteriosis común causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (*Xap*) y semilla resistente a gorgojos (*Accanthoscelides obtectus* Say y *Zabrotes subfasciatus*) (Porch et al., 2013). G40022 mostró resistencia a 10 razas de roya mesaamericanas (41, 44, 47, 49, 53, 63, 67, 73, 85 y 108) y 6 razas andinas (72, 84, 89, 98, 102 y 105) (Pastor-Corrales et al., 2011). G40001 ha mostrado altos niveles de resistencia a bacteriosis común en las hojas y G40022 resistencia intermedia (Singh y Muñoz, 1999). El frijol tépari es más tolerante a las enfermedades relacionadas con la sequía y al daño por insectos que el frijol común (Thomas et al., 1983).

Las preferencias locales de una región son las que determinan el consumo de una determinada leguminosa (Broughton et al., 2003). Para frijol tépari el tamaño de la semilla es una de las desventajas que tiene para que sea atractivo al consumidor (Well et al., 1986). Estudios previos han reportado que el peso de cien semillas promedio para frijol tépari silvestre esta entre 2 a 5 g (Debouck, 1994). La selección masal en las primeras generaciones es un método eficaz para aumentar el peso de la semilla en poblaciones híbridas de frijol tépari (Wells et al., 1986). Recientemente en experimentos para evaluar el potencial de rendimiento en frijol tépari, reportaron que el peso de cien semillas promedio varió de 12.6 a 18.8 g (Bhardwaj et al., 2002) en téparis cultivados. Hay una gran diversidad en color y patrones de color de semilla en frijol tépari que incluyen: blanco, marrón, amarillo, crema, negro, rosado y moteado (Tépari Diversity Panel). El frijol tépari es un cultivo que juega un papel muy importante como cultivo y como donador de características de interés para el frijol común (Porch et al., 2013); Sin embargo, es necesario seguir evaluando germoplasma e identificar características fisiológicas y mecanismos de adaptación a múltiples estreses que sirvan como herramientas de selección para el mejoramiento genético del

cultivo y que permitan incrementar la producción de frijol tépari, debido a que es una alternativa dentro de las leguminosas de grano con un alto potencial genético y en la actualidad en Centro América y algunos países de África su producción es muy limitada.

OBJETIVOS

- Identificar características morfo-fisiológicas que contribuyan a la tolerancia de estrés por sequía terminal y altas temperaturas, en condiciones de campo, en una población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) de frijol tépari.
- Construir un mapa de ligamiento genético de la población RIL G40001 x G40022 usando genotipado por secuenciación (GBS), para identificar polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) usando como referencia el genoma de frijol común.
- Identificar loci de características cuantitativas (QTL) asociados a características de tolerancia a estrés por sequía, altas temperaturas y resistencia a bacteriosis común.

REVISIÓN DE LITERATURA

Factores limitantes en la producción de frijol

El cambio climático es una amenaza para la seguridad alimentaria, causando mayor variación en los factores abióticos tales como la sequía y las altas temperaturas. Si no se toman medidas de adaptación y transformación de los sistemas agrícolas, muchos de los cultivos serán afectados negativamente resultando en reducciones en rendimiento, especialmente en los países tropicales. Por ello es necesario comprender los mecanismos fisiológicos y genéticos de las plantas para adaptar al estrés y crear estrategias que permitan desarrollar cultivares resistentes a los factores abióticos tales como sequía y altas temperaturas para desarrollar sistemas de producción más sostenibles. Las características genéticas de una planta determinan su potencial máximo de tamaño, tasa de fotosíntesis, producción de materia seca, y la forma y naturaleza de sus órganos de almacenamiento. Sin embargo, los factores ambientales como la disponibilidad de agua, la temperatura, fotoperíodo, intensidad de luz y la disponibilidad de nutrientes determinan la medida en que el potencial pueda ser alcanzado (Rao, 2001). Los factores abióticos mas limitantes para la producción de frijol son la sequía, altas temperaturas, deficiencia de minerales, toxicidad y salinidad. La resistencia a estreses abióticos es fisiologicamente muy compleja y esta sujeta a los efectos ambientales y ha sido menos estudiada que la resistencia a factores bióticos en frijol común (Rao, 2001).

La resistencia a estrés abiótico esta determinada por herencia poligénica y puede estar condicionada por la interacción de múltiples mecanismos, lo que hace que sea difícil de estudiar tanto fisiológicamente como geneticamente (Miklas et al., 2006). La eficiencia de la selección para características fisiológicas depende de varios factores como la heredabilidad, correlaciones

genéticas entre las características, intensidad de selección y la manera en que la selección esta integrada en el programa de mejoramiento (Buttery et al., 1981).

La mejora del rendimiento de los cultivos por los fitomejoradores se debe principalmente a la adaptación genética (resistencia a plagas y enfermedades, modificación del ciclo de vida del cultivo para que se adapte mejor a su ambiente, tolerancia a salinidad, sequía, altas temperaturas, deficiencia de nutrientes y toxicidad) y el aumento en el potencial del rendimiento genético *per se* por encima de los cultivares estandar en el mismo ambiente (Rao, 2001). El potencial de rendimiento se define como el rendimiento de un cultivar cuando se cultiva en un ambiente al que esta adaptado, con nutrientes ilimitados, agua, plagas, enfermedades, malezas y otros estreses controlados efectivamente (Evans y Fisher, 1999).

Una de las herramientas que los fitomejoradores tienen para desarrollar cultivares resistentes a estreses abióticos es mediante la aplicación de marcadores moleculares. Esta estrategia tiene dos enfoques. El primer enfoque se centra en el uso del rendimiento como criterio de resistencia al estrés. Luego la respuesta al estrés se cuantifica para identificar QTL asociados a la resistencia y se hace tomando como referencia el rendimiento del cultivo con estrés y sin estrés y así determinar que QTL es específico para el rendimiento bajo estrés abiótico. El segundo enfoque se basa en la identificación de marcadores de resistencia al estrés a través de la búsqueda de genes o QTL para características o mecanismos de resistencia específicos. La selección basada en genes puede utilizar secuencias de genes candidatos como marcadores. Ambos enfoques requieren de estudios fisiológicos confiables, que demuestren la contribución positiva o negativa de cualquiera de las características o genes para producir bajo estrés a través de múltiples ambientes (Miklas et al., 2006). Recientemente han desarrollado tecnologías de secuenciación de próxima generación que son de bajo costo y alto rendimiento; GBS (Genotipado por

secuenciación) es una tecnología que aprovecha la representación reducida para permitir el genotipado de un gran número de individuos utilizando SNP (Polimorfismos de un solo nucleótido). El procedimiento para GBS incluye la construcción de librerías para reducir la complejidad del genoma utilizando enzimas de restricción (Elshire et al., 2011).

Sequía

La sequía es un estrés abiótico importante debido a que limita la producción de muchos cultivos a nivel mundial. Se prevé que debido al cambio climático la incidencia y duración de la sequía en las principales zonas agrícolas aumentarán y esta condición afecta negativamente los rendimientos de los cultivos y la seguridad alimentaria (Lauer et al., 2012; McClean et al., 2011). Sequía se refiere a la insuficiente disponibilidad de agua, incluyendo precipitación y la capacidad de almacenamiento de humedad en el suelo, en cantidad y/o distribución durante el ciclo de vida del cultivo, que restringe la expresión del potencial genético completo del cultivar (Beebe et al., 2013). Los dos tipos de sequía asociados con escasas precipitaciones son sequía intermitente y terminal. La sequía intermitente se debe a los patrones de lluvias esporádicas, que causan intervalos de sequía y puede ocurrir en cualquier momento durante la temporada de crecimiento del cultivo (Schneider et al., 1997) o cuando el agricultor tiene la opción de riego, pero el suministro es limitado. La sequía terminal ocurre cuando las plantas sufren falta de agua durante las etapas posteriores de crecimiento reproductivo o cuando los cultivos se siembran al inicio de una estación seca (Frahm et al., 2004).

Estrés por sequía terminal e intermitente afectan más del 60% de la producción de frijol a nivel mundial (White and Singh, 1991). En el trópico el estrés por sequía terminal es más común que el estrés por sequía intermitente. En América Latina el estrés por sequía terminal afecta más los países de Centro América y el noreste de Brasil, y el estrés por sequía intermitente es más

común en las tierras altas de México. En África es más común la sequía terminal que la intermitente (Beebe et al., 2013).

La adaptación a sequía engloba una serie de mecanismos que permiten a la planta sobrevivir y producir en épocas secas. Los mecanismos de resistencia a sequía se dividen en tres categorías: escape de la sequía, evitar la sequía y tolerancia a la sequía (Levitt, 1972). Escape de la sequía se define como la habilidad del cultivo para completar su ciclo de vida antes de que se desarrolle el déficit de agua en el suelo para el cultivo. Este mecanismo envuelve rápido desarrollo fenológico (floración y madurez temprana), plasticidad del desarrollo (variación en duración del período de crecimiento dependiendo de la extensión del déficit de agua), y la removilización de fotosintatos al grano. Evitar la sequía se define como la capacidad del cultivo para mantener el potencial de agua en el tejido relativamente alto, a pesar de la escasez de humedad en el suelo. Las plantas desarrollan sistemas radiculares profundos y eficientes. La conductividad hidráulica aumenta lo que causa que disminuya la pérdida de agua a través de la reducción de la conductividad de la hoja. La absorción de la radiación disminuye por el movimiento de las hojas, por ende disminuye la superficie de evaporación (área foliar). Tolerancia a la sequía se define como la capacidad del cultivo para soportar el déficit de agua con un potencial de agua bajo en los tejidos. Esto se logra a través del mantenimiento de la turgencia mediante un ajuste osmótico (proceso que induce la acumulación de soluto en la célula). Se aumenta la elasticidad en las células y se disminuye el tamaño celular. Hay mayor tolerancia a la desecación por la resistencia protoplasmática. Tolerancia a la sequía es más asociado con sobrevivencia en vez de productividad. Otro mecanismo de tolerancia a la sequía efectivo en la planta es la removilización de fotosintatos al grano en condiciones de sequía (Beebe et al., 2011).

El frijol tépari ha desarrollado varios mecanismos para evitar la sequía, tales como; el desarrollo de raíces profundas y finas, hojas pequeñas para reducir uso de agua, y control de apertura y cierre de estomas (Markhart, 1985; Mohamed et al., 2005; Beebe et al., 2013). Como una característica de adaptación a la sequía; un sistema radical vigoroso es importante para mantener la absorción de agua en suelos secos (Turner, 1979). Sanders y Markhart (1992), usaron injertos para examinar la importancia y los mecanismos del efecto del sistema radicular sobre el estatus de agua en la hoja de *P. vulgaris* y *P. acutifolius*. Ellos encontraron que la raíz determina el potencial de agua en la hoja en las plantas más estresadas y que la raíz de frijol tépari tiene mayor conductividad hidráulica que la de frijol común. La raíz principal de frijol tépari es gruesa y profunda (C. Strock, comunicación personal, 14 de septiembre de 2017). Mayor resistencia a las pudriciones radiculares es una característica importante para desarrollar tolerancia a sequía debido a que en condiciones de sequía terminal la pudrición gris del tallo causada por *Macrophomina phaseolina* puede causar pérdidas significativas (Frahm et al., 2004) y en condiciones de sequía intermitente *Rhizoctonia* y *Fusarium* son los patógenos que más afectan a las raíces (Navarrete-Maya et al., 2002). Miklas et al. (1998) identificaron líneas de frijol tépari (Mex-114, PI 440806-s, PI 321637-s) resistentes a *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium oxysporum* en condiciones de campo.

Han reportado que el mantenimiento en la turgencia de la célula mediante un ajuste osmótico es una respuesta de adaptación al estrés hídrico (Turner y Jones, 1980). En frijol tépari el mecanismo de evitar la sequía, no se debe necesariamente a un ajuste osmótico; sino a la preexistencia de un potencial osmótico bajo en la célula que permite la sensibilidad en la apertura y cierre de estomas, acompañado de un sistema radical extenso, manteniendo un potencial alto de agua en las hojas (Markhart, 1985; Mohammed, 2006).

Se ha demostrado que la acumulación de biomasa, la movilización de biomasa almacenada, el índice de cosecha y el índice de cosecha de vaina son características importantes que contribuyen positivamente al rendimiento final de la semilla en condiciones de estrés por sequía en frijol común (Ramírez-Vallejo y Kelly, 1998; Rosales-Serna et al., 2004; Schneider et al., 1997). El frijol tépari es superior al frijol común, considerando varias características deseables (índice de cosecha, índice de partición de vainas e índice de cosecha de vainas) que contribuyen a un mayor grado de adaptación al estrés por sequía terminal (Rao et al., 2013). El frijol tépari tiene la habilidad para enfrentar el suministro limitado de agua durante el crecimiento vegetativo y esta característica es importante para determinar el rendimiento final de la semilla (Markhart, 1985).

La relación entre rendimiento de los cultivos y agua consumida es la productividad del agua y lo que un productor desea, es obtener más cultivo por gota de agua (Kijne et al., 2003). Beebe et al. (2012), estudiaron la eficiencia de uso de agua en condiciones de riego y secano para rendimiento de grano por mm de agua aplicado en genotipos de frijol común, incluyendo la accesión G40001 de frijol tépari, donde encontraron que en condiciones de riego la accesión G40001 produjo 7.69 kg/mm y en condiciones de secano 8.89 kg/mm, comparado con los testigos de frijol común ‘San Cristóbal 83’ con riego 7.50 kg/mm y secano 3.85 kg/mm y ‘Tío Canela 75’ con riego 8.42 kg/mm y secano 5.99 kg/mm.

Otra característica importante relacionada con el uso eficiente del agua es la discriminación de isótopo de carbono como indicador indirecto de cierre de estomas y uso eficiente de agua, algunas plantas durante periodos de estrés hídrico cierran sus estomas para evitar pérdida de agua, por lo tanto, hay menos disponibilidad de CO₂ entrante y las plantas discriminan menos el carbono 13 (Uriarte, 2003). La selección por baja discriminación de ¹³C ha sido propuesta como un método de selección en mejoramiento de cultivos con metabolismo C3 (Khan et al., 2007).

La variación genética para características asociadas con la tolerancia a la sequía ha demostrado que existe una herencia cuantitativa (Asfaw et al., 2012; Blair et al., 2012). Recientemente utilizaron una población RIL proveniente de la cruce entre BAT 477 y DOR 364, generaron un mapa que integra 186 marcadores AFLP, RARD y SSR para identificar QTL para sequía en condiciones de campo e invernadero en Colombia; en ese estudio en condiciones de riego identificaron QTL asociados con rendimiento en cromosomas 3 y 7 y en condiciones de estrés por sequía para rendimiento mapearon QTL en cromosomas 4, 6, 8 y 10; para peso de semilla identificaron 30 QTL en cromosomas 2, 5, 6 y 9 y para días a floración y días a madurez fisiológica mapearon QTL en cromosomas 2, 4, 5, 6, 7 y 11 (Blair et al., 2012). En la misma población, Asfaw et al. (2012) identificaron QTL para índice de cosecha de vaina en cromosoma 6, índice de partición de vaina en cromosoma 3 y para lecturas de clorofila con SPAD en cromosomas 6. Mukeshimana et al. (2014) en una población RIL proveniente de la cruce entre SEA 5 y CAL 96 en condiciones de estrés por sequía identificaron QTL para rendimiento en cromosoma 9, para número de vainas por planta y peso de semilla en cromosoma 3, índice de cosecha de vaina en cromosoma 1, días a floración en cromosomas 1 y 4 y para días a madurez fisiológica en cromosomas 1, 7 y 9. En frijol tépari es el primer estudio que se realiza para identificar QTL para tolerancia a sequía y alta temperatura.

Altas Temperaturas

El aumento de la temperatura atmosférica va a tener un efecto dramático para los agricultores, ya que será más difícil que logren aumentar la productividad de los cultivos necesarios para satisfacer la demanda de alimentos. Se ha demostrado que un aumento de la temperatura de 1°C disminuye la producción de granos de algunos cultivos anuales alrededor de un 10% (Porch y Hall, 2013). Estudios recientes indican que los países centroamericanos son unas de las áreas del mundo que serán más afectados por el cambio climático (Giorgi, 2006) .

Las altas temperaturas afectan el desarrollo de las plantas ya sea directamente a los tejidos de la planta o indirectamente por la alta demanda de evaporación debido a que conlleva al aumento de la transpiración y disminuciones sustanciales del potencial de agua en la hoja (Hall, 2001). La magnitud del estrés por calor depende de la intensidad de la temperatura, duración de la exposición y la tasa de incremento, debido a que las plantas tienen cierta capacidad de aclimatarse, pero cuando los aumentos en la temperatura son rápidos pueden ser mas perjudicial para la planta. El desarrollo vegetativo disminuye cuando la fotosíntesis del dosel de la planta se reduce debido al estrés por calor. Si una planta se expone por un tiempo suficiente a un umbral máximo de temperatura el sistema fotosintético se daña de tal manera que la velocidad de absorción de CO₂ se reduce sustancialmente y el daño es irreversible (Porch y Hall, 2013).

Las plantas muestran diferentes mecanismos para sobrevivir bajo condiciones de altas temperaturas, como adaptaciones morfológicas y fenológicas o mecanismos de evitación o de aclimatación a corto plazo como es el cambio de orientación de las hojas, enfriamiento por transpiración, alteración de la composición lipídica de la membrana (Wahid et al., 2007). Las plantas que tienen mayor capacidad fotosintética a menudo tienen una mayor conductancia estomática, pero el mecanismo de esta regulación a largo plazo no se conoce (Hall, 2001).

Los efectos fisiológicos por las altas temperaturas son mayores en la etapa reproductiva que la vegetativa, en muchas especies de cultivos (Hall, 1992). Las altas temperaturas ($> 30^{\circ}\text{C}$ durante el día y $> 20^{\circ}\text{C}$ por la noche), en zonas tropicales y templadas reducen el rendimiento y la calidad de la semilla de frijol común (Singh, 2001). Las altas temperaturas por las noches afectan la floración (más que las altas temperaturas durante el día), provocando aborto de flores y vainas. La viabilidad del polen se reduce con deterioro del tubo polínico y una reducción del tamaño de la semilla. Por lo tanto, la adaptación a las altas temperaturas por las noches puede ser un mecanismo de resistencia genotípica (Porch y Jahn, 2001; Beebe et al., 2012). En condiciones de altas temperaturas el frijol tépari produce mayores rendimientos que el frijol común (Scully y Waines, 1988; Miklas et al., 1994). A 32°C el área de la hoja, peso seco del frijol común disminuyen significativamente y se inhibe el crecimiento radical, y el transporte de electrones en la mitocondria se reduce comparado con el frijol tépari que bajo esas mismas condiciones reduce el área de la hoja, pero compensa incrementando el número de hojas y no se inhibe el crecimiento radical, ni reduce el transporte de electrones (Lin y Markhart, 1990 y 1996). En condiciones de invernadero a 35°C durante el día y 32°C durante la noche en frijol tépari obtuvieron un promedio de número de vainas por planta de 4.56 y 17.15 semillas por planta, comparado con frijol común que no se produjo rendimiento bajo las mismas condiciones (Rainey y Griffiths, 2005). En la Universidad de Tolima-Armero en Colombia, durante octubre de 2014, evaluaron bajo condiciones de estrés por altas temperaturas 51 líneas derivadas de cruzamientos interespecíficos entre frijol común y frijol tépari y la línea de germoplasma tépari G40001. Las temperaturas durante la etapa de crecimiento del cultivo fueron de 35°C y 23°C , durante el día y la noche respectivamente, donde G40001 fue superior en su nivel de tolerancia a altas temperaturas basándose en el rendimiento (CIAT, 2015).

Bacteriosis común

La bacteriosis común, causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Smith), Vauterin et al. (*Xap*), es una enfermedad que se transmite por semilla y que afecta la producción de frijol a nivel mundial, en zonas tropicales, subtropicales y templadas (Zapata et al., 2007). Recientemente han reportado que las pérdidas de rendimiento en condiciones favorables por bacteriosis común puede ser >40% (Singh y Miklas, 2015). La infección por bacteriosis común en las hojas presenta síntomas iniciales, con puntos acuosos que aparecen generalmente en el envés de la hoja, estos puntos van aumentando de tamaño hasta que forman una lesión grande. En las vainas los síntomas son manchas húmedas pequeñas, cuando las manchas crecen se juntan y cubren gran parte de la vaina deforman e infectan las semillas. Las áreas afectadas por bacteriosis se muestran flácidas y se rodean de un halo clorótico, a medida va avanzando la enfermedad se torna café, hasta cubrir completamente el área foliar y provocar defoliación total en la planta (Castellanos et al., 2011). Las semillas infectadas presentan un color atípico, que conlleva a reducir su valor comercial (Mutlu et al., 2005). Las bacterias pueden sobrevivir durante varios meses en restos vegetales que están en el suelo y en la semilla (Gilbertson et al., 1990).

Para controlar la enfermedad se puede utilizar productos químicos, aunque no son muy efectivos. Prácticas culturales que reducen la infección y transmisión de la enfermedad es otra estrategia de manejar bacteriosis común. Sin embargo, la manera más efectiva de controlar la enfermedad es por medio de resistencia genética (Coyne et al., 2003), especialmente cuando se integra dentro de un sistema de manejo integrado de enfermedades (Mutlu et al., 2005). Altos niveles de resistencia se ha encontrado en frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray), moderada resistencia en frijol scarlet runner (*Phaseolus coccineus* L.) y moderada a baja resistencia en frijol común (*Phaseolus vulgaris*) (Singh y Miklas, 2015). El primer cruce interespecífico entre frijol

común y tépari se realizó por medio de rescate de embriones para recuperar cuatro plantas F_1 autofértiles que provenían del cruce entre el cultivar Montana No. 5 (Hembra) y Tépari #4 (Macho); las plantas F_2 se autofecundaron para producir una población F_3 para estudiar la segregación de la resistencia a bacteriosis común (Honma, 1956). Miklas et al. (2003) determinaron que la resistencia a bacteriosis común del GN#1 Sel 27 (Montana No. 5 x Tépari #4) proviene de Montana No. 5 no de frijol tépari.

La resistencia genética para bacteriosis en frijol común es controlada por un gen dominante (Zapata et al., 2011). Estudios revelan la identificación de 22 QTL distribuidos en los 11 cromosomas, pero la expresión de estos QTL está influenciada por el ambiente, la presión de la enfermedad, madurez de la planta y los órganos de la planta: semilla, hoja y vaina (Ariyaratne et al., 1999; Jung et al., 1997; Miklas et al., 1996; Santos et al., 2003; revisado por Kelly y Miklas, 1999, y Kelly et al., 2003).

El frijol tépari posee altos niveles de resistencia a bacteriosis, mientras que en frijol se han encontrado bajos niveles de resistencia (Singh y Muñoz, 1999). Altos niveles de resistencia a *Xap* están asociados al QTL BC420 localizado en el cromosoma 6 (Yu et al., 2000) y QTL SU91-CG11 localizado en el cromosoma 8 (Pedraza et al., 1997) que son derivados de frijol tépari. La accesión G40001 de frijol tépari es altamente resistente a bacteriosis común (Singh y Muñoz, 1999) y posee ambos marcadores SU91 y BC420 (Miklas et al., 2003). Mejía-Jiménez et al. (1994) desarrollaron seis líneas VAX provenientes de la cruce entre ICA Pijao y G40001 por medio de rescate de embriones; estas líneas han mostrado resistencia a bacteriosis común. G40022 mostro resistencia intermedia a bacteriosis común (Singh y Muñoz, 1999). Miklas et al. (2017) investigaron los efectos de los QTL en cromosoma 6 (BC420) y cromosoma 8 (SU91) sobre características

agronómicas como rendimiento y peso de semilla, en campos inoculados y no inoculados con *Xap*, ellos determinaron que ambos QTL no penalizaron el rendimiento ni el peso de la semilla en ambiente no inoculado; SU91 proporcionó protección para rendimiento en condiciones de alta presión de la enfermedad. Ambos QTL reducen la severidad de la enfermedad en condiciones de moderada a alta presión. El QTL mayor para resistencia a bacteriosis común está localizado en cromosoma 10 ligado al marcador SCAR SAP6 (Miklas et al., 2000), derivado de Montana No. 5 (Miklas et al., 2003). Viteri et al. (2014) identificaron un nuevo QTL en una población proveniente de la cruce entre Othello y VAX 1 en cromosoma 11, este QTL fue eficaz en contra de las cepas Xcp25 (agresiva) y ARX8AC (menos agresiva) en las hojas, pero no fue eficaz en las vainas.

Los programas de mejoramiento de la Universidad de Puerto Rico, USDA-ARS-TARS y Zamorano han desarrollado líneas resistentes a *Xap*, usando VAX 6, VAX 3 y WBB-20-1 como fuentes de resistencia (Zapata et al., 2007) y han liberado variedades resistentes a *Xap* de frijol común como Verano (Beaver et al., 2008) y TARS-LFR1 (Porch et al., 2014) y de frijol tépari (TARS-Tep 22 y TARS-Tep 32) (Porch et al., 2013).

MATERIALES Y MÉTODOS

Germoplasma

Se utilizó una población de líneas endogámicas recombinantes (RIL), F_{5:8}, proveniente de la cruce entre las accesiones de frijol tépari G40001 x G40022, para evaluarla en condiciones de estrés por sequía terminal (ES) y altas temperaturas (EAT) y resistencia a bacteriosis común. La accesión G40001 es originaria de Córdoba, Veracruz, México, conocida como frijol Bayo. Las características morfológicas que presenta la accesión son: semilla de color blanco, peso de 100 semillas en promedio es de 12.3 g, hábito de crecimiento voluble y resistente a bacteriosis común. La accesión G40022 es originaria de Pima, Arizona, Estados Unidos, conocida como Ac 2. Entre sus características morfológicas presenta: semilla de color amarillo, peso de 100 semillas promedio es de 15.3 g, hábito de crecimiento voluble e inmune a roya en Puerto Rico (Pastor-Corrales et al., 2011).

Los experimentos de estrés por sequía terminal y altas temperaturas se llevaron a cabo en la Subestación de Fortuna de la Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico, en Juana Díaz durante 2015 y 2016, respectivamente (Figura 1). La Subestación de Fortuna está ubicada en Juana Díaz, P.R. (18 ° 01'.81"N, 66 ° 31'713"W, elevación de 23 m) se encuentra en la costa sur de la isla. El suelo donde se realizaron los experimentos es un molisol, con una mezcla de suelo franco arcilloso ligeramente ácido con alta fertilidad (USDA-NRCS, 2012).



Figura 1. Área de estudio de experimento de estrés por sequía terminal (ES) y altas temperaturas (EAT). La flecha indica el pueblo donde se realizaron los experimentos de campo.

Experimento de estrés por sequía terminal

El experimento se llevó a cabo durante los meses de diciembre a febrero de 2015, debido a que son los meses de menor precipitación durante el año. Se sembraron 117 RILs ($F_{5:8}$), los dos padres G40001 y G40022 y un testigo (TARS-Tep 22); en un diseño de bloques completos aleatorizados, con dos réplicas por línea. La unidad experimental fue un surco de 3 m de largo con 0.76 m entre surcos. Se utilizó riego por goteo para asegurar la aplicación uniforme del agua en todo el experimento y a los 18 días después de la siembra hasta la cosecha el riego se eliminó, sometiendo el experimento a estrés por sequía terminal.

Para ambos experimentos de campo se tomaron datos de vigor, cuando las plantas alcanzaron su máximo desarrollo (R5: prefloración), utilizando la escala (1-9), donde 1=excelente, 3=buena, 5=intermedia, 7=pobre, 9=muy pobre; días a floración (DF) inicio de R6 (cuando el 50% de las plantas tengan 1 o más flores); días a madurez fisiológica (DMF) inicio de R9 (cuando las vainas pierden pigmentación y comienzan a secarse), (CIAT, 1987).

Para determinar el índice de cosecha (IC) y el índice de cosecha de vaina (ICV) se cosecharon 2 m centrales de cada parcela de 3 m, se contó el número de plantas cosechadas y luego se secaron bajo cubierta; antes de trillar la semilla se pesó la biomasa total y se tomó una muestra de 20 vainas de cada parcela. Seguidamente la semilla cosechada y la muestra de 20 vainas se secaron en un horno a 100 °C durante 24 horas; finalmente se tomó el peso seco de la semilla cosechada, las 20 vainas y la semilla de las 20 vainas y luego de registrar los pesos se determinó el índice de cosecha (IC) para estimar cuanto del vigor de la planta en términos de biomasa fue transferido a formación de grano. El índice se determinó como la razón entre el peso seco de la semilla cosechada en cada parcela y el peso seco de la biomasa total. El ICV estima cuanto del total de la vaina en términos de biomasa se transfiere a formación de semilla y se determinó mediante la relación entre el peso seco total de la semilla de las 20 vainas y el peso seco total de las 20 vainas incluidas las semillas.

Se sacó una muestra de 100 semillas de la semilla cosechada en los dos metros de cada parcela y se determinó el peso seco de 100 semillas por unidad experimental.

Se utilizó el espectrofotómetro ColorFlex EZ (HunterLab, Virginia, USA); se analizaron tres mediciones de color de: L, a* y b*, donde L es el componente de luminosidad que va desde 0 (Negro) a 100 (blanco), y los parámetros a* (de verde a rojo) y b* (de azul a amarillo) son los dos componentes cromáticos, que varían desde -120 hasta +120 (Commission Internationale de l'Éclairage, 1978). Estas mediciones se utilizaron para calcular el croma $(C) = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$ y el ángulo de matizo hue (H°) = $(\text{ARCOTAN } b^*/a^*)$, donde 0°= rojo-púrpura; 90°= amarillo; 180°= azul-verde; 270°= azul; (McGuire, 1992) y finalmente determinar la variabilidad en color entre las líneas de la población RIL.

Se tomó una muestra de 40 semillas de cada línea de la población RIL cosechada en el experimento de estrés por sequía terminal y altas temperaturas. Las 40 semillas se escanearon en un escáner gráfico en formato A3 de alta resolución (Expression 11000XL, EPSON, Japón), seguidamente cada imagen de la semilla escaneada fue leída por SmartGrain versión 1.1 (Tanabata, 2012) y se exportaron los datos leídos a un formato de Excel de: área, perímetro, largo, ancho y circularidad de la semilla y los promedios de cada dimensión se analizaron en Infostat (2016).

Se utilizó el carro de detección proximal para tomar datos de altura de la planta, temperatura del dosel y determinar índices de vegetación. El carro de detección proximal es una tecnología que se utiliza para caracterizar el crecimiento y desarrollo de la planta, directamente en el campo por medio de sensores (White and Conley, 2013). Los datos se tomaron semanalmente desde el inicio de la floración hasta madurez fisiológica (25, 35 y 42 días después de la siembra (DDS) para el experimento de estrés por sequía y 27, 32 y 47 DDS para el experimento de altas temperaturas); durante las horas con temperaturas más altas del día (11:00 a.m. a 1:00 p.m.) y el cielo completamente despejado. Los datos que se registraron fueron: temperatura del dosel (TD), altura de la planta (Alt) y biomasa mediante el índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI) y el índice de vegetación de diferencia normalizada borde rojo (NDRE) (Figura 2). Los sensores que se utilizaron para medir altura de la planta, temperatura del dosel y biomasa se calibraron a una altura del suelo de 76.2 cm, cuando las plantas estaban pequeñas y a medida que las plantas fueron creciendo se cambiaron a una altura de 101.6 cm. Para medir la altura de la planta el carro tiene 4 sensores ultrasónicos de precisión (MB7364A, MaxBotix, Minnesota, USA), ubicados dos en cada brazo. La temperatura del dosel se midió por medio de 4 sensores (SI-111, Campbell Scientific, Logan, Utah, USA) con un radiómetro infrarrojo de precisión que determinan la temperatura superficial de la planta y la temperatura del cuerpo del sensor, uno de los sensores en

cada brazo se colocó en dirección vertical hacia las plantas y el otro con una inclinación de 30°, para reducir el margen de error de los datos. Se utilizó un registrador de datos (CR3000, Campbell Scientific, Logan, Utah, USA), el cual se encargó de correr el programa y guardar todos los datos de los sensores de altura de la planta y temperatura del dosel a una velocidad de 4 datos por segundo.

Para biomasa se utilizaron dos sensores (ACS470, Holland Scientific, Lincoln, USA), que pueden medir la reflectancia del dosel de la planta durante el día y la noche; el sensor incorpora su propia fuente de luz LED, para iluminar el dosel de la planta detectado. Dicha fuente de luz emite simultáneamente luz visible y luz infrarroja cercana (NIR), imitando la composición espacial de la luz natural; los rangos de espectro de luz van desde 440 a 800 nm. Las señales de reflectancia medidas por el sensor son utilizadas para hacer cálculos de biomasa vegetativa y a partir de eso calcular índices vegetativos como el índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI) y diferencia normalizada borde rojo (NDRE). Para calcular las medidas de biomasa correctamente, se utilizó el registrador de datos (GeoScout GLS-400, Holland Scientific, Lincoln, USA), el cual recopila datos georeferenciados. Para todos los sensores se utilizó el sistema de posicionamiento global (GPS), (A325, Hemisphere, Arizona, USA) con una precisión de 0.025 m, luego se utiliza un sistema de cinemática en tiempo real (RTK) para mejorar la precisión de GPS.



Figura 2. Carro de detección proximal para tomar datos de temperatura del dosel, altura de planta e índices de vegetación (NDVI e NDRE).

Para determinar el contenido de carbono 13 y nitrógeno 15 de la semilla cosechada de cada réplica del experimento de estrés por sequía terminal se tomó una muestra de 5 semillas en sobres de manila. Luego, se secaron en un horno (Linberg/Blue M, Thomas Scientific, Swedesboro, New Jersey, USA) a 70°C, hasta que alcanzaron peso constante, para asegurar que estuvieran lo suficientemente secas. Las muestras se molieron en un molino (Wiley mini-mill, Thomas Scientific, Swedesboro, New Jersey, USA) que contenía un tamiz #30, hasta que quedo una textura harinosa. Se pesó 4.2 mg de cada muestra y se empacaron en cápsulas individuales de estaño de 5x8 mm, finalmente se enviaron a analizar a la Universidad de California (UC Davis Stable Isotope

Facility), utilizando un analizador elemental conectado a un espectrómetro de masas de relación de isótopos de flujo continuo, el cual 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 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). La discriminación de $\Delta^{13}\text{C}$, se calculó mediante la relación entre la fuente y el producto, para este caso la fuente fue el aire; la composición isotópica estable del aire $\delta^{13}\text{C}$ es de -8 ‰ y el producto es la cantidad de carbono en la semilla. La $\Delta^{13}\text{C}$ se calculó mediante la siguiente formula:

$$\Delta^{13}\text{C} = \delta^{13}\text{C}_{\text{aire}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{(producto)}} / [1 + \delta^{13}\text{C}_{\text{(producto)}}/1000]$$

Para el contenido de nitrógeno 15 en la semilla no se realizó ninguna conversión, se tomó el valor provisto por UC Davis Stable Isotope Facility.

Experimento de estrés por altas temperaturas

Se sembraron 142 RILs (F_{5:8}), los dos padres G40001 y G40022 y un testigo (TARS-Tep 22). El experimento se sembró en junio de 2016 en un diseño de bloques completos aleatorizados, con 4 réplicas por línea. La unidad experimental fue un surco de 3 m de largo con 0.76 m entre surcos. Se utilizó riego por goteo para asegurar la aplicación uniforme del agua en todo el experimento y evitar el estrés hídrico. Para este experimento se tomaron los mismos datos descritos en el experimento de sequía, excepto ¹³C y ¹⁵N.

En adición se determinó el contenido de clorofila usando el medidor de clorofila (Chlorophyll Meter, SPAD-502Plus, Konica Minolta, Warrington, United Kingdom). Este medidor determinó la cantidad relativa de clorofila presente en la hoja, midiendo la absorción de la hoja en dos rangos de longitudes de onda. La clorofila tiene picos de absorción en las regiones azul (400-500 nm) y rojo (600-700 nm), sin absorción en la región cercana al infrarrojo. El SPAD-502 mide la absorbancia de la hoja en las regiones rojo y cercana a infrarrojo, y usando esas dos absorbancias, el medidor calcula un valor numérico SPAD el cual es proporcional a la cantidad de clorofila en la hoja. El valor de SPAD se midió sobre las hojas jóvenes, completamente expandidas del dosel de la planta, tomando tres plantas al azar de cada línea en cada réplica. Las mediciones se realizaron a los 21, 27, 32 y 47 días después de la siembra (DDS).

A los 49 días después de la siembra se tomaron al azar, 10 flores completamente abiertas de cada línea de la población RIL, en condiciones de altas temperaturas en campo y se evaluó visualmente presencia o ausencia de polen en la superficie del estigma (recibe el polen durante la polinización) de las 10 flores cosechadas.

Reacción fenotípica a las cepas 3353 y 484A de bacteriosis común

La evaluación para bacteriosis común se llevo a cabo en el invernadero de la Estación de Investigación de Agricultura Tropical (USDA-ARS-TARS en Mayagüez, PR) localizada 18°12'28.5 "N y 6 °08'18.2 " O. El experimento se realizó en junio de 2016 y se sembraron 142 RILs, los 2 padres (G40001 y G40022), dos testigos resistentes (VAX 6 y TARS-Tep 22) y el testigo susceptible (Morales), para evaluar la reacción de las líneas a dos cepas de *Xap*: 484A de USDA-ARS-TARS y la cepa 3353 (Zapata et al., 2007).

Se sembró una semilla por macetero de 15.24 cm de diametro por 14.60 cm de alto, con medio Sunshine Mix #1 (Sun Gro Horticulture, Vancouver, British Columbia) y se le aplicó fertilizante de liberación lenta Multicote (14-14-14) al momento de la siembra. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con dos replicas por línea.

Ambas cepas de *Xap* (484A y 3353) fueron colectadas en Puerto Rico y se mantienen en subcultivo en USDA-ARS-TARS en Mayagüez. Las cepas de *Xap* se cultivaron en extracto de levadura dextrosa carbonato de calcio agar (YDCA), durante 48 horas a 26 °C. El inóculo se preparó usando una dilución en agua destilada estéril hasta que se llego a una concentración final de 10^7 unidades formadoras de colonias (ufc) por ml de cada cepa (Zapata et al., 1985), la concentración final se midio en un lector de microplacas (Ultramark, BIO-RAD) calibrado a 540 nm.

La inoculación se realizó a los 14 días después de la siembra, en el primer trifolio completamente desarrollado. Se inoculó una hoja con cada cepa de *Xap* (484A, 3353); la hoja inoculada con la cepa 3353 se identificó, para evitar confusión al momento de la evaluación. Para la inoculación se utilizó la técnica de punción multiple (Zapata et al., 1985; Andrus, 1948).

La evaluación se realizó a los 7, 14 y 21 días después de la inoculación (DDI), usando la escala de 1-9, donde 1= no hay síntomas y 9= lesiones necróticas (Figura 3), causando defoliación completa (Van Schoonhoven y Pastor-Corrales, 1987). Las hojas que presentaron una reacción según la escala ≤ 3 se consideraron resistentes.

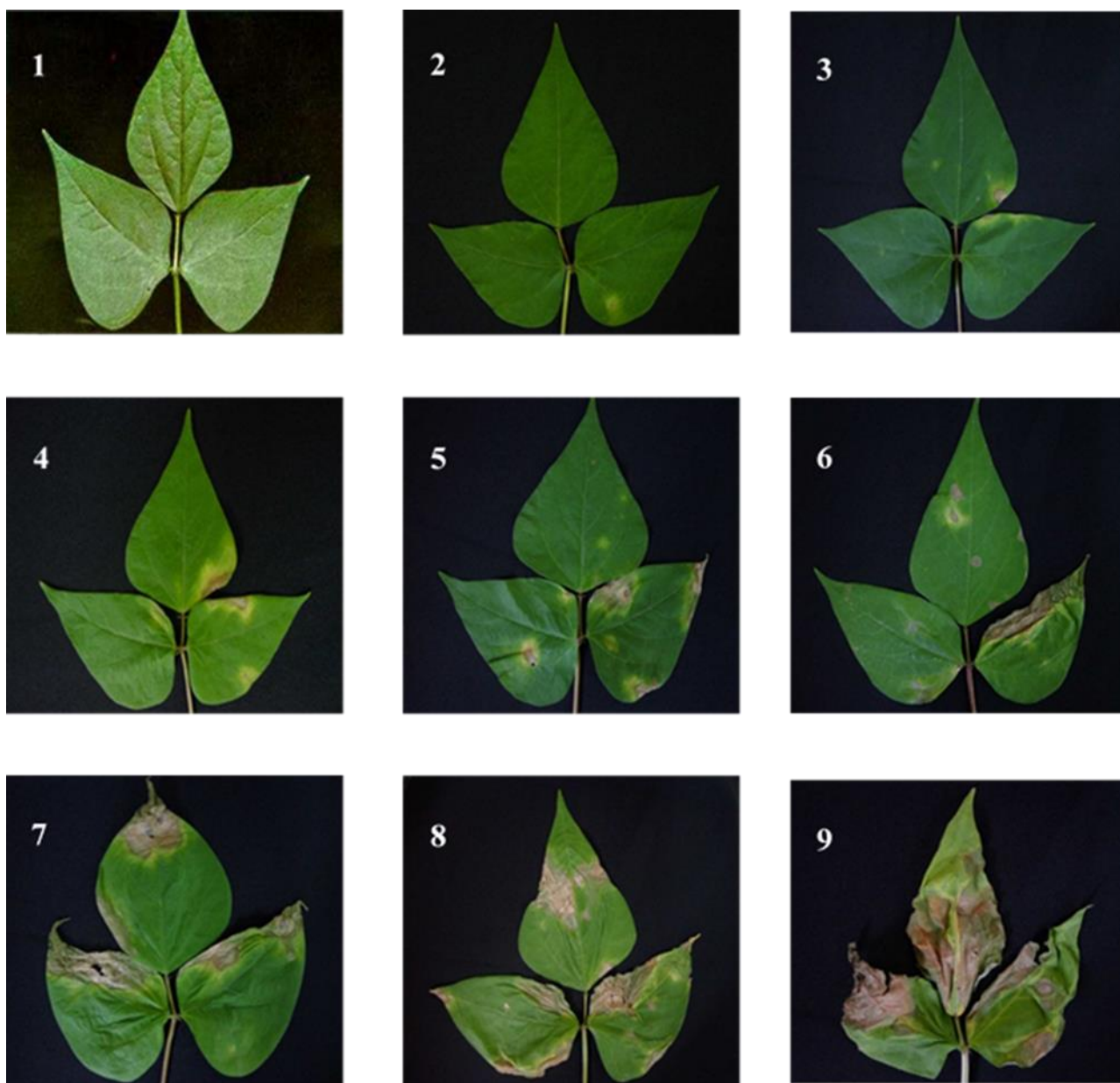


Figura 3. Escala de evaluación visual para bacteriosis común (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Smith), Vauterin et al. (*Xap*)); (Schoonhoven y Pastor-Corrales, 1987).

El análisis estadístico para los datos de campo se realizó usando el software estadístico Infostat (2016). Se realizó el análisis de varianza para comparar las medias de las líneas de la población RIL en condiciones de estrés por sequía terminal, altas temperaturas y reacción a dos cepas de bacteriosis común, usando la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher (DMS), con un nivel de probabilidad de $P \leq 0.05$, excepto para discriminación de isótopo de carbono que fue a un nivel de probabilidad ≤ 0.10 . Para el análisis de componentes principales (ACP) y los histogramas se utilizó Infostat (2016). Los gráficos del análisis de correlación se realizaron por medio del software estadístico R (R Core Team, 2015).

Análisis genético

Una población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) derivada de G40001 x G40022, compuesta por 142 genotipos fue utilizada en el presente estudio. Se sembraron plantas individuales de los 142 genotipos en el invernadero de USDA-ARS-TARS en Mayagüez, PR y se cosechó una muestra de tejido joven de cada línea y los parentales para extraer el ADN genómico, utilizando un kit de extracción DNeasy 96 Plant Kit (QIAGEN, Alemania). La cantidad de ADN genómico de cada muestra se midió usando un Quantifluor® dsDNA System (Promega, Madison, Wisconsin, USA) y se estandarizó a una concentración final de 5 ng/ μ l.

Genotipado por secuenciación (GBS)

Se utilizó el enfoque de genotipado por secuenciación (GBS), siguiendo el protocolo ApeKI-GBS (Elshire *et al.*, 2011). La librería para GBS de los parentales y las RILs fue preparada usando la endonucleasa ApeKI y secuenciada usando illumina 2500 (Weill Medical School, Cornell University). El ADN genómico de las RILs y los parentales se sometieron a digestión de restricción usando la endonucleasa ApeKI durante 2 horas a 75 °C. Se agregaron los adaptadores (códigos de barra) y se ligaron a los extremos utilizando un buffer de ligasa (T4) y ADN ligasa (T4), las muestras se incubaron a 22 °C durante 1 hora y luego se calentaron a 65 °C durante 30 minutos para inactivar la ligasa T4. Se tomaron 5 µl de cada muestra y se juntaron en un solo tubo, luego se purificaron para eliminar el exceso de adaptadores y se diluyeron hasta llegar a un volumen final de 50 µl. Finalmente se realizó PCR para aumentar los fragmentos de restricción de cada librería, utilizando cebadores complementarios a los adaptadores correspondientes. Las muestras que constituyen la librería de secuenciación se limpiaron con el kit de purificación QIAquick (QIAGEN, Alemania) y se enviaron a secuenciar.

Mapeo de ligamiento genético

Las lecturas obtenidas de la secuenciación se analizaron usando TASSEL 3-GBS (Glaubitz *et al.*, 2014) y para alinear las secuencias se usó el software Burrows-Wheeler Aligner (BWA) utilizando el genoma de la accesión de frijol común andina (G19833) como genoma de referencia (versión 1). Las secuencias de todas las muestras se compararon para identificar SNPs. Los datos genotípicos generados en la secuenciación se utilizaron para el mapeo de ligamiento genético usando el algoritmo de máxima verosimilitud multipunto de JoinMap 4.1 (Kyzama B.V,

Wageningen, Netherlands). Los marcadores fueron asignados a los grupos de ligamiento usando el logaritmo de odds (LOD) ≥ 3 .

Análisis de loci de características cuantitativas (QTL)

Los datos genotípicos generados del mapeo de ligamiento y los datos fenotípicos obtenidos de los experimentos de estrés por sequía terminal, altas temperaturas y bacteriosis común se usaron para el análisis de loci de características cuantitativas (QTL), utilizando Win QTL Cartographer version 2.5-011 (Wang et al., 2012), y se verificaron con R/QTL (Broman, 2009). Se utilizó el modelo estándar 6 con 10 cM de tamaño de ventana, velocidad de 1 cM, con un marcador de control número 10, el método de regresión inversa y para cada posición de QTL en cada cromosoma se utilizó una probabilidad de 0.05 con el método de mapeo de intervalos compuestos (CIM, por sus siglas en inglés). Para identificar QTLs significativos ($p \leq 0.05$) para cada fenotipo se determinó la localización específica basado en 1000 permutaciones.

RESULTADOS

Estrés por sequía terminal (ES) y sus efectos en el comportamiento de la población RIL

Los datos de distribución de lluvia y el agua aplicada por irrigación durante el periodo de desarrollo de la población RIL de frijol tépari (diciembre a febrero de 2015) indican que fue insuficiente para un crecimiento óptimo del cultivo (Gráfico 1). El experimento sufrió estrés por sequía terminal, debido a que las lluvias fueron esporádicas y el riego se suministró hasta los 18 días después de la siembra (DDS). A los 32 DDS (R6) el cultivo había recibido 32 mm y hasta madurez fisiológica (R9) el cultivo recibió 61 mm. La temperatura ambiental promedio fue de 25.23°C, con temperaturas máximas promedios de 30.7°C y mínimas de 20.7°C.

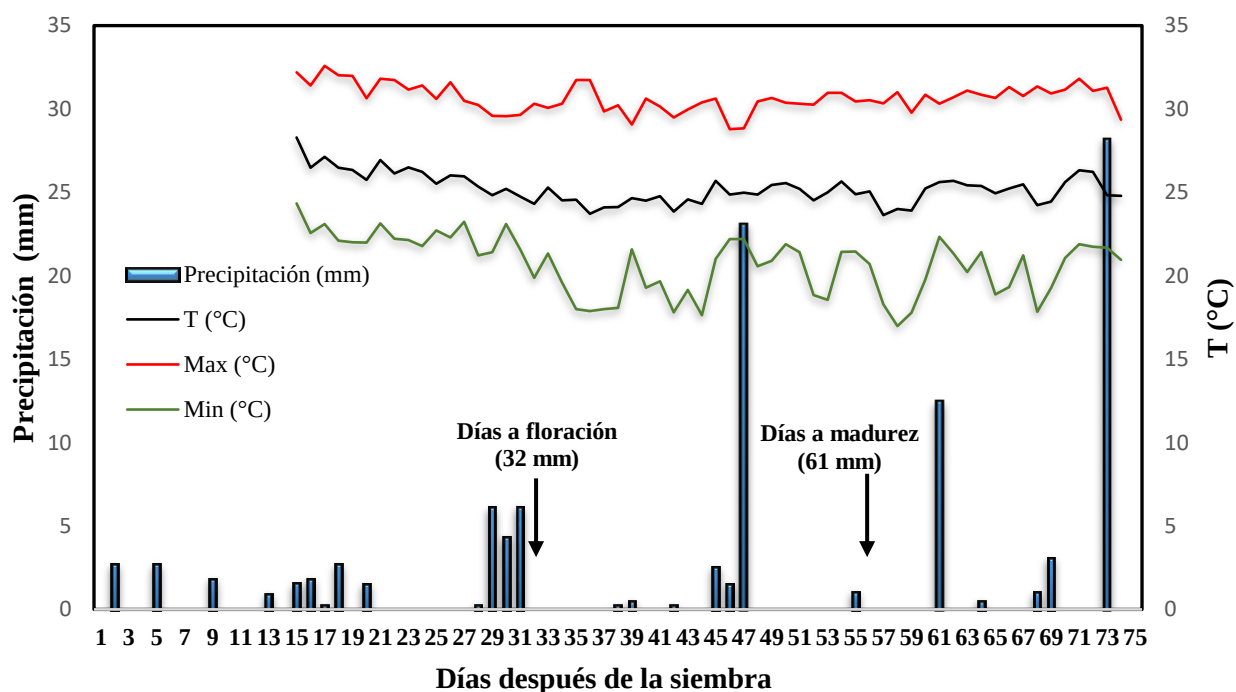


Gráfico 1. Cantidad de lluvia (mm) y datos de temperatura ambiental promedio, temperaturas máximas y mínimas (°C) registradas para experimento de estrés por sequía terminal en Juana Díaz, Puerto Rico en 2015. Se utilizaron los promedios de días a floración y madurez para representarlos en la gráfica.

En condiciones de ES se evaluaron 117 RILs y se recolectaron datos de 25 fenotipos, de estos, 18 fenotipos fueron significativos ($p \leq 0.05$), excepto para discriminación de isotopo de carbono que fue significativo a $p \leq 0.10$ (Tabla 1). Biomasa por planta, rendimiento, rendimiento por planta, número de vainas por planta, número de semillas por vaina y contenido de nitrógeno 15 no fueron significativos a $p \leq 0.05$ (Tabla 1). Para cada fenotipo se tomó el promedio, el rango mínimo y máximo de la población RIL comparado con los padres (G40001 y G40022). Para componentes de rendimiento la población mostró en promedio alto de rendimiento para biomasa total (3,812 kg/ha), comparado con el rendimiento en biomasa de los padres G40001 (1,709 kg/ha) y G40022 (1,230 kg/ha) y para PCS fue de 12.0 g, con un rango entre 10.0 a 16.5 g.

Se observaron diferencias significativas para índices de partición, tales como el índice de cosecha (IC) que indica la movilización de la parte aérea de la planta a la formación de semilla; el IC de la población en promedio fue de 39.0% y vario entre 22.0 a 75.0% y el índice de cosecha de vainas (ICV) indica la movilización de vaina a la formación de semilla. El ICV en promedio fue de 79.0% con un rango entre 72.0 a 83.0%, ambos padres G40001 y G40022 mostraron 41.0% y 79.0% de IC e ICV respectivamente.

Destacando la importancia de la precocidad como un mecanismo de adaptación a ES combinado con alto rendimiento, se determinaron los días a floración (DF) y días a madurez fisiológica (DMF) para la población RIL de frijol tépari. Para DF el promedio fue de 32 DDS con un rango entre 28-36 DDS; DMF en promedio fue a los 57 DDS, con un rango entre 52 a 63 DDS; G40022 mostró menos DF (29) y DMF (57) que G40001. En adición se registraron datos de vigor de la planta y temperatura de dosel (TD) (carro de detección proximal); en promedio la población mostro un vigor de 3 con un rango entre 1.5 a 5.0, según escala 1-9. La TD a los 35 y 42 DDS en promedio fue de 33.2 °C y 30.5 °C, respectivamente.

Se registraron datos de dimensiones de semilla en SmartGrain y en promedio la semilla de la población RIL mostro un área de 38.3 mm², perímetro de 24.6 mm, largo 8.5 mm, ancho 5.9 mm y circularidad 0.79. Los datos de color de semilla (L, croma, hue) se colectaron y analizaron en 2015, mostrando diferencias significativas entre las líneas. Los valores de L (51.7) en promedio fueron altos, debido a que la mayoría de las líneas de frijol tépari eran blancas, los valores promedio para croma (19.0) y hue (207.7) estuvieron dentro del promedio de los padres. En condiciones de ES, en promedio la población RIL mostro un 18.7‰ con un rango de 17.1-19.4 de discriminación de ¹³C menor al promedio de los padres G40001 (19.4‰) y G40022 (19.3‰).

Tabla 1. Rendimiento de semilla y los componentes de rendimiento, índices de partición, características fenológicas, dimensiones de semilla, color de semilla e isótopos de la población RIL y los padres sembrada bajo estrés por sequía terminal en Juana Díaz, Puerto Rico en 2015.

Fenotipos	Estrés por sequía terminal [†]	G40001	G40022	p≤0.05
Rendimiento y componentes				
Biomasa total (kg/ha)	3812.0 (2082.0-5803.0)	1709.0	1230.0	*
Biomasa por planta (g)	27.1 (11.3-91.8)	23.1	26.0	NS
Rendimiento (kg/ha)	1462.0 (709.0-2605.0)	4212.0	3148.0	NS
Rendimiento por planta (g)	10.3 (5.3-31.2)	6.5	6.2	NS
Número de vainas por planta	17.3 (8.8-58.3)	11.8	10.0	NS
Número de semillas por vaina	4.9 (4.0-6.0)	5.0	5.0	NS
Peso de cien semillas (g)	12.0 (10.0-16.5)	10.0	12.0	*
Índices de partición				
Índice de cosecha (%)	39.0 (22.0-75.0)	41.0	41.0	*
Índice de cosecha de vaina (%)	79.0 (72.0-83.0)	79.0	79.0	*
Fenología				
Días a floración	32 (28-36)	32	29	*
Días a madurez fisiológica	57 (52-63)	58	57	*
Vigor (1-9)	3.0 (1.5-5.0)	3.0	5.0	*
TD (35 DDS)	33.2 (30.2-36.6)	32.4	34.0	*
TD (42 DDS)	30.5 (28.6-33.1)	30.1	30.8	*

Continuación Tabla 1.

Fenotipos	Estrés por sequía terminal	G40001	G40022	p≤0.05
Dimensiones de semilla				
Área (mm ²)	38.3 (28.9-51.5)	31.2	45.9	*
Perímetro (mm)	24.6 (21.3-28.6)	22.2	26.9	*
Circularidad (mm)	0.79 (0.77-0.81)	0.8	0.8	*
Largo (mm)	8.5 (7.3-9.9)	7.7	9.3	*
Ancho (mm)	5.9 (5.2-6.8)	5.4	6.5	*
Color de semilla				
L	51.7 (16.0-70.9)	69.4	42.5	*
Croma	19.0 (1.6-4.0)	17.1	39.8	*
Hue	207.7 (48.4-433.1)	285.2	117.0	*
Isótopos				
DIC (¹³ C %)	18.4 (17.1-19.4)	19.4	19.3	*
Contenido de nitrógeno (¹⁵ N)	5.3 (4.3-6.2)	5.7	5.4	NS

* Significancia p≤ 0.05

€ Significancia p≤0.10

¶ Datos presentados como medias y los rangos mínimos y máximos en paréntesis.

NS: No significativo

TD: Temperatura del dosel

DDS: Días después de la siembra

G40001: Padre 1; G40022: Padre 2

Análisis de componentes principales (ACP) para estrés por sequía terminal

El análisis de componentes principales demostró que el primer componente principal explica el 27.3% de la variabilidad y el segundo componente el 13.6% de la variabilidad basada en el conjunto de las variables significativas evaluadas en este estudio (Figura 4). El primer componente principal representa las características de PCS; dimensiones de semilla como: área, perímetro, largo, ancho y circularidad y color de semilla: L, croma y hue y discriminación de isótopo de carbono ¹³C (DIC). El segundo componente representa las características de biomasa (kg/ha), DF, DMF, TD a los 35 y 42 DDS, índices de partición y vigor. La población RIL mostro una segregación transgresiva para los fenotipos evaluados, en condiciones de ES. Basándose en la

distribución de la población RIL respecto a la posición de los padres G40001 y G40022, las líneas que mostraron mayor valor de L presentaron menor, área, perímetro, largo, ancho y circularidad.

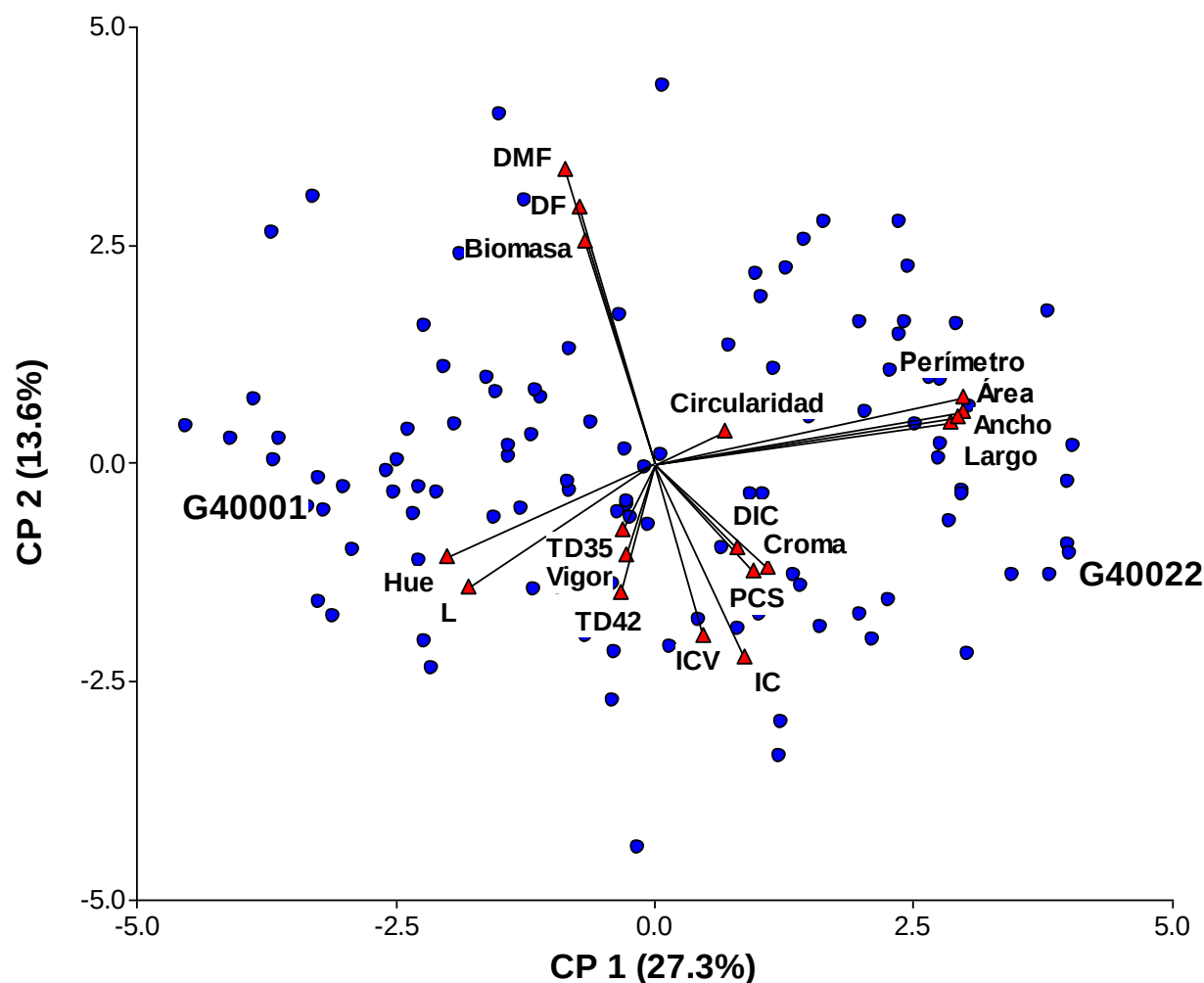


Figura 4. Análisis de componentes principales para peso de cien semillas (PCS), días a floración (DF), días a madurez fisiológica (DMF), biomasa (kg/ha), índice de cosecha (IC), índice de cosecha de vaina (ICV), vigor, discriminación de isótopo de carbono ^{13}C (DIC), temperatura del dosel (35 y 42 DDS), color de semilla (L, croma y hue) y dimensiones de semilla (área, perímetro, largo, ancho y circularidad) evaluados en la población RIL de frijol tépari, bajo condiciones de estrés por sequía terminal.

Análisis de correlación para estrés por sequía terminal

El análisis de correlación de la población RIL y los parentales bajo estrés por sequía terminal se hizo en R considerando solo las variables significativas $p \leq 0.05$ y que tuvieran una correlación positiva o negativa ≥ 0.25 . El análisis de correlación mostró que peso de cien semillas estuvo correlacionada positivamente con índice de cosecha de vaina (≥ 0.25), enfatizando la importancia que tiene una buena movilización de foto asimilados en condiciones de estrés por sequía terminal (Figura 5). Días a madurez fisiológica mostró una correlación positiva con días a floración, vigor y biomasa y una correlación negativa con peso de cien semillas e índice de cosecha de vaina. Biomasa mostro correlación negativa con índice de cosecha. Para dimensiones de semilla, el análisis muestra que área, perímetro, largo y ancho están altamente correlacionadas (≥ 0.75). L estuvo negativamente correlacionado con área, perímetro, largo, ancho y circularidad (-0.25 a -0.50).

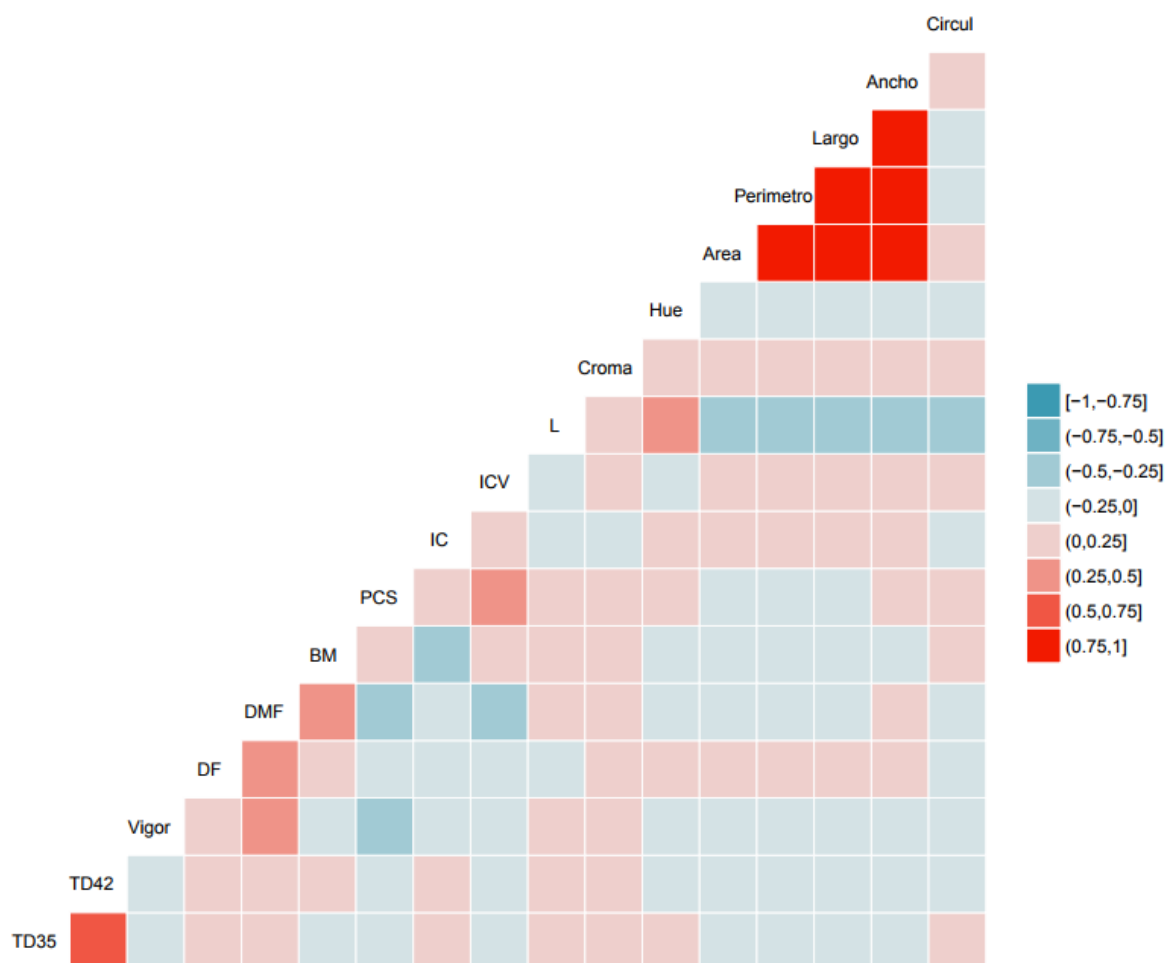


Figura 5. Gráfico de análisis de correlación de los fenotipos evaluados en condiciones de estrés por sequía terminal, que muestran la correlación positiva (≥ 0.25) y negativa (≤ -0.25) en líneas endogámicas recombinantes de frijol tépari. Los fenotipos que se incluyen son: biomasa (BM kg/ha), índice de cosecha (IC), índice de cosecha de vaina (ICV), peso de cien semillas (PCS), dimensiones de semilla, color de semilla, características fenológicas como: días a floración (DF), días a madurez fisiológica (DMF), vigor y temperatura del dosel (TD) a los 35 y 42 DDS.

Comportamiento de la población RIL en condiciones de estrés por altas temperaturas (EAT)

Se registró la temperatura ambiental diaria durante el período de desarrollo del experimento para estrés por altas temperaturas (junio a agosto de 2016) en Juana Díaz, PR (Gráfico 2). Las temperaturas diarias registradas fueron de 27.9 °C en promedio, con temperaturas máximas que alcanzaron los 33.1 °C y mínimas de 23.5 °C, la humedad relativa fue de 76%; estas temperaturas indican que fueron ideales para generar estrés por altas temperaturas y evaluar el comportamiento de la población RIL bajo estas condiciones. Se aplicó riego por goteo durante el desarrollo del cultivo para evitar el estrés hídrico.

Se tomaron datos de altura de planta, temperatura del dosel y biomasa con el carro de detección proximal a los 27, 32 y 42 DDS. A los 27 DDS la temperatura ambiental en promedio fue de 29.1 °C, una máxima de 34.2 °C y mínima de 24.5 °C; a los 32 DDS la temperatura ambiental en promedio fue de 29.4 °C, temperatura máxima de 33.7 °C y mínima de 24.7 °C y a los 42 DDS la temperatura ambiental en promedio fue de 28.3 °C, temperatura máxima de 33.5 °C y mínima de 24.2 °C. A los 49 DDS se tomaron los datos de liberación de polen, las temperaturas registradas durante el día fueron de 32.0 °C y en la noche 23.0 °C; de las diez flores evaluadas en promedio ocho flores mostraron polen.

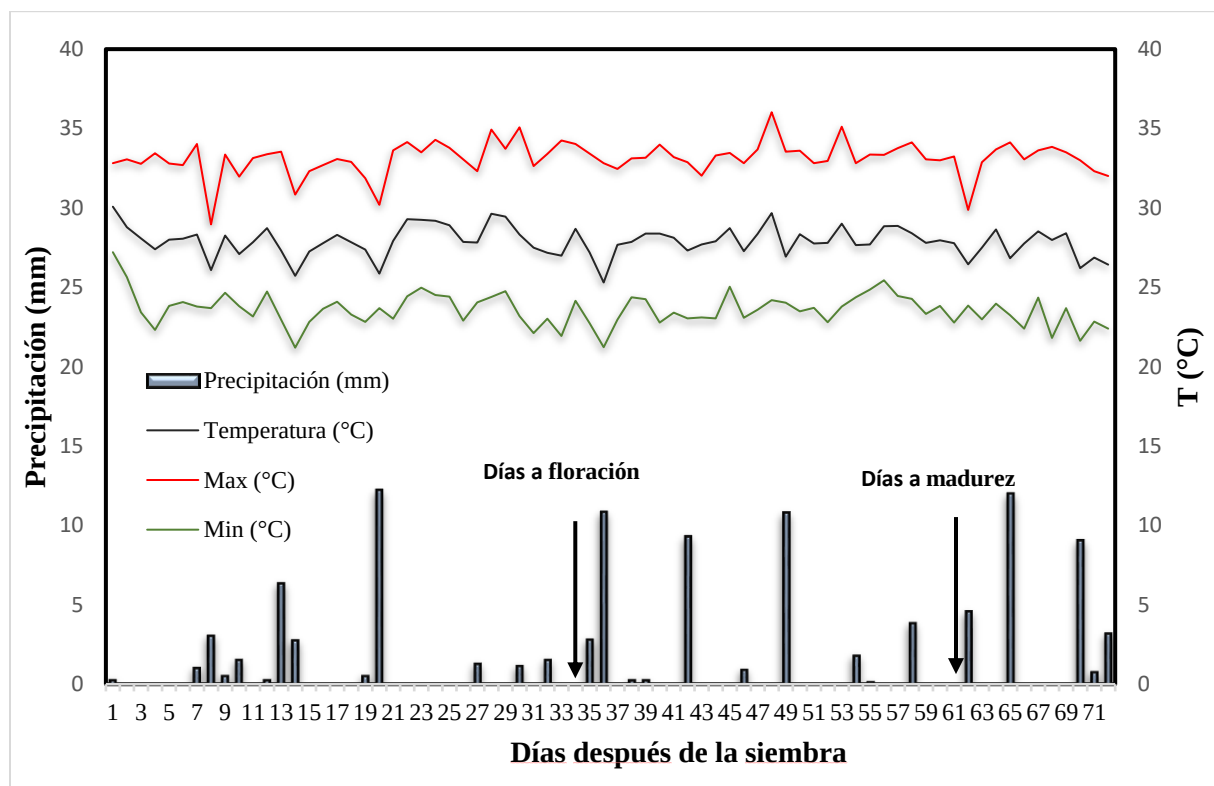


Gráfico 2. Datos de temperatura ambiental promedio diaria, temperatura ambiental máxima y mínima (°C) y precipitación (mm) para experimento de estrés por altas temperaturas para la población RIL G40001 x G40022 en Juana Diaz, Puerto Rico en 2016. Se usaron promedios para representar días a floración y madurez.

Bajo condiciones de estrés por altas temperaturas todos los fenotipos evaluados fueron significativos ($p \leq 0.05$) excepto biomasa total, índice de cosecha de vaina, temperatura del dosel a los 27 y 47 DDS, SPAD a los 47 DDS y altura de la planta a los 32 DDS (Tabla 2).

El rendimiento en biomasa por planta fue de 53.71 g, con un rango de 27.8 a 104.3 g por planta; el rendimiento promedio de la población RIL fue de 1209 kg/ha, con un rango de 388 a 2192 kg/ha; el rendimiento por planta fue de 12.8 g con un rango de 6.1 a 24.1 g; el promedio de vainas por planta fue de 21.2 y 4.7 semillas por vaina y el PCS en promedio fue de 12.8 g con un rango de 10.1 a 16.2. En general para las características de rendimiento y componentes de rendimiento el parental G40022 fue superior a G40001. La población RIL mostró un IC promedio

de 25% con un rango de 10 a 76%, los resultados indican que hay genotipos que tienen buena capacidad de movilizar fotoasimilados a formación de semilla; G40022 tuvo mayor IC que G40001.

Entre las características fenológicas determinadas, en promedio los DF fueron a los 34 DDS, con una variación de 32 a 38 DDS y los DMF en promedio fueron a los 61 DDS con una variación de 53 a 73 DDS. Según la escala de vigor (1-9), para la población RIL fue de 3.3 con un rango de 1.7 a 6.0. A los 32 DDS los datos registrados para TD con el carro de detección proximal fue de 39.3 °C con un rango de 36.7 a 43.3 °C. La altura de la planta a los 27 y 47 DDS fue de 62.5 cm y 27.0 cm, respectivamente; la disminución en altura de la planta se debe al hábito de crecimiento voluble que presenta el frijol tépari. Los índices de vegetación NDVI fue de 0.67 con un rango de 0.45 a 0.83 y NDRE fue de 0.23 con un rango de 0.16 a 0.28; G40022 fue mejor que G40001 para NDVI y NDRE.

Los valores de SPAD a los 21, 27 y 32 DDS en promedio fueron de 46.3, 38.5 y 44.7, respectivamente. Las dimensiones de la semilla determinadas con SmartGrain fueron: área (39.0 mm²), perímetro (25.0 mm), circularidad (0.77), largo (8.6 mm) y ancho (5.9 mm) y las características de color de semilla en promedio el valor de L fue de 50.4, croma 19.5 y hue 69.8.

Tabla 2. Rendimiento de semilla y los componentes de rendimiento, índices de partición, características fenológicas, dimensiones de semilla y color de semilla de la población RIL y los padres sembrados bajo estrés por altas temperaturas en Juana Díaz, Puerto Rico en 2016.

Fenotipos	Estrés por altas temperaturas[¶]	G40001	G40022	p≤0.05
Rendimiento y componentes				
Biomasa total (kg/ha)	4840 (2831.5-6807.5)	533.8	4480.0	NS
Biomasa por planta (g)	53.7 (27.8-104.3)	57.6	39.1	*
Rendimiento (kg/ha)	1209 (388-2192)	1036.0	1439.0	*
Rendimiento por planta (g)	12.8 (6.1-24.1)	10.7	12.8	*
Número de vainas por planta	21.2 (9.8-46.0)	17.5	20.1	*
Número de semillas por vaina	4.7 (3.3-6.0)	5.5	4.1	*
Peso de cien semillas (g)	12.8 (10.1-16.2)	11.3	16.1	*
Índices de partición				
Índice de cosecha (%)	25.0 (10.0-76.0)	22.0	32.0	*
Índice de cosecha de vaina (%)	81.0 (63.0-92.0)	81.0	84.0	NS
Fenología				
Días a floración	34 (32-38)	35	32	*
Días a madurez fisiológica	61 (53-73)	63	56	*
Vigor (1-9)	3.3 (1.7-6.0)	3.0	2.7	*
TD (27 DDS)	37.4 (33.7-42.3)	37.6	37.2	NS
TD (32 DDS)	39.3 (36.7-43.3)	39.2	38.7	*
TD (47 DDS)	35.6 (31.5-39.7)	30.1	30.8	NS
Altura de la planta (27 DDS)	62.5 (51.9-68.5)	66.7	66.8	*
Altura de la planta (32 DDS)	62.9 (55.7-68.7)	66.7	64.8	NS
Altura de la planta (47 DDS)	27.0 (8.4-39.7)	23.4	28.8	*
NDVI (0-1)	0.67 (0.45-0.83)	0.60	0.71	*
NDRE (0-1)	0.23 (0.16-0.28)	0.19	0.24	*
SPAD (21 DDS)	46.3 (40.3-51.2)	49.1	50.4	*
SPAD (27 DDS)	38.5 (32.5-47.0)	36.6	41.0	*
SPAD (32 DDS)	44.7 (37.9-52.1)	44.	47.2	*
SPAD (47 DDS)	49.7 (40.53-59.9)	47.9	49.8	NS

Continuación Tabla 2

Fenotipos	Estrés por altas temperaturas[¶]	G40001	G40022	<i>p</i>≤0.05
Dimensiones de semilla				
Área (mm ²)	39.0 (29.9-51.4)	35.1	47.2	*
Perímetro (mm)	25.0 (21.7-29.0)	23.7	27.6	*
Circularidad (mm)	0.77 (0.69-0.80)	0.78	0.7	*
Largo (mm)	8.6 (7.5-9.8)	8.1	9.6	*
Ancho (mm)	5.9 (5.1-7.0)	5.7	6.4	*
Color de semilla				
L	50.4 (16.9-70.8)	69.2	38.2	*
Croma	19.5 (3.8-43.0)	17.1	40.5	*
Hue	69.8 (24.7-85.1)	80.9	64.9	*

* Significancia $p \leq 0.05$

[¶] Datos presentados como medias y los rangos mínimos y máximos en paréntesis.

NS: No significativo

TD: Temperatura del dosel

DDS: Días después de la siembra

G40001: Padre 1; G40022: Padre 2

Análisis de componentes principales (ACP) para estrés por altas temperaturas

El análisis de componentes principales demostró que el primer componente principal explica el 19.3% de la variabilidad y el segundo componente el 17.6% de la variabilidad basada en el conjunto de las variables significativas evaluadas en este estudio (Figura 6). El primer componente principal representa mayormente rendimiento y componentes de rendimiento como: peso de cien semillas, biomasa por planta y número de semillas por vaina; índice de cosecha; dimensiones de semilla como: área, perímetro, largo, ancho y circularidad, color de semilla: L, croma y hue, días a floración y días a madurez fisiológica. El segundo componente representa mayormente vigor, liberación de polen, SPAD a los 21, 27 y 32 DDS, temperatura del dosel a los 32 DDS, altura de la planta a los 27 y 47 DDS, NDVI, NDRE, número de vainas por planta y rendimiento por planta.

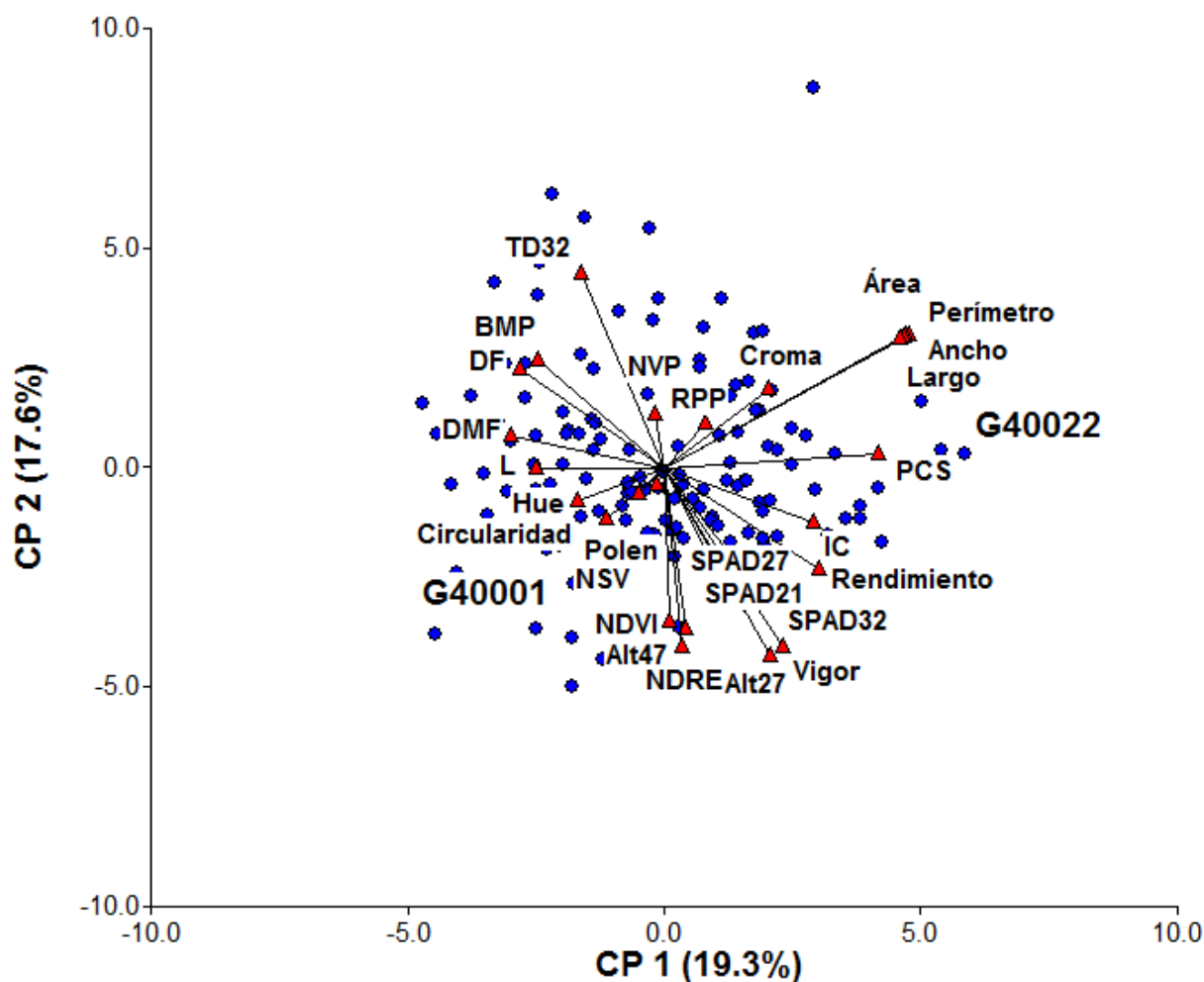


Figura 6. Análisis de componentes principales para rendimiento (kg/ha), rendimiento por planta (RPP), peso de cien semillas (PCS), días a floración (DF), días a madurez fisiológica (DMF), biomasa por planta (BMP), índice de cosecha (IC), vigor, temperatura del dosel (TD 32), color de semilla (L, croma y hue) y dimensiones de semilla (área, perímetro, largo, ancho y circularidad) evaluados en la población RIL de frijol tépari, bajo condiciones de estrés por altas temperaturas.

Análisis de correlación para estrés por altas temperaturas

El análisis de correlación de la población RIL y los parentales bajo estrés por altas temperaturas (EAT) se llevó a cabo considerando solo las variables significativas $p \leq 0.05$ y que tuvieran una correlación positiva o negativa ≥ 0.25 (Figura 7). Rendimiento tuvo una correlación positiva con IC, rendimiento por planta, PCS, número de vainas por planta, NDVI, NDRE, altura de planta a los 27 DDS, y una correlación negativa con DF, DMF, vigor y temperatura del dosel a los 32 DDS. PCS correlaciono positivamente con índice de cosecha, rendimiento, área, perímetro, largo, ancho, altura a los 27 DDS, SPAD a los 27 y 32 DDS y correlación negativa con DF, DMF y biomasa por planta. Los fenotipos para dimensiones de semilla: área, perímetro, largo y ancho estuvieron alta y positivamente correlacionados (≥ 0.75) entre sí y negativamente correlacionados con L y hue. Los valores de SPAD a los 21 y 32 DDS estuvieron negativamente correlacionados con días a floración, días a madurez fisiológica, biomasa por planta y altura de la planta a los 27 DDS; SPAD a los 27 DDS correlacionó negativamente con DF y DMF. Temperatura del dosel mostró correlación positiva con vigor y DF y correlación negativa con altura de la planta a los 27 DDS, NDVI y NDRE. Biomasa por planta se correlaciono positivamente con DF, DMF y vigor y negativamente con IC y PCS. Los índices de vegetación NDVI y NDRE estuvieron correlacionados positivamente.

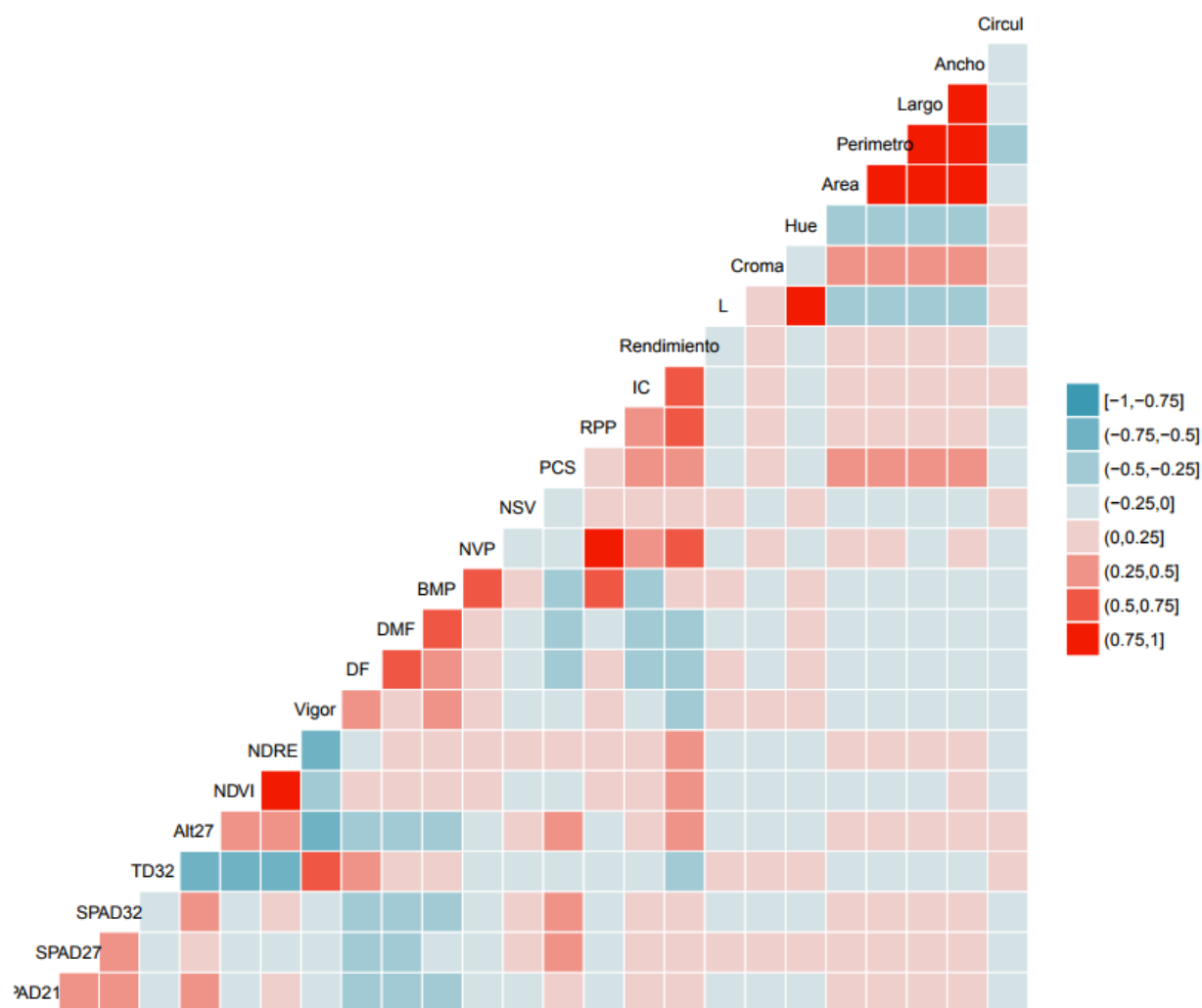


Figura 7. Gráfico de análisis de correlación de los fenotipos evaluados bajo condiciones de estrés por altas temperaturas, que mostraron correlación positiva (≥ 0.25) y negativa (≤ 0.25) en líneas endogámicas recombinantes (RIL) de frijol tépari. Los fenotipos que se incluyen son: rendimiento, rendimiento por planta (RPP), número de vainas por planta, número de semillas por vaina, biomasa por planta (BMP), índice de cosecha (IC), peso de cien semillas (PCS), dimensiones de semilla, color de semilla, características fenológicas como: días a floración (DF), días a madurez fisiológica (DMF), vigor, temperatura del dosel (TD) a los 32 DDS y SPAD a los 21, 27 y 32 DDS.

Reacción fenotípica de la población RIL a las cepas 3353 y 484A de Xap

La evaluación de reacción a la inoculación con las cepas de *Xap* 3353 y 484A de la población RIL y los parentales se realizó en 2016; y se utilizó la escala visual descrita por van Schoonhoven y Pastor-Corrales (1987). Se identificó diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las cepas de bacteriosis común evaluadas a los 14 y 21 días después de la inoculación. Se tomaron como resistentes las líneas que presentaron valores fenotípicos ≤ 3 , resistencia intermedia 4-6 y susceptibilidad ≥ 7 . La reacción fenotípica de resistencia/susceptibilidad de la población RIL de frijol tépari a ambas cepas de bacteriosis común fue variada, presentando alta segregación en los valores fenotípicos de 1-8 a la cepa 3353 y 1-4.5 para la cepa 484A (Figura 12); en general la cepa 3353 fue más virulenta que la cepa 484A. La distribución de resistencia fue continua y aproximadamente normal a la cepa 3353 a los 14 y 21 DDI, indicando la herencia cuantitativa de la característica. G40001 presentó resistencia intermedia con valores fenotípicos de 4.5 y G40022 exhibió excelente resistencia, con valores fenotípicos de 1.5 a la cepa 3353 de *Xap*, en las evaluaciones realizadas a los 14 y 21 DDI (Figura 12). Para la cepa 484A ambos padres fueron totalmente resistentes (Figura 12), con valores fenotípicos de 1. Las líneas VAX 6 (cruce interespecífico entre *P. vulgaris* y *P. acutifolius*) y TARS-Tep 22 presentaron resistencia (< 3), comparados con el testigo Morales que fue susceptible (> 6) a ambas cepas 3353 y 484A de *Xap*, evaluadas a los 14 y 21 días después de la inoculación (DDI).

Análisis genético e identificación de QTL para estrés por sequía terminal y altas temperaturas

Los padres G40001 y G40022 fueron secuenciados junto con las líneas endogámicas recombinantes (RILs) usando genotipado por secuenciación (GBS, por sus siglas en inglés). Se identificaron 1343 marcadores SNP que fueron polimórficos entre los padres G40001 y G40022 y distribuidos en los 11 cromosomas; el orden y localización del marcador SNP se asignó por medio del Burrows-Wheeler Aligner (BWA) utilizando el genoma de frijol común G19833 (versión 1), como genoma de referencia. El mapa G40001 x G40022 se extendió a 1,448.08 cM y la distancia promedio entre marcadores fue de 1.64 cM (Tabla 3). El número de marcadores varió en cada cromosoma, los cromosomas 3, 7, 8 y 9 fueron los que presentaron mayor número de marcadores; el cromosoma 5 fue el que mostro menor número de marcadores SNP y el cromosoma 3 fue el más largo con 231.78 cM. Se observó una distribución continua y normal para los fenotipos evaluados bajo condiciones de estrés por sequía terminal y altas temperaturas (Figuras 8-11), indicando que existe una herencia cuantitativa. Las comparaciones entre los padres y las RILs para rendimiento, componentes de rendimiento, índices de partición, características fenológicas, dimensiones de semilla, color de semilla y discriminación de isotopo de carbono, muestran que existe una significativa segregación transgresiva.

Tabla 3. Número, distribución y distancia de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en cromosomas individuales del mapa de ligamiento genético de la población RIL de frijol tépari proveniente de la cruce G40001 x G40022.

Cromosoma	Número de marcadores SNPs	Longitud (cM)	Distancia promedio entre marcadores (cM)
1	68.0	78.09	1.47
2	74.0	111.75	2.32
3	203.0	231.78	1.57
4	71.0	132.08	2.4
5	45.0	81.48	3.13
6	89.0	94.31	1.54
7	181.0	165.44	1.25
8	215.0	195.88	1.23
9	146.0	142.90	1.29
10A	41.0	35.94	1.49
10B	52.0	83.20	1.93
11A	91.0	44.39	0.66
11B	67.0	50.84	0.99
Total	1,343.0	1,448.08	1.64

cM: Centimorgan

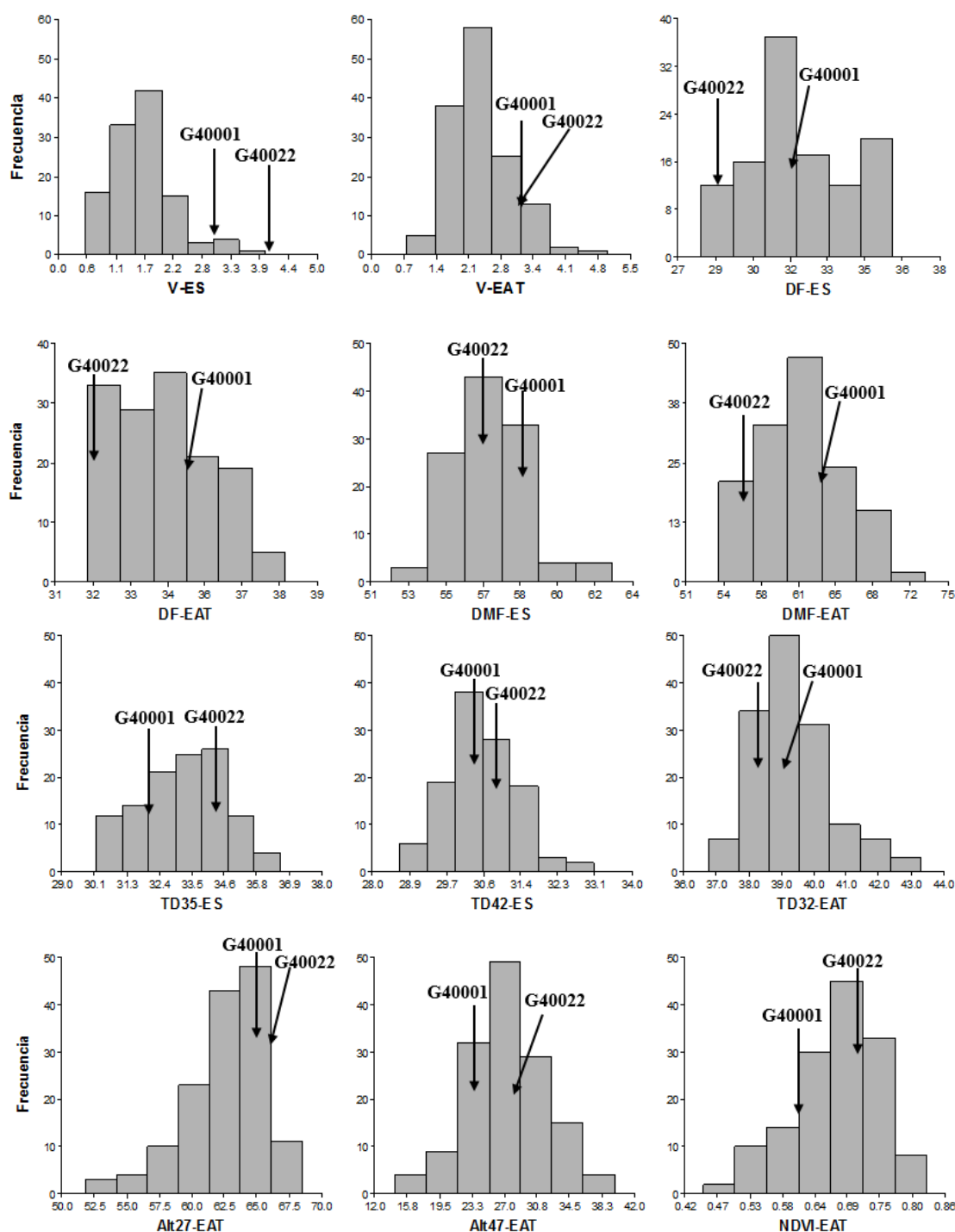


Figura 8. Histogramas mostrando la distribución de características cuantitativas: vigor (V), días a floración (DF), días a madurez fisiológica (DMF), temperatura del dosel (TD) a los 32, 35 y 42 DDS, altura de la planta (Alt) a los 27 y 47 DDS e índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI); evaluadas en la población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) derivadas del cruce G40001 x G40022 bajo condiciones de estrés por sequía terminal (ES) y estrés por altas temperaturas (EAT).

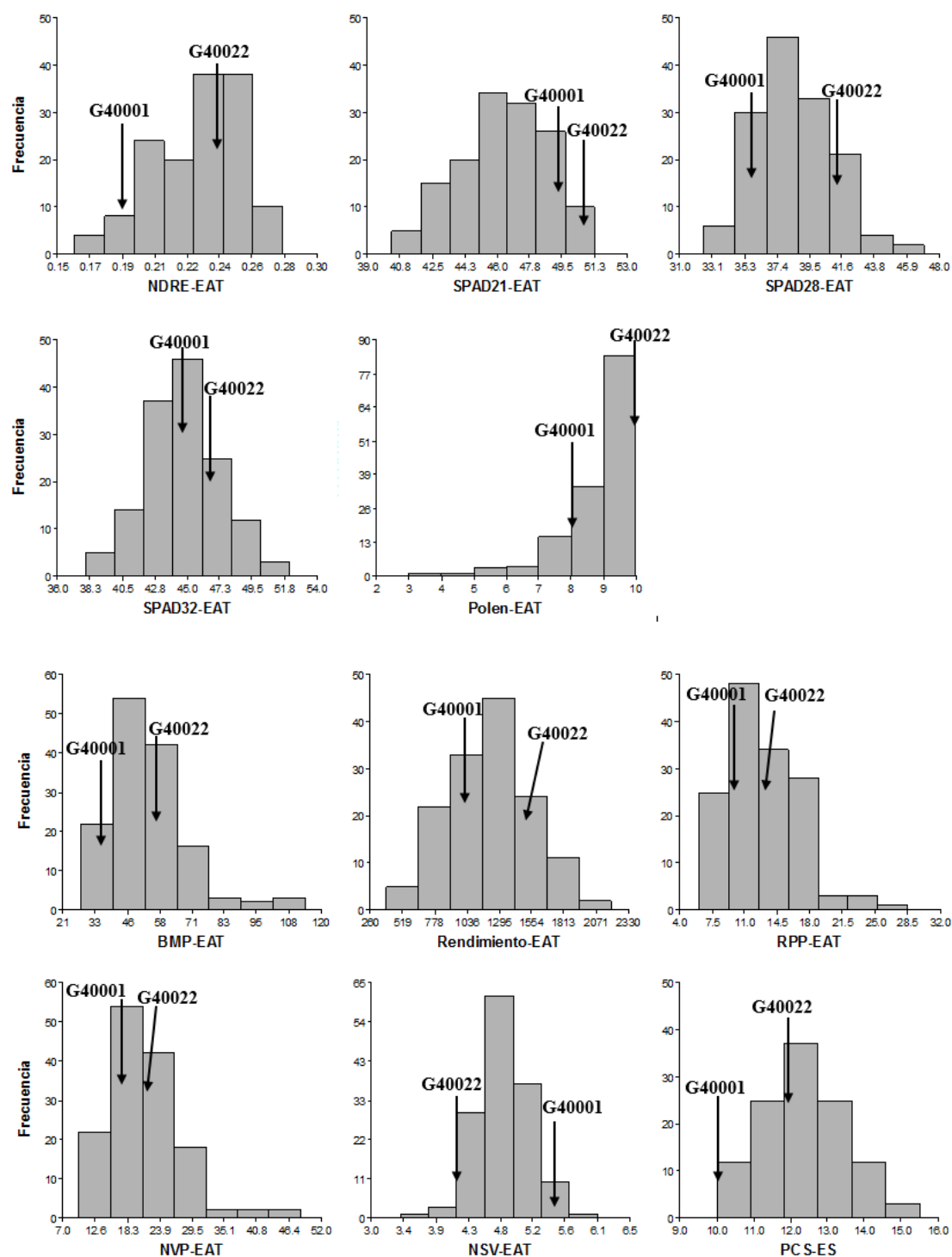


Figura 9. Histogramas mostrando la distribución de características cuantitativas: índice de vegetación de diferencia normalizada borde rojo (NDRE), SPAD (21, 27 y 32 DDS), biomasa por planta (BMP), rendimiento, rendimiento por planta (RPP), número de vainas por planta (NVP), número de semillas por vaina (NSV) y peso de cien semillas (PCS), evaluadas en la población RIL derivadas del cruce G40001 x G40022 bajo condiciones de estrés por sequía terminal (ES) y estrés por altas temperaturas (EAT).

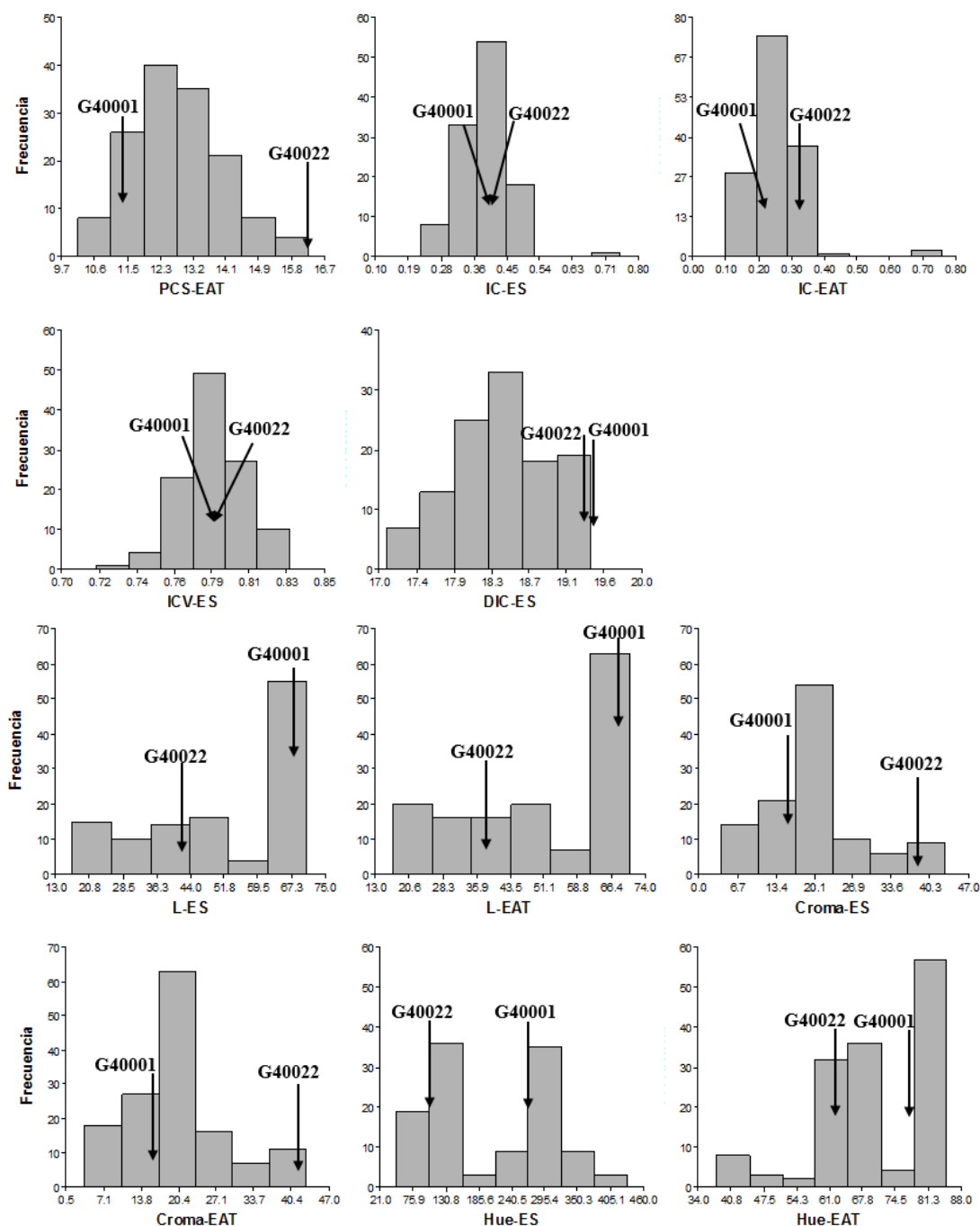


Figura 10. Histogramas mostrando la distribución de características cuantitativas: peso de cien semillas (PCS), índice de cosecha (IC), índice de cosecha de vaina (ICV), discriminación de isótopo de carbono (DIC) y color de semilla (L, cromas y hue); evaluadas en la población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) derivadas del cruce G40001 x G40022 bajo condiciones de estrés por sequía terminal (ES) y estrés por altas temperaturas (EAT).

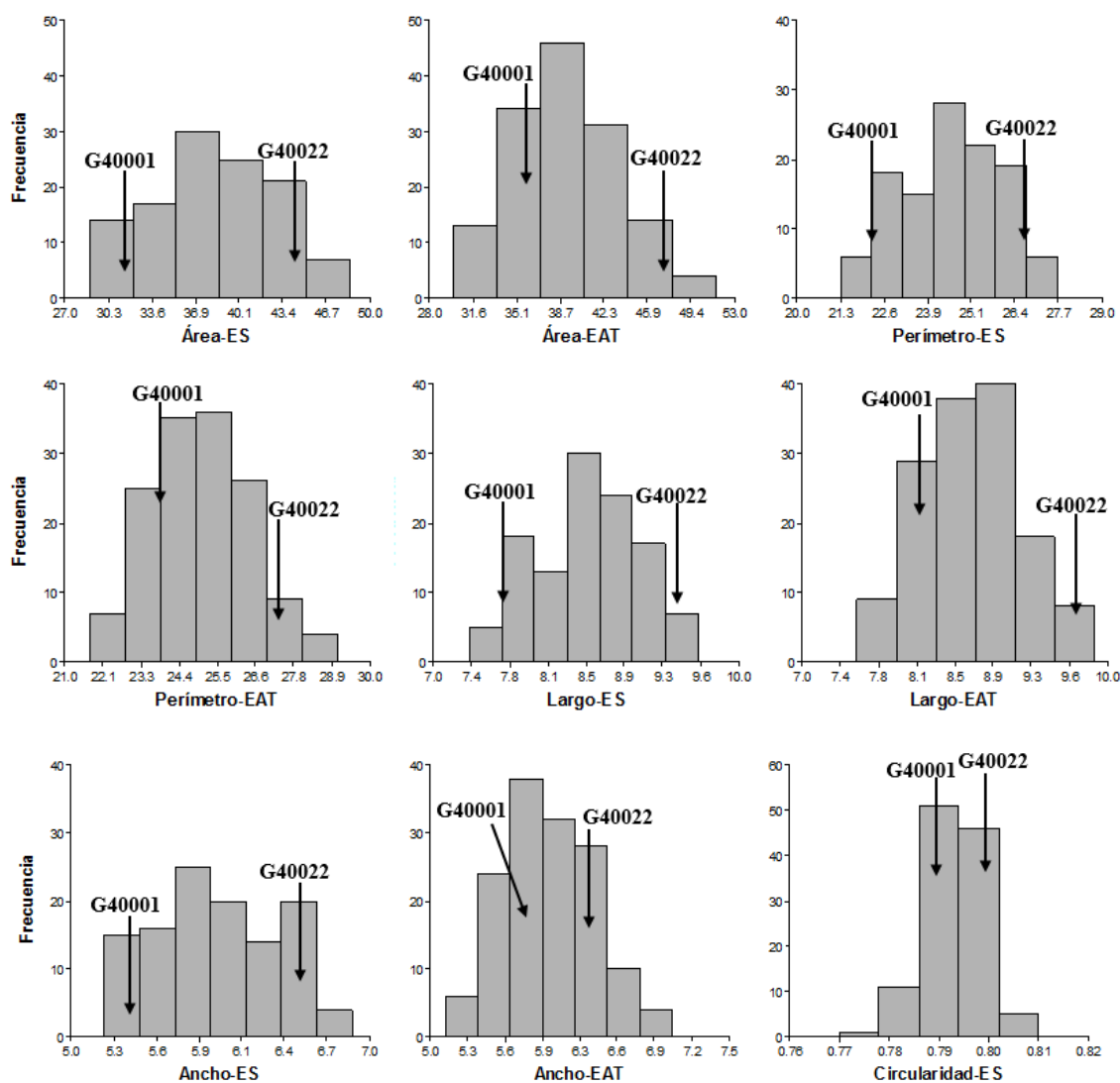


Figura 11. Histogramas mostrando la distribución de las dimensiones de semilla: área, perímetro, largo, ancho y circularidad; evaluadas en la población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) derivadas del cruce G40001 x G40022 bajo condiciones de estrés por sequía terminal (ES) y estrés por altas temperaturas (EAT).

Usando mapeo por intervalos compuestos (CIM, por sus siglas en ingles) en Win QTL Cartographer y un límite de LOD calculado en base a 1000 permutaciones, se identificaron QTL significativos para condiciones de estrés por sequía terminal (Tabla 4) y altas temperaturas (Tabla 5). Bajo condiciones de estrés por sequía terminal se identificaron QTL para 17 fenotipos y para estrés por altas temperaturas QTL para 25 fenotipos. Los QTL identificados están asociados con rendimiento, componentes de rendimiento, fenología, índices de partición, dimensiones de semilla, color de semilla e isótopo de carbono.

Para rendimiento de semilla se identificó un QTL localizado en cromosoma 3, este QTL también se asoció con el índice de cosecha y liberación de polen, identificado en el mismo cromosoma; los alelos positivos para estos QTL en cromosoma 3 provienen de G40022 identificados bajo condiciones de estrés por altas temperaturas. Para biomasa por planta se identificaron QTL en cromosomas 3, 7 y dos regiones de cromosoma 11A; para rendimiento por planta QTL en cromosoma 9; número de vainas por planta QTL en dos regiones del cromosoma 11A y número de semillas por vaina QTL en cromosoma 6 bajo condiciones de EAT. Para peso de cien semillas se identificaron QTL en los cromosomas 8 y 10 en condiciones de ES y en cromosomas 1, 3 y 8 en condiciones de EAT; el QTL identificado en cromosoma 8 fue consistente para ambos estreses, localizado en un intervalo de QTL que va desde 51.63 a 76.96 cM para ES y de 36.86 a 71.17 cM para EAT. Para índices de partición bajo condiciones de ES se identificaron QTL en cromosomas 8 y dos regiones de cromosoma 9; para índice de cosecha de vaina se identificaron QTL en cromosomas 7 y 8. Bajo condiciones de EAT se identificó un QTL localizado en cromosomas 3.

Se identificaron 5 QTL para características fenológicas (días a floración y días a madurez fisiológica) en cromosomas 1, 3, 4, 5 y 8; para días a floración el QTL identificado en cromosoma

4 fue consistente para ambos estreses; para días a madurez fisiológica ningún QTL identificado fue consistente para ambos estreses. Para vigor bajo condiciones de ES se identificaron QTL en cromosomas 1, 3, 7 y 10 y bajo condiciones de EAT se identificaron QTL en dos regiones del cromosoma 3 y en el cromosoma 8. El QTL identificado para vigor en cromosoma 7 bajo ES coincidió con el QTL para NDVI identificado en el mismo cromosoma, pero bajo EAT. Se identificó un QTL para NDRE en cromosoma 9. Se identificaron QTL en cromosomas 1 y 5 para temperatura de dosel a los 35 DDS y en cromosoma 8 para temperatura del dosel a los 35 y 42 DDS, bajo ES. Para temperatura del dosel a los 32 DDS se identificó un QTL en cromosoma 7 en condiciones de EAT. En condiciones de EAT se identificaron QTL en cromosomas 3 y 5 para altura de la planta a los 27 y 47 DDS, la localización de los QTL no fue consistente en cada cromosoma.

Para las lecturas realizadas a los 21, 27 y 32 DDS con el medidor de clorofila SPAD se identificaron QTL en cromosomas 1, 3, 5, 8 y 9 en condiciones de EAT. El QTL identificado en cromosoma 3 fue consistente en las tres lecturas de SPAD, provienen de G40022 y explica el 4.9, 15.7 y 24.5% de la variación fenotípica, respectivamente. El QTL identificado en cromosoma 8 a los 21 y 27 DDS, no fue consistente debido a que se localizó en diferentes regiones del cromosoma 8.

En condiciones de ES se identificó un QTL en cromosoma 7 para discriminación de isótopo de carbono ^{13}C , derivado de G40022, localizado a 12.78 cM, con un intervalo de QTL que va desde 0.01-27.44 cM y explica el 11.15% de la variación fenotípica.

En este estudio se tomaron datos de dimensiones de semilla, bajo condiciones ES y EAT y se identificaron QTL significativos para área, perímetro, largo, ancho y circularidad de la semilla (Tabla 4 y 5). Para área se identificaron QTL en cromosomas 6, 7, dos regiones de cromosoma 8

y 11B en condiciones de ES y QTL en cromosomas 1, 7 y 8 en condiciones de EAT. El QTL identificado en el cromosoma 7 fue consistente en ambos estreses y proviene de G40022 y el QTL identificado en el cromosoma 8 también fue consistente en ambos estreses y proviene de G40001. Para perímetro de semilla se identificaron QTL en cromosomas 6, 7, dos regiones de cromosoma 8 y 11B en condiciones de ES y en condiciones de EAT se identificaron QTL en cromosomas 7 y 8. Los QTL identificados en cromosomas 7 y 8 para perímetro fueron consistentes en ambos estreses. Para largo de semilla bajo ES se identificó un QTL en cromosoma 8 y en condiciones de EAT se identificaron QTL en cromosomas 6, 7 y dos regiones del cromosoma 8. Para ancho de la semilla en condiciones de ES se identificaron QTL en cromosomas 1, 7 y 8; en condiciones de EAT se identificaron QTL en cromosomas 6, 7 y tres regiones de cromosoma 8. Fue consistente la presencia de QTL en cromosoma 7 y 8 para ES y EAT. Para circularidad se identificaron QTL en cromosoma 7 y 10A, solamente en condiciones de estrés por sequía terminal.

Cuatro QTL fueron identificados para color de semilla (L) en cromosomas 3, 6, 7 y 8. Los QTL de cromosomas 6, 7 y 8 fueron consistentes en condiciones de ES y EAT; para croma solamente se identificó un QTL en cromosoma 6 en condiciones de ES. Para Hue se identificaron QTL en cromosomas 7 y 8; solamente el QTL identificado en cromosoma 7 fue consistente para ES y EAT.

Tabla 4. Ubicación y descripción de loci de características cuantitativas (QTL) para características de rendimiento, fenología, índices de partición, dimensiones de semilla, color de semilla y discriminación de isótopo de carbono, en la población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) provenientes de la cruce G40001 x G40022, sembrado bajo condiciones de estrés por sequía terminal en Juana Díaz, Puerto Rico, 2015.

QTL	Cromosoma	Posición de QTL	Intervalo del QTL	LOD	LOD límite	R² (%)	Aditividad
PCS	8	58.73	51.63-76.96	3.08	3.02	8.34	0.51
PCS	10	24.07	6.8-34.40	3.40	3.02	8.54	0.37
IC	8	106.41	99.16-123.2	3.82	2.64	12.64	0.03
IC	9	85.57	72.00-90.77	3.80	2.64	12.01	0.04
IC	9	101.35	90.77-112.15	4.95	2.64	13.66	-0.04
ICV	7	84.03	55.11-94.45	3.55	2.90	9.17	-0.01
ICV	8	188.25	170.75-195.57	4.09	2.90	10.49	-0.01
DF	3	106.28	82.91-115.85	7.20	2.96	15.68	1.10
DF	4	79.26	61.84-120.64	7.54	2.96	16.15	0.85
DF	5	63.08	34.16-80.71	3.18	2.96	6.41	-0.53
DMF	1	18.34	0.01-28.74	4.16	2.94	9.99	-0.64
Vigor	1	22.84	14.53-42.57	4.00	3.13	11.10	0.22
Vigor	3	138.92	116.26-149.70	5.98	3.13	15.18	-0.45
Vigor	7	119.43	88.63-154.78	3.68	3.13	8.75	0.19
Vigor	10	24.22	7.07-28.17	4.88	3.13	11.39	0.21
TD35	1	45.55	34.52-62.53	4.07	3.11	9.59	0.50
TD35	5	63.08	34.16-80.53	3.51	3.11	8.34	-0.45
TD35	8	59.52	49.04-71.17	3.54	3.11	8.25	-0.45
TD42	8	121.89	109.41-138.60	4.42	2.93	11.10	0.29
DIC (¹³ C)	7	12.78	0.01-27.44	4.07	3.00	11.15	-0.19

Continuación Tabla 4.

QTL	Cromosoma	Posición de QTL	Intervalo del QTL	LOD	LOD límite	R ² (%)	Aditividad
Área	6	86.29	70.26-93.49	3.90	3.02	8.07	1.31
Área	7	100.18	96.01-122.63	7.19	3.02	17.81	-2.02
Área	8	97.37	84.57-110.92	4.70	3.02	8.95	1.44
Área	8	146.91	121.89-158.7	6.63	3.02	13.05	1.79
Área	11B	17.81	6.31-31.14	3.30	3.02	6.04	-1.17
Perímetro	6	85.29	71.85-93.49	4.52	2.98	9.25	0.45
Perímetro	7	100.18	96.53-122.63	7.28	2.98	18.96	-0.67
Perímetro	8	97.37	84.57-109.92	4.50	2.98	8.64	0.45
Perímetro	8	146.91	121.89-157.7	6.99	2.98	14.06	0.62
Perímetro	11B	17.81	7.57-31.14	3.17	2.98	6.16	-0.38
Largo	6	85.29	71.85-93.49	5.07	2.93	10.51	0.16
Largo	7	98.18	96.01-122.63	7.30	2.93	18.68	-0.22
Largo	8	97.37	84.57-110.92	3.22	2.93	5.85	0.13
Largo	8	146.12	121.89-158.7	6.78	2.93	13.12	0.19
Ancho	6	84.29	71.85-93.49	3.92	3.08	7.70	0.11
Ancho	7	110.26	96.53-122.63	11.61	3.08	25.75	-0.22
Ancho	8	104.41	84.57-110.92	4.89	3.08	11.38	0.15
Ancho	8	146.92	121.89-150.59	4.47	3.08	8.34	0.13
Ancho	8	187.42	171.51-195.57	3.66	3.08	6.79	-0.11
Circularidad	7	120.22	105.65-131.07	3.16	2.93	7.70	0.00
Circularidad	10A	29.35	7.07-34.5	3.16	2.93	7.70	0.00
L	3	132.16	114.09-136.68	3.62	3.11	6.53	4.77
L	6	4.53	1.64-23.99	5.66	3.11	10.67	-6.11
L	7	104.66	94.14-115.26	13.10	3.11	32.45	11.58
L	8	99.56	88.83-110.92	8.66	3.11	17.54	-8.62
Croma	6	7.03	0.01-11.84	5.93	3.00	16.69	-4.64
Hue	7	100.42	88.63-111.73	3.80	2.27	6.43	6.24
Hue	8	59.52	49.04-73.5	4.74	2.27	7.74	-7.29

LOD: Logaritmo de probabilidades

LOD límite: se calculó realizando 1000 permutaciones ($p \leq 0.05$).

R²: Proporción de la varianza fenotípica explicada por el QTL

Aditividad: valores positivos indican que el alelo proviene de G40001 y el negativo de G40022.

PCS: Peso de cien semillas; IC: Índice de cosecha; ICV: Índice de cosecha de vaina; DF: Días a floración; DMF: Días a madurez fisiológica; TD 35: Temperatura del dosel a los 35 días después de la siembra; TD 42: Temperatura del dosel a los 42 días después de la siembra; DIC: Discriminación de isótopo de carbono.

Tabla 5. Ubicación y descripción de loci de características cuantitativas (QTL) para características de rendimiento, fenología, índices de partición, dimensiones de semilla y color de semilla, en la población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) sembrado bajo condiciones de estrés por altas temperaturas en Juana Díaz, Puerto Rico, 2016.

QTL	Cromosoma	Posición de QTL	Intervalo del QTL	LOD	LOD límite	R ² (%)	Aditividad
Rendimiento	3	13.98	7.97-34.51	3.31	3.12	7.91	-150.30
RPP	9	136.21	121.65-142.3	6.10	2.93	17.86	-1.68
NVPP	11A	13.70	1.65-20.65	3.36	2.89	8.68	-3.47
NVPP	11A	28.99	26.71-38.96	3.63	2.89	9.01	4.74
NSV	6	36.92	25.62-53.56	2.96	2.96	9.63	0.13
BMP	3	48.42	34.51-68.21	3.35	2.80	10.17	4.79
BMP	7	5.01	0.01-11.18	3.11	2.80	9.84	-5.36
BMP	11A	1.65	0.01-6.08	4.81	2.80	11.51	-6.50
BMP	11A	33.80	22.92-43.83	4.72	2.80	11.26	6.66
PCS	1	63.53	50.69-71.4	3.28	3.00	6.24	-0.32
PCS	3	157.16	115.85-170.43	9.41	3.00	20.05	-0.83
PCS	8	56.75	36.86-71.17	3.66	3.00	6.85	0.32
IC	3	20.86	2.41-33.65	2.63	2.43	5.91	-0.02
Polen	3	38.42	20.38-53.76	3.01	2.75	7.56	-0.03
DF	4	92.84	61.84-120.96	7.87	3.13	25.79	0.73
DF	8	184.90	173.55-195.57	5.08	3.13	11.13	0.48
DMF	4	95.84	61.84-120.64	5.10	2.96	19.68	1.65
Vigor	3	128.04	116.26-132.76	4.01	2.35	10.50	0.59
Vigor	3	139.92	138.71-149.24	2.73	2.35	17.64	-0.71
Vigor	8	109.92	99.56-122.2	4.74	2.35	12.78	-0.37
NDVI	7	113.91	105.65-125.83	3.26	3.03	9.43	-0.02
NDRE	9	63.91	50.19-75.02	4.19	2.99	10.18	0.01
Altura 27	3	157.69	146.03-169.39	3.44	3.01	7.67	-0.89
Altura 27	5	0.01	0.01-20.77	3.12	3.01	7.11	0.81
Altura 47	3	203.37	186.11-218.4	3.37	2.94	8.60	-1.40
Altura 47	5	81.10	63.08-81.1	3.43	2.94	7.63	-1.28

Continuación Tabla 5.

QTL	Cromosoma	Posición de QTL	Intervalo del QTL	LOD	LOD límite	R² (%)	Aditividad
TD32	7	119.02	105.89-129.49	3.18	3.02	7.42	0.44
SPAD 21	1	24.55	0.01-29.74	3.39	1.40	1.67	0.63
SPAD 21	3	156.12	145.14-183.97	9.08	1.40	4.97	-1.57
SPAD 21	5	2.44	0.43-21.29	2.79	1.40	1.36	0.58
SPAD 21	8	157.67	146.89-170.55	2.86	1.40	1.40	-0.58
SPAD 27	1	50.69	37.43-61.89	4.28	3.02	7.94	0.84
SPAD 27	3	149.24	138.71-162.51	8.04	3.02	15.71	-1.39
SPAD 27	8	184.90	173.55-195.57	5.99	3.02	11.46	-0.87
SPAD 32	3	151.70	142.6-164.52	8.97	2.88	24.52	-2.09
SPAD 32	9	80.03	69.08-90.77	5.12	2.88	10.84	1.03
Área	1	22.84	12.01-33.7	4.49	3.09	9.88	-1.48
Área	7	124.64	115.65-138.67	3.26	3.09	6.98	-1.20
Área	8	165.85	150.59-181.71	6.73	3.09	15.42	2.31
Perímetro	7	125.83	120.22-138.96	2.98	2.97	7.01	-0.41
Perímetro	8	139.00	121.89-150.12	4.06	2.97	9.43	0.47
Largo	8	165.85	150.59-182.3	5.63	3.07	13.15	0.23
Ancho	1	22.84	12.01-33.7	3.79	3.00	8.43	-0.12
Ancho	7	124.22	112.71-134.6	3.84	3.00	8.54	-0.11
Ancho	8	187.42	173.71-195.57	3.13	3.00	6.95	-0.13
L	6	4.14	0.01-23.99	4.19	3.07	6.98	-4.83
L	7	104.59	94.14-115.26	15.50	3.07	33.06	11.48
L	8	100.58	88.83-113.89	6.27	3.07	11.07	-6.38
Hue	7	103.59	96.53-122.63	4.57	2.94	11.17	3.98

LOD: Logaritmo de probabilidades

LOD límite: se calculó realizando 1000 permutaciones ($p \leq 0.05$).

R²: Proporción de la varianza fenotípica explicada por el QTL

Aditividad: valores positivos indican que el alelo proviene de G40001 y el negativo de G40022.

RPP: Rendimiento por planta; NVPP: Número de vainas por planta; NSV: Número de semillas por vaina; BMP: Biomasa por planta; PCS: Peso de cien semillas; IC: Índice de cosecha; DF: Días a floración y DMF: Días a madurez fisiológica.

Identificación de QTL para resistencia a bacteriosis común

La resistencia para bacteriosis común (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (*Xap*)) es una característica compleja, que es controlada por diferentes factores genéticos (Miklas et al., 2006). Se evaluó la reacción fenotípica de la población RIL y los padres a dos cepas (3353 y 484A) del patógeno de bacteriosis común a los 14 y 21 días después de la inoculación (DDI); los valores fenotípicos mostraron una distribución continua y segregación transgresiva específicamente para la cepa *Xap* 3353 (Figura 12). Con los datos fenotípicos y genotípicos se realizó el análisis genético para identificar QTL para resistencia a la enfermedad (Tabla 6). Se identificaron QTL en cromosomas 3 y 10B para la cepa *Xap* 3353; estos QTL fueron consistentes a los 14 y 21 DDI. A los 21 DDI se identificó un QTL en cromosoma 7. Para la cepa de *Xap* 484A se identificaron QTL en cromosomas 2, 4 y 6 a los 14 DDI y para los 21 DDI se identificaron QTL en cromosomas 3, 4 y 7. Los QTL en cromosoma 3 y 7, fueron consistentes, debido a que se identificaron en la población RIL para la cepa *Xap* 3353 y 484A. Los QTL identificados para resistencia a bacteriosis común a los 14 y 21 DDI se derivan del padre G40022, excepto el QTL en cromosoma 2, proviene del padre G40001.

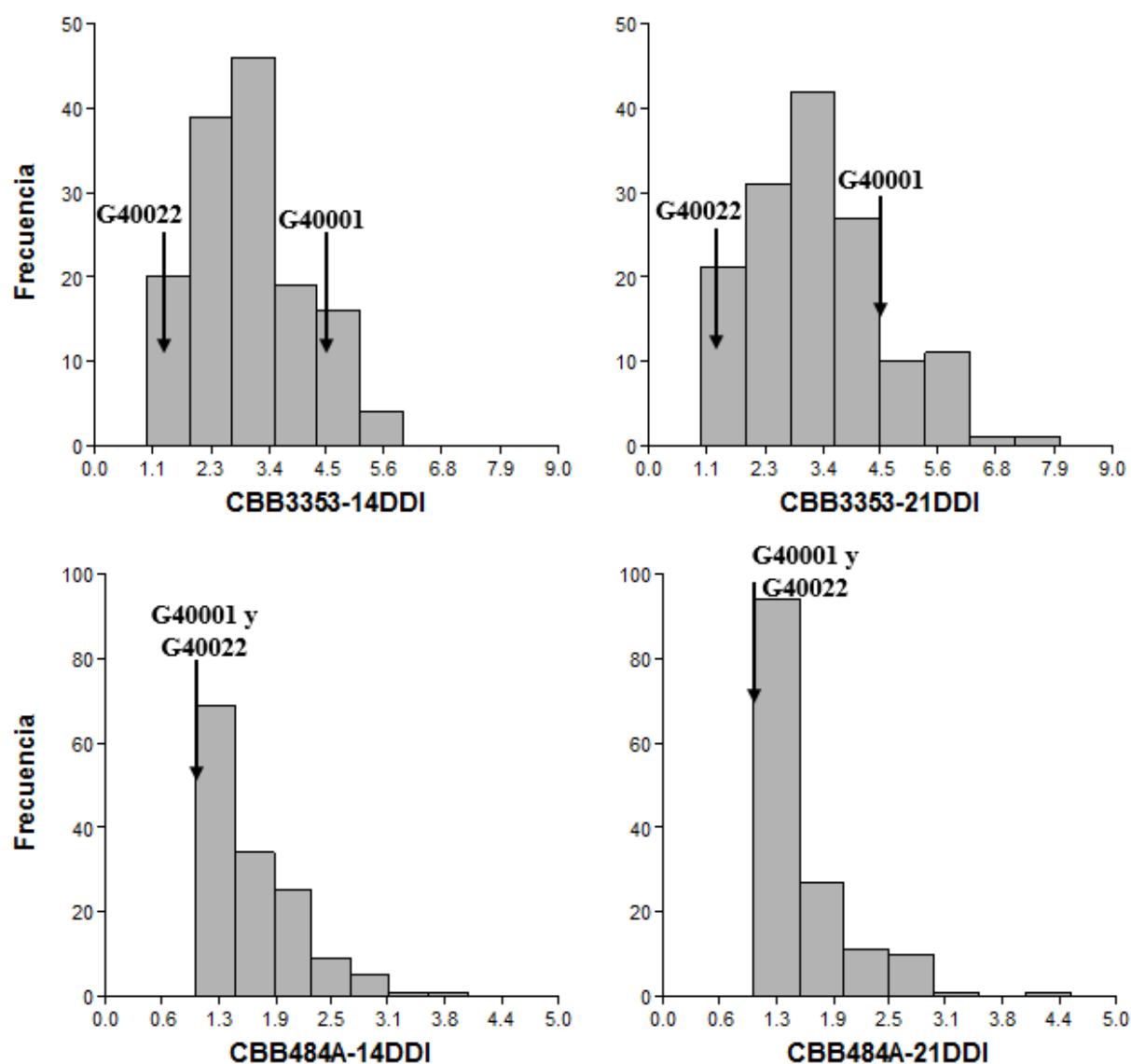


Figura 12. Histogramas mostrando la distribución de reacción fenotípica de la población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) y los padres G40001 x G40022 a las cepas de *Xap* 3353 y 484A evaluadas a los 14 y 21 días después de la inoculación (DDI).

Tabla 6. Ubicación y descripción de loci de características cuantitativas (QTL) para resistencia a bacteriosis común, en la población de líneas endogámicas recombinantes (RIL) sembrado bajo condiciones de invernadero en 2016.

QTL	Cromosoma	Posición de QTL	Intervalo del QTL	LOD	LOD límite	R ² (%)	Aditividad
<i>Xap</i> 3353-14	3	2.02	0.01-12.8	7.13	3.12	19.2	-0.52
<i>Xap</i> 3353-14	10B	27.05	23.64-50.25	3.98	3.12	11.0	-0.39
<i>Xap</i> 3353-21	3	2.02	0.01-12.8	6.06	3.05	15.9	-0.59
<i>Xap</i> 3353-21	7	148.78	138.67-164.91	3.69	3.05	12.5	-0.69
<i>Xap</i> 3353-21	10B	27.05	23.64-50.25	4.14	3.05	11.1	-0.48
<i>Xap</i> 484A-14	2	86.69	71.44-105.52	4.13	2.85	9.3	0.24
<i>Xap</i> 484A-14	4	82.85	61.84-120.18	4.70	2.85	11.0	-0.21
<i>Xap</i> 484A-14	6	0.01	0.01-8.29	2.88	2.85	6.3	-0.16
<i>Xap</i> 484A-21	3	7.97	0.01-27.86	3.30	2.87	7.2	-0.20
<i>Xap</i> 484A-21	4	82.85	62.5-120.18	5.76	2.87	14.0	-0.26
<i>Xap</i> 484A-21	7	139.75	111.26-157.38	4.42	2.87	9.8	-0.32

Posición de QTL: en centimorgan (cM)

LOD: Logaritmo de probabilidades

LOD límite: se calculó realizando 1000 permutaciones ($p \leq 0.05$).

R²: Proporción de la varianza fenotípica explicada por el QTL

Aditividad: valores positivos indican que el alelo proviene de G40001 y el negativo de G40022.

Xap: *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*

3353: Cepa de *Xap* (Zapata et al., 2007)

484A: Cepa de *Xap* (USDA-ARS-TARS)

14: Días después de la inoculación

21: Días después de la inoculación

DISCUSIÓN

En este estudio, una población RIL proveniente de la cruce entre G40001 y G40022 fue evaluada para identificar QTL, para características de tolerancia a estrés por sequía terminal, altas temperaturas y resistencia a bacteriosis común. Ambos padres fueron contrastantes para varias características, incluyendo rendimiento de semilla, componentes de rendimiento, características fenológicas, índices de partición, hábito de crecimiento, dimensiones de semilla, color de semilla y discriminación de isótopo de carbono ^{13}C . En general la población RIL mostró segregación transgresiva para rendimiento de semilla, componentes de rendimiento, características fenológicas, índices de partición, dimensiones de semilla, color de semilla y resistencia a las cepas de *Xap* 3353. Excepto discriminación de isótopo de carbono ^{13}C y *Xap* 484A. La longitud del mapa de ligamiento genético generado para la población RIL fue de 1448 cM con 1343 SNPs, comparada con la longitud del mapa de ligamiento de Stampede x Red Hawk, que fue de 1042.2 cM y con 7040 SNPs (Song et al., 2015). Gujaria-Verma et al. (2016) compararon el mapa genético entre frijol común y frijol tépari y demostraron que existe un alto nivel de colinealidad entre ambas especies, con algunas diferencias intra-cromosómicas.

En condiciones de estrés por sequía terminal, la cantidad de agua aplicada al cultivo (61 mm de agua hasta madurez fisiológica) fue ideal para inducir el estrés y evaluar el comportamiento de la población RIL. El frijol tépari desarrolla una raíz principal gruesa y profunda, penetrando rápidamente el suelo para obtener reservas de agua que están limitadas en el suelo (Strock, 2017, comunicación personal).

Las altas temperaturas (33.1/23.5 °C), especialmente en la etapa reproductiva no afectaron la viabilidad del polen ni el rendimiento en la población RIL de frijol tépari; en comparación con

frijol común que tiene rendimiento reducido con temperaturas $> 30.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante el día y $> 20.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante la noche reducen el rendimiento (Rainey y Griffiths, 2005). En condiciones de altas temperaturas ($32.0/27.0\text{ }^{\circ}\text{C}$) el genotipo A55 (frijol común mesoamericano) mostró bajo rendimiento y polen con cambios cualitativos en la antera, polen y arquitectura de la pared del polen (Porch y Jahn, 2001).

En este estudio se identificó una variación significativa entre las líneas para peso de cien semillas ($10\text{--}16.50\text{ g}$) con un promedio de 12 g . En condiciones de ES ambos padres mostraron menor peso de cien semillas que en condiciones de EAT. Estudios previos reportan que el tamaño pequeño de la semilla de frijol tépari es una de las desventajas que posee para que sea atractiva para el consumidor (Wells, 1986). En otros estudios han demostrado que en condiciones de ES se reduce el tamaño de semilla (Singh, 1995, 2007; Urea et al., 2009). Desde hace algunos años se han realizado esfuerzos para mejorar tamaño de semilla (Wells et al., 1986). Se ha reportado que el peso promedio de cien semillas en frijol tépari silvestre es de $2\text{ a }5\text{ g}$ (Debouck, 1994); y para frijol tépari domesticado se ha logrado alcanzar peso promedio de cien semillas de $12.6\text{ a }18.8\text{ g}$ (Bhardwaj et al., 2002). Peso de cien semillas es una característica importante, debido a que en condiciones de estrés por sequía se reduce el tamaño de la semilla; por lo tanto, una semilla con mayor tamaño indica tolerancia a sequía y conduce a mayores rendimientos (Ramírez-Vallejo y Kelly, 1998).

En el análisis genético realizado para este estudio para condiciones de EAT se identificaron QTL para rendimiento, PCS, IC y polen en cromosoma 3. La localización de QTL para rendimiento, IC y polen traslapa. PCS está localizado en otra región del cromosoma 3. Los alelos que contribuyen positivamente a rendimiento, PCS, IC y polen provienen del padre G40022. Estudios previos han identificado QTL para rendimiento y PCS en cromosoma 3 (Mukeshimana

et al., 2014; Blair et al., 2012; Wright y Kelly, 2011). Para PCS también se identificaron QTL en cromosomas 1, 8 y 10. El QTL en cromosoma 8 para frijol tépari fue consistente en condiciones de ES y EAT. Yuste-Lisbona et al. (2014) reportaron resultados similares; en su estudio identificaron QTL para PCS en cromosoma 1, 6 y 9 en una población RIL, proveniente de la cruce entre genotipos andinos PMB0225 y PHA1037. Pérez-Vega et al., (2010) identificó QTL en cromosomas 6 y 8 en una población RIL derivada del cruce entre Xana y Cornell 49242. Tar'an et al. (2002) identificaron QTL en cromosomas 2 y 10. Wright y Kelly (2011) identificaron QTL en cromosomas 5, 6, 8 y 11. En condiciones de EAT para componentes de rendimiento, se identificó un QTL para rendimiento por planta y número de semillas por vaina en cromosoma 9. Mukeshimana et al (2014), identificaron un QTL para rendimiento en frijol común bajo ES en cromosoma 9. Adicionalmente se identificaron QTL en la población RIL en condiciones de EAT para número de vainas por planta y numero de semillas por vaina en dos regiones del cromosoma 11. Previamente QTL para número de vainas por planta fueron mapeados en una población avanzada de retrocruzamiento ICA Cerinza (frijol común Andino) con una accesión de frijol silvestre G24404 en cromosomas 7, 9 y 11 (Blair et al., 2006).

En condiciones de estrés por sequía terminal y altas temperaturas, biomasa y biomasa por planta, respectivamente; estuvieron correlacionadas negativamente con índice de cosecha. Estudios recientes han reportado que el rendimiento en *P. acutifolius* no está relacionado con acumulación de biomasa, sino a la capacidad que tiene de movilizar fotosintatos a formación de granos (Rao et al., 2013). Se observó una variación amplia para índice de cosecha e índice de cosecha de vaina que también correlacionaron positivamente con rendimiento, rendimiento por planta, número de vainas por planta y peso de cien semillas. El índice de cosecha de vaina indica la movilización fotosintética de la vaina a la semilla. La pared de la vaina es la fuente de carbono

para la semilla en desarrollo (Turner et al., 2005). En condiciones de ES para índice de cosecha se identificaron QTL en cromosoma 8 y en dos regiones del cromosoma 9; para índice de cosecha de vaina se identificaron QTL en cromosoma 7 y 8 y un QTL bajo EAT para índice de cosecha en cromosoma 3. En condiciones de EAT se identificaron QTL para vigor y SPAD (21 y 32 DDS) en cromosoma 8. Adicionalmente el QTL en cromosoma 3 fue consistente para vigor, SPAD (21, 27 y 32) y altura de la planta (27 DDS). Asfaw et al (2012) identificaron QTL para IC en cromosomas 2, 4, 5, 6, 9, 10 y 11; para ICV en cromosomas 1, 3, 4, 5, 6 y 8 y para SPAD en cromosomas 2, 3, 4, 6, 8 y 10; los autores sugieren que existe una asociación entre índices de partición y SPAD, debido a que hay genes que contribuyen para que haya un aumento en la asimilación fotosintética de carbono por unidad de área foliar y permiten movilizar fotosintatos de la pared de la vaina a formación de granos resultando en un mayor rendimiento.

Los genotipos que mostraron menor días a floración y días a madurez fisiológica tuvieron mayor rendimiento, peso de cien semillas, índice de cosecha e índice de cosecha de vaina; indicando la correlación negativa entre características fenológicas tales como, días a floración y días a madurez fisiológica y componentes de rendimiento e índices de partición. La precocidad es un mecanismo de escape a estrés por sequía (Levitt, 1972). Mayor (2010) reportó resultados similares donde demuestra que los genotipos más productivos fueron los que presentaron menores días a floración y menores días a madurez fisiológica. Loci de características cuantitativas asociados con días a floración y días a madurez fisiológica se localizaron en cromosomas 1, 3, 4, 5 y 8; en condiciones de ES y EAT el QTL para días a floración y días a madurez fisiológica tendieron a agruparse y localizarse principalmente en cromosoma 4. Resultados similares reportaron para QTL de días a floración en cromosoma 4, en condiciones de ES (Mukeshimana et al., 2014). Pérez-Vega et al., (2010) identificó QTL para días a floración en cromosomas 1, 2 y 8

y para días a madurez fisiológica en cromosomas 1, 2 y 6); resultados similares para días a floración en cromosomas 6, 8 y 11 reportaron Tar'an et al., (2002). Blair et al (2012) en condiciones de sequía y riego identificó QTL para días a floración en cromosoma 4, 5, 6, 7 y 11. Algunos autores sugieren que existe pleiotropía para los genes que controlan días a floración y días a madurez fisiológica (Blair et al., 2012).

Se identificaron diferencias significativas para color de semilla (L. cromina y hue) y dimensiones de semilla (área, perímetro, largo y ancho) y se observó una correlación positiva entre peso de cien semillas y dimensiones de semilla en condiciones de estrés por altas temperaturas. Debido al proceso de domesticación se observan diferencias en características morfo-agronómicas cuantitativas, tales como el periodo de crecimiento de las plantas, tamaño de semilla y calidad de semilla (Pérez-Vega et al., 2010). Han reportado patrones de herencia cuantitativa que son determinantes en la forma de la semilla de frijol, tales como largo, ancho y altura de la semilla (Vallejos y Chase, 1991); Conti (1985) reportó heredabilidad en sentido estrecho (h^2) para largo de semilla (0.09), grosor de semilla (0.47) y ancho de semilla (0.65). Un total de 36 QTL significativos en condiciones de ES y EAT se identificaron para dimensiones de semilla (área, perímetro, largo, ancho y circularidad) y color de semilla (L, cromina y Hue). La mayoría de los QTL fueron consistentes en ambos ambientes. Varios QTL para dimensiones de semillas identificados en este estudio fueron consistentes con los identificados en estudios previos para frijol común. Para área se identificaron QTL en cromosomas 1, 6, 7, 8 y 11B. Resultados similares obtuvieron Yuste- Lisbona et al. (2014), detectaron 3 QTL para área en cromosomas 1, 6 y 7. Para Largo y ancho de la semilla se identificaron QTL en cromosomas 1, 6, 7 y 8. Yuste-Lisbona et al. (2014); Park et al. (2000) y Pérez-Vega et al. (2010) también identificaron QTL para dimensiones de semilla en los mismos cromosomas. El color de la semilla es otra característica importante en

frijol y está asociada a la preferencia del consumidor; el frijol es parte de la dieta diaria en Brasil, Centroamérica, México, y algunas partes de África Subsahariana, debido a que es la principal fuente de proteína en estos países (Broughton et al., 2003), pero los consumidores han desarrollado preferencias específicas para tamaño de semilla, forma y color (Beninger y Hosfield, 2003). El color de la semilla para frijol común está clasificado como blanco, amarillo, marrón, rojo, púrpura, negro, moteado y gris (poco común); todos tienen su preferencia de consumo, pero los procesadores de enlatados prefieren frijoles de color blanco, rojo o negro (Caldas y Blair, 2009; Yuste-Lisbona et al., 2014).

En el cromosoma 7 se identificaron QTL consistentes para área, perímetro, largo, ancho, circularidad y color de semilla (L y Hue). Sax (1923) presentó la primera evidencia de ligamiento entre características cualitativas (color de semilla) y características cuantitativas (tamaño de semilla) en el cromosoma 7. El locus *P*, que es el que controla el color de la semilla y flores (Emerson 1909) está ligado al locus *Phs* en el cromosoma 7 (Gepts et al., 1993); el locus *Phs* codifica la faseolina que es la proteína de almacenamiento de globulina más importante, que constituye aproximadamente entre el 35-50% del nitrógeno total de las semillas de frijol (Ma and Bliss, 1978).

Discriminación de isótopo de carbono ($\Delta^{13}\text{C}$) se ha utilizado como un método para determinar la eficiencia de uso de agua en algunas leguminosas; basado en que a mayor discriminación de ^{13}C menor uso eficiente de agua (Farquhar et al., 1989). En condiciones de ES, en promedio la población RIL mostró un 18.7‰ con un rango de 17.10-19.40 de discriminación de ^{13}C menor al promedio de los padres G40001 (19.4‰) y G40022 (19.3‰). Resultados similares reportó Polania (2016); evaluó genotipos de frijol común y una accesión de frijol tépari en condiciones de ES, y determinó la DIC en la semilla; encontrando valores de 16.00-19.00, G40001 presentó valores bajos de DIC (16.5) combinado con moderado rendimiento. En este

estudio se identificó un QTL en cromosoma 7 y no se encontró ningún reporte sobre QTL para DIC en frijol.

La reacción fenotípica de la población RIL a las dos cepas de *Xap* (3353 y 484A) a los 14 y 21 DDI se utilizó para identificar QTL de resistencia a bacteriosis común. A los 14 y 21 DDI, la separación de medias indica reacciones significativamente diferentes entre las dos cepas de *Xap*. La reacción más susceptible de la población RIL fue observada para la cepa *Xap* 3353. Los QTL identificados en los cromosomas 2, 3, 6, 7 y 10 B en la población RIL, han sido previamente identificados en frijol común. Cinco QTL que confieren resistencia a *Xap* fueron identificados en cromosomas 1, 2, 3, 5, 7 y 9 en población proveniente de la cruza BAT93 x Jalo EEP558 (Nodari et al., 1993). Adicionalmente Miklas et al. (2000) identificó QTL en cromosomas 6, 7, 8, y 10. Miklas et al. (2003) evidenciaron que los QTL en cromosomas 6 y 8 se derivan de frijol tépari y el QTL en cromosoma 10 se origina de frijol Great Northern (Montana No. 5). Los QTL derivados de frijol tépari localizado en cromosoma 6 y 8 (Miklas et al., 2000); donde el marcador BC420 (Yu et al., 2000) está ligado al QTL mayor de XAN 159 en cromosoma 6, cerca del locus V (color pupura de la flor) (Jung et al., 1997) y el QTL en cromosomas 8 está ligado al marcador SU91 de XAN 159 (Pedraza et al., 1997). Estudios recientes en poblaciones de cruzamiento de frijol común identificaron QTL para resistencia a *Xap*, evaluados a los 14 y 21 DDI en todos los cromosomas excepto el 4. (Shi et al., 2011; Zhu et al., 2016) identificaron QTL para resistencia a *Xap* en cromosomas 8 y 10 a los 14 DDI y en cromosomas 6 y 10 a los 21 DDI. La combinación de QTL es la manera más efectiva y duradera para resistencia a bacteriosis común (Kelly et al., 2003).

CONCLUSIONES

Se identificaron doce características morfo-fisiológicas en la población RIL de frijol tépari, asociadas a tolerancia a estrés por sequía terminal y altas temperaturas que estuvieron correlacionadas positivamente con rendimiento y peso de cien semillas, entre ellas tenemos: índice de cosecha, índice de cosecha de vaina, rendimiento por planta, número de vainas por planta, altura de la planta, SPAD, NDVI, NDRE, área, perímetro, largo y ancho de semilla. Dentro de la población hay varios genotipos promisorios que combinan para estas características, con color comercial.

Mediante el genotipado por secuenciación (GBS) se identificaron 1343 SNPs y se construyó el mapa de ligamiento genético de la población RIL de frijol tépari. El mapa de ligamiento genético se combinó con los datos fenotípicos tomados en campo y ayudó a identificar QTL asociados a mecanismos de tolerancia a sequía y altas temperaturas. Los QTL identificados en condiciones de sequía terminal y altas temperaturas para características de rendimiento de semilla, componentes de rendimiento, fenología, índices de partición, dimensiones de semilla y color de semilla coincide con los QTL identificados previamente en frijol común y se localizan principalmente en cromosomas 3, 7 y 8. Los QTL identificados para resistencia a bacteriosis común en cromosomas 2, 3, 6, 7 y 10 también coinciden con los QTL identificados para resistencia a bacteriosis en frijol común. Adicionalmente se identificó el primer QTL en cromosoma 7 para discriminación de isotopo de carbono (^{13}C) y un QTL en cromosoma 4 para resistencia a la cepa *Xap 484A* de bacteriosis común.

Los resultados demuestran que existe alto nivel de colinealidad entre frijol tépari y frijol común, que permite que el frijol tépari sea un cultivo importante como fuente donador de genes

para frijol común o como cultivo domesticado. Este estudio constituye el segundo mapa de ligamiento genético para frijol tépari y el primer estudio que se realiza para identificación de QTL en condiciones de estrés por sequía terminal, altas temperaturas y resistencia a bacteriosis común específicamente en una población de líneas endogámicas recombinantes de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray). Por lo tanto, es un recurso útil para comprender la genética del frijol tépari y para seguir desarrollando estrategias de mejoramiento para características de interés como son el color y tamaño de semilla.

BIBLIOGRAFÍA

- Andrus, C. F. (1948). A method of testing beans for resistance to bacterial blights. *Phytopathology* 38: 757-759.
- Ariyaratne, H. M., Coyne, D. P., Jung, G., Skroch, P. W., Vidaver, A. K., Steadman, J. R., Miklas, P. N., Bassett, M. J. (1999). Molecular mapping of disease resistance genes for halo blight, common bacterial blight, and bean common mosaic virus in a segregating population of common bean. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 124:654–662.
- Asfaw, A., Blair, M. W and Struik, P. C. (2012). Multienvironment quantitative trait loci analysis for photosynthate acquisition, accumulation, and remobilization traits in common bean under drought stress. *G3* 2:579–595.
- Beaver, J. S., Porch, T. G., Zapata, M. (2008). Registration of ‘Verano’ white bean. *J Plant Reg* 2:187–189.
- Beebe, S. E., Rao, I. M., Blair, M. W., Acosta-Gallegos, J. A. (2011). Phenotyping common beans for adaptation to drought. In: Ribaut JM; Monneveux P, eds. *Drought phenotyping in crops: From theory to practice*. CGIAR Generation Challenge Programme, Texcoco, Mexico, 311–334.
- Beebe, S. E. (2012). Common bean breeding in the tropics. *Plant Breed. Rev.* 36: 357–426. doi:10.1002/9781118358566.ch5.
- Beebe, S. E., Ramirez, J., Jarvis, A., Rao, I. M., Mosquera, G., Bueno, J. M., Blair, M. W. (2012). Genetic improvement of common beans and the challenges of climate change. In: Yadav SS, Redden RJ, Hatfield JL, Lotze-Campen H, Hall AE (eds) *Crop adaptation to climate change*. Wiley-Blackwell, Chichester, 356–369.
- Beebe, S. E., Rao, I. M., Blair, M. W., Acosta-Gallegos, J. A. (2013). Phenotyping common beans for adaptation to drought. *Front. Physiol.* 4:35.
- Beebe, S. E., Rao, I. M., Mukankusi, C., Buruchara, R. (2013). Improving resource use efficiency and reducing risk of common bean production in Africa, Latin America, and the Caribbean. In: *Eco-efficiency: From vision to reality* (eds. Hershey C; Neate P). International Center for Tropical Agriculture (CIAT), p.117–134.
- Beninger, C. W and Hosfield, G. L. (2003). Antioxidant activity of extracts, condensed tannin fractions, and pure flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. seed coat color genotypes. *J Agric Food Chem* 51:7879–7883.

- Benitez, M. A., Grijalva, M. I., Valencia, M. E. (1994). Total and soluble iron content and effect of certain inhibitors present in selected varieties of tepary bean (*Phaseolus acutifolius*). *J Agric Food Chem*, 42:1300–1302.
- Bhardwaj, H.L., Rangappa, M., Hamma, A. (2002). Planting date and genotype effects on Tepary bean productivity. *Hort Science* 37 (2):317-318.
- Bhardwaj, H. L and Hamama, A. A. (2004). Protein and mineral composition of tepary bean seed. *HortScience* 39 (6):1363-1365.
- Blair, M. W., Iriarte, G., Beebe, S. (2006). QTL analysis of yield traits in an advanced backcross population derived from a cultivated Andean wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross. *Theor Appl Genet* 112:1149–1163.
- Blair, M.W., Galeano, C.H., Tovar, E., Muñoz Torres, M. C., Castrillón, A. V., Beebe, S. E., Rao, I. R. (2012). Development of a Mesoamerican intra-gene pool genetic map for quantitative trait loci detection in a drought tolerant × susceptible common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross. *Mol. Breed.* 29:71–88. doi:10.1007/s11032-010-9527-9.
- Broman, K. W. (2009). *A Guide to QTL Mapping with R/qtl*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York.
- Broughton, W. J., Hernandez, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., Vanderleyden, J. (2003). Beans (*Phaseolus* spp.)-Model food legumes. *Plant and Soil* 252: 55–128.
- Butare, L., Rao, I. M., Lepoivre, P., Polania, J., Cajiao, C., Cuasquer, J., et al. (2011). New genetic sources of resistance in the genus *Phaseolus* to individual and combined aluminium toxicity and progressive soil drying stresses. *Euphytica* 181:385–404.
- Buttery, B. R., Buzzell, R. I., Findlay, W. I. (1981). Relationships among photosynthetic rate, bean yield and other characters in field-grown cultivars of soybean. *Can J Plant Sci* 61:191–198.
- Caldas, G. V and Blair, M. W. (2009). Inheritance of seed condensed tannins and their relationship with seed-coat color and pattern genes in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor Appl Genet* 119:131–142.
- Castellanos, G., Jara, C., Mosquera, G. (2011). *Guías prácticas de laboratorio para el manejo de patógenos del frijol*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Publicación CIAT No. 375, 232p.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). (1987). *Sistema de evaluación estándar de germoplasma de frijol común*. Van Schoonhoven, A., Pastor-Corrales, M. A. Cali, Colombia, 54p.

- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). (2015). Developing beans that can beat the heat. Cali, Colombia. 12p.
- Commission Internationale de l'Eclairage. (1978). Recommendations on uniform color spaces color difference equations psychometric color terms. Supplement 2, CIE Publ.15 (E-1.3.1) 1971/ (TC-1.3), Bur. Centrale de la CIE, Paris. (International Commission on Illumination-CIE).
- Conti, L. (1985). Conclusive results of a selection program for obtaining a dwarf bean (*P. vulgaris*) resistant to some viruses and characterized by agronomical qualities. *Genética Agraria* 39:51–63.
- Coyne, D. P., Steadman, J. R., Godoy-Lutz, G., Gilbertson, R., Arnaud-Santana, E., Beaver, J. S., Myers, J. R. (2003). Contributions of the Bean/Cowpea CRSP to management of bean diseases. *Field Crops Res* 82:155–162.
- Debouck, D. G. (1994). Beans. In: J.E. Hernando Bermejo and J. Leon, editors, *Neglected crops: 1492 from a different perspective*. Plant Production and Protection Ser., No. 26. FAO, Rome, Italy. p. 47–62. Devel, H.J. 1925. The digestibility of tepary beans. *J. Agric. Res.* 29:205–206.
- Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. A., Kawamoto, K., Buckler, E. S., Mitchell, S. E. (2011). A Robust, Simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) Approach for High Diversity Species. *Plos ONE* 6 (5): e 19379. Doi: 10.1371/journal.pone.0019379.
- Emerson, P. A. (1909) Factors for mottling in beans. *Am Breed Assoc* 5:368-376.
- Evans, L. T., Fischer, R. A. (1999). Yield Potential: Its Definition, Measurement, and Significance. Published in *Crop Sci.* 39:1544–1551.
- Farquhar, G. D., Ehleringer, J. R., Hubick, K. T. (1989). Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Reviews Plant Physiology, Plant. Mol. Biol.* 40:503-537.
- Frahm, M. A., Rosas, J. C., Mayek-Pérez, N., López-Salinas, E., Acosta-Gallegos, J. A., Kelly, J. D. (2004). Breeding beans for resistance to terminal drought in the lowland tropics. *Euphytica* 136:223–232.
- Freeman, G. F. (1912). Southwestern beans and teparies. *Ariz. Agr. Exp. Sta. Bul.* 68:573-619.
- Gepts, P., Nodari, R., Tsai, S.M., Koinange, E. M. K., Llaca, V., Gilbertson, R., Guzmán, P. (1993). Linkage Mapping in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.), in *Genetic Maps*, edited by S. J. O'BRIEN, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY. (in press).
- Gilbertson, R. L., Rand, R. E., Hageworn, D. J. (1990). Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and pectolytic strains of *X. campestris* in bean debris. *Plant Dis.* 74 322-327.

- Giorgi, F. (2006). Climate change hot-spots. *Geophysics Research Letter*. 33, L08707. doi: 10.1029/2006GL025734.
- Glaubitz, J. C., Casstevens, T. M., Lu, F., Harriman, J., Elshire, R. J., Sun, Q., Buckler, E. S. (2014). Tassel-GBS: A High Capacity Genotyping by Sequencing Analysis Pipeline. *Plos ONE* 9 (2): e90346. Doi: 10.137/journal.pone.0090346.
- Gujaria-Verma, N., Ramsay, L., Sharpe, A. G., Sanderson, L. A., Debouck, D. G., Tar'an, B., Bett, K. E. (2016). *BMC Genomics* 17:239. Doi: 10.1186/s12864-016-2499-3.
- Hall A.E. (1992). Breeding for heat tolerance. *Plant Breeding Reviews* 10: 129–168.
- Hall, A. E. (2001). *Crop responses to environment*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Honma, S. (1956). A bean interspecific hybrid. *J Hered* 47: 217-220.
- InfoStat (2016). InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- IPCC. (2007). The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change; Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K.B., Tignor, M., Miller, H.L., Eds.; Cambridge University Press: Cambridge, UK.
- IPCC (2013). The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S. K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Jung, G., Skroch, P. W., Coyne, D. P., Nienhuis, J., Santana, E. A., Ariyaratne, H. M., Kaeppler, S. M., Bassett, M. J. (1997). Molecular marker based genetic analysis of tepary bean derived common bacterial blight resistance in different developmental stages of common bean. *Amer. Soc. Hort. Sci.* 122(3):329-337.
- Kelly, J. D., Gepts, P., Miklas, P. N., Coyne, D. P. (2003). *Field Crops Research* 82:135-154.
- Kelly, J.D and Miklas P. N. (1999). Marker-assisted selection. p. 93–123. In S.P. Singh (ed.) *Common bean improvement in the twenty-first century*. Kluwer Acad. Press, Dordrecht, the Netherlands.
- Khan, H.U. R., Link, W., Hocking, T.J., Stoddard, F.L. (2007). Evaluation of physiological traits for improving drought tolerance in faba bean (*Vicia faba* L.). *Plant Soil* 292:205–217. doi:10.1007/s11104-007-9217-5.
- Kijne, J. W., Barker, R., Molden, D. (eds). (2003). *Water productivity in Agriculture: Limits and opportunities for improvement*. CABI, UK, p. 332.

- Lauer, J.G., Bijl, C. G., Grusak, M. A., Baenziger, P. S., Boote, K., Lingle, S. Carter, T., Kaeppler, S., Boerma, R., Eizenga, G., Carter, P., Goodman, M., Nafziger, E., Kidwell, K., Mitchell, R., Edgerton, M. D., Quesenberry, K., Willcox, M. (2012). The Scientific Grand Challenges of the 21st Century for the Crop Science Society of America. *Crop Sci.* 52:1003–1010. doi:10.2135/cropsci2011.12.0668.
- Levitt, J. (1972). *Responses of Plants to Environmental Stresses*. New York, NY:Academic Press, 698.
- Lin, T.Y and Markhart, A. H. (1990). Temperature effects on mitochondrial respiration in *Phaseolus acutifolius* A. Gray and *P. vulgaris* L. *Plant Physiology* 94: 54–58.
- Lin, T.Y and Markhart, A. H. (1996). *Phaseolus acutifolius* A.Gray is more heat tolerant than *P. vulgaris* L. in the absence of water stress. *Crop Sci.* 36:110–114.
- Ma, Y and Blis, F. A. (1978). Seed proteins of common bean. *Crop Sci.* 18:431-437. doi:10.2135/cropsci1978.0011183X001800030018x.
- Markhart, A. H. (1985). Comparative water relations of *Phaseolus vulgaris* L. and *Phaseolus acutifolius* A. Gray. *Plant Physiology*. 77:113–117.
- Mayor Duran, V. M. (2010). Evaluación de líneas de frijol común andino (*Phaseolus vulgaris*) provenientes de cruza intra/inter acervo para tolerancia a sequía. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Tesis M.Sc. Ciencias Agrarias. 95p.
- McClean, P.E., Burrridge, J., Beebe, S., Rao, I. M., Porch, T. G. (2011). Crop improvement in the era of climate change: An integrated, multi-disciplinary approach for common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Functional. Plant Biology* 38:927–933.
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience* 27:1254–1255.
- Mejía-Jiménez, A., Muñoz, C., Jacobsen, H. J., Roca, W. M., Singh, S. P. (1994). Interspecific hybridization between common and tepary beans: increased hybrid embryo growth, fertility, and efficiency of hybridization through recurrent and congruity backcrossing. *Theor Appl Genet* 88: 324-331.
- Miklas, P. N., Rosas, J. C., Beaver, J. S., Telek, L., Freytag, G. F. (1994). Field Performance of Select Tepary Bean Germplasm in the Tropics. *Crops Sci.* 34:1639-1644.
- Miklas, P. N., Johnson, E., Stone, V., Beaver, J. S., Montoya, C., Zapata, M. (1996). Selective mapping of QTL conditioning disease resistance in common bean. *Crop Science*. 36: 1344–1351.
- Miklas, P. N., Schwartz, H. F., Salgado, M. O., Nina, R., Beaver, J. S. (1998). Reaction of select tepary bean to ashy stem blight and fusarium wilt. *HortScience* 33 (1): 136-139.

- Miklas, P. N., Smith, J. R., Riley, R., Grafton, K. F., Singh, S. P., Jung, G., Coyne, D. P. (2000). Marker-assisted breeding for pyramided resistance to common bacterial blight. Bean Improvement Cooperative Annual Report, 43:39-40.
- Miklas, P. N., Coyne, D. P., Grafton, K. F., Mutlu, N., Reiser, J., Lindgren, D., Singh, S. P. (2003). A major QTL for common bacterial blight resistance derives from the common bean great northern landrace cultivar Montana No. 5. *Euphytica* 131:137–146.
- Miklas, P. N., Kelly, J. D., Beebe, S. E., Blair, M. W. (2006). Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: From classical to MASS breeding. *Euphytica* 147:105-131.
- Miklas, P. N., Fourie, D., Chavez, B., Chiremba, Constance. (2017). Common bacterial blight resistance QTL BC420 and SU91 effect on seed yield, seed weight and canning quality in dry bean. *Crop Sci.* 57:802-811.
- Mohamed, M. F., Schmitz-Eiberger, N., Keutgen, N., Noga, G. (2005). Comparative drought postponing and tolerance potentials of two tepary bean lines in relation to seed yield. *Afr. Crop Sci. J.* 13: 49–60.
- Mohamed, M. F., Tawfik, A. A. (2006). Dehydration-induced alterations in growth and osmotic potential of callus from six tepary bean lines varying in drought resistance. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 87:255-262.
- Mukeshimana, G., Butare, L., Cregan, P. B., Blair, M. W., Kelly, J. D. (2014). Quantitative Trait Loci with Drought Tolerance in Common Bean. *Crop Sci.* 54:923-938.
- Mutlu, N., Miklas, P. N., Reiser, J., Coyne, D. (2005). Backcross breeding for improved resistance to common bacterial blight in pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Breeding* 124:282-287.
- Nabhan, G., Berry, J., Anson, C., Weber, C. (1980). Papago Indian floodwater fields and tepary bean protein yields. *Ecol Food Nutr* 10:71–78.
- Navarette-Maya, R., Trejo-Albarrán, E., Navarette-Maya, J., Prudencio-Sains, J. M., Acosta-Gallegos, J. A. (2002). Reaction of bean genotypes to *Fusarium* spp. and *Rhizoctonia solani* in central México. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative 45:154–155.
- Nodari, R.O., Tsai, S. M., Gilbertson R. L., Gepts, P. (1993). Towards an integrated linkage map of common bean. II. Development of an RFLP-based linkage map. *Theor. Appl. Genet.* 85:513–520.
- Park, S. O., Coyne, D. P., Jung, G., Skroch, P. W., Arnaud-Santana, E., Steadman, J. R., Ariyaratne, H. M., Nienhuis, J. (2000). *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 125 (4):466-475.

- Pastor-Corrales, M. A., Steadman, J. R., Urrea, C. A., Blair, M. W., Venegas, J. P. (2011). The domesticated tepary bean accession G40022 has broader resistance to the highly variable bean rust pathogen than the known rust resistance genes in common bean. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 54:124-125.
- Pedraza, F., Gallego, G., Beebe, S., Tohme, J. (1997). Marcadores SCAR y RAPD para la resistencia a la bacteriosis común (CBB). In: S. P. Singh, and O. Voysest (eds), *Taller de mejoramiento de frijol para el Siglo XXI: Bases para una estrategia para América Latina*, CIAT, Cali, Colombia, p. 130–134.
- Pérez-Vega, E., Pañeda, A., Rodríguez-Suárez, C., Campa, A., Giraldez, R., Ferreira, J. J. (2010). Mapping of QTLs for morpho-agronomic and seed quality traits in a RIL population of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor Appl Genet* 120:1367-1380.
- Polania, J. (2016). Morpho-physiological analysis of adaptive responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to drought stress. Ph.D. Diss. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Porch, T. G and Jahn, M. (2001). Effects of high-temperature stress on microsporogenesis in heat-sensitive and heat-tolerant genotypes of *Phaseolus vulgaris*. *Plant, Cell and Environment* 24: 723-731.
- Porch, T. G., Beaver, J. S., Brick, M. A. (2013). Registration of tepary germplasm with multiple-stress tolerance, TARS-Tep 22 and TARS-Tep 32. *Journal of Plant Registrations* 7:358-364.
- Porch, T. G and Hall, A. E. (2013). Heat tolerance. En C. Kole (ed.), *Genomics and Breeding for Climate-Resilient Crops*, Vol. 2. Verlag Berlin Heidelberg:Springer.
- Porch, T.G., Beaver, J. S., Abawi, G.A., Jensen, C.E., Smith, J.R. (2014). Registration of a small-red dry bean germplasm, TARS-LFR1, with multiple disease resistance and superior performance in low nitrogen soils. *Journal of Plant Registrations*. 8:177-182.
- Porch, T. G., Cichy, K., Wang, W., Brick, M., Beaver, J. S., Santana, D., Grusak, M. A. (2016). Nutritional composition and cooking characteristics of tepary bean (*Phaseolus acutifolius* Gray) in comparison with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*.
- R Core Team, R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. <http://www.R-project.org/>.
- Rainey, K. M and Griffiths, P.D. (2005). Evaluation of *Phaseolus acutifolius* A. Gray plant introductions under high temperatures in a controlled environment. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52:117-120.
- Ramirez-Vallejo, P., and Kelly, J.D. (1998). Traits related to drought resistance in common bean. *Euphytica* 99:127–136.doi:10.1023/A:101835320001.

- Rao, I. M. (2001). Role of physiology in improving crop adaptation to abiotic stresses in the tropics: The case of common bean and tropical forages. In: M. Pessarakli (Ed.), *Handbook of Plant and Crop Physiology*, pp. 583–613. Marcel Dekker, New York, USA.
- Rao, I. M., Beebe, S. E., Polania, J., Ricaurte, J., Cajiao, C., García, R., Rivera, M. (2013). Can tepary bean be a model for improvement of drought resistance in common bean? *African Crop Science Journal* 21: 265–281.
- Rippke, U., Ramirez-Villegas, J., Jarvis, A., Vermeulen, S. J., Parker, L., Mer, F., Diekkruiger, B., Challinor, A. J., Mark Howden, M. (2016). Timescales of transformational climate change adaptation in sub-Saharan African agriculture. *Nature Climate Change*.
- Rosales-Serna, R., Kohashi-Shibata, J., Acosta-Gallegos, J. A., Trejo, C., Ortiz, J., Kelly, J. (2004). Biomass distribution, maturity acceleration and yield in drought-stressed common bean cultivars. *Field Crops Research*. 85:203–211.
- Rosas, J. C. (2003). El cultivo del frijol común en América Tropical. *Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras*, 56 p.
- Rowlands, D. J., Frame, D. J., Ackerley, D., Aina, T., Booth, B. B. B., Christensen, C., Collins, M., Faull, N., Forest, C. E., Grandey, B. S., Gryspeerdt, E., Highwood, E. J., Ingram, W. J., et al . (2012). Broad range of 2050 warming from an observationally constrained large climate model ensemble. *Nat. Geosci.* 5: 256–260.
- Sanders, P. L., Markhart, A. H. (1992). Interspecific grafts demonstrate root system control of leaf water status in water stressed *Phaseolus*. *J. Exp.Bot.* 43: 1563–1567.
- Santos, A.S, Bressan-Smith, R.E., Pereira, M.G., Rodrigues, R., Ferreira, C.F. (2003). Genetic linkage map of responsible for resistance to *Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli*. *Fitopatologia Brasileira* 28: 5-10.
- Sax, K. (1923). The association of size differences with seed coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. *Genetics* 8:552–560.
- Schneider, K. A., Rosales-Serna, R., Ibarra-Pérez, F., Cazares-Enríquez, B., Acosta-Gallegos, J. A., Ramírez-Vallejo, P., et al. (1997). Improving common bean performance under drought stress. *Crop Sci.* 37: 43–50.
- Scully, B and Waines, J. G. (1988). Ontogeny and yield response of common and tepary beans to temperature. *Agronomy Journal*. 80:921-925.
- Shi, C., Navabi, A., Yu, K. (2011). Association mapping of common bacterial blight resistance QTL in Ontario bean breeding populations. *BMC Plan Biology* 11:52.
- Singh S. P. (1995). Selection for water-stress tolerance in interracial populations of common bean. *Crop Sci.* 35, 118–124.

- Singh, S. P., Muñoz, C. G. (1999). Resistance to common bacterial blight among *Phaseolus* species and common bean improvement. *Crop Sci* 39: 80–89.
- Singh, S.P. (2001). Broadening the Genetic Base of Common Bean Cultivars: A Review. *Crop Science*, 41:1659-1675.
- Singh S. P. (2007). Drought resistance in the race Durango dry bean landraces and cultivars. *Agron. J.* 99, 1219–1225.
- Singh, S.P., and Miklas, P. N. (2015). Breeding common bean for resistance to common blight: A review. *Crop Sci.* 55:971–984.
- Song, Q., Jia, G., Hyten, D. L., Jenkins, J., Hwang, E. Y., Schroeder, S. G., Osorno, J. M., Schmutz, J., Jackson, S. A., McClean, P. E., Cregan, P. B. (2015). SNP assay development for linkage map construction, anchoring whole-genome sequence, and other genetic and genomic applications in common bean. *Genes Genomes Genetics* 5: 2285-2290.
- Tanabata, T. (2012). SmartGrain version 1.1. Agrogenomics Research Center, National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan.
- Tar'an, B., Michaels, T.E., Pauls, K. P. (2002). Genetic mapping of agronomic traits in common bean. *Crop Sci.* 42:544–556.
- Thung, M., Rao, I. M. (1999). Integrated management of abiotic stresses. In Singh, S. P. (ed) *Common Bean Improvement in the Twenty-First Century*, pp. 331-370. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Thomas, C.V., Manshardt, R. M., Waines, J. G. (1983). Teparies as a source of useful traits for improving common beans. In: Crosswhite, F. S (ed). *Desert Plants* 5 (1):43-48.
- Tinsley, A. M., Scheerens, J. C., Aleglego, J. O., Adan, F. H., Krumhar, K. C., Butler, L. F., Kopplin, M. J. (1985). Tepary beans (*Phaseolus acutifolius* var *latifolius*) a potential food source for African and Middle Eastern cultures. *Qual Plant Foods Hum Nutr.* 35:87.
- Turner, N. C. (1979). Drought resistance and adaptation to water deficits in crop plants. In 'Stress Physiology in Crop Plants'. (Eds H. Mussel1 and R. C. Staples.) pp. 343-72. Wiley: New York.
- Turner, N. C., and Jones, M. M. (1980). Turgor maintenance by osmotic adjustment: A review and evaluation. In 'Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress'. (Eds N. C. Turner and P. J. Kramer.) pp. 87-103. Wiley: New York.
- Turner, N. C., Davies, S. L., Plummer, J. A., Siddique K. H. M. (2005). Seed filling in grain legumes under water deficits, with emphasis on chickpeas. *Advances in Agronomy* 87: 211–250.

- 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.
- Vallejos, C.E. and C.D. Chase. (1991). Linkage between isozyme markers and a locus affecting seed size in *Phaseolus vulgaris* L. Theor. Appl. Genet. 81:413–419.
- Van Schoonhoven, A., and Pastor-Corrales, M. A. (1987). Standard system for the evaluation of bean germplasm. CIAT, Cali, Colombia.
- Viteri, D. M., Cregan, P. B., Trapp, J. J., Miklas, P. N. Singh, S. (2014). A new common bacterial blight resistance QTL in VAX 1 common bean and interaction of the new QTL, SAP6 and SU91 with bacterial strains. Crop Sci. 54: 1598-1608.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., Foolad, M. R. (2007). Heat tolerance in plants: An overview. Environmental and Experimental Botany 61(3):199-223.
- Wang, S., Basten, C. J., Zeng, Z. B. (2012). Windows QTL cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC. (<http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>).
- Wells, W. C., Stockinger, E. J., Waines, J. G. (1986). Variation for seed size in tepary beans. Bean Improv. Coop. 20: 113.
- White, J. W., Singh, S. P. (1991). Sources and inheritance of earliness in tropically adapted in determinate common bean. Euphytica 55: 15–19.
- White, J. W., Conley, M. M. (2013). A Flexible, Low-Cost Cart for Proximal Sensing. Crop Sci. 53:1646–1649.
- Wright, E.M., and J.D. Kelly. 2011. Mapping QTL for seed yield and canning quality following processing of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Euphytica 179:471–484.
- Yu, K., Park, S. J., Poysa, V., P. Gepts. (2000). Integration of simple sequence repeat (SSR) markers into a molecular linkage map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Hered. 91:429–434. doi:10.1093/jhered/91.6.429.
- Yuste-Lisbona, F., González, A.M., Capel, C., García-Alcázar, M., Capel, J., De Ron, A. M., Lozano, R., Santalla, M. (2014). Genetic analysis of single-locus and epistatic QTLs for seed traits in an adapted × nuna RIL population of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Theor Appl Genet 127:897-912.
- Zapata, M., Freytag, G. F., Wilkinson, R. E. (1985). Evaluation for bacterial blight resistance in beans. Phytopathology 75:1032–1039.
- Zapata, M., Beaver, J. S., Porch, T. G. (2007). Foliage, pod and internal seed infection of selected common bean lines when inoculated with two strains of *Xanthomonas axonopodis* pv. phaseoli. Annu. Rep. Bean Improv. Coop. 50:117–118.

- Zapata, M., Beaver, J. S., Poch, T. G. (2011). Dominant gene for common bean resistance to common bacterial blight caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. Euphytica 179:373-382.
- Zhu, J., Wu, J., Wang, L., Blair, M, W., Zhu, Z., Wang, S. (2016). QTL and candidate genes associated with common bacterial blight resistance in the common bean cultivar Longyundou 5 from China. The Crop Journal 4:344-352.