



Máster en Biotecnología Aplicada a la Conservación y Gestión Sostenible de Recursos Vegetales

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Respuesta de genotipos de *Phaseolus vulgaris* L. a estrés por déficit hídrico



Sheila San Martín Castaño
22 de Julio de 2015

Máster en Biotecnología Aplicada a la Conservación y Gestión
Sostenible de Recursos Vegetales

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Respuesta de genotipos de *Phaseolus vulgaris* L. a estrés por déficit
hídrico

Response of *Phaseolus vulgaris* L. genotypes to water stress

Sheila San Martín Castaño

Firma

Ana María Campa Negrillo

Juan José Ferreira Fernández

Firma

Firma

Índice

Resumen/Abstract	4
1. Introducción: antecedentes, planteamiento y objetivos	5
1.1. La judía común	5
1.2. Respuesta a la sequía	5
1.3. Valoración de la respuesta a la sequía	6
1.4. Objetivos	7
2. Material y métodos	8
2.1. Material vegetal	8
2.2. Ensayo de respuesta a déficit hídrico	9
2.3. Valoraciones	9
2.4. Análisis estadístico de los resultados	10
3. Resultados	11
3.1. Variación entre genotipos	11
3.2. Respuesta al déficit hídrico	13
3.3. Identificación de las fuentes de variación.....	15
3.4. Potenciales fuentes de tolerancia a la sequía.....	16
4. Discusión	19
5. Conclusiones	21
6. Referencias Bibliográficas	22
7. Agradecimientos	25

Índice de tablas y figuras

Tabla 1	8
Tabla 2	11
Tabla 3	14
Tabla 4a.....	15
Tabla 4b.....	16
Figura 1.....	13
Figura 2	17
Figura 3	17
Figura 4	18
Figura 5	18

Resumen

La judía común es una de las principales legumbres en la alimentación humana. Su cultivo está muy extendido en África y Latinoamérica, y se ve seriamente amenazado por factores adversos de carácter biótico y abiótico. Pero uno de los que más preocupa es la sequía, ya que el 60% de los cultivos a nivel mundial, reduce su producción debido al mismo, y además, la predicción es que esto empeorará debido al cambio climático. La principal alternativa a este problema es el cultivo de genotipos que sean tolerantes a la sequía. Y por ello, el objetivo de este trabajo ha sido identificar que variables miden mejor la respuesta al déficit hídrico, y establecer un método de evaluación de respuesta en condiciones controladas de invernadero y en estadios tempranos del desarrollo de las plantas para poder preseleccionar genotipos tolerantes.

El experimento se realizó con 36 genotipos de judía, sometidos a dos tipos de tratamientos: control – con riego a demanda-, y estrés –con un volumen de riego un 50% menor-. Las plantas se desarrollaron en invernadero, colocando 2 plantas por tiesto y 3 tiestos por tratamiento y genotipo para cada una de las 3 réplicas.

Los caracteres medidos fueron: contenido relativo de clorofila en la hoja cotiledonal y en el foliolo central de la primera hoja trifoliada, superficie de dicho foliolo, contenido en agua de la hoja cotiledonal, y nº de plantas muertas 15 días después del último riego control.

Podemos concluir que el carácter más identificativo para un test de evaluación de respuesta a la sequía en fases tempranas y condiciones controladas, es el carácter superficie del foliolo central de la primera hoja trifoliada. Los genotipos preseleccionados en base a este carácter resultaron ser Sanilac, DOR364, BAT93, PI207262, Michelite, Maravilla de Venecia, AB136 y G19833, aunque resulta imprescindible contrastar su comportamiento mediante un test en campo.

Abstract

The common bean is a major legumes in food. Its cultivation is widespread in Africa and Latin America, and looks at seriously threatened by adverse biotic and abiotic character. But one of the greatest concern is drought, since 60% of crops worldwide, reduce production due to it, and besides, the prediction is that this will worsen due to climate change. The main alternative to this problem is growing genotypes that are tolerant to drought. And therefore, the aim of this study was to identify variables that best measure the response to water deficit and establish a method of assessing response under controlled greenhouse conditions and plant development early stages to preselect tolerant genotypes.

The experiment was conducted with 36 genotypes of beans, subjected to two treatments: Control, with demand-irrigation and stress, with a volume 50% lower. Plants were grown in greenhouse by placing two plants per pot and 3 pots per treatment and genotype for each of the 3 replicates.

The measured characters were: relative content of chlorophyll in the cotyledon leaf and the central leaflet of the first trifoliolate, leaf surface of said leaflet, water content of cotyledon leaf, and number of dead plants 15 days after the last irrigation control.

We can conclude that the most identifiable character for evaluating response to drought in the early stages and controlled conditions, is the character of the central leaflet surface of the first trifoliolate leaf. A total of eight genotypes were preselected based on this character: Sanilac, DOR364, BAT93, PI207262, Michelite, Wonder of Venice, AB136 and G19833, although it is essential to contrast their drought response through a field test.

1. Introducción: antecedentes, planteamiento y objetivos

1.1 La judía común

La judía común, *Phaseolus vulgaris* L., es una leguminosa originaria de América, donde fue domesticada y desde donde fue introducida en la agricultura europea. Actualmente, la judía es una de las legumbres más importante en la alimentación humana a nivel mundial, y representa una de las principales fuentes de proteínas de la misma, especialmente en América Latina y África (Cavalieri et al., 2011; Beebe et al., 2013). También suple una proporción significativa de carbohidratos (FAO, 2001), y, como otras legumbres, es una fuente de minerales, especialmente de hierro (Graham et al., 2007).

Esta especie se cultiva para el consumo de la semilla seca o de la vaina verde, aunque a nivel mundial, la mayor parte de la superficie se destina a la producción de semilla seca. En el año 2012 se produjeron 23,9 y 20,7 millones de toneladas de semilla seca y vaina respectivamente, destinándose a su cultivo 30,8 millones de hectáreas (FAO, 2012). Según esta misma fuente, en 2012 en España la mayor proporción de la superficie se destinó a la producción para vaina verde; 9.900 ha de un total de 16.500. No obstante, también hay importantes producciones de judía grano entre las que se incluyen variedades tradicionales de gran prestigio como los tipos faba granja, verdina, riñón, canellini, canela, ganxet o gernikesa entre otros. En Asturias, el tipo faba granja es el más ampliamente cultivado. La semilla de este tipo varietal posee características únicas dentro de la especie: es de color blanco, alargada, de gran tamaño (1g/semilla), y presenta un crecimiento trepador (Ferreira et al., 2005). Cuenta, además, con una Indicación Geográfica Protegida (www.faba-asturiana.org).

El cultivo de esta leguminosa puede verse afectado negativamente por numerosos factores bióticos y abióticos (Schwartz et al., 2005; Singh and Schwartz, 2010). Los factores bióticos limitantes son muy diversos y los daños pueden estar causados por bacterias, virus, hongos o nematodos. En el caso de factores abióticos, los que más castigan a los cultivos son la sequía, las altas temperaturas, el frío, la salinidad, o elevados niveles de ozono (Suzuki et al., 2014). La incidencia de estos estreses depende del área de cultivo, del manejo del mismo, de la campaña y de los genotipos usados.

1.2 Respuesta a la sequía

La sequía o estrés por déficit hídrico se define como la inadecuada disponibilidad de agua debido a limitaciones en las precipitaciones o a la baja capacidad de retención de agua de los suelos, a lo largo del ciclo de cultivo (Beebe et al., 2013). La sequía es quizás el factor más limitante en la productividad de los cultivos a nivel mundial (McClellan et al., 2011; Lauer et al., 2012). Este estrés afecta al 60% de la producción mundial de judía (White and Singh, 1991), y la situación podría empeorar debido a los efectos del cambio climático. Las previsiones apuntan hacia un aumento en la duración e intensidad de los periodos de sequía durante el s. XXI (IPCC, 2001), asociados con un régimen más irregular de las precipitaciones y con temperaturas más extremas y en general más cálidas (Rambal and Debussche, 1995; Reichstein et al., 2002). Por ejemplo, en el caso de España, se espera que

en 30 años las medias pluviométricas de la España atlántica, disminuyan entre un 11 y un 15% (Rodó and Comín, 2001).

Los cultivos del norte de España se desarrollan en el periodo de mayo a septiembre, y los problemas de sequía dependen de la campaña. Generalmente los agricultores no usan el riego, por lo que sus cultivos dependen totalmente de la pluviosidad. De este modo, en algunas campañas han ocurrido episodios de sequía en las fases iniciales del cultivo –mayo, junio-, o durante la floración y cuajado –agosto, septiembre-. En el primer caso se han observado marras en la nascencia y/o una reducción en el crecimiento de la plantas llegando a morir en casos extremos. En el segundo caso se ha observado una reducción drástica del cuajado de las vainas, caída de hojas, y maduración prematura. En ambos casos las consecuencias son pérdidas de producción (kg semilla/ ha), o cambios en la calidad de la semilla (tamaño, dureza).

1.3 Valoración de la respuesta a la sequía

La evaluación de la respuesta al déficit hídrico es compleja. La mayor parte de los trabajos en los que se investiga la tolerancia a la sequía en judía han sido desarrollados en ensayos/parcelas de campo. Los ensayos básicamente consisten en comparar la respuesta de genotipos cultivados en condiciones de estrés hídrico y no estrés, para caracteres como producción de semillas (kg/ha), peso de 100 semillas (g), producción de vainas (kg/ha), índice de cosecha, o caracteres relacionados con el desarrollo como: días a la floración o días a la madurez (días), biomasa (g) y contenido en agua (%) (Ramirez-Vallejo and Kelly, 1998; Teran and Singh, 2002; Muñoz et al., 2007; Beebe et al., 2013; Mukeshimana et al., 2014;; Assefa et al., 2015). A partir de estos caracteres se estiman índices como el *Índice de Susceptibilidad a la Sequía* para cuantificar la tolerancia frente a este estrés (Fisher and Maurer, 1978). Con este tipo de test se han descrito algunos genotipos de judía con elevada tolerancia a la sequía, este es el caso de las líneas SEA desarrolladas en el CIAT (Teran and Singh, 2002). También en las valoraciones de la respuesta a este tipo de estrés se han usado medidas como la conductancia estomacal, contenido en clorofila, tasa de transpiración o temperatura de la hoja (Beebe et al., 2013). Un inconveniente de este tipo de valoraciones es que es necesario llevar la planta hasta el final de su ciclo, con el consecuente gasto de tiempo y recursos que ello significa. Las evaluaciones llevadas a cabo en campo presentan además un gran inconveniente: la falta de control de variables ambientales como temperatura, homogeneidad del suelo o pluviosidad. Esto resulta negativo porque puede interferir en los resultados. Se han descrito en algunos casos correlaciones significativas en la respuesta a diferentes estreses abióticos como salinidad, temperatura, nivel de ozono o estructura del suelo (Suzuki et al., 2014). Por tanto, las valoraciones en campo pueden estar condicionadas por diferentes variables además de la sequía. Así mismo, estreses bióticos pueden interferir en los resultados. Por ejemplo, una buena salud radicular es esencial para evaluar objetivamente la respuesta al déficit hídrico, ya que influiría directamente en la capacidad de adquirir el agua del suelo, y esto no es fácil de controlar en cultivo en suelo (Polanía et al., 2009). La salud radicular se ve afectada con mucha frecuencia por un complejo de patógenos que conviven juntos en el suelo (Fusarium, Rhizoctonia, Pythium, Aphanomyces, Macrophomina, etc) y causan las llamadas podredumbres radiculares. Estos patógenos no siempre matan a la planta, pero afectan a su sistema radicular, lo que se traduce en un menor desarrollo y producción. Estos patógenos

son muy difíciles de controlar y de eliminar del suelo, y probablemente interfieran en los resultados de los ensayos de estrés hídrico realizados en campo. Así por ejemplo, la línea BAT477 ha sido descrita como tolerante a la sequía pero después se ha demostrado que en realidad es una buena fuente de resistencia a *Macrophomina* (Miklas et al., 2006).

1.4 Objetivos

Por todo lo expuesto anteriormente, resulta interesante disponer de un test para valorar la respuesta al déficit hídrico en condiciones controladas de invernadero y en estadios tempranos del desarrollo de la planta.

Por ello, los objetivos de este trabajo fueron:

- Explorar la utilidad de un método de evaluación de respuesta a la sequía en judía común en condiciones controladas de invernadero y en estadios tempranos del desarrollo de las plantas.
- Identificar los caracteres que mejor puedan medir la respuesta a este estrés.
- Preseleccionar potenciales genotipos tolerantes.

2 Material y métodos

2.1 Material vegetal

Para el desarrollo de este trabajo se seleccionaron 36 genotipos de judía mantenidas en la colección de semillas del SERIDA, y elegidos en función de distintos criterios. En la Tabla 1 se especifica cada uno de los genotipos seleccionados y el criterio de selección utilizado en cada caso. Se incluyeron en el análisis 4 líneas de judía desarrolladas por el SERIDA en programas de mejora genética, y pertenecientes a la clase comercial faba granja. Se trata de las líneas: A25, A2806, Xana y X2776.

Tabla 1. Lista de líneas de judía utilizadas en este trabajo y mantenidas en la colección de semillas del SERIDA. Se indica la característica principal por la que ha sido seleccionada.

Genotipo	Criterio de elección
A195	Fuente de resistencia al Moho Blanco
A25	Línea desarrollada en el SERIDA. Clase <i>Faba Asturiana</i>
A2806	Línea desarrollada en el SERIDA. Clase <i>Faba Asturiana</i>
A483	Fuente de habito de crecimiento indeterminado erecto
AB136	Variedad diferencial para identificar razas de Antracnosis
BAT93	Genotipo secuenciado y anotado
BRB130	Fuente de resistencia a BCMV/BCMN
BRB57	Fuente de resistencia a BCMV/BCMN
Contender	Línea para cultivo de la vaina en verde
Cornell 49242	Variedad diferencial para identificar razas de Antracnosis
DOR364	Fuente de resistencia total a Oídio
G122	Fuente de resistencia al Moho Blanco
G19833	Genotipo secuenciado y anotado
Great Northern 31	Fuente de resistencia a BCMV/BCMN
ICTA_Hanupu	Fuente de habito de crecimiento indeterminado erecto
JALO EEP 558	Genotipo secuenciado y anotado
Kaboon	Variedad diferencial para identificar razas de Antracnosis
La Victorie	Línea para cultivo de la vaina en verde
Maravilla de Venecia	Línea para cultivo de la vaina en verde
Mexico 222	Variedad diferencial para identificar razas de Antracnosis
Michelite	Variedad diferencial para identificar razas de Antracnosis
Michigan Dark Red Kindey (MDRK)	Variedad diferencial para identificar razas de Antracnosis
Montcau	Típica variedad local cultivada en Cataluña
Musica	Línea para cultivo de la vaina en verde
Perry Marrow	Variedad diferencial para identificar razas de Antracnosis
PI-207262	Variedad diferencial para identificar razas de Antracnosis
Porrillo Sintético	Fuente de resistencia total a oídio
Sanilac Bc6 Are	Fuente de Resistencia a Antracnosis
SEA 5	Fuente de tolerancia a sequia
SEA13	Fuente de tolerancia a sequia
Tendergreen	Línea para cultivo de la vaina en verde

(Continuación **Tabla 1**)

Genotipo	Criterio de elección
TO	Variedad diferencial para identificar razas de antracnosis
TU	Variedad diferencial para identificar razas de antracnosis
Widusa	Variedad diferencial para identificar razas de antracnosis
X2776	Línea desarrollada en el SERIDA. <i>Clase Faba Asturiana</i>
Xana	Línea desarrollada en el SERIDA. <i>Clase Faba Asturiana</i>

2.2 Ensayo de respuesta a déficit hídrico

Los materiales fueron sometidos a dos tipos de tratamientos dentro del ensayo: tratamiento control, y tratamiento estrés por déficit hídrico. Ambos tratamientos albergaron 36 genotipos de judía mantenidos en invernadero con riego controlado. En el caso del tratamiento control las plantas recibieron riego a demanda, y en el caso del tratamiento estrés, las plantas fueron regadas con la mitad de volumen de agua.

Las líneas inicialmente fueron sembradas en bandejas de alveolos, y una vez extendida la hoja embrionaria o cotiledonal, se trasplantaron a tiestos de 1.5 litros. El sustrato usado fue una mezcla de turba y perlita (80:20). Se trasplantaron dos plantas por tiesto y tres tiestos por tratamiento y genotipo en cada réplica. Se llevaron a cabo tres réplicas o test del ensayo en tres fechas de siembra diferentes.

2.3 Valoraciones

Las valoraciones o la toma de datos, se llevó a cabo cuando la primera hoja trifoliada se encontró desarrollada en todas las plantas del tratamiento estrés. Se llevaron a cabo las siguientes valoraciones en las plantas control y en las plantas sometidas a déficit hídrico:

- **Contenido relativo en clorofila en la hoja cotiledonal (SPAD).** Se investigó este carácter en una hoja de cada una de las plantas de cada genotipo incluida en cada réplica y cada tratamiento. Para tomar este valor se utilizó el equipo SPAD 502 de Minolta.
- **Contenido relativo en clorofila en el foliolo central de la primera hoja trifoliada (SPAD).** Se investigó este carácter en la primera hoja trifoliada de cada una de las plantas de cada genotipo incluida en cada réplica y cada tratamiento. Para tomar este valor se utilizó el equipo SPAD 502 de Minolta.
- **Superficie del foliolo central de la primera hoja trifoliada (cm²).** Se investigó este carácter en una hoja de cada una de las plantas de cada genotipo incluida en cada réplica y cada tratamiento. Para medir éste área se usó el programa informático ImageJ (<http://imagej.nih.gov/ij/>).
- **Contenido en agua de la hoja cotiledonal (%).** Se formó una muestra con una hoja cotiledonal de cada una de las plantas de cada genotipo incluida en cada réplica y cada tratamiento. La estimación de este carácter se realiza por método gravimétrico,

esto es, pesando la muestra fresca (Pi) y pesando la muestra liofilizada (Pf). Se estima el porcentaje de agua que contiene la hoja:

$$\% \text{ Agua de la hoja cotiledonal} = ((P_i - P_f) / P_i) * 100$$

- **Número de plantas muertas en ambos tratamientos.** Se hizo el recuento 14 días después del último riego en el tratamiento control. Se valoró este carácter en cada genotipo y tratamiento.

2.4 Análisis estadístico de los resultados

Para identificar la significación de la variación entre genotipos para las variables medidas, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, y se estimó la diferencia mínima significativa a un nivel de significación de 0,05 (LSD). También para identificar diferencias significativas en la respuesta de cada genotipo al tratamiento se realizó una T-Student aplicando la corrección de Bonferroni ($p=0.05$).

Para explorar las fuentes de variación en las variables valoradas se llevó a cabo un análisis ANOVA multifactorial tomando como factores fijos los genotipos, los tratamientos (control y estrés) y las réplicas (1, 2, 3).

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo usando el programa SPSS V19.

3 Resultados

3.1 Variación entre genotipos

Se llevaron a cabo tres réplicas o test del ensayo en tres fechas de siembra diferentes:

- Primera réplica
Fecha de siembra: 10/03/2015 Fecha de toma de datos: 17/04/2015
- Segunda réplica
Fecha de siembra: 25/03/2015 Fecha de toma de datos: 24/04/2015
- Tercera réplica
Fecha de siembra: 13/04/2015 Fecha de toma de datos: 07/05/2015

La Tabla 2 muestra los valores medios de los tres test, de las variables medidas en el tratamiento control, en los 36 genotipos de judía. Se indican las medias del contenido relativo en clorofila, medido mediante SPAD, en las hojas cotiledonales, y en el foliolo central de la hoja trifoliada, así como la superficie de dicho foliolo central, el contenido medio de agua de la hoja cotiledonal en %, y la mortalidad media de las plantas.

Tabla 2. Valores medios y desviación típica obtenidos para las variables medidas en el tratamiento control: contenido relativo en clorofila, medido mediante SPAD, en las hojas cotiledonales (SC) y en el foliolo central de la hoja trifoliada (ST), superficie de dicho foliolo central (A), el contenido medio de agua de la hoja cotiledonal en % (C), y mortalidad media de las plantas (M). Se indica la diferencia mínima significativa (LSD) entre genotipos a un nivel de significación del 5%.

Genotipo	SC	d SC	ST	d ST	A	d A	C	d C	M	d M
A195	38,2	4,0	43,0	3,6	27,2	9,2	78,3	2,7	4,0	0,6
A25	47,3	5,6	49,0	4,3	15,8	5,3	86,4	9,3	5,7	3,5
A2806	42,6	3,0	44,5	3,2	26,3	9,9	78,6	9,9	4,0	2,3
A483	38,8	2,7	45,0	3,9	24,2	5,0	79,2	17,3	4,7	3,5
AB136	35,3	4,5	43,8	4,3	28,4	8,0	69,7	1,2	4,0	1,7
BAT93	34,0	2,4	39,6	2,9	35,0	3,2	87,6	1,4	1,0	0,0
BRB130	39,3	2,2	43,9	5,7	36,3	14,4	88,5	11,0	6,0	0,0
BRB57	36,9	2,5	42,9	3,4	29,8	9,3	75,6	6,9	6,0	2,0
Contender	37,2	4,2	38,7	2,4	26,6	9,3	80,2	13,6	4,0	3,1
Cornell 49242	34,5	4,9	39,2	5,7	26,1	7,1	79,3	1,0	3,3	3,5
DOR364	33,2	2,1	37,5	5,6	31,4	7,2	88,4	15,0	4,0	1,2
G122	34,9	2,0	42,5	5,2	28,3	10,5	73,8	2,8	4,7	3,5
G19833	33,2	2,1	38,8	3,8	30,3	20,3	85,6	8,9	4,0	2,0
Great Northerm 31	36,0	1,3	47,4	2,7	19,8	4,6	75,5	0,9	4,0	1,0
ICTA_Hanupu	34,6	5,0	39,3	4,1	29,9	8,7	87,7	7,2	2,0	3,0
JALO EEP 558	37,8	2,0	44,2	5,3	35,6	13,7	72,7	6,1	3,0	1,2
Kaboon	40,4	2,1	45,6	1,7	23,8	13,0	82,9	6,2	5,3	0,0

(Continuación **Tabla 2**)

Genotipo	SC	d SC	ST	d ST	A	d A	C	d C	M	d M
La Victorie	36,5	2,5	41,1	3,9	28,0	7,8	80,7	17,3	6,0	1,2
Maravilla de Venecia	35,4	4,1	42,4	3,5	28,8	5,3	77,6	15,0	5,3	3,1
Mexico 222	40,1	4,3	41,4	2,8	29,0	7,3	76,6	1,9	3,3	1,5
Michelite	44,9	3,8	47,8	2,7	27,9	6,1	88,1	1,8	4,3	0,0
MDRK	34,0	3,2	41,5	4,4	32,5	6,2	86,7	2,1	6,0	3,5
Montcau	37,2	4,8	42,7	6,2	24,9	10,4	87,8	5,5	4,0	0,0
Musica	35,9	3,0	49,1	2,9	21,9	5,5	82,5	4,2	6,0	1,2
Perry Marrow	43,1	3,3	44,7	2,8	23,5	9,4	82,1	16,9	5,3	0,0
PI-207262	32,1	3,0	39,5	3,9	35,1	6,6	77,8	1,4	6,0	2,3
Porrillo Sintético	34,5	4,4	41,0	5,0	28,4	5,9	87,5	12,0	4,7	1,0
Sanillac Bc6 Are	26,1	5,9	37,6	4,6	28,5	4,2	76,5	10,1	5,0	2,0
SEA5	35,6	2,2	39,9	4,1	25,9	8,6	82,0	2,7	4,0	1,2
SEA13	35,5	2,9	38,9	2,4	32,2	11,1	85,7	9,4	3,3	0,0
Tendergreen	32,6	2,3	41,0	2,0	35,4	6,3	80,9	11,1	6,0	0,0
TO	41,8	3,5	44,8	3,4	31,7	7,0	78,8	7,5	6,0	2,5
TU	34,6	3,4	39,3	4,3	30,3	8,7	84,8	3,6	3,7	1,7
Widusa	41,9	3,5	42,9	5,5	33,4	6,3	83,9	12,3	5,0	1,2
X2776	41,9	3,2	45,3	2,1	25,5	3,7	79,0	10,1	4,7	0,0
Xana	42,0	5,4	44,9	2,4	20,4	3,8	80,4	8,9	6,0	2,0
LSD (p<0,05)	3,32		3,71		8,36		7,38		1,66	

El contenido medio en clorofila para la hoja cotiledonal varió entre 47,3 en la línea A25, perteneciente a la clase *faba asturiana*, y 26,1, en la variedad Sanillac Bc6 Are. En cuanto al contenido en clorofila en la primera hoja trifoliada, los valores oscilaron entre 49,1, valor que encontramos en la variedad Musica, y 37,5, en la línea DOR364. En el caso del área del primer foliolo central, el máximo lo encontramos en BRB130, con 36,3 cm², mientras que el menor valor fue encontrado en la línea A25 con 15,8 cm². Para el contenido en agua, el máximo contenido se obtuvo en BRB130, que presentó un 88,5%; y el mínimo en la variedad AB136, con un 69,7%. Por último mencionar que las variedades con mayor mortalidad, fueron BRB130, BRB57, La Victorie, MDRK, Musica, Perry Marrow, Tendergreen, TO y Xana. Por el contrario, la que menor mortalidad presentó fue BAT93.

Las líneas SEA5 y SEA13, descritas como fuentes de tolerancia a la sequía, presentaron valores intermedios en el contenido relativo en clorofila, respecto a los demás genotipos. Similarmente el área foliar, se mantuvo en valores también medios. En el caso del contenido en agua ambas variedades mostraron un contenido por encima del 80%; y respecto a la mortalidad los resultados no fueron de los más bajos, la mortalidad se estableció en torno a la mitad de las plantas testadas.

3.2 Respuesta al déficit hídrico

Se observaron diferencias fenotípicas en el desarrollo de las plantas sometidas a este estrés. Generalmente, las hojas mostraron un menor desarrollo y un mayor oscurecimiento de las hojas, sobre todo de las trifoliadas. Se indica este comportamiento en la Figura 1.



Figura 1. Diferencias en crecimiento entre las plantas estresadas (derecha) y las plantas control (izquierda) en la línea SEA13.

La Tabla 3 muestra los valores medios de las variables medidas en el tratamiento estrés, en los 36 genotipos de judía. Se indican las medias del contenido relativo en clorofila, medido mediante SPAD, en las hojas cotiledonales y en el foliolo central de la hoja trifoliada, así como la superficie de dicho foliolo central, el contenido medio de agua de la hoja cotiledonal en %, y la mortalidad media de las plantas.

Tabla 3. Valores medios y desviación típica obtenidos para las variables medidas en el tratamiento estrés: contenido relativo en clorofila, medido mediante SPAD, en las hojas cotiledonales (SC) y en el foliolo central de la hoja trifoliada (ST), superficie del foliolo central (A), el contenido medio de agua de la hoja cotiledonal en % (C), y la mortalidad media de las plantas (M). Se indica la diferencia mínima significativa entre genotipos a un nivel de significación del 5%. También se indica mediante asterisco si los valores medios obtenidos en cada genotipo difirieron significativamente (5%) del control mediante una comparación de medias (T-Student) después de aplicar la corrección de Bonferroni.

Genotipo	SC	d SC	ST	d ST	A	d A	C	d C	M	d M
----------	----	------	----	------	---	-----	---	-----	---	-----

A195	41,8	2,4	42,5	3,6	7,3*	2,4	74,3	9,9	5,0	1,0
A25	49,2	2,5	51,2	3,7	6,5*	4,0	85,3	2,3	6,0	0,0
A2806	45,3	4,2	49,7	2,9	6,7*	2,1	70,6	17,6	5,7	0,6
A483	41,1	3,5	49,6	2,8	9,9*	3,4	76,8	8,4	4,0	2,0
AB136	39,2	3,7	48,8	4,3	15,6*	2,8	83,9	2,5	4,7	2,3
BAT93	37,9	2,3	43,1	2,3	20,0*	3,3	84,9	2,2	2,7	2,3
BRB130	40,9	3,2	45,3	5,1	12,6*	4,2	75,3	15,3	6,0	0,0
BRB57	39,8	2,4	42,8	5,1	15,1*	4,9	80,4	6,6	5,3	1,2
Contender	39,5	4,4	42,4	2,9	7,0*	3,3	73,0	13,4	3,7	0,6
Cornell 49242	33,5	3,2	44,1	6,3	10,8*	4,6	84,4	4,1	2,7	3,1
DOR364	36,2	3,4	41,5	5,7	18,1	8,0	86,4	1,3	3,3	2,3
G122	39,4*	2,7	48,8	4,2	12,2*	7,1	81,7	4,9	5,3	1,2
G19833	37,6	2,8	46,5*	3,5	16,6	4,0	87,1	,9	5,0	1,7
Great Northern 31	40,0*	2,7	48,0	5,3	8,2*	1,9	82,4	4,7	4,3	1,5
ICTA_Hanupu	37,0	4,4	45,0	5,3	15,6*	3,5	87,0	,9	4,0	3,5
JALO EEP 558	39,4	1,6	48,5	3,1	15,1*	4,9	84,5	,1	4,7	1,5
Kaboon	40,9	2,5	42,7	7,0	7,8	2,8	81,1	6,7	6,0	0,0
La Victorie	39,1	2,0	43,3	3,9	12,7*	4,5	85,2	2,3	4,7	1,2
Maravilla de Venecia	36,6	4,7	43,9	6,0	15,8*	7,6	84,9	3,4	3,7	2,1
Mexico 222	43,1	4,4	44,4	2,7	10,9*	3,1	83,7	3,7	3,3	3,1
Michelite	48,7	3,9	52,5	2,9	13,4*	3,6	86,0	,8	5,3	1,2
MDRK	32,0	3,2	45,8	5,5	18,0*	2,1	84,6	2,4	5,3	0,6
Montcau	37,3	3,9	47,9	4,4	13,6*	3,2	86,1	2,8	5,7	0,6
Musica	39,5	5,1	51,3	4,0	8,6*	3,1	79,7	6,2	4,0	2,0
Perry Marrow	46,9	3,5	44,8	3,0	8,6*	3,0	83,7	3,0	3,7	2,1
PI-207262	33,3	2,6	45,0	3,3	20,0*	5,9	82,6	8,7	6,0	0,0
Porrillo Sintético	38,4	2,5	45,0	4,7	12,6*	2,1	85,9	1,1	3,3	3,1
Sanillac Bc6 Are	28,5	4,0	44,1	4,4	16,9*	5,6	86,8	2,1	4,3	1,5
SEA5	36,0	2,3	44,8	4,7	12,9*	3,8	76,2	10,1	5,7	0,6
SEA13	36,9	3,0	44,8*	3,2	16,9*	7,2	89,0	3,6	5,3	1,2
Tendergreen	36,9*	2,0	40,1	6,4	6,1*	2,2	83,7	2,9	5,7	0,6
TO	43,7	2,5	48,5	2,5	16,3*	4,2	82,8	8,7	6,0	0,0
TU	36,2	5,5	43,5	2,1	14,3*	3,9	88,7	1,1	3,0	2,6
Widusa	42,2	2,6	46,6	3,9	18,1*	5,0	85,5	1,4	6,0	0,0
X2776	45,7	3,9	44,2	6,5	9,1*	10,3	74,4	11,7	6,0	0,0
Xana	46,3	5,4	48,1	4,0	7,1*	3,5	86,8	2,1	6,0	0,0
LSD (p<0,05)	3,21		4,22		4,28		5,44		1,31	

El contenido medio en clorofila para la hoja cotiledonal varió entre 49,2 en la línea A25, y 28,5, en la variedad Sanillac Bc6 Are. Los genotipos con valores extremos para esta medida coinciden con los obtenidos en el tratamiento control. En cuanto al contenido en clorofila en la primera hoja trifoliada, los valores oscilaron entre 52,5, en la variedad Michelite, y 40,1, en la variedad Tendergreen. En el caso del área del primer foliolo central, el valor máximo lo encontramos en las variedades BAT93 y PI207262, con 20 cm²; y los valores mínimos en la variedad Tendergreen con 6,1 cm². Para el contenido en agua, el máximo contenido se

obtuvo en TU, que presentó un 88,7%, y el mínimo en la línea X2776 con un 70,6%. Por último mencionar que las variedades con mayor mortalidad, fueron A25, BRB130, Kaboon, PI207262, TO, Widusa, X2776 y Xana. Por el contrario las que menor mortalidad presentaron sometidas a sequía fueron BAT93 y Cornell 49242.

Las líneas SEA5 y SEA13, descritas como fuentes de tolerancia a la sequía, presentaron valores intermedios de contenido relativo en clorofila respecto a los demás genotipos. El área foliar también osciló en valores comprendidos entre el máximo y el mínimo. En el caso del contenido en agua ambas variedades mostraron un contenido por encima del 70%; y respecto a la mortalidad ambos genotipos coinciden en tasas altas.

Cabe destacar, que si comparamos las tablas de resultados de ambos tratamientos, control y estrés; todas las variables muestran resultados medios más elevados en el caso del tratamiento estrés, excepto una, el área foliar. Este parámetro resultó ser más alto en el caso del tratamiento control.

3.3 Identificación de las fuentes de variación

Para los caracteres medidos, contenido relativo en clorofila en la hoja cotiledonal y trifoliada, y para el carácter superficie del foliolo central de la primera hoja trifoliada; el análisis de varianza multifactorial (Tabla 4a), reveló diferencias significativas para todas las fuentes excepto para la interacción Genotipo * Replica * Tratamiento en el carácter contenido relativo en clorofila en la hoja cotiledonal.

Tabla 4a. Resultados obtenidos del ANOVA multifactorial para las variables contenido en clorofila en hoja cotiledonal (SC), trifoliada (ST) y superficie foliar (A).

Fuentes	SC		ST		A	
	F	p	F	p	F	p
Genotipo	61,3	0,00	19,743	0,00	15,75	0,00
Réplica	257,4	0,00	201,30	0,00	178,77	0,00
Tratamiento	171,0	0,00	240,94	0,00	2057,88	0,00
Genotipo * REPLICA	3,5	0,00	4,11	0,00	4,59	0,00
Genotipo * Tratamiento	2,1	0,00	3,72	0,00	3,22	0,00
Replica * Tratamiento	6,4	0,00	64,19	0,00	57,14	0,00
Genotipo * Replica * Tratamiento	1,2	0,06	2,17	0,00	3,43	0,00

Para los caracteres medidos, contenido en agua de la hoja cotiledonal y mortalidad, el análisis de varianza multifactorial (Tabla 4b), no reveló diferencias significativas excepto para la variable genotipos en el carácter mortalidad.

Tabla 4b. Resultados obtenidos del ANOVA multifactorial para las variables contenido en agua (C) y mortalidad (M) en las que sólo se tomó un valor por réplica en cada genotipo

	C	M
--	---	---

Fuente	F	p	F	p
Genotipo	1,394	0,09	1,832	0,00
Tratamiento	1,400	0,23	0,616	0,43
Genotipo * Tratamiento	0,805	0,77	0,573	0,97

A la vista de estos resultados se investigó mediante un análisis T-Student qué genotipos presentaban diferencias significativas en la respuesta al estrés hídrico (señalado con * en Tabla 3) en aquellas variables con diferencias entre tratamiento: contenido relativo en clorofila en la hoja cotiledonal, contenido relativo en clorofila en el foliolo central de la hoja trifoliada, y superficie del foliolo central de la hoja trifoliada. Se detectaron diferencias significativas para 3, 2 y 33 genotipos respectivamente, por lo que se puede afirmar que la mayor parte de las diferencias significativas entre control y estrés fueron detectadas para el carácter superficie. Tan solo 3 de los 36 genotipos estudiados, no revelaron diferencias significativas entre ambos tratamientos, para este carácter: líneas DOR364, G19833 y Kaboon.

3.4 Potenciales fuentes de tolerancia a la sequía

Con objeto de identificar aquellos genotipos con comportamiento diferencial frente a déficit hídrico en fases iniciales, se estimó la relación entre los valores de las plantas sometidas a estrés y las plantas no sometidas, en los tres caracteres para los que se detectaron diferencias significativas entre tratamientos. Valores próximos a 1 indicarán una mínima variación en la respuesta a este estrés. Los genotipos fueron ordenados en función de los valores obtenidos para cada índice y representados en una figura de histogramas.

La Figura 2 muestra el histograma obtenido para la relación en el contenido relativo en clorofila de la hoja cotiledonal. La mayoría de las líneas mostraron valores mayores de 1 para esta relación, lo que indica que los valores fueron más elevados en el tratamiento estrés. Las líneas descritas como tolerantes SEA5 y SEA13 mostraron valores próximos a 1, por lo que los valores en ambos tratamientos fueron similares. Los valores extremos fueron encontrados en las líneas G19833 y Michelite. Las cuatro líneas de la clase comercial *faba asturiana* mostraron valores mayores de 1 en todos los casos, oscilando entre 1,04 y 1,10. Se indican aquellos genotipos que presentaron diferencias significativas entre tratamientos para este carácter.

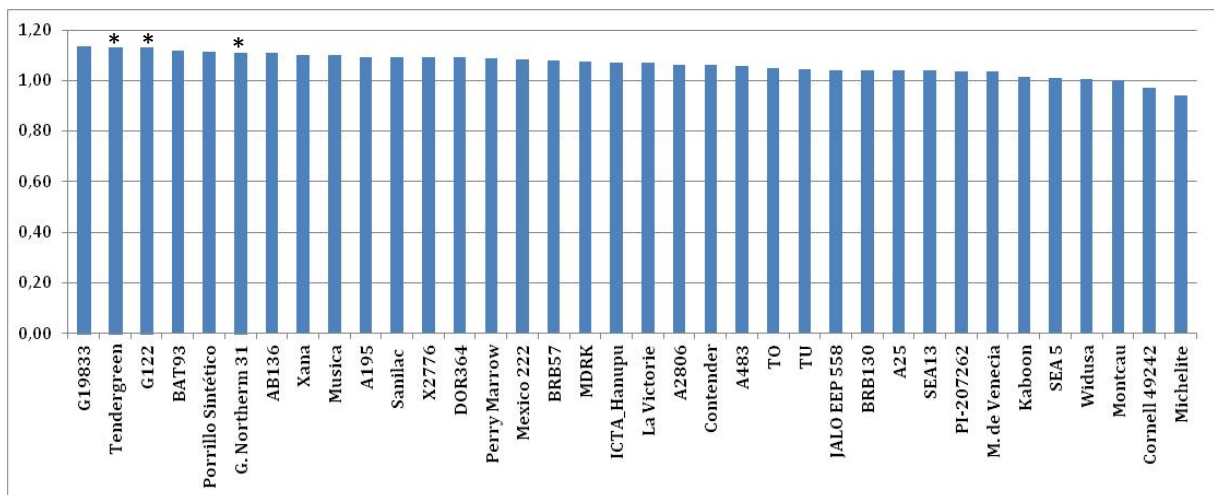


Figura 2. Relación en contenido relativo en clorofila de la hoja cotiledonal de las plantas sometidas a estrés y las plantas no sometidas (control). Con asterisco se indican los genotipos que mostraron diferencias significativas.

La Figura 3 muestra el histograma obtenido para la relación en el contenido relativo en clorofila del foliolo central de la primera hoja trifoliada. Al igual que en la hoja cotiledonal, la mayoría de las líneas mostraron valores mayores de 1 para esta relación. Las líneas descritas como tolerantes SEA5 y SEA13, mostraron valores mayores de 1, sugiriendo una importante acumulación de clorofila en el caso de las plantas estresadas. Los valores extremos fueron encontrados en los líneas G19833 y Kaboon. De las cuatro líneas de la clase comercial *faba asturiana* todas mostraron valores por encima de 1, excepto X2776, que se quedó en 0,98. En este caso el contenido de clorofila en la hoja trifoliada fue superior en el tratamiento control. Se indican aquellos genotipos que presentaron diferencias significativas entre tratamientos para este carácter.

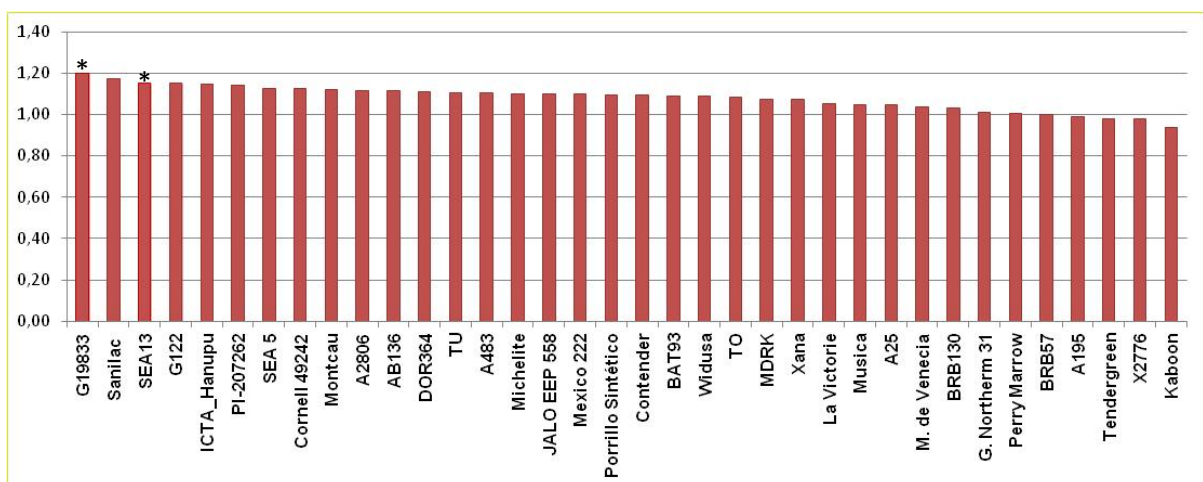


Figura 3. Relación en contenido relativo en clorofila del foliolo central de la primera hoja trifoliada de las plantas sometidas a estrés y las plantas no sometidas. Con asterisco se indican los genotipos que mostraron diferencias significativas.

La Figura 4 muestra el histograma obtenido para la relación en el caracter superficie del foliolo central de la primera hoja trifoliada. Todos los materiales mostraron valores menores de 1, variando entre 0,59 en el genotipo Sanilac, y 0,17 en el genotipo Tendergreen. Esto refleja claramente que el tamaño de las hojas fue mayor en las plantas control. Las líneas SEA 5 y SEA 13 mostraron valores altos, 0,52 y 0,50 respectivamente. Las cuatro líneas de la clase comercial *faba asturiana* mostraron valores que oscilaron entre 0,41, en A25 y 0,26 en A2806. Se indican aquellos genotipos que presentaron diferencias significativas entre tratamientos para este caracter.

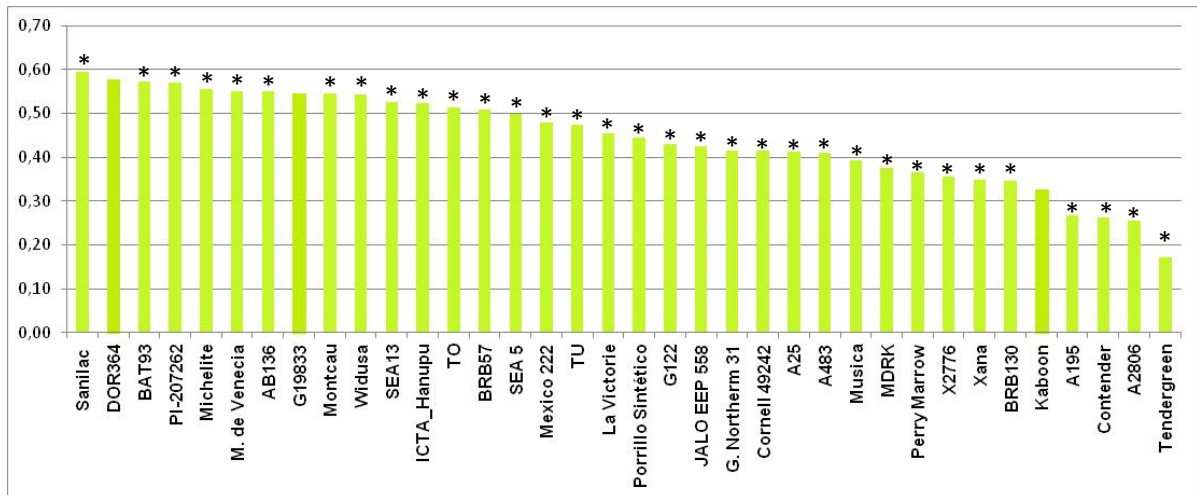


Figura 4. Relación en el caracter superficie del foliolo central de la primera hoja trifoliada de las plantas sometidas a estrés y las plantas no sometidas. Con asterisco se indican los genotipos que mostraron diferencias significativas.

La Figura 5 muestra a modo de ejemplo, la diferencia de aspecto fenotípico que presentaban las plantas tratadas y control en las líneas Sanilac y BAT93 al finalizar el test.



A



B

Figura 5. Aspecto fenotípico que presentaban las líneas Sanilac (A) y BAT93 (B) al finalizar el test. En la derecha, plantas control. En la izquierda, plantas tratadas.

4 Discusión

Las plantas responden a la sequía con cambios morfológicos y fisiológicos. Por ello la valoración de la respuesta a la sequía puede efectuarse usando diferentes variables y metodologías.

En este trabajo se compara la respuesta en 5 caracteres de 36 genotipos de judía sometidos a déficit hídrico frente a la respuesta con riego normal. El análisis de varianza multifactorial reveló diferencias significativas entre los genotipos para las 5 variables medidas. Sin embargo, sólo las variables contenido en clorofila en la hoja cotiledonal y trifoliada, y la variable superficie del foliolo central de la primera hoja trifoliada revelaron diferencias significativas entre los dos tratamientos. Esto sugiere que las otras variables, contenido en agua y mortalidad, no son variables óptimas para medir la respuesta frente a la sequía.

Entre las tres variables que exhibieron una variación significativa entre tratamientos, la variable superficie fue la que mostró mayor grado de variación. En general se observó una reducción de la superficie de este foliolo en casi todas plantas sometidas a tratamiento, lo que coincide con lo descrito por Akbar-Ghanbari et al., (2013) en test desarrollados en campo. En 33 de los 36 genotipos investigados aparecen diferencias significativas (Tabla 3), lo que parece sugerir que se trata de la mejor variable de las tres para valorar la respuesta a este estrés abiótico en este tipo de tests. Akbar-Ghanbari et al., (2013) también observa que entre el set de caracteres que mide en 8 genotipos de judía, la superficie de la hoja es la que mayor variación significativa proporciona. Esta reducción en el tamaño del foliolo probablemente guarda relación con en biomasa e índice de cosecha observado en valoraciones llevadas a cabo en campo (Ramirez_Vallejo and Kelly, 1998; Rosales et al., 2013; Mukeshimana et al., 2014).

Para identificar los genotipos que muestran mayor tolerancia a este estrés se investigó la relación entre los valores de las plantas sometidas a estrés y las plantas no sometidas. Aquellos genotipos con valores próximos a 1 indican una mínima variación en la respuesta a este estrés.

Esta relación para la variable superficie del foliolo, fue en los 36 genotipos menor de 1. Esto es debido a que en las plantas sometidas a tratamiento, las hojas mostraban un menor desarrollo. Un total de 8 genotipos mostraron un valor para esta relación mayor de 0,55: Sanilac, DOR364, BAT93, PI207262, Michelite, Maravilla de Venecia, AB136 y G19833. En este punto, es interesante destacar que:

i) La mayor parte de las líneas con esta relación mayor de 0,55, presentan hábito de crecimiento de la planta no trepador: Sanilac, DOR364, BAT93, PI207262, Michelite. En general los genotipos descritos con alta tolerancia a la sequía presentan un hábito de crecimiento de la planta determinado o indeterminado erecto o rastroso debido, entre otras cosas a la relación entre la parte aérea y la raíz (Polanía et al., 2009).

ii) Las líneas SEA 5 y SEA 13, descritas con elevada tolerancia a la sequía en pruebas de campo, mostraron valores intermedios para este índice. Estas líneas disponen de un hábito de crecimiento determinados con una parte aérea pequeña y un ciclo de cultivo corto (entorno a los 80 días en condiciones de cultivo de Villaviciosa, Asturias).

iii) Las cuatro líneas de la clase *faba asturiana*, mostraron valores bajos en esta relación, oscilaron entre 0,41 y 0,26, lo que parece corresponderse con las observaciones en campo que indican la alta susceptibilidad de estos genotipos a la sequía.

Pese a que la variable superficie del foliolo central de la primera hoja trifoliada fue la que mayor variación proporcionó para medir la respuesta a estrés, resulta la más compleja de valorar. Esta variable precisa de la toma de muestras, digitalización de imágenes y medida digital de la superficie; frente a otras más sencillas como el contenido de clorofila de la hoja, estimado usando directamente el equipo SPAD 502. La mayor parte de los genotipos cuya relación era elevada para el carácter superficie, también resultó serlo para el carácter contenido en clorofila del foliolo central de la primera hoja trifoliada. Así ocurrió en los genotipos: Sanilac, PI207262, AB136 y G19833. También las líneas SEA 5 y SEA 13 mostraron valores elevados. Sin embargo, no se detectó una correlación significativa entre ambos índices, ni entre las variables medidas (datos no mostrados). Respecto al contenido en clorofila, el estudio en campo llevado a cabo en 2013 por Akbar-Ghanbari et al., (2013) describe una reducción del contenido en clorofila en las plantas sometida a estrés, lo contrario a la tendencia observada en este trabajo.

El test llevado a cabo para valorar la respuesta a la sequía ofrece una serie de ventajas frente a los tests clásicos que se desarrollan en campos de cultivo. Éstas son principalmente la rapidez de ejecución, la necesidad de menos recursos, el control de las variables ambientales y la ausencia de interacción con otros factores bióticos o abióticos. Los caracteres que afectan a la respuesta en uno y otro test pueden ser diferentes. Por ejemplo, en el test desarrollado no se valora la arquitectura de la planta o el fenotipo de la raíz que guarda una estrecha relación con la respuesta en los tests en campo. Por ello resulta necesario contrastar el comportamiento de los genotipos preseleccionados en test de campo con el fin de verificar su posible mayor tolerancia a la sequía.

5 Conclusiones

- El test desarrollado para evaluar la respuesta a la sequía en fases tempranas reveló diferencias significativas en la respuesta de los genotipos analizados, por lo que puede ser usado para la selección de potenciales genotipos tolerantes a la misma.
- De los cinco caracteres medidos, se propone el índice de la superficie del foliolo central de la primera hoja trifoliada como un indicador óptimo para valorar la respuesta a este estrés en condiciones controladas.
- Considerando el índice del carácter superficie del foliolo central de la primera hoja trifoliada, los genotipos que mayor tolerancia a la sequia presentaron en este test fueron: Sanilac, DOR364, BAT93, PI207262, Michelite, Maravilla de Venecia, AB136 y G19833
- Resulta necesario contrastar el comportamiento de los genotipos preseleccionados en test de campo o invernadero con el fin de verificar su posible mayor tolerancia a la sequia.

6 Referencias Bibliográficas

- Akbar-Ghanbari-Ghanbari, A., Shakiba-Reza, M., Toorchi, M., Choukan, R. 2013. Morpho-physiological responses of common bean leaf to wáter déficit stress. *European Journal of Experimental Biology* 3: 487-492.
- Assefa, T., Wu, J., Beebe, S. E., Rao, I. M., Marcomin, D., Claude, R.J. 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.
- Beebe, S. E., Rao, I. M., Blair, M. W., Acosta-Gallegos, J. A. 2013. Phenotyping common beans for adaptation to drought. *Front Plant Physiol* 4: 1-20.
- Cavaliere, A., Merchant, A., van Volkenburgh, E. 2011. Why not beans? *Funct Plant Biol.* 38: 3-6.
- FAO. 2001. Perfiles nutricionales por países. Nicaragua. Available online at: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/nutrition/ncp/nic.pdf>.
- FAO. 2012. *FAOSTAT: FAO Statistical Databases*. Available online at: <http://faostat.fao.org>
- Ferreira, J.J., Campa A., Pérez-Vega, E. 2005. Conservación y utilización de variedades tradicionales de faba en Asturias: colección activa del Principado de Asturias. *SERIDA KRK Ediciones*.
- Fisher, R. A., Maurer, R., 1978, Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses in spring wheat. *Australian J. Agric. Sci.* 29: 892-912.
- Graham, R. D., Welch, R. M., Saunders, D. A., Ortiz-Monasterio, I., Bouis, H. E., Bonierbale, M., et al. 2007. Nutritious subsistence food systems. *Adv. Agron.* 92: 2-75.
- IPCC. 2001. Climate change 2001: the scientific basis. En: Houghton, J. T., Ding, Y., Griggs, J., Noguer, M., Van der Linden, P. J., Dai, X., Maskell, K., Johnson, C. A. edit. Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. *Cambridge University Press, Cambridge*.
- Lauer, J. G., Bijl, C. G., Grusak, M. A., Baenzinger, P. S., Boote, K., Lingle, S., et al. 2012. The scientific grand challenges of the 21st century for the Crop Science Society of America. *Crop Science* 52: 1003-1010.

- McClellan, P. E., Burridge, J., Beebe, S. E., 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*). *Funct. Plant Biol.* 38: 927-933.
- Miklas, P. N., Kelly, J. D., Beebe, S.E., Blair, M. W. 2006. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: from classical to MAS breeding. *Euphytica* 147: 106-131.
- Mukeshimana, G., Butare, L., Cregan, P. B., Blair, M. W., Kelly, J. D. 2014. Quantitative Trait Loci Associated with Drought Tolerance in Common Bean. *Crop Science* 54: 923-938.
- Muñoz-Perea, C., Allen, R. G., Westermann, D. T., Wright, J. L., Singht, S. P. 2007. Water use efficiency among dry bean landraces and cultivars in drought-stressed and non-stressed environments. *Euphytica* 155: 393-402.
- Polanía, J. A., Rao, I. M., Beebe, S. E., García, R. 2009. Root development and distribution under drought stress in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in a soil tube system. *Agronomía Colombia* 27: 25-32.
- Rambal, S., Debussche, G. 1995. Water balance of Mediterranean ecosystems under a changing climate. Páginas: 386-407 En: Moreno, J. M., Oechel, W. C. edit. Global change and Mediterranean-type ecosystems. *Springer Verlag*, New York.
- Ramirez-Vallejo, P., Kelly, J. D. 1998. Traits related to drought resistance in common bean. *Euphytica* 99: 127-136.
- Reichstein, M., Tenhunen, J. D., Rouspard, O., Ourcival, J. M., Rambal, S., Miglietta, F., Peressotti, A., Pecchiari, M., Tirone, G., Valentini, R. 2002. Severe drought effects on ecosystem CO₂ and H₂O fluxes at three Mediterranean evergreen sites: revision of current hypotheses? *Global Change Biology* 8: 999-1017.
- Rodó, X., Comín, F. 2001. Fluctuaciones del clima mediterráneo: conexiones globales y consecuencias regionales. Páginas: 1-36 En: Zamora, R., Pugnaire, F. I. edit. *Aspectos funcionales de los ecosistemas mediterráneos*. CSIC-AEET, Granada.
- Rosales, M. A., Cuellar-Ortiz, S., Arrieta-Montiel, S. P., Acosta-Gallegos, J., Covarrubias, A. 2013. Physiological traits related to terminal drought resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Sci food agric.* 93: 324-331.
- Schwartz, H.F., Steadman, J.R., Hall, R., Forster, R.L. 2005. Compendium of bean diseases. H.F. The American Phytopathology Society, Minnesota, USA.
- Singh, S.P., Schwartz, H.F. 2010. Breeding common bean for resistance to diseases: a review. *Crop Science* 50: 2199-2223.
- Suzuki, N., Rivero, R. M., Shulaev, V., Blumwald, E., Mittler, R. 2014. Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytologist* 203: 32-43.

Terán, H., Singh, S. P. 2002. Comparison of sources and lines selected for drought resistance in common bean. *Crop Science* 42: 64-70.

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

Páginas webs visitadas

www.faba-asturiana.org (visitada en junio 2015).

www.fao.org (visitada en junio 2015).

7 Agradecimientos

A los tutores de este proyecto, la Dra. D. Ana María Campa Negrillo y el Dr. D. Juan José Ferreira Fernández, sin vuestra ayuda y vuestra dedicación no hubiera sido posible. Gracias por haberme acercado a la Genética Vegetal, un mundo hasta entonces desconocido para mí.

A Ester, por toda su ayuda. Por sus consejos, siempre sabios, y por su paciencia, infinita, en los largos días de toma de datos.

A Fernando, a Montse, y a Marcos por ayudarme y por facilitarme las tareas.

A mis compañeros de Máster, porque me llevo algo de cada uno de vosotros.

A Carme, por acompañarme nesta aventura, que ás veces foi odisea.

Y por último, a los míos, ellos ya saben por qué.

A todos: muchísimas gracias.

Este trabajo ha sido desarrollado en las instalaciones del Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario del Principado de Asturias (SERIDA), en Villaviciosa. Ha sido llevado a cabo bajo el Programa de Genética Vegetal del Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales, financiado en parte con el Proyecto de Investigación RTA2012-0052. Sheila San Martín Castaño, es beneficiaria de una beca del Ministerio de Economía y Competitividad para cursar estudios de Máster en el curso académico 2014/2015.

