

COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO
PROGRAMA DE POSTGRADO EN BOTÁNICA**

**FENOTIPO, FISIOLOGÍA Y BIOQUÍMICA
EN FRIJOL TÉPARI (*Phaseolus acutifolius*
A. Gray) SOMETIDO A RESTRICCIÓN DE
HUMEDAD**

REYNALDO LEAL DELGADO

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2018

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe Reynaldo Leal Delgado, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor Dr. DANIEL PADILLA CHACÓN, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis Fenotipo, fisiología y bioquímica en frijol tépari (Phaseolus acutifolius A. Gray) sometido a restricción de humedad y de los producto de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre el colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 13 de marzo de 2018



Firma del
Alumno (a)




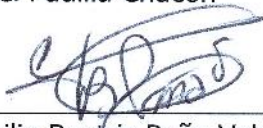



Dr. Daniel Padilla Chacón

Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **Fenotipo, fisiología y bioquímica de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) con restricción de humedad**, realizada por el alumno: **Reynaldo Leal Delgado** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
BOTÁNICA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO(A)	 _____
	Dr. Daniel Padilla Chacón
ASESOR(A)	 _____
	Dra. Cecilia Beatriz Peña Valdivia
ASESOR(A)	 _____
	Dr. José Rodolfo García Nava
ASESOR(A)	 _____
	M. C. Antonio García Esteva
ASESOR(A)	 _____
	Dr. José Eleazar Martínez Barajas

Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx., marzo 2018

Fenotipo, fisiología y bioquímica de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) con restricción de humedad

Reynaldo Leal Delgado, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2018

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta a la restricción de humedad de cuatro recolectas de frijol tépari de los estados de Chihuahua (10020), Durango (10006 y 10017) y Nayarit (10011), México, mediante diferencias fenotípicas, fisiológicas, del rendimiento y del contenido de carbohidratos. Las evaluaciones en la fase vegetativa (tercera hoja compuesta-V4) incluyeron niveles de humedad de 25 %, 50 % y 100 % de capacidad de campo (CC) y en la fase reproductiva (llenado de la vaina-R8) las evaluaciones incluyeron riego y su suspensión. En la fase vegetativa se analizaron el fenotipo (caracteres morfométricos) con una plataforma de fenotipaje (Lemnatec), variables fisiológicas como fluorescencia de la clorofila *a* (Fv/Fm), potencial hídrico del vástago (Ψ_w) y variables bioquímicas (azúcares solubles y almidón). En la etapa reproductiva las determinaciones incluyeron peso seco de la biomasa del vástago, rendimiento de semilla y peso individual de la semilla. Durante la etapa V4 el área proyectada (cm pixel) y la expansión foliar, disminuyeron en las cuatro recolectas con la caída de los niveles de humedad. 10020 tuvo crecimiento similar en 25 % y 50 % de CC. El potencial hídrico de las plantas disminuyó con el porcentaje menor de humedad en las recolectas 10011 y 10017; en contraste, 10006 y 10020 mostraron un potencial hídrico similar al de la condición de 100 % de CC. La recolecta 10020 mantuvo la turgencia de las hojas independientemente del nivel de humedad; su fluorescencia de la clorofila *a*, junto con la de la recolecta 10006 no se afectó con el nivel de humedad. El contenido de glucosa, fructosa y almidón, en las cuatro recolectas disminuyó con la disminución de la humedad y el de sacarosa se incrementó. Este último fue el doble con 25 % de CC en la recolecta 10020. En la etapa R8, la restricción de humedad redujo el peso seco del tallo y pericarpio en todas las recolectas y no alteró el peso de las hojas de la recolecta 10020 con respecto al control. El rendimiento de semilla por planta de las recolectas 10011 y 10017 fue superior a las de 10006 y 10020 con restricción de humedad. Además, el peso individual por semilla disminuyó significativamente en las cuatro recolectas con la restricción de humedad. La recolecta 10020 mostró caracteres de tolerancia a la restricción de humedad en las etapas vegetativa y reproductiva, y 10006, 10011 y 10017 se distinguieron por su rendimiento mayor de semilla. *Phaseolus acutifolius* mostró potencial para usarse como germoplasma en programas de mejoramiento del frijol *Phaseolus vulgaris* L. y como una alternativa para enfrentar la restricción de humedad.

Palabras clave: *Phaseolus acutifolius* A. Gray, restricción de humedad, azúcares solubles, potencial hídrico, rendimiento de semilla.

Phenotype, physiology and biochemistry of tepary bean (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) with water restriction

Reynaldo Leal Delgado, M. en C.
Colegio de Postgraduados, 2018

ABSTRACT

The objective of this study was evaluate the responses to water restriction in four accessions of wild tepary bean from Chihuahua (10020), Durango (10006 and 10017) and Nayarit (10011), Mexico, by phenotypic and physiological traits and yield and carbohydrate content. The evaluations in vegetative stage (third expanded leaf-V4) included humidity levels of 25 %, 50 % and 100 % field capacity (FC) and in reproductive (pod filling-R8) stage was evaluated under well water and water restriction. At V4 stage the phenotype by non-destructive image analysis (morphometric traits) and physiological traits such as chlorophyll a fluorescence (Fv/Fm), water potential (Ψ_w) and biochemical traits (soluble sugars and starch content) were evaluated. In the reproductive stage (R8), dry mass of stem, leaves, pod wall, seeds and seeds yield were evaluated under well water and water restriction. The results indicated that in phenotype analysis: the area (cm² Pixel) and leaf expansion (calipher length, compactness and convex hull area) had a reduction in all accessions as water percentage was low (50 % and 25 %). The accession 10020 grows similarly under 50 % and 25 % of field capacity. This was related with physiological traits in shoot where the water potential diminished, it was more evident in 10011 and 10017 accessions. However 10020 and 10006 showed water potential similar to 100 % field capacity. 10020 accession had a turgor while water potential was reduced. It was similar to Chlorophyll a fluorescence where 10006 and 10020 were not affected. All accessions showed low glucose, fructose and starch content according moisture available was diminished; whereas sucrose content was increased. This increment of sucrose was more evident in 10020 accession which accumulated more than twice at 25% water availability. In the pod filling stage (R8), the water restriction reduced the dry weight of stem and pod walls in all accession, however, the leaves weight no showed differences in the accession 10020 with respect to control. The seed yield per plant of collections 10011 and 10017 was higher than 10006 and 10020 under water restriction. Additionally, the individual weight per seed under water restriction decreased significantly among the four materials compared to well water. In conclusion, the 10020 accession show traits of tolerance to water restriction in both reproductive and vegetative stages, while the accessions 10006, 10011 and 10017 were better by seed yields. The results indicate that *Phaseolus acutifolius* can be a potential source of germplasm in breeding programs for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and as an alternative to face water restriction.

Keywords: *Phaseolus acutifolius* A. Gray, water restriction, soluble sugars, water potential, seed yield.

Con dedicación

A mis padres a quienes amo profundamente:

**Por su voluntad de seguir adelante y todo el cariño que me han dado
a mi madre Eloina Delgado Moran y mi padre Miguel Leal de la Cruz que sin ellos no
hubiera logrado mis sueños y llegar tan lejos.**

**A mis hermanos Andrea, Miguel, Jesus, Fatima y Jessica con quienes comparto los
buenos y maravillosos momentos.**

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por el financiamiento otorgado a través de una beca que me permitió realizar mis estudios de maestría.

Al **Colegio de Postgraduados**, en especial al **Programa de Botánica** por enriquecer mi formación profesional.

A los proyectos de **Cátedras-CONACyT** “Mejorando el Secuestro de Carbono Explotando la Variación Natural de la Fotosíntesis en Plantas” **2486** y “Escrutinio e identificación de plantas con diferente tolerancia a estrés abiótico por medio de análisis de fenotipo en imagen digital” **00000000256307**.

Al **Dr. Daniel Padilla Chacón** por creer en mí y darme la oportunidad de desarrollar este trabajo, así como su apoyo, asesoría, tiempo y paciencia.

A la **Dra. Cecilia Peña Valdivia** de quien he aprendido que hay que tener decisión, disciplina y gran profesionalismo en este quehacer, por su gran capacidad de proponer alternativas para abordar la investigación.

Al **Dr. Rodolfo García Nava** por su gran disposición y colaboración en los análisis estadísticos y su inalcanzable visión en la toma y arreglo de toda la información generada en el análisis de resultados.

Al **M. C. Antonio García Esteva** por estar conmigo en la toma de decisiones durante la maestría, su amistad, compañía y sus consejos me permitieron mejorar mi investigación

por ser una persona con gran valor de responsabilidad y compromiso durante todo el trabajo de investigación.

Al **Dr. Eleazar Martínez Barajas** por su capacidad en la interpretación de resultados y por la amabilidad de sus comentarios y sugerencias.

Al **Dr. Josue Kohashi Shibata** por su gran esfuerzo en enseñarme el maravilloso mundo de la fisiología vegetal y por la oportunidad de presenciar sus logros sobre el conocimiento del frijol.

Al **Dr. Edmundo García Moya** por su constancia en la generación de capital humano dentro y fuera de la academia. Por sus acertadas sugerencias en la toma de decisiones y su gran compromiso en proporcionar la información pertinente durante mi estancia de maestría.

A mis amigos de Jose Luis, Griselda, Patricia, Erasmo, Celerino, Mary, Violeta, Minerva y Betzaida con quienes comparti los aprendizajes y experiencias durante los cursos y practicas durante la maestría y quienes siempre me extendieron su mano.

Al personal de campo que me acompañó en las actividades de toma de datos y muestreo durante mi estancia de estudios. Adicionalmente al personal de laboratorio que pudo facilitarme las herramientas y equipo para el análisis de muestras vegetales

A todos los que me han regalado su confianza y apoyo sin medida por una amistad infinita, les agradezco...

CONTENIDO

RESUMEN.....	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE CUADROS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVO GENERAL.....	2
2.1. Objetivos particulares	2
3. HIPÓTESIS	2
4. REVISIÓN DE LITERATURA	3
4.1. Importancia de las leguminosas como alimento	3
4.2. Efecto del déficit de humedad en la producción de frijol (<i>P. vulgaris</i> L.).....	4
4.3. Respuestas fisiológicas al estrés por déficit de humedad	5
4.4. Respuestas moleculares al estrés por déficit de humedad.....	7
4.5. Reacciones bioquímicas a estrés por sequía	8
4.5.1. Proteínas clave en la respuesta al déficit de humedad	8
4.5.2. Ajustes osmóticos y hormonales en la respuesta al déficit de humedad	8
4.5.3. Carbohidratos en respuesta al estrés por déficit de humedad	9
4.5.4. Almidón y sacarosa en la respuesta al déficit de humedad	9
4.6. Respuestas fenotípicas al estrés por déficit de humedad	10
4.7. El frijol tépari como modelo de estudio.....	12
5. MATERIALES Y MÉTODOS	13
5.1. Material vegetal	13
5.2. Sitio experimental	14

5.3. Evaluación en la etapa de tercera hoja trifoliolada (V4) de la fase vegetativa.....	15
5.3.1. Variables del fenotipo.....	16
5.3.1.1. Estimación de biomasa, altura y área foliar.....	16
5.3.1.2. Peso seco total del vástago.....	16
5.3.2. Variables fisiológicas.....	17
5.3.2.1. Eficiencia fotosintética del fotosistema II.....	17
5.3.2.2. Potencial hídrico del vástago.....	17
5.3.3. Variables bioquímicas.....	18
5.3.3.1. Extracción y determinación de glucosa, fructosa y sacarosa.....	18
5.3.3.2. Contenido de almidón.....	19
5.4. Evaluación en la etapa de llenado de la vaina (R8) de la fase reproductiva.....	19
5.4.1. Acumulación de biomasa del vástago.....	20
5.4.2. Rendimiento de semilla.....	20
5.4.3. Distribución del peso por semilla.....	20
5.5. Análisis estadístico.....	20
6. RESULTADOS.....	21
6.1. Evaluación en la etapa vegetativa (V4).....	21
6.1.1. Variables fenotípicas.....	21
6.1.1.1. Biomasa, altura y área foliar.....	21
6.1.1.2. Acumulación de biomasa del vástago.....	24
6.1.2. Variables fisiológicas.....	25
6.1.2.1. Eficiencia fotoquímica del fotosistema II.....	25
6.1.2.2. Potencial hídrico del vástago.....	27
6.1.3. Variables bioquímicas.....	28
6.1.3.1. Contenido de glucosa, fructosa y sacarosa.....	28
6.1.3.2. Contenido de almidón.....	29
6.2. Evaluación en la etapa reproductiva (R8).....	30
6.2.1. Acumulación de biomasa.....	30
6.2.2. Rendimiento de semilla.....	31
6.2.3. Distribución del peso por semillas.....	32
7. DISCUSIÓN.....	34
8. CONCLUSIONES.....	42
9. LITERATURA CITADA.....	43

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Datos geográficos de procedencia de las semillas de <i>Phaseolus acutifolius</i> utilizadas en el estudio. Banco de germoplasma, INIFAP-CEVAMEX.....	14
Cuadro 2. Características físicas y químicas del suelo utilizado en el estudio.	15
Cuadro 3. Variables fenotípicas de plantas (+D.E.) de cuatro recolectas de <i>Phaseolus acutifolius</i> sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4).	22

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Semillas de las recolectas de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) procedentes de Durango (a y c), Nayarit (b) y Chihuahua (d) utilizadas en el estudio..... 14
- Figura 2 Vista lateral de plantas de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4). Imágenes tomadas con cámaras RGB (Lemnatec). = 10 cm..... 23
- Figura 3 Peso seco del vástago (+D.E.) en cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4). Letras diferentes sobre las barras de cada recolecta indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$) ($n= 4$)..... 24
- Figura 4 Eficiencia fotoquímica del PSII ($F_v/F_m = F_m - F_0/F_m$) (+D.E.) en la tercera hoja trifoliolada de cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4). Letras diferentes sobre las barras de cada recolecta indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$) ($n= 4$)..... 25
- Figura 5 Fluorescencia de la clorofila *a* en la tercera hoja trifoliolada de cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4). 26

Figura 6 Potencial hídrico del vástago (+D.E.) en cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4). Letras diferentes sobre las barras de cada recolecta indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$) (n= 4)..... 27

Figura 7 Contenido de glucosa, fructosa y sacarosa (+D.E.) en la tercera hoja trifoliolada de cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4). Letras diferentes sobre las barras de cada recolecta indican diferencias significativas) (Tukey $p \leq 0.05$) (n= 5). 28

Figura 8 Contenido de almidón en la tercera hoja trifoliolada de *Phaseolus acutifolius* sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4). Letras diferentes sobre las barras de cada recolecta indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$) (n=5)..... 29

Figura 9 Detección cualitativa (coloración oscura) de la presencia de almidón por tinción con lugol en el foliolo central de la tercera hoja trifoliolada de cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4). 30

Figura 10 Acumulación de biomasa (+D.E.) en cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* con riego (R) y restricción de humedad (RH) en la etapa reproductiva (R8). Letras diferentes sobre las barras de cada recolecta indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$) (n= 5)..... 31

Figura 11 Rendimiento de semilla de cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* (+D.E.) con riego (R) y restricción de humedad (RH) en la etapa reproductiva (R8). Letras diferentes sobre las barras de cada recolecta indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$) (n=5)..... 32

Figura 12 Distribución del peso individual de semilla (+D.E.) en cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* con riego (R) y restricción de humedad (RH) en la etapa reproductiva (R8). Letras diferentes sobre las cajas de cada recolecta indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$) (n=5). 33

1. INTRODUCCIÓN

El frijol *Phaseolus vulgaris* L. es la leguminosa que más se consume en Latinoamérica y África (Beebe *et al.*, 2013). Comúnmente, el frijol se cultiva en condiciones de secano (Farooq *et al.*, 2017). Sin embargo, alteraciones recientes en el ambiente han originado que las sequías de las últimas dos décadas hayan reducido el rendimiento hasta en 80 % (Reynolds *et al.*, 2016). Una alternativa para enfrentar los efectos adversos de la falta de agua sobre la producción de frijol es usar tipos silvestres o cultivares con caracteres adaptativos a la tolerancia a sequía (Aguirre *et al.*, 2003). Sin embargo, los materiales albergados en bancos de germoplasma se encuentran subutilizados o permanecen sin identificar; por lo que, el análisis de las recolectas permitirá su rescate, conservación y uso de la riqueza genética (Peña-Valdivia *et al.*, 2012; 2013).

El frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) se ha señalado como candidato para transferir caracteres adaptativos a estrés abiótico a frijol (*P. vulgaris*) (Rao *et al.*, 2013).

La distribución natural de frijol tépari incluye zonas del suroeste de Estados Unidos y noroeste de México, caracterizadas por ambientes secos y calurosos (Mogotsi, 2006; Nabhan y Felger, 1978). Esta especie está adaptada a ambientes áridos, su ciclo de vida es corto, hojas estrechas y raíces finas (Butare *et al.*, 2012); además, tolera ciertas plagas, como brúquidos (*Achantoceles optectus*) (Jiménez *et al.*, 2017), que infestan a las semillas de frijol. El contenido de proteína en la semilla de frijol tépari es cercano a 23 %, similar al de otras especies del género *Phaseolus* (Federici *et al.*, 1990; Kuruvadi y Valdez 1993).

En el presente estudio se evaluaron parámetros fenotípicos, fisiológicos y bioquímicos de cuatro recolectas de frijol tépari con restricción de humedad durante la etapa de tercera hoja trifoliolada de la fase vegetativa y, en la etapa de llenado de la vaina en la fase reproductiva, la distribución de la biomasa y el rendimiento de semilla.

2. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el fenotipo, fisiología, rendimiento y contenido de azúcares y almidón en cuatro recolectas de frijol tépari con restricción de humedad.

2.1. Objetivos particulares

- Evaluar el efecto del contenido de humedad del sustrato sobre caracteres morfométricos en plantas de frijol tépari en etapa vegetativa.
- Cuantificar el efecto del contenido de humedad del sustrato en la eficiencia fotoquímica del PSII en plantas de frijol tépari en etapa vegetativa
- Conocer el contenido de glucosa, fructosa y sacarosa y almidón en la tercera hoja trifoliolada de plantas de *Phaseolus acutifolius* bajo diferentes niveles de humedad en el sustrato.
- Determinar la distribución de biomasa y el rendimiento de semilla en cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* con riego a capacidad de campo y suspensión del riego en la etapa de llenado de la vaina.

3. HIPÓTESIS

La restricción de humedad modifica el fenotipo, la fisiología, el contenido de azúcares solubles y almidón y el rendimiento de frijol tépari independientemente del área geográfica de procedencia.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Importancia de las leguminosas como alimento

Dos terceras partes del alimento de la población mundial son de origen vegetal. Los cereales, como maíz (*Zea mays* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.) y arroz (*Oryza sativa* L.), se consumen en cantidad mayor por millones de humanos y aportan cerca de la mitad de las calorías (Lal, 2016). El consumo de leguminosas, es mayor en países de Latinoamérica y occidente de África (Beebe *et al.*, 2013). El género *Phaseolus* ocupa un lugar importante, por su amplia distribución y consumo mundial (Daryanto *et al.*, 2015). Actualmente, las especies del género *Phaseolus* con el consumo mayor son: frijol (*P. vulgaris* L.), frijol ayocote o botil (*P. coccineus*), frijol lima o comba (*P. lunatus*), frijol tépari o escumite (*P. acutifolius* A. Gray) y frijol acalete o gordo (*P. dumosus*) (Delgado y Gama, 2015). De ellas, *P. vulgaris* es la de cultivo y consumo mayor. La gran diversidad que se generó en los dos principales centros de origen (mesoamericano y andino) y la capacidad de crecer en varios ecosistemas permitió que el género sea uno de los de consumo mayor (Broughton *et al.*, 2003). En el mundo la producción de frijol se ha extendido a 29.5 millones de hectáreas (FAOSTAT, 2017). El consumo per cápita mundial es de 14 kg y en el centro y este de África es cercano a 31 kg (FAO, 2004; Singh, 1999a y 1999b). En México el consumo de 18 kg per cápita es uno de los más elevados del continente americano, por lo que la producción alta deberá mantenerse para asegurar el consumo (Peña-Valdivia *et al.*, 2012).

4.2. Efecto del déficit de humedad en la producción de frijol (*P. vulgaris* L.)

Diferentes modelos climáticos pronostican cambios en la distribución de lluvias y aumentos de sequía (Hansen *et al.*, 2006). Según datos de la Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura, la agricultura mundial enfrentará amenaza por las alteraciones resultantes del cambio climático (FAO, 2004). Las regiones subtropicales y tropicales probablemente representen el área más afectada por el aumento de temperaturas y sequías prolongadas (Lal, 2016; Reynolds *et al.*, 2016). Entre los tipos de estrés ocasionados por alteraciones en el ambiente, la sequía representa el impacto global mayor en el rendimiento de los cultivos (Ramírez y Kelly 1998). Por ejemplo, en México durante el 2011 se registró una sequía que causó disminuciones hasta de 80 % en maíz (*Zea mays*), frijol (*P. vulgaris*) y trigo (*Triticum aestivum* L.) (Esparza, 2014).

Este panorama se complica por el crecimiento poblacional proyectado para el 2050, que puede alcanzar 9.7 billones de personas en el planeta; por lo que los alimentos deberán duplicarse en la siguiente mitad de siglo XXI (Lal, 2016).

En frijol, como en otras leguminosas, el estrés por sequía durante la etapa de floración y el llenado de la vaina disminuye el rendimiento entre 40 % y hasta 87 % (Ghanbari *et al.*, 2013; Martínez *et al.*, 2007; Rosales-Serna *et al.*, 2004). La producción mayor de frijol en el mundo se logra en condiciones de secano (Jiménez y Acosta, 2013). Asimismo, cerca de 60 % de la producción de frijol ocurre en suelos propensos a déficit hídrico, por lo que algunos productores invierten en sistemas tecnificados de riego. Sin embargo, esos métodos son

costosos y, por lo tanto, poco accesibles para la mayoría de productores (Graham y Ranalli, 1997).

Una de las estrategias para obtener cultivos de frijol con rendimiento mayor, en condiciones de precipitación baja, es seleccionar genotipos que utilicen eficientemente la humedad aprovechable (Andrade *et al.*, 2016). En las regiones áridas o semiáridas del norte de México existen especies con cierta tolerancia al estrés por déficit de humedad (Beebe *et al.*, 2013). Pinto Villa es un cultivar de frijol que se cultiva en condiciones de secano en el norte de México, y su rendimiento no se afecta severamente en sequía, comparado con otros cultivares (Acosta-Gallegos *et al.*, 1997; Beaver *et al.*, 2003; Graham y Vance 2003; Rosales-Serna *et al.*, 2000; Terán y Singh 2002). Estudios de campo han mostrado que en sequía Pinto Villa presenta una reducción pequeña en el índice de cosecha; por lo que, existe la hipótesis de que este cultivar puede aumentar la distribución de carbono hacia las vainas como parte de su mecanismo de adaptación a la sequía (Rosales-Serna *et al.*, 2000, 2003).

4.3. Respuestas fisiológicas al estrés por déficit de humedad

Entre los mecanismos morfo-fisiológicos con los que cuentan las plantas para adaptarse a la sequía está uno denominado escape y evasión; en este caso, las plantas acortan su ciclo reproductivo, aceleran la removilización de fotosintatos hacia la formación de la semilla, activan el desarrollo de órganos reproductivos, como flores y vainas (Coello y Martínez-Barajas *et al.*, 2016). El mantenimiento de los procesos bioquímicos como acumulación de compuestos orgánicos e inorgánicos, tasa de asimilación de CO₂, fotosíntesis, así como la estabilización de

las membranas; asociados al retardo de la senescencia, turgencia y estatus hídrico representan un complejo mecanismo denominado tolerancia (Asfaw *et al.*, 2017). Por lo que diversos estudios han abordado el problema con el propósito de evaluar material genético con mayor resistencia al estrés abiótico (Assefa *et al.*, 2015; Polania *et al.*, 2016; Rao *et al.*, 2013).

Durante el ciclo de cultivo del frijol, existen etapas de crecimiento con mayor susceptibilidad a la restricción de humedad. En la etapa vegetativa, se comprometen caracteres como altura, tamaño y número de hojas (dosel) y senescencia (Andrade *et al.*, 2016; Farooq *et al.*, 2017; Muchero *et al.*, 2013), que le permiten a la planta formar el número de flores necesarias para su rendimiento óptimo. En la etapa reproductiva la fertilidad del polen, la germinación del tubo polínico y la formación de la vaina son procesos con mayor susceptibilidad a factores causantes de estrés, que afectan el crecimiento de la vaina y llenado de la semilla (Devasirvatham *et al.*, 2012; Farooq *et al.*, 2017). El estrés por sequía en la etapa reproductiva modifica el rendimiento del grano, la homogeneidad del tamaño, el número y el peso de la semilla (Padilla-Chacón *et al.*, 2017). En diferentes genotipos se ha mostrado que la sequía afecta la relación del contenido de carbono entre órganos fuente (como las hojas) y demanda (como las semillas y raíces). Esto indica que el proceso relacionado a la distribución de carbono es un blanco sensible a los factores ambientales adversos (Cuellar-Ortiz *et al.*, 2008). Como consecuencia se produce el aborto de estructuras reproductivas y la disminución en la acumulación de biomasa en órganos almacén (como frutos y tallo) (Boyer y Westgate, 2004).

4.4. Respuestas moleculares al estrés por déficit de humedad

Desarrollo de tecnologías conocidas como 'omics' se han enfocado a identificar grupos de genes, proteínas y metabolitos que pudiesen estar asociados al fenotipo de la planta modificada por un determinado tipo de estrés (Jha *et al.*, 2017). La identificación de regiones del genoma asociadas a un carácter deseable, o QTLs, son una estrategia de los mejoradores genéticos que les permite seleccionar regiones del cromosoma heredables (Asfaw *et al.*, 2012; Honsdorf *et al.*, 2017; Kelly y Vallejo, 2006; Miklas y Porch, 2010; Oblessuc *et al.*, 2012, 2013). La obtención de ESTs (Expression Sequence Tags) en bibliotecas de cDNA (por sus siglas en inglés) en plantas de frijol permiten identificar grupos de genes que se expresan en condiciones de estrés (Deokar *et al.*, 2011).

La secuenciación masiva o next-generation sequencing (NSG) o polimorfismo de nucleótido único (SNPs) son herramientas para mapear genomas en poblaciones derivadas de cruza entre variedades (Gujaria-Verma *et al.*, 2016). La secuenciación de proteínas (proteómica) y de metabolitos (metabolómica) describen la interacción de proteínas y modificaciones post-transcripcionales (Ramalingam *et al.*, 2015).

Específicamente, el conocimiento profundo de la diversidad genética y de la estructura de las poblaciones de las especies del género *Phaseolus* es necesario para la utilización mayor de germoplasma. Esto podría apoyarse con la asociación de mapas de caracteres conspicuos, como los de la tolerancia a la sequía (Beebe *et al.*, 2013).

4.5. Reacciones bioquímicas a estrés por sequía

4.5.1. Proteínas clave en la respuesta al déficit de humedad

Dentro de las proteínas involucradas en el metabolismo de la planta bajo condiciones de estrés, las hidrofílicas y proteínas abundantes de la embriogénesis tardía (LEA por sus siglas en inglés) participan en la prevención de la inactivación de enzimas del metabolismo primario y de estructuras celulares en respuesta a la sequía (Battaglia y Covarrubias, 2013). Proteínas de la membrana como acuaporinas, están involucradas en el transporte de agua desde las raíces, facilitan y regulan el transporte de asimilados como la sacarosa a través de los elementos cribosos en el floema (Ariani y Gepts, 2015). Participan en la diferenciación y elongación celular, así como también en el control estomático y la transpiración (Braun *et al.*, 2014). Las invertasas ácidas, neutras y alcalinas, de acuerdo a los requerimientos óptimos de pH y de la localización subcelular, intervienen en catalizar la degradación de sacarosa. Se ha reportado la actividad de la invertasa vacuolar y de la pared celular durante el desarrollo del grano (Weschke *et al.*, 2000) y una disminución durante un estrés por sequía (Zinselmeier *et al.*, 1999).

4.5.2. Ajustes osmóticos y hormonales en la respuesta al déficit de humedad

Se ha documentado la acumulación de ácido abscísico (ABA) en plantas como un ajuste osmótico en respuesta a un déficit de humedad (Susmilch y MacAdam, 2017). Su papel fisiológico es regular la apertura del poro estomático; por lo que, participa en el balance de intercambio gaseoso, minimizando la transpiración y pérdida de agua (Saradadevi *et al.*, 2017). El ABA participa en una

serie de funciones reguladas por calcio (Ca^{++}), como segundo mensajero que desencadena señales relacionadas con la respuesta al estrés por déficit de humedad (Zou *et al.*, 2015).

4.5.3. Carbohidratos en respuesta al estrés por déficit de humedad

En la red de ajustes metabólicos y bioquímicos en respuesta al estrés por déficit de humedad, las plantas superiores sintetizan carbohidratos específicos, con varias funciones, como proteger estructuras celulares mediante osmoprotección, y señalización (Rosa *et al.*, 2009; Ruan, 2014). Entre los carbohidratos que aumentan su concentración en condiciones de estrés están los azúcares, como los oligosacáridos de la familia de la rafinosa (RFOs por sus siglas en inglés); su síntesis y acumulación se ha reportado en la expresión de la tolerancia a bajas temperaturas (Pattanagul y Madore, 1999; Vandecasteele *et al.*, 2011). La trehalosa es un disacárido, no reductor, que participa como molécula de señalización en respuesta al estrés por déficit de humedad, además puede ser fuente energética, actuar como osmolito y osmoprotector de proteínas de la membrana (Iturriaga *et al.*, 2009). El precursor de la síntesis de trehalosa es trehalosa-6-fosfato, a esta se le ha atribuido el papel de señalización en el desarrollo y crecimiento de plantas superiores (Julius *et al.*, 2017).

4.5.4. Almidón y sacarosa en la respuesta al déficit de humedad

La fotosíntesis, y la síntesis de almidón y sacarosa, son modificados por la falta de humedad (Thalman y Santellia, 2017; Yang *et al.*, 2014). Esto repercute en procesos moleculares, bioquímicos y fenotípicos. Por ejemplo, en plantas de *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* L.), el contenido de hexosas se incrementó bajo

condiciones de estrés (Dubois *et al.*, 2017). En frijol el contenido de almidón aumentó en las hojas por la restricción de humedad, pero disminuyó en la vaina durante el llenado del grano (Padilla-Chacón *et al.*, 2017).

En condiciones de sequía, temperatura baja e inundación el contenido de sólidos solubles incrementa; sin embargo, el estrés por luz (PAR), UVBR, metales pesados, escasez de nutrientes y presencia de ozono provoca una disminución en la concentración de azúcares (Dubey y Singh, 1999; Gill *et al.*, 2001; Strand *et al.*, 1999). Además, los azúcares solubles tienen roles metabólicos diferentes asociados al estrés. La sacarosa y la glucosa además de participar como sustratos de la respiración celular son osmolitos, pues participan en el mantenimiento de la homeostasis de la planta; la fructosa no se ha identificado como molécula osmo-protectora, y se ha identificado como metabolito secundario y en la síntesis de eritrosa-4-P, que, a la vez, es sustrato en la síntesis de lignina y compuestos fenólicos (Rosa *et al.*, 2009). El incremento de azúcares solubles se ha documentado en alfalfa (*Medicago sativa* L.), arábido (*Arabidopsis thaliana* L. Heynh), trigo (*Triticum aestivum* L.), remolacha dulce (*Beta vulgaris*) y papa (*Solanum* spp.) (Farhad *et al.*, 2011; Irigoyen *et al.*, 1992; Marcinska *et al.*, 2013; Spirdouli y Moustakas, 2012; Wu *et al.*, 2014).

4.6. Respuestas fenotípicas al estrés por déficit de humedad

Los factores que definen la interacción del genotipo con el medio ambiente se han estudiado (Halperin *et al.*, 2017). La interacción se describe como $G \times A = F$, donde G es el genotipo, A el ambiente y F el fenotipo, el cual explica los posibles cambios fenotípicos originados por la expresión de genes que responden

ante una condición ambiental (Tuberosa, 2012). Los primeros experimentos en describir cambios en el fenotipo se reportaron desde 1991, algunos de ellos realizados de forma visual, destructiva y con bajo número de plantas (Li *et al.*, 2014).

Métodos que aceleran el análisis del fenotipo se han desarrollado para aumentar el número de plantas que puedan evaluarse en forma no destructiva (Chen *et al.*, 2014). La meta es identificar genotipos con características de tolerancia al estrés durante el ciclo de crecimiento e incorporar los cultivares a los programas de mejoramiento genético. Esos protocolos se basan en la adaptación de sensores con longitudes de onda distintas. La información permite identificar con precisión caracteres adaptativos a un determinado tipo de estrés biótico y abiótico (Halperin *et al.*, 2017; Munns *et al.*, 2010; Tuberosa, 2012). La gran cantidad de información que se ha generado permitió desarrollar una nueva rama del conocimiento, denominada fenotipo de alto rendimiento, o en inglés High-throughput Phenotyping. A las bases de datos de especies en condiciones ambientales diversas se le ha denominado Fenómica o Phenomics (en inglés). Esta rama, que forma parte de las tecnologías del Omics, se distinguen por las siguientes características: 1) uso de plataformas de fenotipaje adaptadas para la toma de imágenes, con cámaras con capacidad de detectar el espectro de luz visible (VIS), infrarrojo (IR) y de fluorescencia (FLUO), y que funcionan como sensores de gran número de caracteres que a simple vista no se detectan (Kwon *et al.*, 2015; Singh *et al.*, 2015). El conjunto de información, con un número grande de imágenes, se le conoce con el término en inglés “High-throughput” o de alto

rendimiento, que de acuerdo a estudios en maíz (*Zea mays*) (Yendrek *et al.*, 2017), sorgo (*Sorghum sp.*) (Neilson *et al.*, 2015), trigo (*Triticum aestivum*) y cebada (*Hordeum vulgare*) (Munns *et al.*, 2010) en promedio usan de 300 a 1000 plantas por estudio bajo condiciones ambientales distintas. Los experimentos se realizan por métodos no destructivos; pues, las mismas plantas son evaluadas durante todo el tratamiento. La información generada podrá usarse para crear con el fenotipo un mapa del genotipo y obtener materiales con mejor adaptación al ambiente (Li *et al.*, 2014).

4.7. El frijol tépari como modelo de estudio

El frijol tépari es una de las cuatro especies domesticadas del género *Phaseolus*. Esta especie está distribuida naturalmente en el desierto del noroeste de México y suroeste de Estados Unidos de América (Beebe *et al.*, 2013) y se desarrolla en regiones áridas por su tolerancia a sequía, calor, atmosferas secas (Mogotsi, 2006) y temperaturas bajas (Martinez-Rojo *et al.*, 2007). Los factores que contribuyen a su tolerancia son sensibilidad estomática y desarrollo de sistema radical profundo y extenso (Butare *et al.*, 2011). Los ambientes donde se desarrolla presentan temperatura anual promedio de 17 a 26 °C y precipitación anual promedio de 500 a 1700 mm (Mogotsi 2006). Aunque existe variabilidad en el rendimiento de semilla de frijol tépari (Kuruvadi y Valdez, 1993), en este es superior al del frijol en condiciones de sequía (Mohamed *et al.*, 2002). Al respecto, algunos caracteres del frijol tépari que le permiten responder favorablemente a la sequía se han documentado (Markhart, 1985). Por lo anterior, el frijol tépari se ha señalado como fuente de genes para tolerancia a estrés abiótico y biótico que

podrían transferirse para el mejoramiento de *P. vulgaris* (Schinkel y Gepts, 1988). Además, el frijol tépari es un cultivo apropiado para agricultores de escasos recursos en África y regiones áridas y semiáridas de Latinoamérica en condiciones de sequía, por su germinación rápida, sistema radical profundo y ciclo de vida corto (Beebe *et al.*, 2013).

En este estudio, a través de aproximaciones fenotípicas, fisiológicas y bioquímicas se evaluaron cuatro recolectas de frijol tépari provenientes de Nayarit, Durango y Chihuahua, proporcionadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

El objetivo del estudio fue identificar las diferencias adaptativas entre las recolectas que permitan elucidar los mecanismos de resistencia al estrés por restricción de humedad.

La hipótesis fue que existen diferencias fenotípicas, fisiológicas, de azúcares solubles y almidón, así como también en el rendimiento en cuatro recolectas de frijol tépari de diferentes áreas geográficas con restricción de humedad.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Material vegetal

En el estudio se incluyeron cuatro recolectas silvestres (10006, 10011, 10017, 10020) (Cuadro 1, Figura 1) de *P. acutifolius*, de acuerdo con la información del INIFAP-CEVAMEX) (datos no publicados). La etapa reproductiva

se evaluó durante el verano, de junio a octubre de 2016 y la etapa vegetativa en primavera-verano, de mayo a junio de 2017.

Cuadro 1. Datos geográficos de procedencia de las semillas de *Phaseolus acutifolius* utilizadas en el estudio. Banco de germoplasma, INIFAP-CEVAMEX.

Clave curador	Año de recolecta	Especie	Latitud	Longitud	Altitud	Lugar
10006	1967	<i>P. acutifolius</i>	25°11'	104°34'	1380	Durango
10011	1969	<i>P. acutifolius</i>	22°0'	104°30'	900	Nayarit
10017	1978	<i>P. acutifolius</i>	24°1'	104°40'	s/r [§]	Durango
10020	1984	<i>P. acutifolius</i>	27°1'	107°45'	500	Chihuahua

[§] s/r: sin registro.

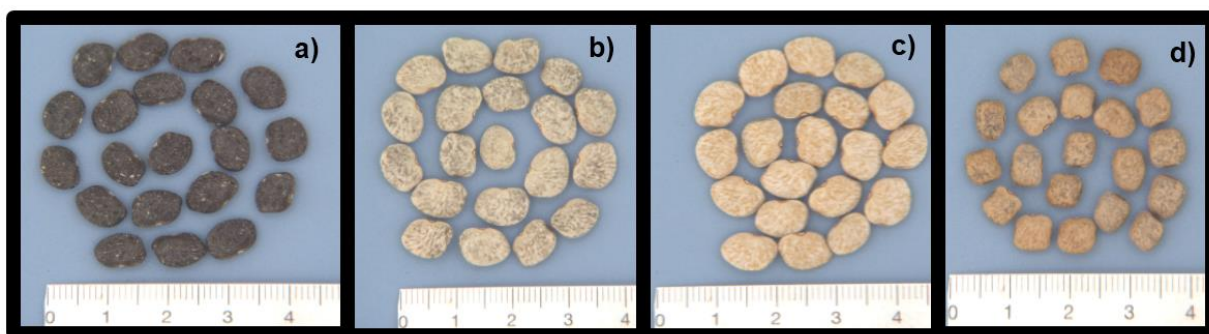


Figura 1 Semillas de las recolectas de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) procedentes de Durango (a y c), Nayarit (b) y Chihuahua (d) utilizadas en el estudio.

5.2. Sitio experimental

Ambas etapas del estudio se realizaron en condiciones de invernadero, en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México (19°30' N, 98°51' O y altitud de 2250 m).

5.3. Evaluación en la etapa de tercera hoja trifoliolada (V4) de la fase vegetativa.

Semillas de las cuatro recolectas se sembraron en macetas de plástico de 1.5 kg de capacidad, con 1.25 kg de suelo cuyas características físicas y químicas se señalan en el Cuadro 2. En cada maceta se mantuvo una planta, con riego a CC desde la siembra hasta el desarrollo de la tercera hoja trifoliada (V4, CIAT 1982). Se fertilizó cada maceta al inicio del desarrollo de las hojas simples y después cuando se desarrolló la tercera hoja trifoliolada con 1.5 g del fertilizante granulado (YaraMila® complex 12-11-18 + micro elementos).

Las plantas se distribuyeron en un diseño completamente al azar con cinco repeticiones por tratamiento. Los tratamientos estuvieron representados por la recolecta (cuatro) y la condición de humedad (tres). La unidad experimental fue una planta por maceta. Los niveles de humedad en el suelo fueron 1) 100 % de capacidad de campo (CC), 2) 50 % de CC y 3) 25 % de CC.

Cuadro 2. Características físicas y químicas del suelo utilizado en el estudio.

pH 1:2	5.62	Humedad (CC [§] ; %)	13.00
Conductividad eléctrica (dSm ⁻¹)	0.53	Humedad (PMP [§] ; %)	9.00
Materia orgánica (%)	0.10	Arcilla (%)	16.00
N total (%)	0.049	Arena (%)	59.00
P (mg kg ⁻¹)	0.870	Limo (%)	25.00
K ⁺ cmol(+) (mg kg ⁻¹)	0.0065	Textura	Migajón arenoso
Densidad aparente (Mg m ⁻³)	1.40	Tensión (bars) CC	0.30
Densidad real (Mg m ⁻³)	2.00	Tensión (bars) PMP	15.00
Porosidad (%)	44.00		

[§] CC: capacidad de campo. PMP: punto de marchitez permanente.

5.3.1. Variables del fenotipo

5.3.1.1. Estimación de biomasa, altura y área foliar. El fenotipo de las plantas se evaluó con el sistema de adquisición de imágenes Scanalyzer PL (Lemnatec). Cada maceta se colocó en la cabina de la plataforma iluminada con lámparas de luz blanca, se obtuvieron imágenes con la cámara lateral (side view) en la región visible del espectro, RGB (400-700 nm). Las imágenes se obtuvieron cada tres días durante el desarrollo de la tercera hoja compuesta (V4).

La resolución de la cámaras (Baster AG, Ahresburg Germany) permitió obtener 1628 x 1236 pixeles, con 4.4 x 4.4 μm por pixel. Las imágenes se exportaron al programa LemnaGrid. Este determinó la biomasa digital que correspondió al volumen por pixel, que es una aproximación al peso fresco de la planta. Las variables obtenidas se calcularon a partir de las imágenes y se identificaron como “convex hull area” (cm^2), “caliper length” (mm) y “compactness” esta última calculada como el cuadrado que forma el borde de la planta dividido entre el área proyectada (Jansen *et al.*, 2009).

5.3.1.2. Peso seco total del vástago. Con el propósito de validar los datos de las imágenes digitales en RGB, al finalizar las pruebas fenotípicas, las plantas se cosecharon, se colocaron en bolsas de papel y se mantuvieron a 70 °C por 72 horas en una estufa de secado con aire forzado (marca Blue M) hasta alcanzar peso constante. El peso seco se registró en una balanza digital (marca Ohaus® modelo Scout Pro™) con aproximación a 0.01 g.

5.3.2. Variables fisiológicas

5.3.2.1. Eficiencia fotosintética del fotosistema II. Con el propósito de evaluar el efecto de la restricción de humedad en la capacidad fotosintética, la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PSII) se determinó en plantas mantenidas en tres niveles de humedad. Los resultados se expresaron como F_v/F_m , donde F_v es la fluorescencia variable ($F_m - F_0$), F_m la fluorescencia máxima y F_0 la fluorescencia inicial. La diferencia entre la fluorescencia generada con el primer estímulo de luz y la máxima estimulación con luz es la fluorescencia emitida cuando los electrones son ocupados en la fotosíntesis por “cantidad” de luz absorbida.

Inicialmente la eficiencia fotosintética máxima del fotosistema II se midió en el tercer trifolio, completamente expandido, separado de cada planta, 10 días después de establecida cada condición de riego. Las mediciones se realizaron al mediodía. Los trifolios se colocaron en oscuridad por 30 minutos y se introdujeron en una cámara cerrada (PhotoSystem Instruments Open FluorCam FC800-0, República Checa) para cuantificar la fluorescencia con el programa FluorCam (versión 6), configurado para una lectura con la curva Kaustky y pulsos de luz constante. Los valores de F_0 y F_m se obtuvieron, así como también las imágenes con la fluorescencia de las hojas.

5.3.2.2. Potencial hídrico del vástago. El potencial hídrico de las plantas se determinó con una cámara de presión de Scholander (PMS Instruments Co., Corvallis, OR, USA) (Scholander *et al.*, 1965). Las mediciones se realizaron en la mañana (10 am), y 10 días después de haber llegado al nivel de humedad de cada

tratamiento. Cada planta se cortó de la base del tallo con una navaja, y se colocó dentro de la cámara de presión, con la base hacia arriba. Al cerrar la cámara se aplicó presión hasta la aparición de una gota o burbuja de savia sobre el corte observado por una lupa y en ese momento se registró el potencial hídrico del vástago (bars).

5.3.3. Variables bioquímicas

5.3.3.1. Extracción y determinación de glucosa, fructosa y sacarosa.

Se cosecharon al medio día (12 h) 200 mg de la tercera hoja trifoliada la cual se homogenizó en 1 mL de etanol al 80 % y se mantuvieron a 80°C, por 30 minutos. Las muestras se centrifugaron a 10,000 x g por 10 minutos. La extracción se repitió y los dos sobrenadantes se mezclaron. La glucosa, fructosa y sacarosa se cuantificaron en la mezcla de los sobrenadantes. El almidón se cuantificó en el material insoluble. En el primer caso, 5 μ L del extracto etanólico se mezclaron con 200 μ L de 25 mM HEPES-HCl (pH 8.0), 50 mM KCl, 1mM ATP, 3 mM $MgCl_2$, 0.3 mM NAD^+ y 1U mL^{-1} hexokinasa de levadura (EC 2.7.1.1.). La absorbancia basal a 340 nm se determinó con un lector de microplaca (Multiskan FC microplate photometer, Thermo Scientific. USA). En la segunda etapa, 1 U mL^{-1} glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (EC 1.1.1.49) se agregó a la mezcla, y la absorbancia estable a 340 nm se estableció. La fructosa se cuantificó en forma similar a la anterior después de adicionar 1 U mL^{-1} fosfoglucoasa isomerasa (EC 5.3.1.9), y al final 1 U mL^{-1} invertasa (EC 3.2.1.26) se agregó, y la glucosa y fructosa se cuantificaron en la misma reacción. En esta secuencia de reacciones, los azúcares están estequiométricamente transformados a glucosa 6-fosfato (G6P) y después a

6-fosfogluconato. Por cada mol de hexosa transformada a 6-fosfogluconato, 1 mol de NADPH es producido. El cálculo de sacarosa considera que dos moles de NADH son producidos por mol de azúcar (Bernal *et al.*, 2005).

5.3.3.2. Contenido de almidón. Para cuantificar el almidón, la fracción insoluble se resuspendió en 2 mL de agua y se mantuvo a 90 °C por 4 horas. Después de enfriarlo, 220 U amiloglucosidasa (EC 3.2.1.3 de *Rhizopus*) en 1.5 mL 200 mM de buffer de acetato (pH 4.5) fue agregado a cada muestra. Las muestras se mantuvieron a 37°C una noche y, después centrifugada a 10,000 x g por 10 min, la glucosa se cuantificó en el sobrenadante con el método enzimático descrito anteriormente (Bernal *et al.*, 2005) La estimación cualitativa de almidón también se hizo en las hojas. Una muestra del trifolío en etanol al 80 % se mantuvo a 90 °C hasta observar la pérdida de la clorofila en las hojas. El tejido se colocó en cajas Petri para teñirlas con solución Lugol y visualizar el contenido de almidón. En esta etapa se observa el porcentaje de tinción en las hojas (Chen *et al.*, 2005).

5.4. Evaluación en la etapa de llenado de la vaina (R8) de la fase reproductiva

Semillas de *P. acutifolius* se sembraron en macetas de plástico de 5 kg de capacidad, con 4 kg de tezontle rojo (granulometría de ≤ 5 mm).

Las plantas se distribuyeron en un diseño completamente al azar con cinco repeticiones por tratamiento y una planta por maceta como unidad experimental. Los tratamientos incluyeron el grupo con riego hasta el llenado de la semilla y el grupo que se mantuvo con riego hasta la formación de la vaina y después con suspensión del riego. La suspensión de riego se inició cuando 50 % de las plantas presentaron la primer vaina desarrollada o R8 (CIAT, 1982). Las plantas con riego

se mantuvieron así hasta la madurez fisiológica. Al final del experimento se obtuvo la biomasa seca del vástago, el peso total de semillas por planta y el peso individual de semilla por recolecta.

5.4.1. Acumulación de biomasa del vástago

Hojas, tallos y vainas (pericarpio) por planta se separaron y en bolsas de papel se secaron en una estufa con circulación de aire forzado (Blue M), a 70 °C, por 72 horas. El peso de cada estructura se obtuvo en una balanza (marca Ohaus® modelo Scout Pro™) con aproximación a 0.01 g.

5.4.2. Rendimiento de semilla

Se separaron las semillas de las vainas cosechadas al final de cada tratamiento y se registró el peso (mg) de semillas producidas por planta de cada recolecta en una balanza para conocer el rendimiento de cada recolecta.

5.4.3. Distribución del peso por semilla

Se estimó la distribución del peso por semilla en cada recolecta, al pesar 100 semillas individualmente por repetición. Cada semilla fue seleccionada al azar.

5.5. Análisis estadístico

Los resultados se analizaron con ANDEVA y comparación de las medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con el programa estadístico INFOSTAT 2.0 y la representación gráfica por SigmaPlot 11.

6. RESULTADOS

6.1. Evaluación en la etapa vegetativa (V4)

6.1.1. Variables fenotípicas

6.1.1.1. Biomasa, altura y área foliar. Las variables fenotípicas se obtuvieron de un total de 300 imágenes, de la vista lateral (side view) para cada repetición (Figura 2). Con 25 % y 50 % CC disminuyó el crecimiento respecto al control (100 % de CC). Con el software LemnaGrid se determinó que el área de las recolectas 10006 y 10017 disminuyeron entre 15 % y 20 % con 25 % y 50% de CC; pero en la recolecta 10011 el efecto se presentó hasta que se alcanzó 25% de CC. En contraste, la recolecta 10020 disminuyó más de la mitad su crecimiento con ambos porcentajes de humedad (Cuadro 3). Además, los valores de caliper length, compactness y convex hull area se afectaron en las recolectas 10006, 10011 y 10017 con la reducción de humedad y en la recolecta 10020 los valores se mantuvieron significativamente menores respecto a las otras.

Cuadro 3. Variables fenotípicas de plantas (+D.E.) de cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolus* sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4).

Origen y Núm. de recolecta	Nivel de humedad (% de CC ^s)	Area (mm ² por pixel)	Caliper length (cm)	Compact ness	Convex hull area (cm)
Durango 10006	25	9.19 a ±1.089	1020.42 b ±45.739	0.37 a ±0.026	549681.25 b ±39.516
	50	9.15 a ±2.030	1071.82 b ±127.722	0.36 a ±0.041	686162.25 b ±145.462
	100	11.52 a ±0.496	1338.42 a ±100.749	0.30 a ±0.044	926347.50 a ±105.162
Nayarit 10011	25	7.05 b ±1.605	977.96 b ±115.574	0.21 b ±0.047	477535.75 b ±50.237
	50	13.93 a ±1.618	1417.22 a ±345.736	0.29 a ±0.054	907852.00 a ±276.315
	100	10.64 a ±2.031	1543.45 a ±229.200	0.30 a ±0.025	939923.50 a ±153.740
Durango 10017	25	13.36 b ± 3.071	1374.61 b ±122.246	0.17 b ±0.046	846301.75 a ±133.460
	50	12.65 b ±2.844	1540.83 a ±109.261	0.41 a ±0.040	996811.25 a ±125.684
	100	7.95 a ±1.001	1657.96 a ±132.187	0.21 b ±0.035	905738.00 a ±53.737
Chihuahua 10020	25	4.54 b ±0.838	858.54 b ±72.423	0.28 a ±0.020	389711.75 a ±29.473
	50	4.48 b ±0.503	955.52 b ±35.740	0.18 b ±0.030	485806.50 a ±18.850
	100	8.80 a ±2.807	1952.1 a ±207.749	0.17 b ±0.026	112347.75 b ±260.008

CC: capacidad de campo. Los valores entre tres niveles de humedad por recolecta con letra diferente son estadísticamente diferentes (Tukey $p \leq 0.05$) (n=5).

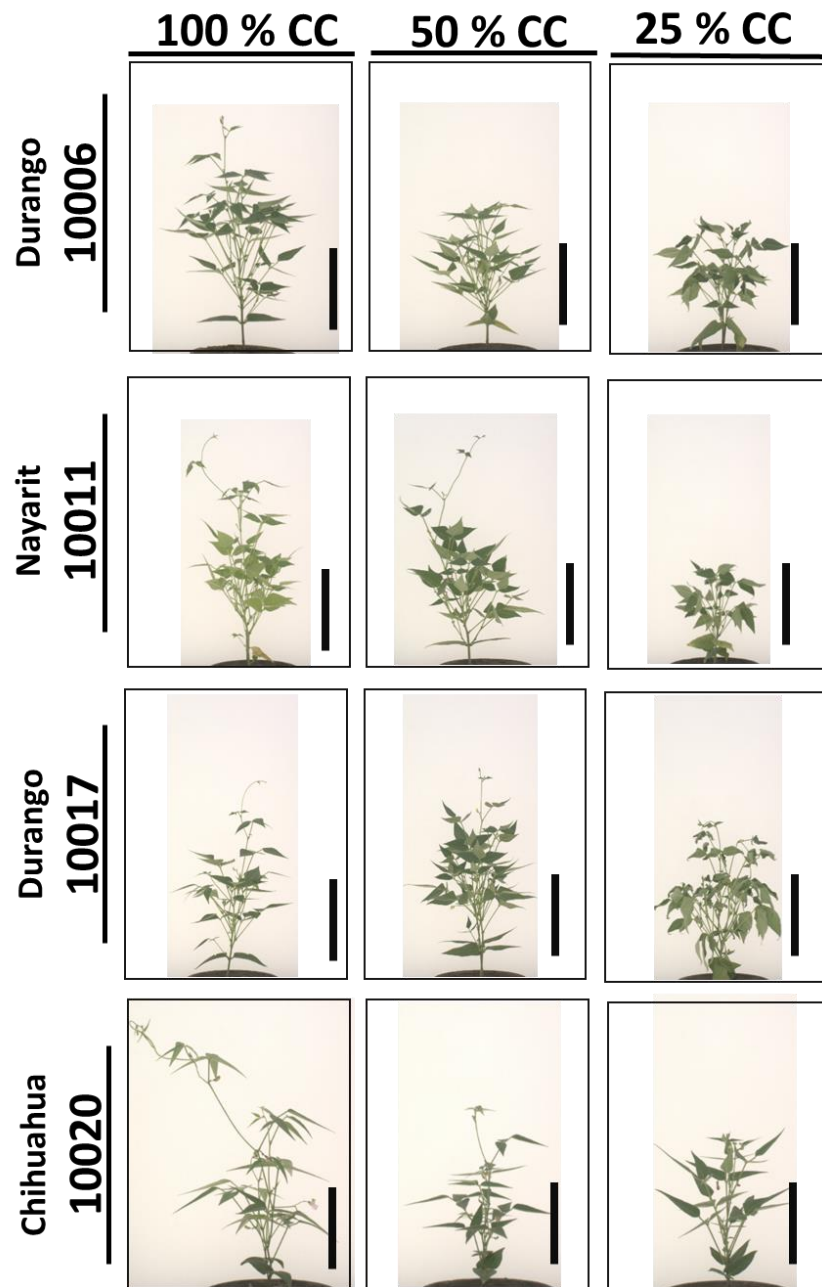



Figura 2 Vista lateral de plantas de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4). Imágenes tomadas con cámaras RGB (Lemnatec).  = 10 cm.

Los resultados de las imágenes digitales en RGB se validaron en un segundo grupo de plantas, de los 12 tratamientos, en las que se determinó el peso seco.

6.1.1.2. Acumulación de biomasa del vástago. La biomasa seca determinada en el vástago mostró correlación significativa entre las colectas 10006 ($r=0.749$) ($p \leq 0.05$) y 10017 ($r=0.792$) ($p \leq 0.05$) con la biomasa digital (Figura 3). La recolecta 10017 sobresalió por que no modificó estadísticamente su biomasa bajo los niveles de humedad. La recolecta 10020 disminuyó cerca de 50 % su crecimiento con la disminución de 50 % de la humedad y contrastó con el efecto menor (de alrededor de 30 %) en las otras recolectas (Cuadro 3, Figura 3).

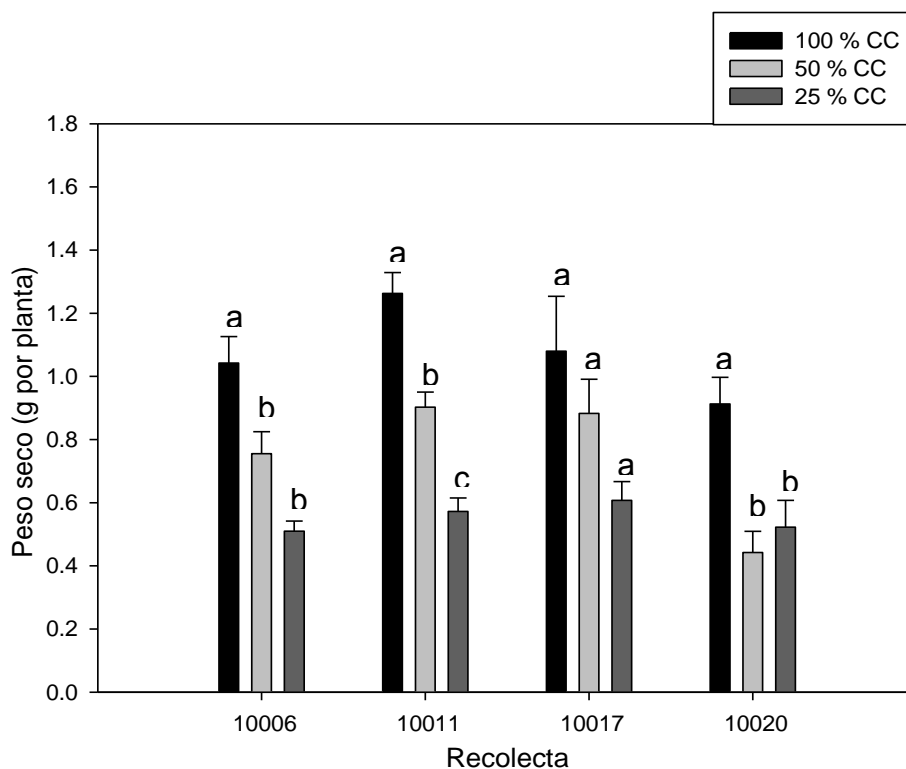


Figura 3 Peso seco del vástago (+D.E.) en cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4). Letras diferentes sobre las barras de cada recolecta indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$) ($n= 4$).

6.1.2. Variables fisiológicas

6.1.2.1. Eficiencia fotoquímica del fotosistema II. Los valores de F_v/F_m se modificaron significativamente con la disminución de la humedad únicamente en las recolectas 10006 y 10017. La disminución en ambas recolectas fue mayor con 25 % CC (Figura 4). Estos cambios se observaron en las imágenes de fluorescencia, representadas en intensidades de color; en ellas el color cercano al rojo indicó un estado óptimo y el color cercano al azul indicó un estado mínimo de F_v/F_m (Figura 5). Las imágenes mostraron que la recolecta 10006 expuso signos de disminución de color rojo con 50 % CC. En contraste, en las recolectas 10011 y 10017 los cambios ocurrieron con la disminución a 25 % CC y en la recolecta 10020 el color rojo se mantuvo en los tres porcentajes de humedad.

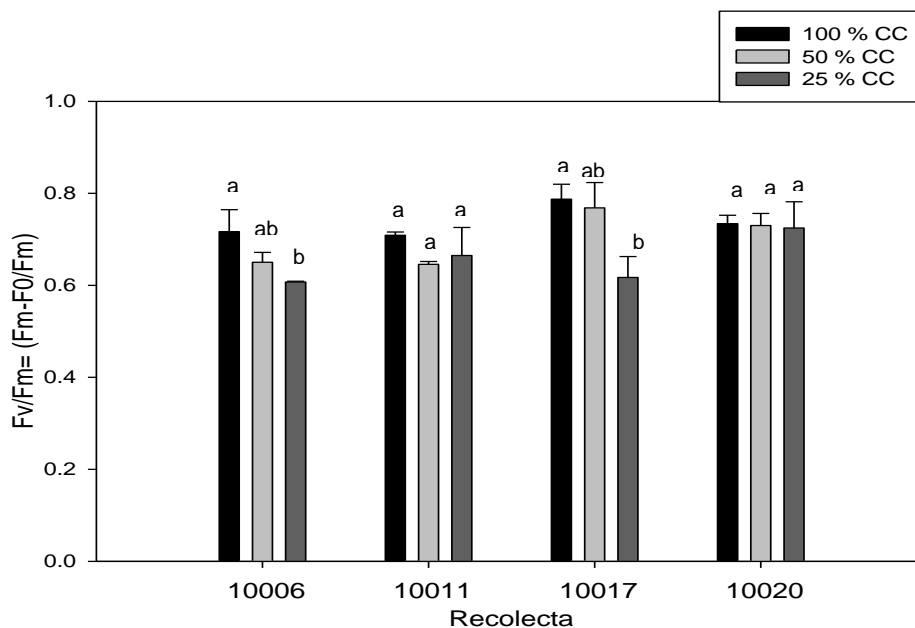


Figura 4 Eficiencia fotoquímica del PSII ($F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$) (+D.E.) en la tercera hoja trifoliolada de cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4). Letras diferentes sobre las barras de cada recolecta indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$) ($n = 4$).

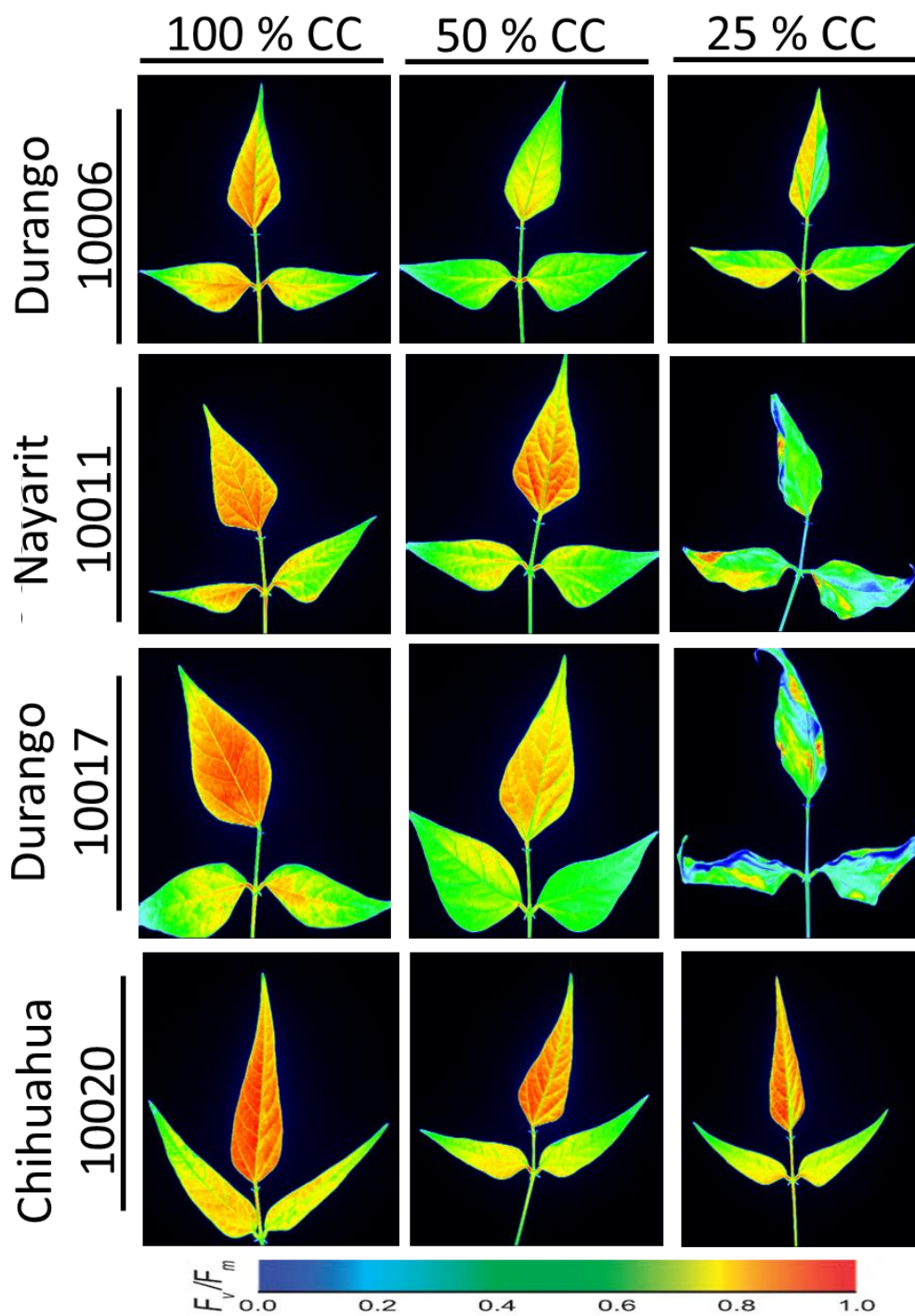


Figura 5 Fluorescencia de la clorofila a en la tercera hoja trifoliolada de cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4).

6.1.2.2. Potencial hídrico del vástago. Las recolectas con mayor efecto por la restricción de humedad fueron la 10011 y 10017 al presentar el menor potencial de agua (-1.5 MPa) con respecto a las plantas con riego al 100% de CC (-0.5 MPa). En contraste, las recolectas con el menor efecto por la reducción de humedad fueron 10006 y 10020 al presentar un potencial de -1.0 MPa en condiciones de 25 % humedad (Figura 6).

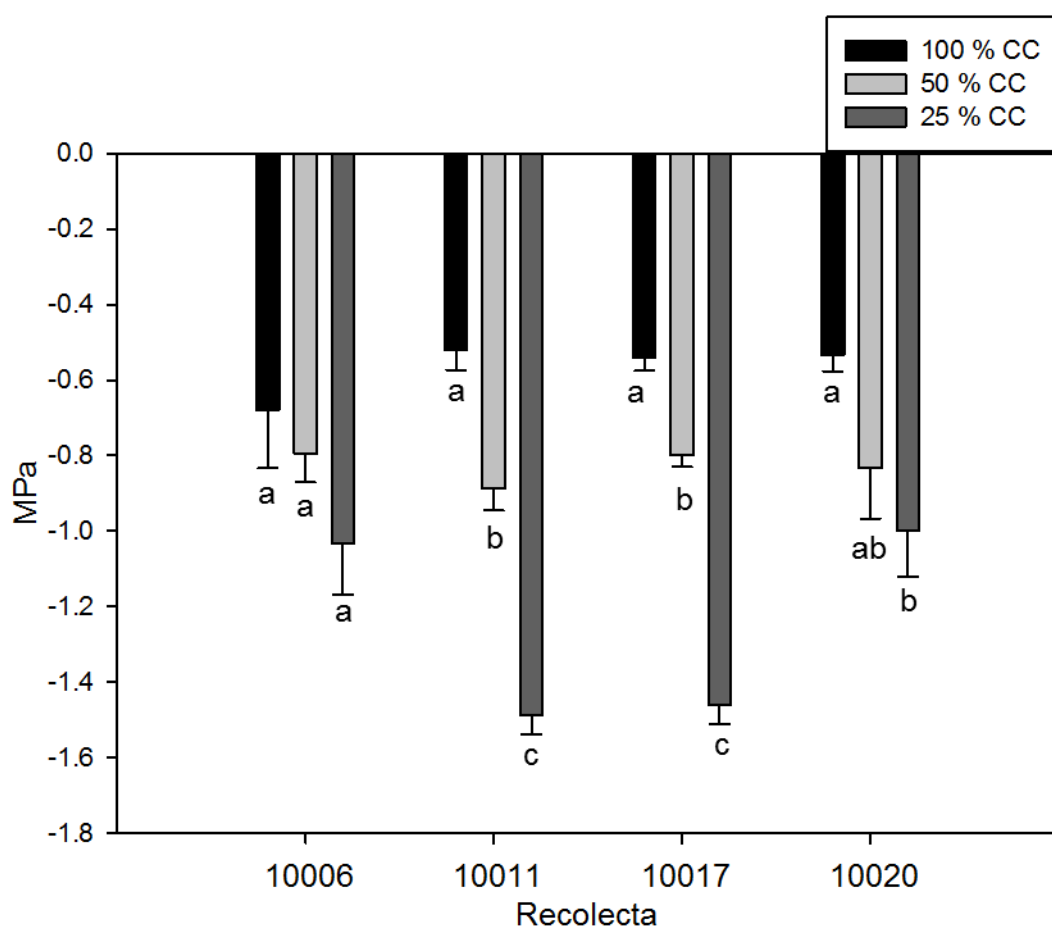


Figura 6 Potencial hídrico del vástago (+D.E.) en cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4). Letras diferentes sobre las barras de cada recolecta indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$) (n= 4).

6.1.3. Variables bioquímicas

6.1.3.1. Contenido de glucosa, fructosa y sacarosa. Con 25 y 50 % CC el contenido de glucosa y fructosa disminuyó 50 % en las cuatro recolectas (Figura 7). El contenido de sacarosa en 10006 y 10011 incrementó entre 15 y 20 % y en la 10020 el aumento fue el doble respecto al control; en la recolecta 10017 el contenido fue similar entre los tratamientos.

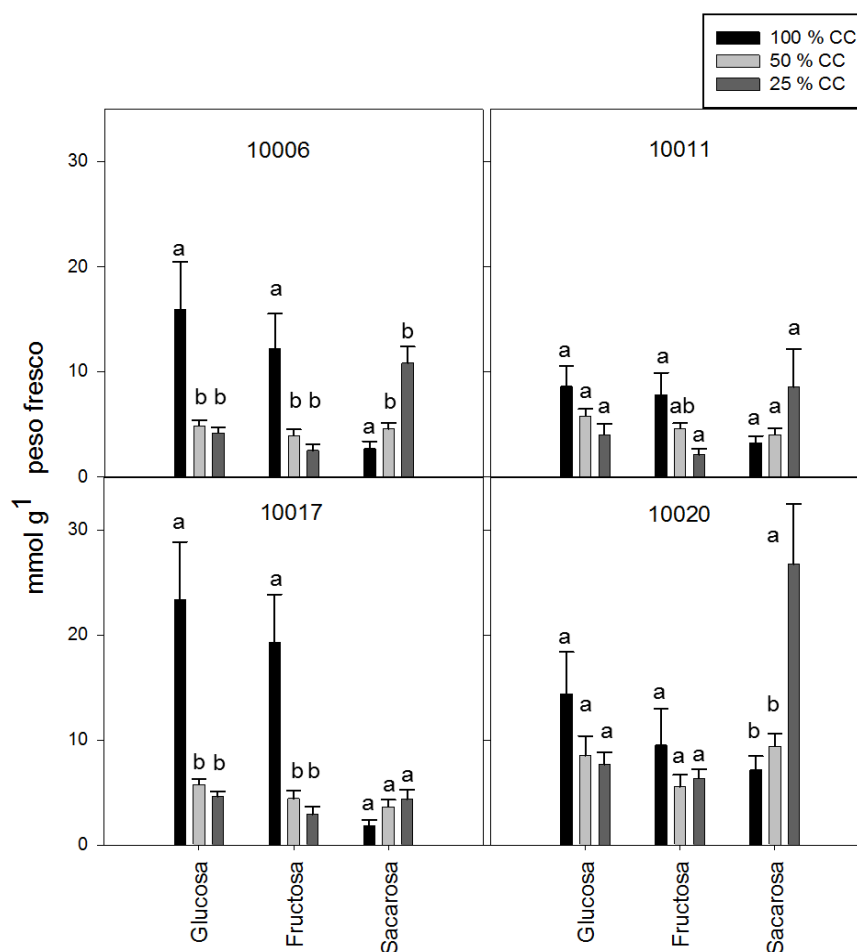


Figura 7 Contenido de glucosa, fructosa y sacarosa (+D.E.) en la tercera hoja trifoliolada de cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4). Letras diferentes sobre las barras de cada recolecta indican diferencias significativas) (Tukey $p \leq 0.05$) (n= 5).

6.1.3.2. Contenido de almidón. Con riego al 100 %, las recolectas 10006, 10011 y 10017 mantuvieron el contenido de almidón en la tercera hoja trifoliada, entre 12 y 15 mmol de glucosa (Figura 8). En contraste, la recolecta 10020 mantuvo más del doble de almidón (40 mmol) que las otras recolectas. En 50 y 25 % CC, las cuatro recolectas disminuyeron el contenido de almidón a 10-12 mmol. Estos resultados indican que el almidón se degradada en respuesta a una restricción de humedad.

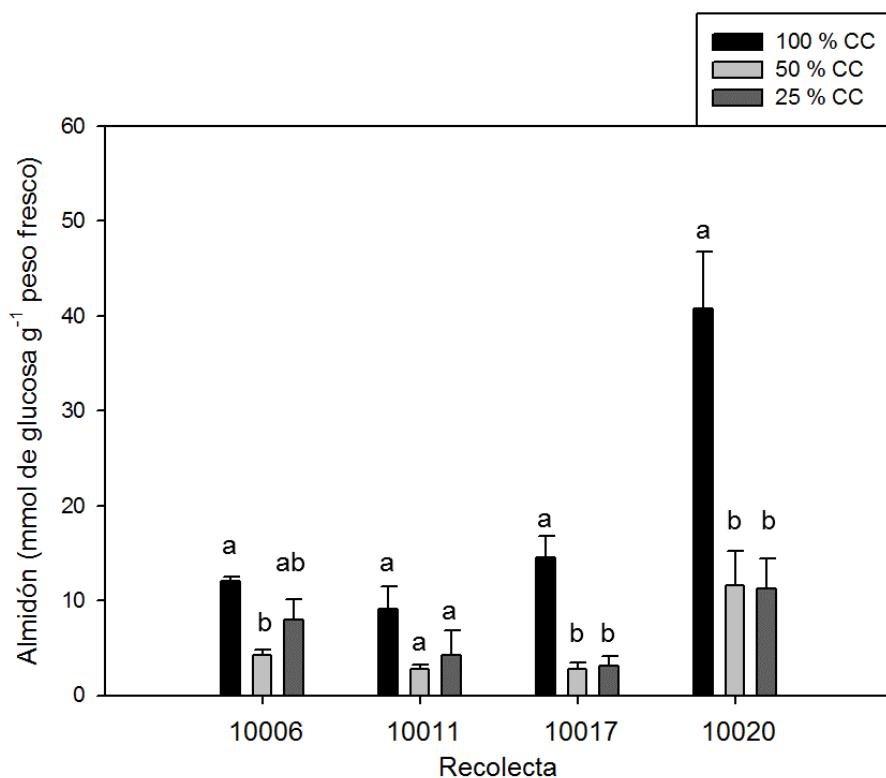


Figura 8 Contenido de almidón en la tercera hoja trifoliolada de *Phaseolus acutifolius* sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4). Letras diferentes sobre las barras de cada recolecta indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$) (n=5).

La tinción con lugol mostró el contenido de almidón respecto al nivel de humedad (Figura 9). La recolecta 10020 mostró acumulación similar independientemente de la humedad del sustrato.

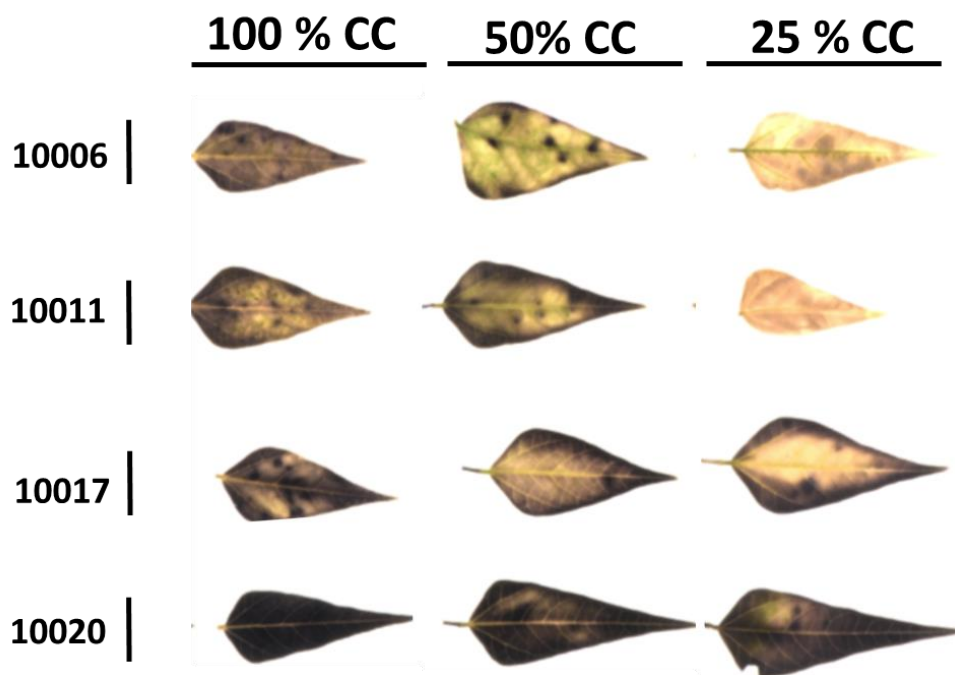


Figura 9 Detección cualitativa (coloración oscura) de la presencia de almidón por tinción con lugol en el foliolo central de la tercera hoja trifoliolada de cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* sometidas a niveles de humedad del 100 %, 50 % y 25 % de capacidad de campo (CC) en la etapa vegetativa (V4).

6.2. Evaluación en la etapa reproductiva (R8)

6.2.1. Acumulación de biomasa

La acumulación de biomasa en tallo, hoja y pericarpio de las cuatro recolectas disminuyó significativamente entre 60 y 74 % respecto a la condición 100 % de CC (Figura 10). Sin embargo, la pérdida de peso seco del tallo y

pericarpio presentaron una disminución en la recolecta 10020. En esta recolecta no se observaron diferencias significativas en el peso de las hojas entre riego y restricción de humedad.

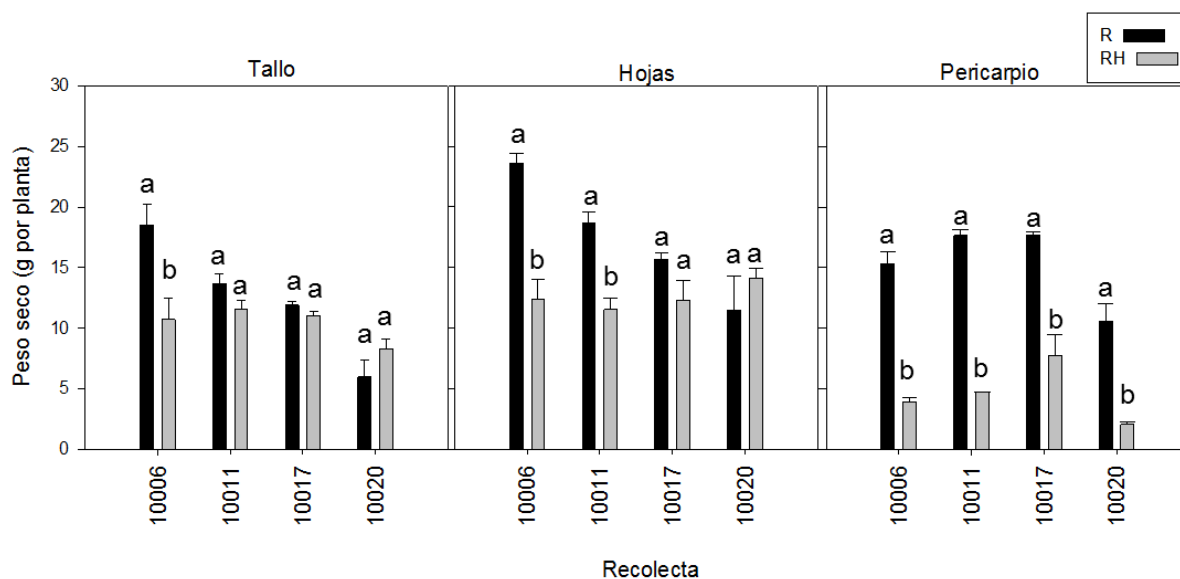


Figura 10 Acumulación de biomasa (+D.E.) en cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* con riego (R) y restricción de humedad (RH) en la etapa reproductiva (R8). Letras diferentes sobre las barras de cada recolecta indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$) (n= 5).

6.2.2. Rendimiento de semilla

Con riego la producción de semillas fue similar entre las recolectas 10006, 10011 y 10017, la recolecta 10020 produjo 30 % menos semillas que aquellas. Además, en esta recolecta el tamaño de la semilla es menor. Con restricción de humedad la recolecta 10006 redujo 80% el peso de las semillas y el menor efecto fue observado en la recolecta 10017 (66%) por planta (Figura 11).

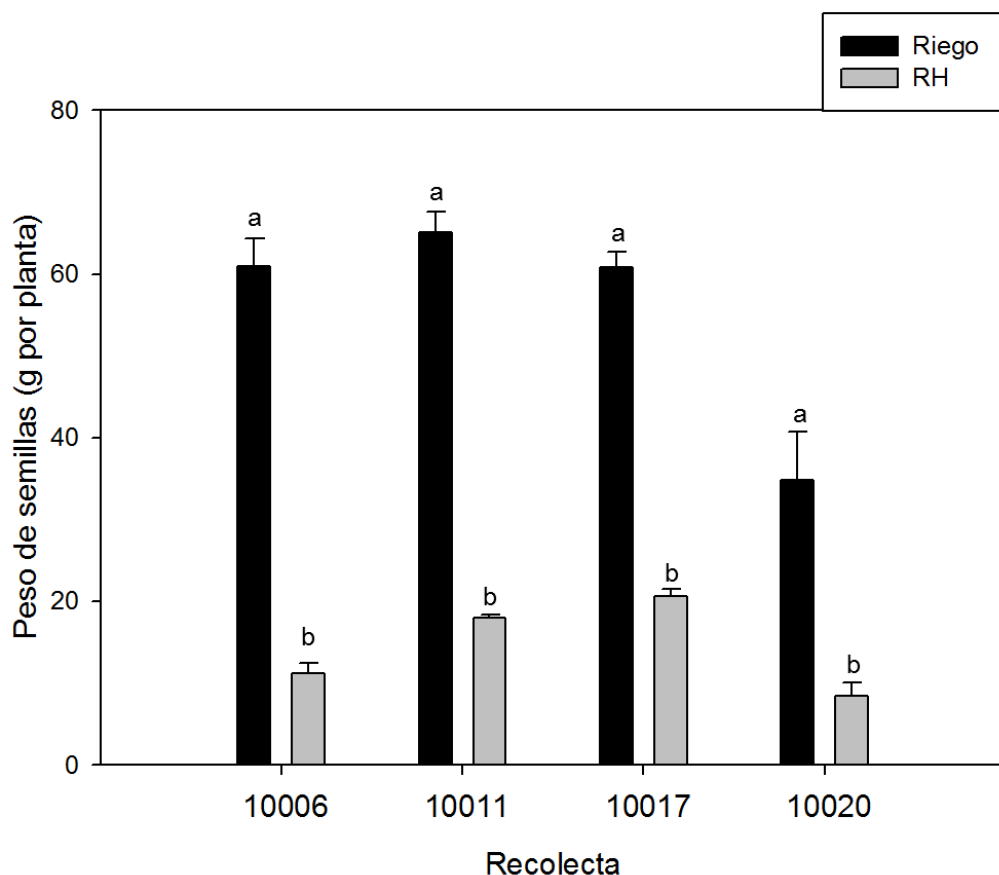


Figura 11 Rendimiento de semilla de cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* (+D.E.) con riego (R) y restricción de humedad (RH) en la etapa reproductiva (R8). Letras diferentes sobre las barras de cada recolecta indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$) (n=5).

6.2.3. Distribución del peso por semillas

Bajo restricción de humedad los pesos por semilla se redujeron en todas las recolectas comparadas con riego (Figura 12). Con riego el promedio de peso por semilla fue de 60 a 150 mg por semilla y con restricción de humedad el intervalo de pesos oscilo entre 50 y 130 mg. El nivel de humedad tuvo un efecto significativo en el peso individual por semilla.

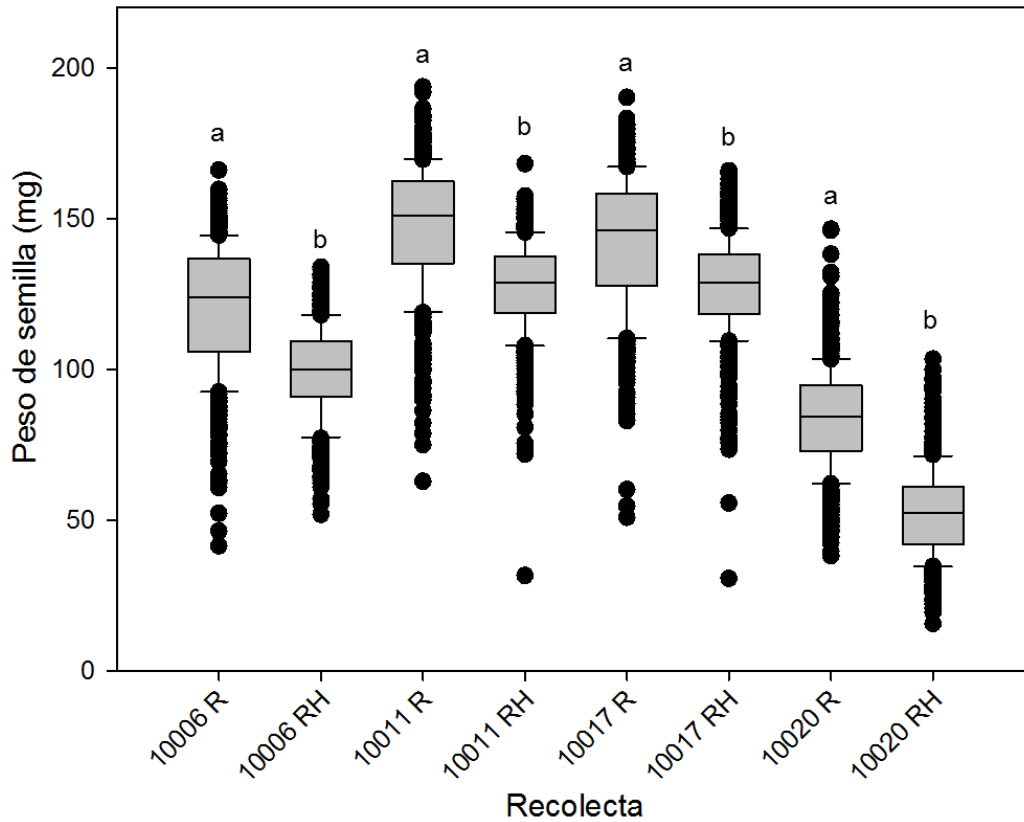


Figura 12 Distribución del peso individual de semilla (+D.E.) en cuatro recolectas de *Phaseolus acutifolius* con riego (R) y restricción de humedad (RH) en la etapa reproductiva (R8). Letras diferentes sobre las cajas de cada recolecta indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$) (n=5).

7. DISCUSIÓN

Phaseolus acutifolius es la especie del género *Phaseolus* que se caracteriza por presentar tolerancia a estrés abiótico (Jiménez-Galindo y Acosta-Gallegos, 2013; Mohamed *et al.*, 2002) y biótico (Jiménez *et al.*, 2017). Debido a la sobresaliente tolerancia a condiciones adversas, el frijol tépari se le ha considerado como un modelo para transferir caracteres adaptativos a *P. vulgaris* como una aproximación ante la problemática de los efectos del cambio climático (Rao *et al.*, 2013). En una primera aproximación, en los caracteres morfométricos a partir del fenotipaje preciso y no destructivo durante la etapa vegetativa (V4), La recolecta 10020 mostró una reducción del área (cm*pixel), mientras que las otras recolectas no se observaron cambios significativos, incluso la recolecta 10017 aumentó el valor del área (Cuadro 3). Esto debido a que esta recolecta presentó un crecimiento inicial de hábito tipo III con desarrollo de guía. Diversos reportes sobre la cuantificación del crecimiento en plantas han mostrado que la parte aérea se reduce en condiciones de déficit hídrico (Chen *et al.*, 2014). Sin embargo, algunas estructuras como raíces y partes reproductivas son estimuladas para acelerar su desarrollo (Djekoun y Planchon, 1991). Esto como un mecanismo de escape o con la finalidad de captar mayor humedad en el suelo. En este trabajo no se descarta que las recolectas de frijol tépari posean diversos mecanismos de sobrevivencia.

Los valores de biomasa digital (Figura 1) pudieron compararse con la determinación del peso seco del vástago. La recolecta 10020 disminuyó significativamente en ambos porcentajes de humedad (25 % y 50 %), mientras en otras recolectas se presentó una disminución de la biomasa hasta el 25 % de CC.

Mediante la herramienta de análisis de imágenes se detectaron cambios mínimos y significativos en el fenotipo a través del tiempo sin alterar la integridad de la planta. Las comparaciones entre mediciones basadas en imágenes y las evaluadas manualmente demostraron la factibilidad de cuantificar la variación en la arquitectura de la planta usando información de imágenes (Liang *et al.*, 2017). Actualmente las plataformas de análisis del fenotipo se han usado en diferentes especies como trigo (Munns *et al.*, 2010), cebada (Chen *et al.*, 2014), *Arabidopsis* (Arend *et al.*, 2016), remolacha dulce (Bodner *et al.*, 2017) y maíz (Liang *et al.*, 2017). Este estudio destacó la importancia de la fenotipificación aplicada por primera vez a leguminosas y su respuesta a condiciones ambientales, con el propósito de identificar y evaluar en un mismo ensayo un número mayor de materiales.

El estrés por restricción de humedad induce cambios en la transpiración y fijación de CO₂; además, los procesos fotoquímicos también son afectados. Mediante la medición de la fluorescencia a partir de pulsos de amplitud modulada (PAM) con luz actínica se determinó la eficiencia fotoquímica del PSII en las cuatro recolectas con tres niveles de humedad (Figura 4 y 5). La disminución del porcentaje de humedad no tuvo efecto significativo sobre la tasa de fluorescencia en las recolectas 10020 y 10011; en contraste, en las recolectas 10006 y 10017 se detectó efecto significativo entre la tasa de fluorescencia con 25% CC. Las imágenes de fluorescencia mostraron que la fluorescencia y la turgencia de la hoja trifoliolada de la recolecta 10020 no se afectaron. Lo que indica que en esta recolecta la capacidad fotosintética permaneció estable aun con una restricción de

humedad del 25%. En leguminosas se ha mostrado que el efecto de otros factores generadores de estrés, como infección de roya, afectan los procesos fotosintéticos. Bassanezi *et al.* (2002) mostraron una relación significativa entre la disminución de la eficiencia fotoquímica del fotosistema II en dos cultivares de frijol y la severidad de infección de la roya de frijol y la mancha angular de la hoja. Asimismo, Rios *et al.* (2018) encontraron el aumento de 14% en los valores de eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PSII) a los 17 días después de la inoculación con un hongo fitopatógeno, e incrementó hasta 18.9 y 15.7 % al aplicarse 21 después de la inoculación un tratamiento con fungicida. Esto se observó al evaluar el funcionamiento fotosintético, que incluyó intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila, en plantas de soya inoculadas con *Phakopsora pachyrhizi*, el cual provoca la roya asiática en soya. Resultados similares fueron reportados en dos líneas mejoradas de frijol tépari en donde el déficit hídrico moderado favoreció una mayor fluorescencia, indicando que con baja humedad aprovechable en el suelo no modifica la capacidad fotosintética (Mohamed *et al.*, 2005). Estudios similares se detectaron en 11 genotipos de trigo sometidos a estrés por calor y a la mancha de gota producida por *Cochliobolus sativus* en hojas, bajo condiciones de campo. En esas plantas la fluorescencia de la clorofila disminuyó más en los tratamientos que incluyeron la combinación de calor y presencia de patógeno (Fv/Fm 0.19), hubo menor efecto con la inoculación del patógeno (Fv/Fm 0.40) y menos aún por el estrés por calor (Fv/Fm 0.60) (Rosyara *et al.*, 2010).

Diversas investigaciones han demostrado que la capacidad fotosintética depende del estatus hídrico de la planta (Sehgal *et al.*, 2017; Traub *et al.*, 2017). En este estudio, las cuatro recolectas presentaron potencial hídrico de -0.8 a -0.9 MPa con 50 % de humedad (CC); por lo cual, puede asegurarse que para *P. acutifolius* ese es un nivel de humedad que permite a la planta mantener funciones de sobrevivencia (Lazcano y Lovatt, 1999). Además, la recolecta 10020 no disminuyó su potencial hídrico incluso a 25 % de humedad (CC). Por lo que, esta recolecta parece ser sobresaliente en su tolerancia a la disponibilidad baja de humedad. Resultados previos han indicado que el potencial hídrico en *P. acutifolius* es menor en comparación con *P. vulgaris* bajo condiciones limitantes de humedad (Markhart, 1985). Dado que tépari se distingue por crecer en áreas donde la precipitación anual es menor a los 400 mm, condición en donde la mayoría de los cultivos no podrían adaptarse. El potencial hídrico de la recolecta 10006 y 10020 fue -1.2 MPa y en las recolectas 10011 y 10017 fue -1.6 MPa con 25 % CC (Figura 6). Traub *et al.* (2017) encontraron un valor similar en el potencial hídrico del vástago en frijol tépari (-1.3 MPa) en comparación con otras líneas mejoradas (-0.7, -0.8 y -1 MPa) al evaluar las respuestas fotosintéticas y metabólicas en frijol común y tépari bajo sequía. Adicionalmente Martínez-Rojo *et al.* (2007) detectaron una disminución del potencial de agua (-1.4 MPa) en hojas de seis cultivares de frijol común sujetas a restricción de humedad en comparación con las plantas bajo riego (-0.9 MPa), en donde el cultivar más susceptible (Arroz Tuscola) presentó la mayor disminución (-1.43 MPa) y el cultivar con mayor resistencia (Orfeo) un potencial intermedio (-1.3 MPa). En el caso de tépari, la presencia de un mecanismo de escape a la sequía se ha discutido (Levitt, 1972).

De acuerdo con esto, se ha propuesto que en frijol tépari el mecanismo de adaptación a condiciones de sequía es a través de su desarrollo rápido, que reduce el número de días para la madurez y el del periodo reproductivo; que son algunas de las características del mecanismo de escape (Acosta-Díaz *et al.*, 2009; Levitt, 1972).

Existen factores bióticos y abióticos involucrados en la alteración del metabolismo de carbohidratos. Los estudios han mostrado que la sequía, salinidad, temperaturas bajas e inundaciones provocan en las plantas incremento en el contenido de azúcares solubles; en contraste, radiaciones altas (PAR, UVBR), metales pesados, restricción de nutrientes y ozono induce una reducción (Dubey and Singh, 1999; Gill *et al.*, 2001; Strand *et al.*, 1999). En nuestro estudio, el contenido de glucosa, fructosa y almidón se redujo significativamente en todas las colectas con un nivel de humedad del 50 % y 25%. Estos resultados coincidieron con los que obtuvieron Padilla-Chacón *et al.* (2017); estos autores determinaron disminución en el contenido de glucosa y fructosa ($\geq 5 \text{ mmol g}^{-1}$) en hojas de dos variedades de *P. vulgaris* sometidas a restricción de humedad. Ambos estudios contrastaron en la respuesta de la acumulación de sacarosa ante el estrés por déficit de humedad. En el presente estudio se observó que la sacarosa se incrementó. En este estudio, como en otros realizados en diferentes especies, se sugiere que la sacarosa es un metabolito que incrementa en respuesta al déficit hídrico, y cuya función puede estar relacionada con el control osmótico (Rosa *et al.*, 2009; Ruan, 2014). Además como tejido fuente, recientemente se ha descubierto que los pericarpios tienen un papel como

suministro de carbono hacia el desarrollo de la semilla (Coello y Martínez-Barajas, 2016). En un estudio se detectaron altos niveles de glucosa y fructosa en vainas en etapa de desarrollo (R7), en plantas de frijol bajo condiciones de sequía. Esto sugiere que en estas vainas hay una activa degradación de sacarosa que, presumiblemente, se utilizará en la síntesis de almidón, el cual se acumula en las mismas vainas (Cuellar-Ortiz *et al.*, 2008). Este resultado concuerda con el incremento observado en la actividad de la sacarosa sintasa bajo condiciones de estrés y con reportes previos que indican que la actividad de esta enzima está asociada a la respuesta a esta condición estresante en plantas de *Arabidopsis thaliana* y *P. vulgaris* (Dejardin *et al.*, 1999; Micheletto *et al.*, 2007). Adicionalmente, la acumulación de cantidades mayores de fructosa respecto a los de glucosa en vainas en desarrollo de Pinto Villa en condiciones de sequía, sugiere que la degradación de sacarosa ocurre preferencialmente por la vía de la sacarosa sintasa y no por la vía de las invertasas, como se ha reportado que ocurre en haba (*Vicia faba*) en condiciones controladas (Weber *et al.*, 1995). En el presente estudio la acumulación de hexosas disminuyó significativamente, pero el contenido de sacarosa (Figura 7) en las recolectas 10006 y 10011 incrementó entre 15 % y 20 % y en la 10020 el aumento fue más del doble respecto al control; en contraste, en la recolecta 10017 los niveles se mantuvieron sin cambio. Ramos *et al.* (1999) encontraron una tendencia de incremento similar en el contenido de sacarosa en nódulos de frijol común sometido a una restricción de humedad del 30% durante 10 días después del tratamiento. Estos resultados permiten sugerir que la sacarosa acumulada puede actuar como osmolito manteniendo la homeostasis, mientras que la glucosa actúa como sustrato en la respiración (Gupta

y Kaur, 2005); a la fructosa se le ha asociado en la síntesis de metabolitos secundarios como lignina y compuestos fenólicos (Rosa *et al.*, 2004, 2017, 2009; Ruan, 2014).

El almidón es otro de los compuestos que puede ser relevante en la respuesta a diferentes factores bióticos y abióticos (Prasch *et al.*, 2015; Stitt y Zeeman, 2012). En el presente estudio el contenido de almidón fue significativamente menor con la restricción de humedad respecto a las condiciones con riego. Ramos *et al.* (1999) demostró la reducción en el contenido de almidón (45 mg g^{-1}) en nódulos de *P. vulgaris* con restricción de humedad del 30%, 10 días después del tratamiento. Padilla-Chacón *et al.* (2017) observaron que el contenido de almidón en hojas de dos variedades (V8025 y Canario 60) de *P. vulgaris* bajo sequía terminal, durante el llenado del grano, disminuyó 5 días después del tratamiento de la suspensión del riego, y después su aumento significativo hasta los 20 días después del tratamiento. Diversos estudios han mostrado que los ajustes entre los contenidos de azúcares están estrechamente relacionados a la sacarosa y el almidón (Andrade *et al.*, 2016). En tejidos fotosintéticos, la síntesis y degradación puede ocurrir a diferentes horas del día, y el almidón puede presentar diferentes funciones dependiendo del tipo de célula (Stitt y Zeeman, 2012; Thalmann y Santellia, 2017) y ruta metabólica (Tiessen y Padilla, 2013). Los datos obtenidos en este trabajo coinciden con los reportados en varias especies donde el almidón disminuye considerablemente ante una condición de estrés abiótico. Por ejemplo en frío, salinidad y sequía, el almidón tiene como papel amortiguar los fluctuantes cambios en el ambiente por la interacción con el genotipo (G x E) que

induce cambios en el metabolismo en tiempos relativamente cortos (Thalman y Santellia, 2017). Dichas respuestas dependen de la eficiencia de las actividades enzimáticas como AGPasa, ADP-Glc pirofosforilasa, metabolismo de la sacarosa, sacarosa sintasa (SuSy), sacarosa fosfato sintasa (SPS), e invertasa (INV) y de compartimentalización de las isoenzimas de cada organelo (Thalman y Santellia, 2017).

La disminución del peso de tallos, hojas y pericarpio fue afectado significativamente por la restricción de humedad, en mayor medida sobre la recolecta 10006 y 10011. Markhart (1985) encontró una mayor acumulación de biomasa hacia las hojas en frijol tépari en comparación con frijol común bajo condiciones de limitación de agua durante la etapa vegetativa. De manera similar López *et al.* (2003) detectaron que el peso seco del tallo y hojas en frijol tépari cultivadas en una solución nutritiva salinizada (80 mmol L⁻¹ NaCl) fue cercano a las plantas control y que el peso seco de la raíz fue significativamente mayor en frijol tépari en comparación con un frijol silvestre “frijolillo” (*P. filiformis* Bent) y el frijol caupi (*Vigna unguiculada*) en condiciones de salinidad. Los resultados ponen de manifiesto que entre las cuatro colectas existe una variabilidad significativa. Se detectó un efecto significativo de la restricción de humedad sobre el rendimiento y el peso individual de semilla. Similarmente Padilla-Chacón *et al.* (2017) encontraron una reducción en el número y peso de las semillas en dos variedades de *P. vulgaris*, por efecto de la sequía en la etapa terminal. Por otro lado, Rao *et al.* (2013) identificaron accesiones de frijol tépari superiores en el rendimiento en

comparación con el frijol común con tolerancia a limitaciones de agua al comparar el rendimiento bajo condiciones de riego y restricción de agua.

Los resultados de este estudio mostraron que existen colectas de frijol tépari con características sobresalientes al déficit hídrico y que pueden ser empleados en programas de mejoramiento genético del frijol común. Se ha reportado que la cruce entre ambas especies ha sido exitosa (Souter *et al.*, 2017), lo que es una posible alternativa que llevaría a obtener nuevos genotipos con tolerancia a diferentes tipos de estrés biótico o abiótico.

8. CONCLUSIONES

Las recolectas de *P. acutifolius* responden diferente a las condiciones de restricción de humedad en las etapas vegetativa y reproductiva. La variabilidad en la respuesta de las colectas puede estar asociada a su carácter silvestre. Otras características podrían proporcionar tolerancia a las condiciones de estrés por restricción de sequía.

La restricción de humedad sí modifica solo parcialmente el fenotipo, la fisiología, el contenido de azúcares solubles y almidón y el rendimiento de frijol tépari, pero las respuestas son heterogéneas entre las recolectas y al menos algunas parecen tener mecanismos fisiológico-bioquímicos que “amortiguan” las reacciones a la disponibilidad reducida de humedad.

9. LITERATURA CITADA

- Acosta-Díaz, E., Trejo, López, C., Padilla, Ramírez, J. S., Acosta-Gallegos, J. A., Domingo, M. 2009. Adaptation traits in dry bean cultivars grown under drought stress. *Agricultura Técnica en México* 35(4): 419-428.
- Acosta-Gallegos, J.A., Acosta-Díaz E., Rosales-Serna R., Padilla Ramírez S., López-Salinas E., Kelly J.D. 1997. Yield response of dry bean cultivars from different races under drought stress. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 40: 75-76.
- Aguirre R., J. R., Peña-Valdivia, C. B., and Bayuelo-Jiménez, J. S. 2003. Morphology, phenology and agronomic traits of two wild Mexican common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) populations under cultivation. *South African Journal of Botany* 69(3): 410-421. [https://doi.org/10.1016/S0254-6299\(15\)30324-0](https://doi.org/10.1016/S0254-6299(15)30324-0)
- Andrade, E. R., Ribeiro, V. N., Azevedo, C. V. G., Chiorato, A. F., Williams, T. C. R., Carbonell, S. A. M. 2016. Biochemical indicators of drought tolerance in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica* 210(2): 277-289. <https://doi.org/10.1007/s10681-016-1720-4>
- Arend, D., Lange, M., Pape, J.-M., Weigelt-Fischer, K., Arana-Ceballos, F., Mücke, I., Junker, A. 2016. Quantitative monitoring of *Arabidopsis thaliana* growth and development using high-throughput plant phenotyping. *Scientific Data* 3, 160055. doi:10.1038/sdata.2016.55
- Ariani, A., and Gepts, P. 2015. Genome-wide identification and characterization of aquaporin gene family in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Molecular Genetics and Genomics* 290(5): 1771-1785. doi:10.1007/s00438-015-1038-2
- Asfaw, A., Blair, M. W., Struik, P. C. 2012. Multienvironment Quantitative Trait Loci Analysis for Photosynthate Acquisition, Accumulation, and Remobilization Traits in Common Bean Under Drought Stress. *G3: Genes|Genomes|Genetics* 2(5): 579-595. doi:10.1534/g3.112.002303
- Asfaw, A., Ambachew, D., Shah, T., Blair, M. W. 2017. Trait Associations in Diversity Panels of the Two Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Gene Pools Grown under Well-watered and Water-Stress Conditions. *Frontiers in Plant Science* 8(733). doi:10.3389/fpls.2017.00733
- Assefa, T., Wu, J., Beebe, S. E., Rao, I. M., Marcomin, D., Rubyogo, J. C. 2015. Improving adaptation to drought stress in small red common bean: Phenotypic differences and predicted genotypic effects on grain yield, yield components and harvest index. *Euphytica* 203: 477-489.

- Bassanezi, R. B., Amorim, L., Filho, A. B., Berger, R. D. 2002. Gas Exchange and Emission of Chlorophyll Fluorescence during the Monocycle of Rust, Angular Leaf Spot and Anthracnose on Bean Leaves as a Function of their Trophic Characteristics. *Journal of Phytopathology* 150(1): 37-47. doi:10.1046/j.1439-0434.2002.00714.x
- Battaglia, M., and Covarrubias, A. 2013. Late Embryogenesis Abundant (LEA) proteins in legumes. *Frontiers in Plant Science* 4(190). doi:10.3389/fpls.2013.00190
- Beaver, J.S., Rosas J.C., Myers J. 2003. Contributions of the Bean/Cowpea CRSP to cultivar and germplasm development in common bean. *Field Crops Research* 82: 87-102.
- Beebe, S. E., Rao, I. M., Blair, M. W., and Acosta, Gallegos, J. A. 2013. Phenotyping common beans for adaptation to drought. *Frontiers in Physiology* 4: 1-20. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00035>
- Bernal L., I., Coello, P., Martinez-Barajas, E. 2005. Possible role played by R1 protein in starch accumulation in bean (*Phaseolus vulgaris*) seedlings under phosphate deficiency. *Journal of Plant Physiology*, 162: 970-976. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2004.12.005>.
- Bodner, G., Alsalem, M., Nakhforoosh, A., Arnold, T., Leitner, D. 2017. RGB and Spectral Root Imaging for Plant Phenotyping and Physiological Research: Experimental Setup and Imaging Protocols. (126): e56251. doi:doi:10.3791/56251
- Boyer, J.S. and Westgate M.E. 2004. Grain yields with limited water. *Journal of Experimental Botany* 55: 2385-2394.
- Braun, D. M., Wang, L., Ruan, Y.-L. 2014. Understanding and manipulating sucrose phloem loading, unloading, metabolism, and signalling to enhance crop yield and food security. *J. Exp. Bot.* 65(7): 1713-1735. doi:10.1093/jxb/ert416
- Broughton, W. J., H. 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. 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.

- Butare, L., Rao, I., Lepoivre, P., Cajiao, C., Polania, J., Cuasquer, J., Beebe, S. 2012. Phenotypic evaluation of interspecific recombinant inbred lines (RILs) of *Phaseolus* species for aluminium resistance and shoot and root growth response to aluminium-toxic acid soil. *Euphytica* 186(3): 715-730. doi:10.1007/s10681-011-0564-1
- Chen, S., Hajirezaei, M., Börnke, F. 2005. Differential Expression of Sucrose-Phosphate Synthase Isoenzymes in Tobacco Reflects Their Functional Specialization during Dark-Governed Starch Mobilization in Source Leaves. *Plant Physiol.* 139(3): 1163-1174. doi:10.1104/pp.105.069468
- Chen, D., Kerstin, N., Swetlana, F., Benjamin, K., Ming, C., Thomas, A. 2014. Dissecting the Phenotypic Components of Crop Plant Growth and Drought Responses Based on High-Throughput Image Analysis. *The Plant Cell* 26: 4636-4655. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.129601>
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 1982. *Guía de estudio: Etapas de desarrollo de la planta de frijol común*. Cali, Colombia. 26 p.
- Coello, P., and Martínez-Barajas, E. 2016. Changes in nutrient distribution are part of the mechanism that promotes seed development under severe nutrient restriction. *Plant Physiology and Biochemistry* 99: 21-26. doi:<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.11.022>
- Cuellar-Ortiz, S. M., Arrieta-montiel, M., Acosta-gallegos, J., Covarrubias, A. A. 2008. Relationship between carbohydrate partitioning and drought resistance in common bean. *Plant, Cell and Environment* 31: 1399-1409. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01853.x>
- Daryanto, S., L. Wang and P. A. Jacinthe. 2015. Global Synthesis of Drought Effects on Food Legume Production. *PLoS ONE* 10: e0127401. doi:10.1371/journal.pone.0127401.
- Delgado S. A. and Gama L., S. 2015. Diversidad y distribución de los frijoles silvestres en México. *Revista Digital Universitaria*, 16(2): 1-11.
- Déjardin, A., Sokolov, L. N., Kleczkowski, L. A. 1999. Sugar/osmoticum levels modulate differential abscisic acid-independent expression of two stress-responsive sucrose synthase genes in Arabidopsis. *Biochemical Journal* 344(Pt 2): 503-509.
- Devasirvatham, V., Gaur, P. M., Mallikarjuna, N., Tokachichu, R. N., Trethowan, R. M., Tan, D. K. Y. 2012. Effect of high temperature on the reproductive development of chickpea genotypes under controlled environments. *Functional Plant Biology* 39(12): 1009-1018. doi:<https://doi.org/10.1071/FP12033>

- Deokar, A. A., Kondawar, V., Jain, P. K., Karuppayil, S. M., Raju, N. L., Vadez, V., Srinivasan, R. 2011. Comparative analysis of expressed sequence tags (ESTs) between drought-tolerant and -susceptible genotypes of chickpea under terminal drought stress. *BMC Plant Biology* 11:70-70. doi:10.1186/1471-2229-11-70
- Djekoun, A. and Planchon, C. 1991. Tolerance to low leaf water potential in soybean genotypes. *Euphytica* 55(3): 247-253. doi:10.1007/bf00021245
- Dubey, R. S. and Singh, A. 1999. Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolising enzymes in rice plants. *Biol. Plant* 42: 233-239.
- Dubois, M., Claeys, H., Van den Broeck, L., Inzé, D. 2017. Time of day determines Arabidopsis transcriptome and growth dynamics under mild drought. *Plant, Cell & Environment* 40(2): 180-189. doi:10.1111/pce.12809
- Esparza, M. 2014. La sequía y la escasez de agua en México: Situación actual y perspectivas futuras. *Secuencia* 193-219.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) 2004. <http://www.fao.org>
- FAOSTAT. 2017. Statistical Database. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO. (Publication no. <http://faostat.fao.org/>). (Accessed February 2017).
- Farhad, M. S., Babak, A. M., Reza, Z. M., Hassan, R. S. M., Afshin, T. 2011. Response of proline, soluble sugars, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes in potato (*Solanum tuberosum* L.) to different irrigation regimes in greenhouse condition. *Australian Journal of Crop Science* 5: 55-60.
- Farooq, M., Gogoi, N., Barthakur, S., Baroowa, B., Bharadwaj, N., Alghamdi, S. S., and Siddique, K. H. M. 2017. Drought Stress in Grain Legumes during Reproduction and Grain Filling. *Journal of Agronomy and Crop Science* 203(2): 81-102. <https://doi.org/10.1111/jac.12169>
- Federici, C. T., Ehdaie, B., Waines, J. G. 1990. Domesticated and Wild Tepary Bean: Field Performance with and without Drought-Stress. *Agronomy Journal* 82(5): 896-900. doi:10.2134/agronj1990.00021962008200050010x
- Ghanbari, A. A., S. H. Mousavi, A. Mousapour Gorgi, and I. M. Rao, 2013. Effects of water stress on leaves and seeds of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Turk. J. Field Crops* 18: 73-77.

- Gill, P. K., A.D. Sharma., P. Singh., S.S. Bhullar. 2001. Effect of various abiotic stress on the growth, soluble sugars and water relations of sorghum seedlings grown in light and darkness. *Bulg. J. Plant. Physiol.* 27: 72-84.
- Graham, H. P. and Ranalli, P. 1997. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Field Crops Research* 53: 131-146.
- Graham P.H. and Vance C.P. 2003. Legumes: importance and constraints to greater use. *Plant Physiology* 131: 872-877.
- Gujaria-Verma, N., Ramsay, L., Sharpe, A. G., Sanderson, L.-A., Debouck, D. G., Tar'an, B., Bett, K. E. 2016. Gene-based SNP discovery in tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) and common bean (*P. vulgaris*) for diversity analysis and comparative mapping. *BMC Genomics* 17(1): 239. doi:10.1186/s12864-016-2499-3
- Gupta, A. K., and Kaur, N. 2005. Sugar signalling and gene expression in relation to carbohydrate metabolism under abiotic stresses in plants. *J. Biosci.* 30(5): 761-776.
- Halperin, O., Gebremedhin, A., Wallach, R., Moshelion, M. 2017. High-throughput physiological phenotyping and screening system for the characterization of plant–environment interactions. *The Plant Journal* 89(4): 839-850. doi:10.1111/tpj.13425.
- Hansen, J., Sato, M., Ruedy, R., Lo, K., Lea, D. W., Medina, Elizade, M. 2006. Global temperature change. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103(39): 14288-14293. doi:10.1073/pnas.0606291103
- Honsdorf, N., March, T. J., Pillen, K. 2017. QTL controlling grain filling under terminal drought stress in a set of wild barley introgression lines. *PLOS ONE* 12(10) e0185983. doi:10.1371/journal.pone.0185983
- Irigoyen, J. J., Emerich, D. W., Sánchez-Díaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum* 84: 55-60.
- Iturriaga, G., Suárez, R., Nova-Franco, B. 2009. Trehalose Metabolism: From Osmoprotection to Signaling. *International Journal of Molecular Sciences* 10(9): 3793-3810. doi:10.3390/ijms10093793
- Jansen, M., Gilmer, F., Biskup, B., Nagel, K. A., Rascher, U., Fischbach, A., Walter, A. 2009. Simultaneous phenotyping of leaf growth and chlorophyll fluorescence via GROWSCREEN FLUORO allows detection of stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* and other rosette plants. *Functional Plant Biology* 36(11): 902-914. doi:https://doi.org/10.1071/FP09095

- Jha, U. C., Bohra, A., Parida, S. K., Jha, R., Varshney, R. 2017. Integrated “omics” approaches to sustain global productivity of major grain legumes under heat stress. *Plant Breeding* 136(4): 437-459. doi:10.1111/pbr.12489
- Jiménez-Galindo, J. C., Acosta-Gallegos, J. 2013. Rendimiento de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y Tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) bajo el método riego-sequía en Chihuahua. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 4(4): 557-567.
- Jiménez, J. C., de la Fuente, M., Ordás, B., García Domínguez, L. E., Malvar, R. A. 2017. Resistance categories to *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) in tepary bean (*Phaseolus acutifolius*), new sources of resistance for dry bean (*Phaseolus vulgaris*) breeding. *Crop Protection* 98: 255-266. doi:https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.04.011
- Julius, B. T., Leach, K. A., Tran, T. M., Mertz, R. A., Braun, D. M. 2017. Sugar Transporters in Plants: New Insights and Discoveries. *Plant and Cell Physiology* 58(9): 1442-1460. doi:10.1093/pcp/pcx090
- Kelly, J. D., and Vallejo, V. 2006. QTL Analysis of Multigenic Disease Resistance in Plant Breeding. In S. Tuzun and E. Bent (Eds.), *Multigenic and Induced Systemic Resistance in Plants* (pp. 21-48). Boston, MA: Springer US.
- Kwon, T. R., Kim, K. H., Yoon, H. J., Lee, S. K., Kim, B. K., Siddiqui, Z. S. 2015. Phenotyping of Plants for Drought and Salt Tolerance Using Infra-Red Thermography. *Plant Breeding and Biotechnology* 3(4): 299-307. doi:10.9787/pbb.2015.3.4.299.
- Kuruvadi, S. and Valdez S, I. 1993. Range of yield components and phenotypic correlations in tepary beans (*Phaseolus acutifolius*) under dryland conditions. p. 594-596. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.) *New crops*. Wiley, New York.
- Lal, R. 2016. Feeding 11 billion on 0.5 billion hectare of area under cereal crops. *Food and Energy Security* 5: 239-251. doi:10.1002/fes3.99.
- Lazcano-Ferrat, I. and Lovatt, C. J. 1999. Relationship between relative water content, nitrogen pools, and growth of *Phaseolus vulgaris* L. and *P. acutifolius* A. Gray during water deficit. *Crop Sci.* 39: 467-475.
- Levitt, J. 1972. *Responses of plants to environmental stresses*. New York: Academic Press.
- Li, L., Zhang, Q., Huang, D. 2014. A review of imaging techniques for plant phenotyping. *Sensors (Basel, Switzerland)* 14(11): 20078-20111. doi:10.3390/s141120078

- Liang, Z., Pandey, P., Stoerger, V., Xu, Y., Qiu, Y., Ge, Y., Schnable, J. C. 2017. Conventional and hyperspectral time-series imaging of maize lines widely used in field trials. *Gigascience*. doi:10.1093/gigascience/gix117
- López, Aguilar. R.; Orduño C, A.; Lucero, A, A.; Murillo, A, B., Troyo, D, E. 2003. Response to salinity of three grain legumes for potential cultivation in arid areas. *Soil Sci. Nutr.* 49(3): 329-336.
- Marcinska, I., Czyczylo-Mysza, I., Skrzypek, E., Filek, M., Grzesiak, S., Grzesiak, M. T. Quarrie, S. A. 2013. Impact of osmotic stress on physiological and biochemical characteristics in drought-susceptible and drought-resistant wheat genotypes. *Physiologiae Plantarum* 35: 451-461.
- Markhart, III A. H. 1985. Comparative water relations of *Phaseolus vulgaris* L. and *Phaseolus acutifolius* A. Gray. *Plant Physiol.* 77: 113-117.
- Martinez-Rojo, J., Gurusamy, V., Vandenberg, A., Bett, K. E. 2007. Tolerance to sub-zero temperatures in *Phaseolus acutifolius* and development of interspecies hybrids with *P. vulgaris*. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 50: 9-10.
- Martínez, J.P., H. Silva, F. Ledent, and M. Pinto. 2007. Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Eur. J. Agron.* 26: 30-38.
- McClellan, 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(12): 927. <https://doi.org/10.1071/FP11102>
- Micheletto, S., Rodriguez-Urbe, L., Hernandez, R., Richins, R. D., Curry, J., O'Connell, M. A. 2007. Comparative transcript profiling in roots of *Phaseolus acutifolius* and *P. vulgaris* under water deficit stress. *Plant Science* 173(5): 510-520. doi:<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2007.08.003>
- Miklas, P. N., and T. Porch. 2010. Guidelines for common bean QTL nomenclature. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 53: 202-204.
- Mogotsi, K. K., 2006. *Phaseolus acutifolius* A.Gray. In: Brink, M., Belay, G. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands. Accessed 22 July 2017.
- Mohamed, M. F., Keutgen, N., Tawfika, A. A., Noga, G. 2002. Dehydration-avoidance responses of tepary bean lines differing in drought resistance. *Journal of Plant Physiology* 159(1): 31-38. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00530>

- Mohamed, M. F., Schmitz-Eiberger, M., Noga, G. 2005. Antioxidative Reactions Inducing Tolerance to Severe Dehydration in Tepary Bean (*Phaseolus acutifolius*). *European Journal of Horticultural Science* 70(6): 289-299.
- Muchero, W., Roberts, P. A., Diop, N. N., Drabo, I., Cisse, N., Close, T. J. Ehlers, J. D. 2013. Genetic Architecture of Delayed Senescence, Biomass, and Grain Yield under Drought Stress in Cowpea. *PLOS ONE* 8(7) e70041. doi:10.1371/journal.pone.0070041
- Munns, R., James, R. A., Sirault, X. R., Furbank, R. T., Jones, H. G. 2010. New phenotyping methods for screening wheat and barley for beneficial responses to water deficit. *J. Exp. Bot.* 61(13): 3499-3507. doi:10.1093/jxb/erq199
- Nabhan, P. G. and Felger, S. R. 1978. Teparies in Southwestern North America: A Biogeographical and Ethnohistorical Study of *Phaseolus acutifolius*. *Economic Botany* 32: 2-19.
- Neilson, E. H., Edwards, A. M., Blomstedt, C. K., Berger, B., Møller, B. L., Gleadow, R. M. 2015. Utilization of a high-throughput shoot imaging system to examine the dynamic phenotypic responses of a C4 cereal crop plant to nitrogen and water deficiency over time. *J. Exp. Bot.* 66(7): 1817-1832. doi:10.1093/jxb/eru526
- Oblessuc, P. R., Baroni, R. M., Garcia, A. A. F., Chioratto, A. F., Carbonell, S. A. M., Camargo, L. E. A., Benchimol, L. L. 2012. Mapping of angular leaf spot resistance QTL in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different environments. *BMC Genetics* 13(1): 50. doi:10.1186/1471-2156-13-50
- Oblessuc, P. R., Cardoso Perseguini, J. M. K., Baroni, R. M., Chiorato, A. F., Carbonell, S. A. M., Mondego, J. M. C., Benchimol-Reis, L. L. 2013. Increasing the density of markers around a major QTL controlling resistance to angular leaf spot in common bean. *Theoretical and Applied Genetics* 126(10): 2451-2465. doi:10.1007/s00122-013-2146-1
- Padilla-Chacón, D., Martínez-Barajas, E., García-Esteva, A., Leal-Delgado, R., Kohashi-Shibata, J., Peña-Valdivia, C. B. 2017. Biomass remobilization in two common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars under water restriction. *South African Journal of Botany* 112:79–88. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.05.015>
- Pattanagul, W., Madore, M. A. 1999. Water Deficit Effects on Raffinose Family Oligosaccharide Metabolism in Coleus. *Plant Physiology* 121(3): 987-993.
- Peña-Valdivia, C. B., Aguirre R., J. R., Arroyo Peña., V. B. 2012. El frijol silvestre: Síndrome de domesticación. Texcoco. México: Biblioteca básica de agricultura. 206 p.

- Peña-Valdivia, C. B., Trejo, C., Celis, Velázquez, R., López Ordaz, A. 2013. Reacción del frijol silvestre (*Phaseolus vulgaris* L.) a la profundidad de siembra. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 4: 89-102.
- Polania, J., Poschenrieder, C., Rao, I., Beebe, S. 2016. Estimation of phenotypic variability in symbiotic nitrogen fixation ability of common bean under drought stress using 15 N natural abundance in grain. *European Journal of Agronomy* 79: 66-73. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.05.014>
- Prasch, C. M., Ott, K. V., Bauer, H., Ache, P., Hedrich, R., Sonnewald, U. 2015. β -amylase1 mutant Arabidopsis plants show improved drought tolerance due to reduced starch breakdown in guard cells. *J. Exp. Bot.* 66(19): 6059-6067. doi:10.1093/jxb/erv323
- Ramalingam, A., Kudapa, H., Pazhamala, L. T., Weckwerth, W., Varshney, R. K. 2015. Proteomics and Metabolomics: Two Emerging Areas for Legume Improvement. *Frontiers in Plant Science* 6: 1116 doi:10.3389/fpls.2015.01116
- Ramírez V., P. and Kelly, J. D. 1998. Traits related to drought resistance in common bean. *Euphytica* 99: 127-136.
- Ramos, M., L. G., Gordon, A. J., Michin, F. R. 1999. Effect of water stress on nodule physiology and biochemistry of a drought tolerant cultivar of Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ann. Bot.* 83: 57-63.
- Rao, I. M., Beebe, S. E., Polania, J., Ricaurte, J., Cajiao, C., Garcia, R., Rivera, M. 2013. Can tepary bean be a model for improvement of drought resistance in common bean. *African Crop Science Journal* 85: 203–211.
- Reynolds, M.P., E. Quilligan, P.K. Aggarwal, K.C. Bansal, A.J. Cavalieri, S.C. Chapman, S.M. Chapotin, S.K. Datta, E. Duveiller, K.S. Gill, K.S.V. Jagadish, A.K. Joshi, A.K. Koehler, P. Kosina, S. Krishnan, R. Lafitte, R.S. Mahala, R. Muthurajan, A. H. Paterson, B.M. Prasanna, S. Rakshit, M.W. Rosegrant, I. Sharma, R.P. Singh, S. Sivasankar, V. Vadez, R. Valluru, P.V.V. Prasad, and O.P. Yadav. 2016. An integrated approach to maintaining cereal productivity under climate change. *Global Food Security-Agriculture Policy Economics and Environment* 8:9-18.
- Rios, V. S., Rios, J. A., Aucique-Pérez, C. E., Silveira, P. R., Barros, A. V., Rodrigues, F. Á. 2018. Leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence in soybean leaves infected by *Phakopsora pachyrhizi*. *Journal of Phytopathology* 166(2): 75-85. doi:10.1111/jph.12663

- Rosa, M., Hilal, M., González, J. A., Prado, F. E. 2004. Changes in soluble carbohydrates and related enzymes induced by low temperature during early developmental stages of quinoa (*Chenopodium quinoa*) seedlings. *Journal of Plant Physiology* 161(6): 683-689. doi:<https://doi.org/10.1078/0176-1617-01257>
- Rosa, M., Prado, C., Podazza, G., Interdonato, R., González, J. A., Hilal, M., Prado, F. E. 2009. Soluble sugars Metabolism, sensing and abiotic stress: A complex network in the life of plants. *Plant Signaling & Behavior* 4(5): 388-393.
- Rosa, M., Prado, C., Chocobar-Ponce, S., Pagano, E., Prado, F. 2017. Effect of seasonality and Cr(VI) on starch-sucrose partitioning and related enzymes in floating leaves of *Salvinia minima*. *Plant Physiology and Biochemistry* 118 (Supplement C): 1-10. doi:<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.05.014>
- Rosales-Serna, R., Ramírez-Vallejo P., Acosta-Gallegos J.A., Castillo-González F., Kelly J.D. 2000. Rendimiento del grano y tolerancia a la sequía del frijol común en condiciones de campo. *Agrociencia* 34: 153-165.
- Rosales-Serna, R., Kohashi-Shibata J., Acosta-Gallegos, J.A. 2003. Biomass distribution, maturity acceleration and yield in drought-stressed common bean cultivars. *Field Crops Research* 85: 203-211.
- Rosales-Serna, R., Kohashi-Shibata, J., Acosta-Gallegos, J. A., Trejo-Lopez, C., Ortiz-Cereceres, J. and Kelly, J. D. 2004. Biomass distribution, maturity acceleration and yield in drought stressed common bean cultivars. *Field Crops Res.* 85: 203-211.
- Rosyara, U. R., Subedi, S., Duveiller, E., Sharma, R. C. 2010. The effect of spot blotch and heat stress on variation of canopy temperature depression, chlorophyll fluorescence and chlorophyll content of hexaploid wheat genotypes. *Euphytica* 174(3): 377-390. doi:10.1007/s10681-010-0136-9
- Ruan, Y. L. 2014. Sucrose Metabolism: gateway to diverse carbon use and sugar signaling. *Annual Review of Plant Biology* 65(1): 33-67. doi:10.1146/annurev-arplant-050213-040251
- Saradadevi, R., Palta, J. A., Siddique, K. H. M. 2017. ABA-Mediated Stomatal Response in Regulating Water Use during the Development of Terminal Drought in Wheat. *Frontiers in Plant Science* 8(1251). doi:10.3389/fpls.2017.01251
- Schinkel, C. and Gepts, P. 1988. Phaseolin diversity in the tepary bean, *Phaseolus acutifolius* A. Gray. *Plant Breeding* 101: 292-301.

- Scholander, P. F., Hammel, H. T., Bradstreet, E. D., Hemminbsen, E. A. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science* 148: 339-346.
- Sehgal, A., Sita, K., Kumar, J., Kumar, S., Singh, S., Siddique, K. H. M., Nayyar, H. 2017. Effects of Drought, Heat and Their Interaction on the Growth, Yield and Photosynthetic Function of Lentil (*Lens culinaris* Medikus) Genotypes Varying in Heat and Drought Sensitivity. *Frontiers in Plant Science* 8(1776). doi:10.3389/fpls.2017.01776
- Singh, S. P. 1999a. Integrated genetic improvement. In: Singh, S. P. (ed.). Common Bean Improvement in the twenty-First Century. Developments in plant breeding, Vol. 7, Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, the Netherlands. Pp.133-166
- Singh, S. P. 1999b. Production and utilization. In: Singh, S. P. (ed.). Common Bean Improvement in the twenty-First Century, Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. Pp. 1-24
- Singh, B., A. Bohra, S. Mishra, R. Joshi, and S. Pandey. 2015. Embracing new-generation 'omics' tools to improve drought tolerance in cereal and food-legume crops. *Biologia Plantarum* 59:413-428.
- Souter, Jodi. Gurusamy, V; Timothy Porch; Kirstin Bett 2017. Successful introgression of abiotic stress tolerance from wild tepary bean to common bean. *Crop Science* 57: 1160-1171; doi: 10.2135/cropsci2016.10.0851
- Sperdoui, I., and Moustakas, M. 2012. Interaction of proline, sugars, and anthocyanins during photosynthetic acclimation of *Arabidopsis thaliana* to drought stress. *Journal of Plant Physiology* 169: 577-585.
- Stitt, M., and Zeeman, S. C. 2012. Starch turnover: pathways, regulation and role in growth. *Current Opinion in Plant Biology* 15(3): 282-292. doi:https://doi.org/10.1016/j.pbi.2012.03.016
- Strand, A., Hurry, V., Henkes, S., Huner, N., Gustafsson, P., Gardestrom, P., Stitt, M. 1999. Acclimation of *Arabidopsis* leaves developing at low temperatures. Increasing cytoplasmic volume accompanies increased activities of enzymes in the Calvin cycle and in the sucrose-biosynthesis pathway. *Plant Physiol.* 119(4): 1387-1398.
- Sussmilch, F., and McAdam, S. 2017. Surviving a Dry Future: Abscisic Acid (ABA)-Mediated Plant Mechanisms for Conserving Water under Low Humidity. *Plants* 6(4): 54.
- Terán, H. and Singh, S. P. 2002. Comparison of sources and lines selected for drought resistance in common bean. *Crop Science* 42:64-70.

- Thalman, M., and Santellia, D. 2017. Starch as a determinant of plant fitness under abiotic stress. *New Phytologist* 214(3): 943-951. doi:10.1111/nph.14491
- Traub, J., Kelly, J. D., Loescher, W. 2017. Early metabolic and photosynthetic responses to drought stress in common and tepary bean. *Crop Science* 57(3): 1670-1686. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.09.0746>
- Tuberosa, R. 2012. Phenotyping for drought tolerance of crops in the genomics era. *Frontiers in Physiology* 3. doi:10.3389/fphys.2012.00347
- Tiessen, A. and Padilla-Chacon, D. 2013. Subcellular compartmentation of sugar signaling: links among carbon cellular status, route of sucrolysis, sink-source allocation, and metabolic partitioning. *Frontiers in Plant Science* 3(306). doi:10.3389/fpls.2012.00306
- Vandecasteele, C., Teulat-Merah, B., Morère-Le Paven, M.-C., Leprince, O., Ly Vu, B., Viau, L. Buitink, J. 2011. Quantitative trait loci analysis reveals a correlation between the ratio of sucrose/raffinose family oligosaccharides and seed vigour in *Medicago truncatula*. *Plant, Cell & Environment* 34(9): 1473-1487. doi:10.1111/j.1365-3040.2011.02346.x
- Weber, H., Borisjuk L., Heim U., Buchner P. Wobus U. 1995. Seed coat-associated invertases of fava bean control both unloading and storage functions: cloning of cDNAs and cell type-specific expression. *The Plant Cell* 7: 1835–1846.
- Weschke, W., Panitz, R., Sauer, N., Wang, Q., Neubohn, B., Weber, H. 2000. Sucrose transport into barley seeds: molecular characterization of two transporters and implications for seed development and starch accumulation. *The plant Journal* 21(5): 455-467.
- Wu, G. Q., Wang, C. M., Su, Y. Y., Zhang, J. J., Feng, R. J., Liang, N. 2014. Assessment of drought tolerance in seedlings of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars using inorganic and organic solutes accumulation criteria. *Soil Science and Plant Nutrition* 60: 565-576.
- Yang, L., Jiang, T., Fountain, J. C., Scully, B. T., Lee, R. D., Kemerait, R. C., Guo, B. 2014. Protein Profiles Reveal Diverse Responsive Signaling Pathways in Kernels of Two Maize Inbred Lines with Contrasting Drought Sensitivity. *International Journal of Molecular Sciences* 15(10): 18892-18918. doi:10.3390/ijms151018892
- Yendrek, C. R., Tomaz, T., Montes, C. M., Cao, Y., Morse, A. M., Brown, P. J. Ainsworth, E. A. 2017. High-Throughput Phenotyping of Maize Leaf Physiological and Biochemical Traits Using Hyperspectral Reflectance. *Plant Physiology* 173(1): 614-626. doi:10.1104/pp.16.01447

- Zinselmeier, C., Jeong B. R., Boyer J.S. 1999. Starch and the control of kernel number in maize at low water potentials. *Plant Physiology* 121: 25–35.
- Zou, J. J., Li, X. D., Ratnasekera, D., Wang, C., Liu, W. X., Song, L. F., Wu, W. H. 2015. Arabidopsis calcium-dependent protein kinase8 and catalase3 function in abscisic acid-mediated signaling and h₂o₂ homeostasis in stomatal guard cells under drought stress. *Plant Cell* 27(5): 1445-1460. doi:10.1105/tpc.15.00144