



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
E.A.P. DE BIOLÓGÍA Y BIOTECNOLOGÍA



TESIS

Respuesta fisiológica y rendimiento de accesiones de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar “ñaña” sometidas a estrés hídrico en condiciones de invernadero en Cajamarca - Perú.

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO**

PRESENTADO POR:

BACH.CS. LÍA ESMERALDA ALIAGA ZURITA.

ASESOR:

M.Cs. Blgo. NESTOR ESTUARDO CARBAJAL CABALLERO.

CO-ASESOR:

M.Cs. Ing. ANGEL ESTEBAN SANTA CRUZ PADILLA.

CAJAMARCA – PERÚ

2022

COPYRIGHT ©

LÍA ESMERALDA ALIAGA ZURITA

Todos los derechos reservados

ii

FICHA CATALOGRÁFICA

Aliaga, Z. 2022. **Respuesta fisiológica y rendimiento de accesiones de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar “ñuña” sometidas a estrés hídrico en condiciones de invernadero en Cajamarca – Perú.** / Lía Esmeralda Aliaga Zurita.

Escuela Académico Profesional de Biología y Biotecnología

Asesor: M.Cs. Blgo. Nestor Estuardo Carbajal Caballero.

Co-Asesor: M.Cs. Ing. Angel Esteban Santa Cruz Padilla.

Disertación académica para obtener el título profesional de Biólogo Biotecnólogo – UNC
2022

RESPUESTA FISIOLÓGICA Y RENDIMIENTO DE ACCESIONES DE *Phaseolus vulgaris* L. CULTIVAR “ÑUÑA” SOMETIDAS A ESTRÉS HÍDRICO EN CONDICIONES DE INVERNADERO EN CAJAMARCA – PERÚ.

AUTOR: Bach. Lía Esmeralda Aliaga Zurita

ASESORA: M.Cs. Blgo. Nestor Estuardo Carbajal Caballero.

CO-ASESOR: M.Cs. Ing. Angel Esteban Santa Cruz Padilla.

Tesis evaluada y aprobada para la obtención del Título Profesional de Biólogo –
Biotecnólogo de la Universidad Nacional de Cajamarca, por los siguientes jurados.

JURADO EVALUADOR



.....
Presidente

M.Cs. Gustavo Iberico Vela



.....

Secretario

Dr. Luis Gilberto García Izquierdo



.....
Vocal

M.Cs. Walter La Torre Cabanillas

Cajamarca, 2022 – Perú



Universidad Nacional de Cajamarca

"Norte de la Universidad Peruana"

Fundada por Ley 14015 del 13 de Febrero de 1962

Facultad de Ciencias de la Salud

Av. Atahualpa 1950

Teléfono/ Fax 36-5845



MODALIDAD "A"

L

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
PROFESIONAL DE BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO

En Cajamarca, siendo las 04:00 p.m. del 28 de octubre del año 2022, los integrantes del Jurado Evaluador para la revisión y sustentación de la tesis, designados en Consejo de Facultad a propuesta del Departamento Académico, reunidos en el ambiente II -304 de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Cajamarca, dan inicio a la sustentación de tesis denominada: "Respuesta fisiológica y rendimiento de accesiones de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar "ñuña" sometidas a estrés hídrico en condiciones de invernadero en Cajamarca – Perú." de la Bachiller en Ciencias Biológicas: Lía Esmeralda Aliaga Zurita.

Siendo las 05:30 p.m. del mismo día, se da por finalizado el proceso de evaluación, el Jurado Evaluador da su veredicto en los siguientes términos: **APROBADA – MUY BUENO**, con el calificativo de **18**, con lo cual el Bachiller en Ciencia Biológicas se encuentra **EXPEDITA** para la obtención del Título Profesional de: **BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO**.

Jurado Evaluador:

Presidente: M.Cs. Gustavo Iberico Vela

Secretario: Dr. Luis Gilberto García Izquierdo

Vocal: M.Cs. Walter La Torre Cabanillas

Asesor: M.Cs. Blgo. Néstor Estuardo Carbajal Caballero

Co-asesor: M.Cs. Ing. Ángel Esteban Santa Cruz Padilla

Presidente

Gustavo Iberico Vela

Asesor

M.Cs. Blgo. Néstor Estuardo Carbajal Caballero

Secretario

Luis Gilberto García Izquierdo

Co-asesor

M.Cs. Ing. Ángel Esteban Santa Cruz Padilla

Vocal

Walter La Torre Cabanillas

Tesista

Lía Esmeralda Aliaga Zurita

A:

Mis padres Enrique y Aída, mi abuelita Sulema, a mis hermanas Samantha y Paola y a mis sobrinos Avril y Mateo, quienes han sido y son mi fuente de motivación e inspiración.

En algún lugar, algo increíble está esperando ser descubierto.

-Carl Sagan.

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi más sincero agradecimiento a:

Dios por permitirme obtener los logros profesionales esperados.

A los M.Cs Nestor Carbajal y Angel Santa Cruz, asesores de esta investigación, por su compromiso, dedicación y conocimiento brindado en el desarrollo de la presente tesis.

A mi familia, quienes siempre me motivaron a seguir creciendo profesionalmente y a creer en mí.

Al Instituto Nacional de Innovación Agraria - Estación experimental Baños del Inca por concederme las facilidades y el material biológico usados en el desarrollo de esta investigación.

Al Ingeniero Jorge Vásquez, por su apoyo en la instalación del invernadero y su gran ayuda en la toma de muestras y procesamiento de datos.

TABLA DE CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO	ix
LISTA DE ILUSTRACIONES	xi
LISTA DE ABREVIACIONES	xiii
GLOSARIO	xiv
RESUMEN	xvii
ABSTRACT.....	xviii
CAPÍTULO I.....	1
CAPÍTULO II	6
2.1. <i>Phaseolus vulgaris</i> L. cultivar ñuña.....	6
2.2. Morfología de la planta	6
2.3. Fenología del frijol común	8
2.4. Distribución geográfica	10
2.5. Variabilidad genética.....	11
2.6. Requerimientos ambientales	13
2.7. Rendimiento del frijol común.....	16
2.8. Importancia nutricional	17
2.9. Estrés hídrico	18
2.10. Formación de especies reactivas de oxígeno ROS por estrés hídrico	19
2.11. Mecanismos de resistencia bajo estrés hídrico.....	21
2.12. Los efectos del estrés por sequía en la expresión del gen <i>PvOAT</i> involucrado en la biosíntesis de prolina.	22
2.13. Genes asociados a la tolerancia a la sequía en <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	23
2.14. Índices fisiológicos del crecimiento afectados en respuesta al estrés hídrico	26
CAPÍTULO III.....	28
3.1. Nivel de investigación	28
3.2. Tipo y diseño de investigación	28
3.3. Material Vegetal.....	28
3.4. Preparación del Invernadero	29
3.5. Condición de riego	29
3.6. Evaluaciones realizadas.....	31

3.7.	Indicadores de la respuesta fisiológica	32
3.8.	Rendimiento agronómico en g.planta ⁻¹	35
3.9.	Registro y análisis de datos.....	36
CAPÍTULO IV		37
4.1.	Resultados.....	37
4.1.1.	Índice de área foliar (IAF)	37
4.1.2.	Tasa de Asimilación Neta (TAN)	40
4.1.3.	Tasa Relativa de Crecimiento (TRC).....	43
4.1.4.	Tasa Relativa de Crecimiento Foliar (TRCF).....	46
4.1.5.	Índice de Cosecha (IC)	48
4.1.6.	Rendimiento agronómico en g.planta ⁻¹	49
4.2.	Discusión	53
CAPÍTULO V		61
5.1.	Conclusiones	61
5.2.	Recomendaciones.....	63
LISTA DE REFERENCIAS		64
APÉNDICES		73
ANEXOS.....		79

LISTA DE ILUSTRACIONES

Figura	Página
Figura 1. Variabilidad morfológica de las semillas de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. cultivar ñuña.	8
Figura 2. Escala fenológica de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	10
Figura 3. Mapa de distribución geográfica de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. cultivar “ñuña” en el Perú.....	11
Figura 4. Esquema general del diseño metodológico de la presente Tesis.....	31
Figura 5. Procedimiento para medir el área foliar de las hojas utilizando el Software Easy Leaf Area Free.	33
Figura 6. Histogramas de frecuencias del índice de área foliar (IAF) de accesiones de ñuña, según condición de riego y etapa fenológica.....	39
Figura 7. Histogramas de frecuencias de la Tasa de Asimilación Neta (TAN) de accesiones de ñuña, según condición de riego y etapa fenológica.....	42
Figura 8. Histogramas de frecuencias de la Tasa Relativa de Crecimiento (TRC) de accesiones de ñuña, según condición de riego y etapa fenológica.....	45
Figura 9. Histogramas de frecuencias de la Tasa Relativa de Crecimiento (TRCF) de accesiones de ñuña, según condición de riego y etapa fenológica.....	47
Figura 10. Distribución de frecuencia de las 50 accesiones de ñuña según su Índice de cosecha (IC) y por condición de riego.....	49
Figura 11. Valores de rendimiento agronómico de 50 accesiones de ñuña según condición de riego..	52
Figura 12. Esterilización del sustrato con formol a concentración de 1.55% (v/v) en la EEA Baños del Inca.	74
Figura 13. Distribución del sustrato en contenedores de plástico para vivero (1.2kg / contenedor) en el invernadero ubicado en EEA- Baños del Inca.	75
Figura 14. Instalación en invernadero, con tres grupos de condición de riego (C0: sin restricción de riego, C1: con restricción de riego en R5 y C2: con restricción de riego en R7) y 150 tratamientos.	76
Figura 15. Recopilación de datos de los 150 tratamientos de ñuña. La autora en labor de recopilación de datos.	77

Tabla 1. Cuadrados medios y significación del ANAVA el índice de área foliar (IAF) en tres etapas fenológicas de las 50 accesiones de ñuña con tres condiciones de riego.	38
Tabla 2. Cuadrados medios y significación del ANAVA para la tasa de asimilación neta (TAN) en tres etapas fenológicas de las 50 accesiones de ñuña con tres condiciones de riego.	41
Tabla 3. Cuadrados medios y significación del ANAVA para la tasa relativa de crecimiento (TRC) en tres etapas fenológicas de las 50 accesiones de ñuña con tres condiciones de riego.	44
Tabla 4. Cuadrados medios y significación del ANAVA para la tasa relativa de crecimiento foliar (TRCF) en tres etapas fenológicas de las 50 accesiones de ñuña con tres condiciones de riego.	46
Tabla 5. Cuadrados medios y significación del ANAVA para la el índice de cosecha en porcentaje (IC%) en la etapa de madurez fisiológica (R9) de las 50 accesiones de ñuña con tres condiciones de riego.	48
Tabla 6. Cuadrados medios y significación del ANAVA para el rendimiento agronómico en g.planta ⁻¹ en la etapa de madurez fisiológica (R9) de las 50 accesiones de ñuña con tres condiciones de riego.	51
Tabla 7. Comparación de medias del rendimiento agronómico en g.planta ⁻¹ según condición de riego para las 50 accesiones de ñuña en la etapa de madurez fisiológica (R9).	51

LISTA DE ABREVIACIONES

Abreviaciones	Descripción
ANAVA:	Análisis de Variancia
CM:	Cuadrado medio
DCA:	Diseño Completos Aleatorizados
gl:	grados de libertad
ha:	Hectárea
IAF:	Índice de Área Foliar
IC:	Índice de Cosecha
INIA:	Instituto Nacional de Innovación Agraria
Ln:	Logaritmo natural
m s.n.m.:	Metros sobre el nivel del mar
MIDAGRI:	Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego
S.P.S.S:	Statistical Package for Social Sciences (Software estadístico)
SENAMHI:	Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología
kg.ha⁻¹:	Kilogramos por hectárea
TAN:	Tasa de asimilación neta
TRC:	Tasa Relativa de Crecimiento
TRCF:	Tasa Relativa de Crecimiento Foliar

GLOSARIO

Accesión. Término agronómico que hace referencia a una muestra viva singularmente identificable de semillas que representa un cultivar, una línea de cría o una población mantenida en un banco de germoplasma para su conservación, uso y estudios de fitomejoramiento (Castillo, 2013).

Acervo genético. Se refiere a diversidad genética total, incluyendo todas las posibilidades alélicas, que se encuentra dentro de una población o una especie. Una población con gran acervo genético tiene una gran diversidad genética y es más capaz de resistir los desafíos que plantean las tensiones ambientales a diferencia de las poblaciones con acervos genéticos reducidos (Rotimi, 2021).

Estrés hídrico. Para el frijol común, la definición funcional de estrés hídrico es la insuficiente disponibilidad de agua, incluida la precipitación (lluvias) y la baja capacidad de almacenamiento de humedad del suelo, en cantidad y distribución durante el ciclo de vida del cultivo, lo que restringe la expresión de todo el potencial genético del cultivo (Beebe *et al.*, 2013).

Especies reactivas de oxígeno ROS. Las especies reactivas de oxígeno son compuestos que se derivan de la molécula de oxígeno (O_2) por reducción química parcial. Se incluyen a los peróxidos de hidrógeno (H_2O_2), y las formas reactivas del oxígeno, que abarcan a los superóxidos y al radical hidroxilo (HO). Son ubicuas, altamente reactivas, se producen en el metabolismo del oxígeno en todos los sistemas biológicos aeróbicos (Le Bras *et al.*, 2005). En las plantas, el estrés por sequía genera ROS, que causan peroxidación lipídica, deterioro de la membrana y modificaciones del ADN (Asada, 1999).

Fenología. Fases sucesivas del desarrollo de una planta, desde la germinación de la semilla hasta la producción de nueva semilla. (Seminario 1993 citado por Santa Cruz, 2017).

Genotipo. Un genotipo es la colección de genes de un individuo, es la versión de la secuencia de ADN que cada individuo tiene, es decir, es la cantidad de variación en la secuencia de ADN entre distintos individuos. El cambio de secuencia con frecuencia, no siempre, está relacionado con un cambio en un rasgo externo; algo observable (correlación genotipo-fenotipo). Además dicho cambio en el rasgo puede ser positivo, negativo, o una simple diferencia (Austin, 2021).

Plasticidad fenotípica. La plasticidad fenotípica (PF) es la habilidad que posee un mismo genotipo para producir diferentes fenotipos en respuesta a diferentes condiciones ambientales, y constituye uno de los medios por los cuales las plantas pueden ajustar su morfología y fisiología, permitiéndoles enfrentarse a la heterogeneidad de su ambiente natural (Gianoli, 2004).

Respuesta fisiológica y rendimiento de accesiones de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar “ñaña” sometidas a estrés hídrico en condiciones de invernadero en Cajamarca – Perú.

RESUMEN

La ñuña es un cultivar de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) ampliamente cultivado en la región sierra del Perú. Sin embargo, la ocurrencia de períodos prolongados de sequía en zonas de cultivo es uno de los factores que reduce drásticamente su crecimiento y rendimiento. Frente a esta problemática, el estudio y selección de accesiones de ñuña tolerantes al estrés hídrico ha tomado relevancia para garantizar su productividad en áreas donde los periodos de aridez son comunes. El objetivo de este estudio fue determinar el comportamiento fisiológico y el rendimiento de 50 accesiones de ñuña bajo tres condiciones de riego durante la fase reproductiva y a nivel de invernadero. Se estableció un Diseño Completamente Aleatorizado (DCA) con dos factores: Acceso y condición de riego. Los niveles en el primer factor fueron 50 (ACC1-ACC50); el segundo factor tuvo 3 niveles: C0, sin restricción de riego. C1, con restricción de riego en la pre-floración, y C2, con restricción de riego en la formación de vainas. En total fueron 150 tratamientos, con tres repeticiones cada uno. Los índices fisiológicos IAF, TAN, TRC, TRCF fueron determinados en las etapas R6, R8 y R9. El IC y el rendimiento fueron determinados en la etapa R9. La restricción de riego en C1 y C2 produjo respuestas fisiológicas estadísticamente distintas en algunas de las 50 accesiones de ñuña; no hubo diferencias significativas en los valores del rendimiento de los tratamientos. En general la restricción de riego causó la disminución de los valores de los índices fisiológicos y del rendimiento agronómico. La restricción de riego también redujo el rendimiento promedio de las 50 accesiones, en 54.01% en C1 y en 56.12% en C2 ($p > 0.05$), posiblemente causado por el desencadenamiento prematuro de madurez fisiológica asociado al estrés hídrico. El tratamiento ACC4C1 que mostró alto IC (42.39%) y los tratamientos con mayores rendimientos (ACC50C1, ACC1C1, ACC26C1, ACC27C2 y ACC10C2), pueden ser de interés para mejorar la productividad del cultivo de ñuña, particularmente bajo condiciones de déficit hídrico.

Palabras clave: Sequía terminal, tolerancia, sensibilidad, índice de cosecha, materia seca.

ABSTRACT

The ñuña is a common bean cultivar (*Phaseolus vulgaris* L.) widely cultivated in the peruvian highlands. However, the occurrence of prolonged periods of drought in cultivated areas is one of the factors that drastically reduces its growth and yield. Faced with this problem, the study and selection of ñuña accessions tolerant to water stress has become relevant to guarantee their productivity in areas where periods of aridity are common. The objective of this study was to determine the physiological behavior and yield of 50 accessions of ñuña under three irrigation conditions during the reproductive phase and at the greenhouse level. A Completely Randomized Design (CRD) was established with two factors: Accession and irrigation condition. The levels in the first factor were 50 (ACC1-ACC50); the second factor had 3 levels: C0, without irrigation restriction. C1, with irrigation restriction in pre-flowering, and C2, with irrigation restriction in pod formation. In total there were 150 treatments, with three repetitions each one. The physiological indices LAI, NAR, RGR, RLGR were determined in stages R6, R8 and R9. HI and yield were determined in step R9. Irrigation restriction in C1 and C2 produced statistically different physiological responses in some of the 50 ñuña accessions; there were no significant differences in the yield values of the treatments. In general, the irrigation restriction caused the decrease in the values of the physiological indices and the agronomic yield. Irrigation restriction also reduced the average yield of the 50 accessions, by 54.01% in C1 and 56.12% in C2 ($p>0.05$), possibly caused by the premature triggering of physiological maturity associated with water stress. The ACC4C1 treatment, which showed a high HI (42.39%) and the treatments with higher yields (ACC50C1, ACC1C1, ACC26C1, ACC27C2 and ACC10C2), may be of interest to improve the productivity of the ñuña crop, particularly under conditions of water deficit.

Keywords: Terminal drought, drought tolerance, sensibility, harvest index, dry matter.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar “ñuña” es una leguminosa cuyo cultivo y consumo está muy extendido en la región de la sierra peruana, siendo los departamentos Ancash, Cajamarca y Huánuco, sus mayores centros de producción (Gamarra *et al.*, 1996; Santa Cruz y Vásquez, 2021). Presenta una mayor distribución en la zona andina entre los 1900 y 3300 m s.n.m, donde se siembra usualmente entre los meses de septiembre a mayo (Zimmerer, 1986, 2021). La ñuña es un producto con un alto valor nutricional, debido a que contiene un alto porcentaje de proteína (alrededor de 20%) en sus semillas Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) de 2009, que es la parte de la planta que se comercializa.

El departamento Cajamarca figura como uno de los principales productores de ñuña, siendo los cultivares de Pava, Maní, Limona, Tabona y Crema, que superan los 700 kg.ha⁻¹ (Camarena, Cerrate y Huaranga, 1990), las que muestran mayor rendimiento. Sin embargo, la falta de sistemas de riego en esta región sumado a la sensibilidad de la ñuña a heladas, enfermedades y sequía (Gamarra *et al.*, 1996), afectan negativamente el crecimiento y la producción de los cultivos de ñuña.

Uno de los factores abióticos que más afecta la productividad agrícola global y nacional es el estrés hídrico en las plantas el cual afecta numerosos procesos morfo-fisiológicos y bioquímicos importantes, como la fotosíntesis y la

respiración, lo que a su vez conduce a cambios morfo-anatómicos (Domínguez *et al.*, 2012). Estas alteraciones pueden provocar graves pérdidas de producción, pues, a pesar de que los frijoles se cultivan en una amplia variedad de ambientes alrededor del 60% son regiones propensas al déficit hídrico y los períodos inesperados de sequía pueden resultar en pérdidas de hasta el 100% de la cosecha (Thung y Rao, 1999; Polania *et al.*, 2016).

El Perú ocupa el tercer lugar entre los países con mayor extensión de tierras secas a nivel de América del Sur con más de 516 mil km² (aproximadamente 40% de la superficie total del país), entre zonas hiperáridas, áridas, semiáridas y subhúmedas secas según el Ministerio del Ambiente (MINAM) (2011). Además, el cambio climático podría aumentar la temperatura ambiental y disminuir el volumen de precipitaciones en la región (Gómez, 2008), lo que favorecería el incremento de condiciones que generan estrés hídrico en especies susceptibles como el frijol. Se piensa que la producción agrícola peruana viene enfrentando escenarios de cambio climático durante los últimos años lo cual ha afectado el rendimiento de los cultivos e ingresos de los productores (Torres y Gómez, 2008).

Frente a esta problemática, el desarrollo y selección de cultivos de frijol con tolerancia al estrés hídrico ha tomado relevancia como medio para garantizar su productividad en áreas donde las temporadas de sequía son comunes. Con este objetivo es necesario caracterizar el comportamiento de las diferentes variedades y accesiones disponibles frente a condiciones de sequía.

Rosales *et al.* (2012) reportaron reducciones en el rendimiento de dos cultivares de frijol común bajo condiciones de sequía terminal; de 17% (Pinto Saltillo) y de 42% (Bayo Madero), el primer cultivar también registró pérdida del área foliar (AF) a diferencia del segundo que mantuvo su AF pero redujo su producción de vainas. Además, registraron que la fotosíntesis y el crecimiento celular son los principales procesos afectados por la sequía con disminuciones significativas en la TAN de 61 y 24%; TRC de 64 y 37%; y TRCF de 60 y 116% en Bayo Madero y Pinto Saltillo respectivamente. Al respecto, Sánchez Reinoso, *et al.* (2020) encontraron que el estrés hídrico en las fases, vegetativa o reproductiva, causa efectos significativos sobre el rendimiento de grano y componentes del rendimiento en todos los genotipos de *P. vulgaris* L. estudiados con caídas del rendimiento de $\leq 40\%$ hasta 80% siendo ligeramente mayor cuando los cultivos son sometidos a estrés hídrico durante la fase reproductiva.

Algunos *P. vulgaris* L., como el cultivar Delicia, al ser sometidos a estrés hídrico dan como respuesta el aumento de su rendimiento total así lo registra Polón *et al.*, (2017), ya que este frijol sometido a estrés hídrico en la fase vegetativa incrementó significativamente su rendimiento en granos, el número de vainas por planta y la masa seca por planta en $\geq 65\%$. El autor sugiere que dicho comportamiento puede ser atribuido a un uso más eficiente del agua en contraste al tratamiento testigo. En cuanto a las correlaciones entre el rendimiento e índices fisiológicos Polania *et al.*, (2016), registró que 36 genotipos de *P. vulgaris* L. mostraron correlaciones positivas y significativas, entre el rendimiento de grano y el IC; y con el IAF. Además, registraron que los cultivares resistentes a la sequía terminal, de su estudio, combinaron el eficiente uso de agua para producir mayor

biomasa con una mayor partición de materia seca de las estructuras vegetativas a las vainas y granos lo que resulta en mayores rendimientos a diferencia de las líneas susceptibles.

A pesar del gran potencial nutritivo y agroindustrial que tiene el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar ñuña, es poco lo que se conoce acerca de su adaptación y rendimiento bajo condiciones de estrés. Por este motivo, en la presente tesis se planteó la interrogante de investigar la respuesta fisiológica y el rendimiento de 50 accesiones de ñuña sometidas a estrés hídrico bajo condiciones de invernadero. Como hipótesis se estableció que, las accesiones de ñuña en estudio sometidas a estrés hídrico responden con cambios significativos en el área foliar, la eficiencia fotosintética, el rendimiento de grano seco, la materia seca y el índice de cosecha. Sin embargo, estos cambios no son significativos en algunas accesiones.

Con el objetivo de determinar la respuesta de las plantas de ñuña de la colección del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), se diseñó un experimento usando 50 accesiones de ñuña (ACC1-ACC50) y tres condiciones de riego: C0, sin restricción de riego; C1, con restricción de riego en la prefloración, y C2, con restricción de riego en la formación de vainas. Por lo tanto, fueron 50 ACC x 3C = 150 tratamientos, estos se dispusieron en diseño completo aleatorizado DCA con tres repeticiones cada uno, en cada repetición se usaron tres plantas por lo que cada grupo de condición riego tuvo nueve plantas. Las mediciones peso fresco y seco y el área foliar, para determinar índices fisiológicos (IAF, TAN, TRC, TRCF e IC) y de producción (rendimiento), se realizaron en tres etapas

fenológicas (R6, R8 y R9). Es necesario señalar que esta etapa experimental fue llevada a cabo durante la prevalente pandemia de Covid-19, y las restricciones establecidas por este motivo dificultaron su ejecución.

La presente investigación aporta información relevante sobre el comportamiento de accesiones peruanas de ñuña en respuesta al estrés hídrico. Los datos sobre parámetros fisiológicos y de rendimiento presentados en esta tesis resultan útiles como criterios de selección en ñuña para mejorar su resistencia a la sequía, particularmente en la región Cajamarca.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. *Phaseolus vulgaris* L. cultivar ñuña

Según Sitte *et al.* (2004) y Santa Cruz y Vásquez (2021) la ñuña pertenece a:

Familia : Leguminosae (Fabaceae)

Especie : *Phaseolus vulgaris* L.

La ñuña es un cultivar de frijol común antiguo nativo de la región andina de América del Sur, cuyas semillas poseen la propiedad de reventar. Este cultivar de frijol común probablemente resultó de las primeras presiones de selección que condujeron a la domesticación del fríjol en esta zona andina donde ha sido ampliamente cultivado desde la época pre-inca (Gamarra *et al.*, 1996; Yuste *et al.*, 2012).

La sinonimia varía de un lugar a otro según la zona o región de cultivo. Por ejemplo, en el norte (Cajamarca, La Libertad) y en Lima se denomina “Numia” ó “Ñuña”; en el centro del Perú, “Apa”; en Huánuco, “nambia”; en Ancash, “nudia” y “hudia”; en Cuzco, “Kopuro”, y en Bolivia, “Chuvi”, “poroto”, “purutu”, “porotillo” (Gamarra *et al.*, 1996).

2.2. Morfología de la planta

La ñuña es una planta herbácea que puede alcanzar una altura de 4 metros, presenta un hábito de crecimiento tipo IV indeterminado trepador. La raíz está formada por la radícula del embrión, la cual se convierte posteriormente en la raíz principal, luego nacen las raíces secundarias y otras subdivisiones como los pelos

absorbentes donde se encuentran todos los puntos de crecimiento (INIA, 2009), que forma nódulos simbióticos con bacterias, principalmente del género *Rhizobium* (Cuadros, 2016).

El tallo herbáceo pubescente es el eje central de la planta, el cual está formado por una sucesión de nudos y entrenudos, de color verde y verde pigmentada, y se vuelve semileñoso hacia la cosecha, en las axilas aparece un complejo de yemas que luego se diferencian en ramas laterales. Presenta hojas de tipo simple y compuesta. Las flores son hermafroditas y autofecundables, se desarrollan en una inflorescencia de racimo, las inflorescencias pueden ser axilares o terminales. La inflorescencia tiene tres partes principales: el eje, las brácteas primarias, y los botones florales (INIA, 2009; Organización de las Naciones Unidas (FAO) (2018).

El fruto es el ovario desarrollado en forma de vaina con dos suturas que unen las dos valvas de color verde, verde pigmentado, y púrpura grisáceo. Las vainas son generalmente glabras o subglabras con pelos muy pequeños. La semilla puede tener una amplia variación en formas como redonda, ovoide, cuboide, reniforme o arriñonada, alargada truncada (INIA, 2009), y en color, se encuentra rodeada por una testa o cubierta protectora exterior que corresponde a la capa secundina del óvulo y recibe el nombre de epispermo. El lugar donde el óvulo estuvo unido al funículo generalmente permanece en la semilla como una pequeña cicatriz llamada hilio o hilium (FAO, 2018).

Morfológicamente, la semilla de ñuña es igual que la de cualquier tipo de frijol común (Figura 1), con la diferencia de que éste tiene la capacidad de reventar y aumentar de volumen cuando es sometido al calor (Marmolejo, 2018). La capacidad de reventar es una cualidad importante en los frijoles cultivar ñuña, la cual depende de la variabilidad genética presente en la población y de factores no genéticos. Es importante señalar que los factores que determinan la capacidad de reventar son desconocidos. Sin embargo, están relacionados con esta capacidad la forma de la semilla, su cubierta inelástica, la cantidad y calidad del almidón almacenado. (Cruz *et al.*, 2009). El tamaño del grano seco está relacionado con el fenómeno de expansión de grano al ser tostado, es decir, a mayor tamaño del grano la expansión del mismo será mayor, lo que trae como consecuencia incremento en los rendimientos (Van Beem, Kornegay y Lareo, 1992).

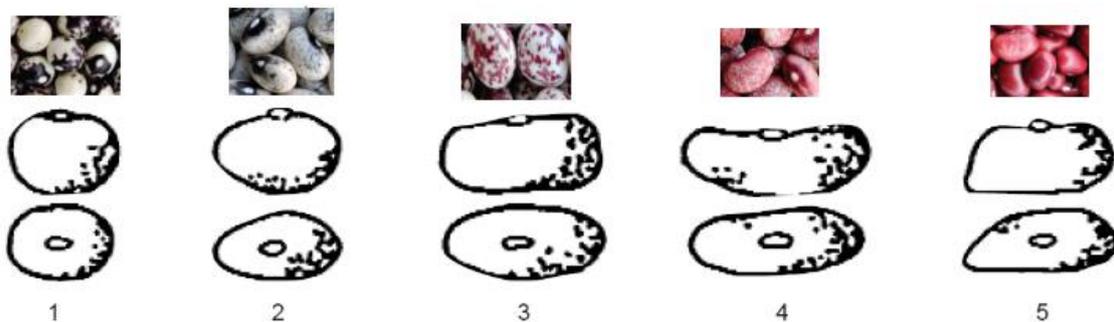


Figura 1. Variabilidad morfológica de las semillas de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar ñuña. 1. Redonda, 2. Oval, 3. Cuboide, 4. Réniforme, 5. Alargada truncada. Tomada de: International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), 2001.

2.3. Fenología del frijol común

La escala fenológica más actual de *P. vulgaris*, dada en el año 2009 por la Asociación de Productores de Santa Lucía (ASOPROL), describe diez etapas en el cultivo (Figura 2): cinco de desarrollo vegetativo (V) y cinco de desarrollo reproductivo (R), con 62 a 77 días a madurez después de la siembra en variedades

mejoradas según el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), la Cooperación Suiza para el desarrollo (COSUDE) y Red de innovación agrícola (RED SICTA) en el 2008. A continuación se describen tales etapas (Fernández, Gepts y López, 1986; Valladolid, 2001).

Fase vegetativa

- a. Germinación (V0): La semilla está en condiciones favorables para iniciar la germinación.
- b. Emergencia (V1): Los cotiledones del 50% de las plantas aparecen al nivel del suelo.
- c. Hojas primarias (V2): Las hojas primarias del 50% de las plantas están desplegadas.
- d. Primera hoja trifoliada (V3): La primera hoja trifoliada del 50% de las plantas está desplegada.
- e. Tercera hoja trifoliada (V4): La tercera hoja trifoliada del 50% de las plantas está desplegada.

Fase reproductiva

- f. Prefloración (R5): Los primeros botones o racimos han aparecido en el 50% de las plantas.
- g. Floración Plena (R6): Se ha abierto la primera flor en el 50% de las plantas.
- h. Formación de vainas (R7): Al marchitarse la corola, en el 50% de las plantas aparece por lo menos una vaina.

- i. Llenado de vainas (R8): Llenado de semillas en la primera vaina en el 50% de las plantas.
- j. Maduración (R9): Cambio de color en por lo menos una vaina en el 50% de las plantas (del verde al amarillo uniforme o pigmentado).

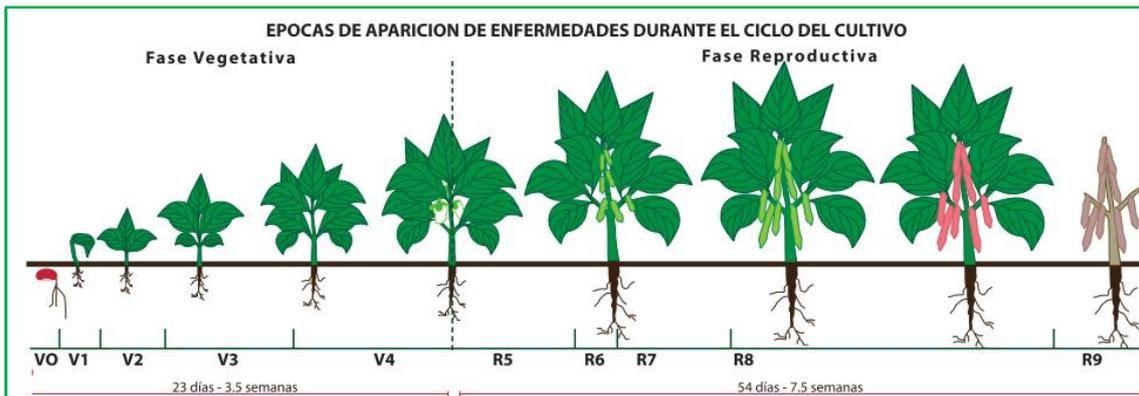


Figura 2. Escala fenológica de *Phaseolus vulgaris* L. Fuente: (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), Cooperación Suiza para el desarrollo (COSUDE) and Red de innovación agrícola (RED SICTA), 2008).

2.4. Distribución geográfica

La ñuña se distribuye desde Cajamarca - Perú (latitud 7° 30' S) hasta Chuquisaca - Bolivia (latitud 19° 30' S), entre 1900 a 3300 m de altitud (Zimmerer, 2021). Estudios etnobotánicos y arqueológicos indican que la ñuña se desarrolló en las zonas altas del Perú y Bolivia durante la época Pre-inca y fue extensamente cultivado durante periodo incaico (Gamarra *et al.*, 1996). Observaciones de frijoles antiguos, descubiertos en la Cueva Guitarrero en Ancash-Perú indican que este tipo de frijol común puede tener cerca de 11000 años de antigüedad (National Research Council, 1990).

La ñuña tradicionalmente es cultivada para el consumo humano local en las zonas andinas (Figura 3). En el Perú se cultiva en los departamentos de Cajamarca de 2200 a 2800 m s.n.m., La Libertad, Ancash, Huánuco, Junín, Ayacucho, Apurímac y en Cusco, donde son cultivadas en rangos altitudinales de 2800 a 2900 m s.n.m. También se encontró dos tipos de ñuñas por debajo de los 2000 m s.n.m. en el departamento de Amazonas (Tohme *et al.*, 1995; Marmolejo, 2018).



Figura 3. Mapa de distribución geográfica de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar “ñuña” en el Perú. (Elaborado con datos de Tohme *et al.*, 1995)

2.5. Variabilidad genética

El frijol común comprende dos acervos genéticos: el Mesoamericano y el Andino que difieren en sus morfologías, estructuras y niveles de diversidad genética tanto en poblaciones silvestres como domesticadas. El grupo Mesoamericano presenta mayor diversidad del germoplasma debido a su

componente de varianza Inter poblacional y diferenciación genética en el germoplasma domesticado (Beebe *et al.*, 2000; Beebe *et al.*, 2001).

Los acervos genéticos Andino y Mesoamericano de frijoles comunes domesticados se distinguen por la morfología de planta y semilla (Singh, Gepts y Debouck, 1991), reacciones a enfermedades que incluyen la antracnosis y la mancha foliar angular (Mahuku *et al.*, 2002), y por la variación del contenido mineral del grano, entre otros rasgos. Las diferencias entre los grupos genéticos también se determina claramente por marcadores de ADN (Beebe *et al.*, 2000; Amirul Islam *et al.*, 2004; Blair *et al.*, 2006).

Los principales genotipos de cada acervo genético, a su vez, se han dividido en razas según la morfología de la planta, el rango de adaptación y los rasgos agronómicos (Beebe *et al.*, 2013). Y se han propuesto tres razas dentro del acervo genético Andino (Singh, Gepts y Debouck, 1991) de las cuales se sabe que son diferentes en la prevalencia de hábitos de crecimiento y rangos de adaptación además de presentar semillas de diversos colores más atractivos y tamaños más grandes que las razas del acervo Mesoamericano (Singh, Gepts y Debouck, 1991).

La diversidad genética del grupo andino es menor que su diversidad morfológica (Beebe *et al.*, 2001), pues, a pesar de su vasta diversidad morfológica y de adaptación agroecológica tienen una base genética muy estrecha según los marcadores AFLP. Esto ha sido interpretado como que estas variedades derivan de una o muy pocas poblaciones silvestres posiblemente domesticadas en las faldas orientales de los Andes de Bolivia (Cruz *et al.*, 2009).

En la sierra del Perú la diversidad genética de la ñuña podría explicarse como resultado de miles de años de domesticación (Cuadros, 2016). El número de

variedades es amplio, principalmente en La Libertad y en Cajamarca, los genotipos más conocidos son 14 accesiones de ñuña, que presentan rangos de adaptación específicos debido a la alta interacción con el medio ambiente (Voysset, 2000; Castillo, 2013). Algunas de estas accesiones cuentan con buenos rendimientos y buena calidad de reventado, los cuales son considerados rasgos característicos de una herencia compleja (Otálora, Ligarreto y Romero, 2006).

Sin embargo, es necesaria una comprensión más profunda de la diversidad genética y la estructura de la población dentro del frijol común andino cultivado como la ñuña tanto para una mayor utilización del germoplasma útil como para el mapeo de asociaciones de rasgos valiosos como la tolerancia a la sequía (Beebe *et al.*, 2013).

2.6. Requerimientos ambientales

La luz solar es un factor crucial para el crecimiento vegetativo de los cultivos al ser la base de la fotosíntesis. También repercute en la fenología y morfología de las plantas. El frijol es una especie de días cortos, los días largos tienden a causar demora en la floración y la madurez. Cada hora más de luz por día puede retardar la maduración de dos a seis días, debido a ello, el fotoperiodo óptimo para la inducción de la floración es de 8 a 14 horas. (Ríos y Quirós, 2002).

Los cultivos de ñuña son altamente sensibles a la duración de la luz diurna y tienen fotoperiodo de días cortos. La mayoría, sino todas las variedades de ñuña, padecen sensibilidad y elongación frente a periodos muy largos de luz, además de que estos factores aumentan la temperatura ambiental lo que incrementa la sensibilidad en estos cultivos (Gamarra *et al.*, 1996), ya que cuando más alta sea

la temperatura promedio durante el ciclo de desarrollo de la ñuña los rendimientos van a ser más bajos (Voyssest, 2000). Las variedades de adaptación local son muy sensibles a las altas temperaturas, su desarrollo es anormal, produciéndose la abscisión de flores resultando en una menor producción y peso de vainas (Marmolejo, 2018).

El rango de temperatura ambiental en el que la ñuña se desarrolla adecuadamente es 10-30 °C, siendo 20 °C la temperatura óptima. Temperaturas menores o mayores al rango mencionado pueden ser dañinas (Llique, 1993). Este cultivo propio de la región de sierra requiere un clima templado, siendo las mejores zonas las quebradas abrigadas con altitudes no mayores de 3300 m s.n.m., debido a que es muy susceptible a las heladas, así como también la producción de ñuña suele ser baja en lugares de clima muy caluroso debido al poco desarrollo de la planta y el ataque de insectos (Marmolejo, 2018).

El porcentaje de humedad relativa óptima del aire durante la primera fase de cultivo del frijol es 60-65%, y posteriormente oscila entre 65-75%. Valores muy elevados de humedad relativa favorecen el desarrollo de enfermedades aéreas y dificultan la fecundación. Es importante que se mantenga sin excesivas oscilaciones de humedad (Hernández, 2013).

La humedad del suelo debe ser bien distribuida durante las diferentes etapas del desarrollo de la planta; principalmente durante la floración y formación de vainas, ya que de lo contrario reduce seriamente el rendimiento en aproximadamente 40% (Muñoz *et al.*, 2007). Generalmente el fríjol reventón cuando es sembrado en la sierra depende casi exclusivamente de las lluvias, necesitando durante su cultivo precipitaciones pluviales de 500 a 3000 mm

(Llique, 1993), por lo que se requiere de riegos suplementarios en temporadas con déficit de lluvia (Gamarra *et al.*, 1996).

El agua es una sustancia indispensable para el crecimiento y desarrollo de cualquier planta, como reactivo en la fotosíntesis, componente estructural, medio de transporte y regulador de temperatura. Se estima que más del 60 % de los cultivos de frijol en Sudamérica se ven afectados por falta de agua. En contraste con lo anterior, otras zonas donde se siembra frijol corresponden a pisos altitudinales con precipitaciones superiores a los 500 mm promedio anual y en el caso de climas fríos moderado, son superiores a los 1,000 mm, suficientes para satisfacer las necesidades de agua del cultivo (Marmolejo, 2018).

Está demostrado que el frijol no tolera el exceso ni la escasez de agua. Sin embargo, la planta ha desarrollado algunos mecanismos de tolerancia a estas condiciones de estrés, como el aumento en el crecimiento de las raíces para mejorar la capacidad de extracción de agua. En cambio, no se han identificado mecanismos de tolerancia al anegamiento, y su recuperación frente a este hecho se relaciona con la habilidad para producir raíces adventicias. Estudios realizados para medir el consumo de agua del frijol a lo largo de las etapas de desarrollo han permitido determinar que el mayor consumo se da en las etapas de floración y formación de las vainas (Ríos y Quirós, 2002).

En cuanto a suelos requiere las mismas condiciones que todo frijol común. El proceso de fijación del nitrógeno es más eficiente en las áreas iluminadas y suelos bien drenados debido al mejor crecimiento de rizobios (Castillo, 2013). La simbiosis de la ñuña y bacterias nitrificantes podría ser una práctica muy importante para el mejoramiento del suelo (Cuadros, 2016), con base en el

conocimiento por las cantidades de nitrógeno fijadas por el frijol (40-70 kg.ha⁻¹ de N) (Camarena, 2009).

En el sistema de monocultivo, la ñuña responde económicamente a la aplicación de 40 unidades de nitrógeno, 60 unidades de fósforo y 60 unidades de potasio. La mezcla de los tres elementos se aplica en la totalidad al momento de la siembra (Gamarra *et al.*, 1996).

En cuanto a altitud, la ñuña se adapta a altitudes que varían de los 1800 a 3300 m s.n.m, aunque su mayor distribución se encuentra en la zona andina entre los 1900 y 2900 m s.n.m. (Gamarra *et al.*, 1996).

2.7. Rendimiento del frijol común

El rendimiento de un cultivo es el resultado de la combinación del genotipo, el medio ambiente y el manejo adecuado de los cultivos. Los principales componentes que determinan el rendimiento son las vainas por planta, granos por vaina, peso de 100 granos y la cantidad de plantas cosechadas (Hernandez y Barquero, 2003).

La asociación de la ñuña con microbiota saludable a nivel radicular y del suelo resulta en mejora del rendimiento del cultivo. Bacterias como *Rhizobium phaseoli*, fijan el nitrógeno atmosférico y propician el crecimiento vegetativo, y el buen desarrollo y formación de granos, lo cual se traduce en el aumento del rendimiento, llegando a valores de más de 5 toneladas por hectárea de la ñuña “Azulita”, lo cual sugiere reemplazar a la fertilización nitrogenada con urea, disminuyendo la contaminación suelo y agua, además de reducir costos de cultivo (Cuadros, 2016).

En el Banco de Germoplasma del INIA, la colección de ñuña conformada por 146 accesiones, sembradas en la Estación Experimental Agraria Baños del Inca – Cajamarca, tienen un rango de rendimiento de 127 kg.ha⁻¹ a 2864 kg.ha⁻¹ (Santa Cruz y Vásquez, 2021).

2.8. Importancia nutricional

La ñuña es una leguminosa importante en la nutrición humana debido a su contribución de proteínas, carbohidratos complejos, vitaminas (folato), minerales (Cu, Ca, Fe, Mg, Mn, Zn), fibras dietéticas y compuestos fenólicos (Miklas *et al.*, 2006; Ulloa *et al.*, 2011; Villordo *et al.*, 2015). Además, proporciona hasta el 15% del total de calorías diarias (Chiozzotto *et al.*, 2018), debido a ello se considera una fuente natural de nutrientes esenciales para una dieta variada de más 500 millones de personas en América Latina y África (Broughton *et al.*, 2003).

La ñuña presenta altos contenidos de aminoácidos esenciales. En 100 g de semillas de ñuña, existen aproximadamente 20 g de aminoácidos totales, de los cuales casi 8.5 g son esenciales. En este grupo encontramos alrededor de 1.59 g de lisina, metionina 0.23 g, cisteína 0.188 g, triptófano 0.22 g (INIA, 2009).

La ñuña cuenta con perspectivas interesantes como un snack muy nutritivo en función a su contenido proteico para los mercados locales y de exportación, procesado en diferentes presentaciones (Rural Advancement Foundation International [RAFI], 2001; Otálora, Ligarreto y Romero, 2006; Marmolejo, 2018), todas estas presuponen un tratamiento térmico que mejora la textura y la

digestibilidad de las leguminosas debido a que destruye e inactiva los compuestos tóxicos y anti nutrientes sensibles al calor (Marmolejo, 2018).

También se han realizado ensayos de dietas con la ñuña, probándolas como sustituto de la harina de trigo hasta en un 20 % para la elaboración de galletas. En general, las galletas con harina de frijol presentan mayor contenido proteico (9.75 %) que las elaboradas solamente con harina de trigo (6.38 %) (Otálora, Ligarreto y Romero, 2006).

2.9. Estrés hídrico

Después de las enfermedades, el estrés hídrico es el segundo factor más importante que limita el rendimiento y la calidad del frijol común (Villordo *et al.*, 2015).

El estrés hídrico incluye cambios morfológicos y bioquímicos que conducen primero a la aclimatación y luego a medida que el estrés hídrico se vuelve más severo, al daño funcional y la pérdida de partes de la planta (Chavez *et al.*, 2002). Durante la fase de aclimatación, el estrés hídrico generalmente produce tasas de crecimiento más lentas debido a la inhibición de expansión celular, la reducción en la asimilación de carbono y el efecto resultante sobre la partición de carbono (Hsiao y Xu, 2000). Además, las hojas recurren al cierre estomático parcial o completo con la reducción asociada en la transpiración y la absorción de CO₂ para la fotosíntesis, en consecuencia, a una disminución de la tasa de fotosíntesis (TAN) y la eficiencia del uso del agua (Bota, Medrano y Flexas, 2004).

Estas reducciones pueden afectar directamente la tasa de abscisión de las flores, reflejado en la disminución del rendimiento (Lizana *et al.*, 2006), o puede

conllevar un desarrollo reproductivo interrumpido, senescencia prematura de hojas, marchitez, desecación y muerte (Neumann, 2008).

Estas respuestas dependen de la intensidad del estrés, el genotipo de la planta y la etapa de desarrollo de la planta en la incidencia del estrés, entre otros factores. Se supone que esta disminución de los parámetros fotosintéticos bajo sequía es responsable de la disminución de la producción de materia seca (Lawlor y Tezara, 2009).

2.10. Formación de especies reactivas de oxígeno ROS por estrés hídrico

Bajo estrés hídrico puede desencadenarse mayor producción de formas reactivas de oxígeno como superóxido, H_2O_2 y radicales hidroxilos, los que puede dañar a membrana de enzimas con grupos sulfhídricos activos, a pigmentos del cloroplasto, a lípidos y a la integridad estructural de las proteínas de membrana. Estas formaciones son consecuencia de la reacción de Mehler, que proporciona una vía para eliminar el exceso de energía electroquímica causada por el estrés hídrico. Durante la pérdida de agua, el $O_2\bullet$ también puede reaccionar de forma no enzimática con H_2O_2 dando lugar a productos, como los radicales hidroxilo y el oxígeno singlete, que son aún más reactivos que el propio $O_2\bullet$ (Pessaraki *et al.*, 1999) .

El peróxido de hidrógeno en los cloroplastos es una molécula altamente tóxica, porque, incluso a bajas concentraciones, inhibe varias enzimas del ciclo de Calvin, por lo que es un potente inhibidor de la asimilación fotosintética de CO_2 . Las enzimas más sensibles son la fructosa-1,6-bisfosfatasa y la sedoheptulosa bisfosfatasa, aunque también se puede atacar a la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa y la fosforibulocinasa dependientes de NADP +.

La activación de oxígeno puede ocurrir potencialmente en todos los compartimentos de las células vegetales. Las fuentes de superóxido en las células vegetales son actividades de transporte de electrones en las que los electrones se desvían de su curso normal y se filtran al oxígeno. Normalmente, esta fuga es muy limitada bajo ciertas condiciones de estrés, como por déficit hídrico, se incrementa la posibilidad de fuga de electrones al O₂. En las mitocondrias, la región de flavoproteína del segmento NADPH deshidrogenasa de la cadena respiratoria se ha identificado como un sitio de producción de O₂• (Pessaraki *et al.*, 1999)

Durante el déficit hídrico, cuando los estomas se cierran para limitar la pérdida de agua, hay un suministro restringido de CO₂ y una menor disponibilidad de nicotinamida adenina dinucleótido oxidado (NADP) como un receptor de electrones para el fotosistema I. Sin embargo, el transporte de electrones se mantiene a una tasa relativamente más alta en las hojas estresadas en comparación con la gran disminución en la tasa de fijación de CO₂. Este desequilibrio entre el transporte de electrones y las tasas de fijación de CO₂ puede dar como resultado la sobrerreducción de los componentes de la cadena de transporte de electrones y facilitar la transferencia de electrones a O₂.

Este es probablemente un mecanismo que las plantas adoptan para proteger los componentes de la cadena de transporte de electrones fotosintéticos del foto-daño durante el estrés hídrico. En estas condiciones, el O₂ en los tilacoides puede competir con NADP + como reductor de Hill y puede producir superóxido. (Pessaraki *et al.*, 1999).

2.11. Mecanismos de resistencia bajo estrés hídrico

Se ha informado que la acumulación activa de solutos en respuesta a la sequía es un mecanismo importante de adaptación a la sequía en varias plantas de cultivo (Hare, Cress y Van Staden, 1998; Martínez *et al.*, 2007). Bajo estrés ambiental, las plantas acumulan solutos osmoprotectores como aminoácidos, azúcares, alcoholes y compuestos de amonio cuaternario, que disminuyen el potencial osmótico de la célula para mantener los procesos relacionados con la turgencia durante la sequía. La acumulación de solutos como la prolina es importante para algunas especies de plantas en respuesta a la sequía. Aunque los mecanismos responsables del papel osmoprotector de la prolina en las plantas no están claros, bajo el déficit hídrico puede mediar el ajuste osmótico, proteger las estructuras proteicas, estabilizar las membranas celulares, desintoxicar los radicales hidroxilo y actuar como fuente de energía y nitrógeno (Hare, Cress y van Staden, 1999; Claussen, 2005).

Los datos indican que los cultivares resistentes a la sequía maximizan la absorción de carbono y limitan la pérdida de agua durante la sequía al aumentar el cierre del estoma durante el día y lograr un contenido relativo de agua más alto durante la noche en comparación con los cultivares susceptibles, lo que sugiere un control fino del equilibrio hídrico para lograr suficiente rendimiento bajo la sequía (Rosales *et al.*, 2013).

Las ROS causan deterioro de la membrana, peroxidación lipídica y modificaciones del ADN, lo que conduce a disfunciones metabólicas y estructurales irreparables, que terminan en muerte celular (Asada, 1999). Para controlar estos niveles de ROS y proteger las células en condiciones de estrés, los

tejidos vegetales contienen enzimas eliminadoras de ROS como la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y ascorbato peroxidasa (APX), así como una amplia gama de antioxidantes no enzimáticos tales como ácido ascórbico (AA) y compuestos fenólicos (Mittler, 2002). La eliminación del anión superóxido se logra a través de SOD, que cataliza la dismutación del superóxido a H₂O₂.

El nivel intracelular de H₂O₂ está regulado por una amplia gama de enzimas, las más importantes son las catalasas y las peroxidases. Los CAT son enzimas peroxisomales que, a diferencia de las peroxidases, no requieren un sustrato reductor para su actividad. Se cree que los APX son los captadores de H₂O₂ más importantes, que operan tanto en citosol como en cloroplastos y que utilizan AA reducido como sustrato; Estos procesos forman parte del ciclo conocido como ascorbato-glutación o ciclo Halliwelle - Asada (Asada, 1999; Foyer y Noctor, 2005).

2.12. Los efectos del estrés por sequía en la expresión del gen *PvOAT* involucrado en la biosíntesis de prolina.

La prolina libre es uno de los solutos compatibles ampliamente distribuidos en las células vegetales y su acumulación puede jugar un importante rol como osmoprotector, mantener un ambiente intracelular estable y no interfiere con las reacciones bioquímicas normales bajo tratamientos osmóticos como la sequía y la salinidad del suelo (Pei *et al.*, 2010; Fichman *et al.*, 2015). Por lo tanto, las enzimas involucradas en la biosíntesis de prolina deberían ser factores importantes en el control de la osmorregulación bajo estrés (Liang *et al.*, 2013).

Para investigar la expresión del gen *PvOAT* bajo estrés por sequía, Chen *et al.*, 2016 midió el nivel de ARNm de *PvOAT* y el contenido de prolina en cultivos de frijol común bajo condiciones de sequía, los resultados fueron un aumento significativo en la expresión de *PvOAT* (hasta 13.6 veces) y de acumulación de prolina en hojas, raíces y tallos de plantas estresadas comparado con el grupo control, siendo mayor en las hojas, lo que contribuyó a mejorar la tolerancia a la sequía de los cultivos vegetales de *Phaseolus vulgaris* (Chen *et al.*, 2016).

2.13. Genes asociados a la tolerancia a la sequía en *Phaseolus vulgaris* L.

La búsqueda de marcadores genéticos para aumentar la eficiencia de la selección de plantas es esencial dada la importancia de algunos cultivos como el frijol común. Las nuevas tecnologías modernas de genotipado a gran escala, como las matrices de polimorfismo de nucleótido único (SNP) pueden correlacionarse con datos fenotípicos en colecciones de germoplasma u otras poblaciones útiles (Beebe *et al.*, 2013). Los SNP se pueden utilizar en el mejoramiento para la construcción de mapas de ligamiento, análisis de diversidad genética o estudios de asociación de marcador-fenotipo para selección asistida por marcadores (MAS) (Cortés, Chavarro y Blair, 2011).

Villordo *et al.*, 2015 estudiaron dos líneas parentales tolerantes a la sequía de Mesoamérica, Pinto Villa y Pinto Saltillo, las cuales se utilizaron para generar una población de 282 familias y se caracterizaron por 169 SNP, luego asociaron la segregación de los marcadores moleculares en su población con fenotipos que incluyen tiempo de floración, madurez fisiológica, período reproductivo, planta,

semilla y biomasa total, índice de reutilización, rendimiento de semilla, peso de 100 semillas e índice de cosecha en tres ciclos de cultivo. En los resultados encontraron que 83 SNP están estadísticamente asociados a rasgos fenotípicos. Después de la anotación funcional de los genes respectivos que contienen esos SNP, pudieron asignar una función a 37 de esos genes y algunos tenían una función en la respuesta al estrés o la tolerancia. Las respuestas de las plantas a la sequía están moduladas por diversos mecanismos fisiológicos, que en general están controlados por múltiples genes (Foolad, 2004).

Genes fuertemente asociados con la biomasa, como el gen Phvul.009G226700.1, codifica una aldehído deshidrogenasa (NAD) involucrada en el proceso de oxidación-reducción en la respuesta al estrés abiótico (salinidad y desecación) en una respuesta mediada por ácido abscísico (ABA), también está involucrado en la regulación de ABA basado en su similitud (78%) con el gen ALDH7B4 (AT1G54100) en *Arabidopsis* (Kirch *et al.*, 2005). ABA regula dos procesos básicos en el desarrollo de las plantas: (1) la maduración y germinación de las semillas moduladas por la acumulación de nutrientes y la latencia de las semillas (Chen, Twito y Miller, 2014); (2) las respuestas de las plantas al estrés abiótico, incluida la sequía (Zhang *et al.*, 2006).

Algunos genes están implicados en la regulación del nivel osmótico mediante la biosíntesis del almidón, incluidos los genes Phvul.001G230000.1 y Phvul.011G089900.1. También varios SNP, que están localizados en genes con una función molecular putativa de unión a proteínas, podrían estar asociados con la transducción de señales y pueden ser factores de transcripción que modulan la expresión génica (Villordo *et al.*, 2015).

Otros SNP que se localizan en los genes Phvul.002G322400.1, Phvul.009G215600.1 y Phvul.010G038200.1, están relacionados con ROS, que se generan por un aumento en la fotorreducción de O₂ en los cloroplastos (Laloi, Apel y Danon, 2004). Genes comúnmente inducidos en el estrés por sequía son los de las quinasas, que son proteínas importantes en el transporte de señales como proteínas clave para la regulación y propagación de señales de estrés incluida la sequía (Umezawa *et al.*, 2006). Otro gen asociado con la fosforilación de la cadena pesada de miosina es importante en la formación de raíces laterales, una respuesta fisiológica común en este estrés.

Los genes de proteínas abundantes en embriogénesis tardía (LEA) (Phvul.004G005200.1) protegen las proteínas de la membrana y la membrana celular de la deshidratación; también están relacionados con la biosíntesis de osmolita y tienen función antioxidante (Xiong, Schumaker y Zhu, 2002; Kotchoni y Bartels, 2003). Otro gen interesante es Phvul.006G087000.1, un factor de transcripción putativo (TF). El papel de los TF es modular la unión de la expresión génica a sitios de ADN específicos en regiones promotoras. Informes anteriores han identificado varios TF involucrados en respuestas a la sequía (Finkelstein y Lynch, 2000; Nicolas *et al.*, 2014). y su sobreexpresión podría aumentar la tolerancia al estrés (Garg *et al.*, 2002; Abebe *et al.*, 2003; Shinozaki, Yamaguchi y Seki, 2003; Hmida *et al.*, 2005; Waditee *et al.*, 2005; Yamaguchi y Shinozaki, 2005; Ashraf y Foolad, 2007).

2.14. Índices fisiológicos del crecimiento afectados en respuesta al estrés hídrico

Índice de área foliar (IAF): Es el índice fisiológico que representa la relación entre el área foliar o superficie fotosintetizadora presente en determinado estadio de la planta y el área del suelo ocupada por la planta (Hunt, 1990).

Índice de cosecha (IC): Índice fisiológico que determina la relación en distribución de biomasa en la planta completa y los órganos de importancia antropocéntrica; es considerado el índice de eficiencia fisiológica (Mackerron y Heibronn, citados por Mora *et al.*, 2006). Indica la relación entre el rendimiento agronómico o sea el rendimiento de la parte objeto de cosecha y el rendimiento biológico; es decir: $IC = \text{peso seco parte cosechable} / \text{peso seco total} \times 100$).

Tasa de asimilación neta (TAN): Es una medida de la eficiencia del follaje, que es la principal fuente de fotoasimilados para la producción de materia seca. Este índice registra la velocidad de la fotosíntesis neta en un lapso de tiempo y se debe conocer el cambio de los valores del área foliar y el peso seco de la planta, expresado en $\text{g. dm}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ (Morales, Franco y González, 2011). Se usa para inferir sobre la capacidad del área foliar para producir materia seca.

Tasa relativa de crecimiento (TRC): Índice fisiológico de eficiencia de producción de materia seca. Se supone que todo el crecimiento ya logrado, contribuye al nuevo que se está realizando, Sin embargo, debido a que los valores generalmente son más altos en las primeras etapas de crecimiento de la planta y de los órganos, se concluye que la TRC representa la proporción de tejido

meristemático con activa división y alargamiento celular en la planta más que la capacidad que tiene una unidad de biomasa para producir más biomasa (Hunt, 1990; Santos, 2010)

Tasa relativa de crecimiento foliar (TRCF): Índice fisiológico de eficiencia de incremento foliar (Hunt, 1990). Indica la cantidad de nueva área foliar producida, por cada unidad de área foliar presente. Es decir, mide la eficiencia de producción de nueva área foliar (Santa Cruz, 2017).

CAPÍTULO III

DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

3.1. Nivel de investigación

Explicativo

3.2. Tipo y diseño de investigación

Tipo de investigación: Básica

Diseño de investigación: Experimental.

Se utilizó un Diseño Completo Aleatorizado (DCA) con arreglo factorial.

Los factores fueron: Accesoión (ACC) y Condición de riego (C). Los niveles del factor Accesoión fueron 50: ACC1-ACC50, y del factor Condición de riego fueron 3: C0, sin restricción de riego; C1, con restricción de riego en la etapa de prefloración, y C2, con restricción de riego en la etapa de llenado de vainas. De este modo se manejaron 150 tratamientos (ACC x C), con tres repeticiones por cada uno. La descripción detallada de este diseño se muestra en el Apéndice 01.

3.3. Material Vegetal

En la presente investigación fueron utilizadas 50 accesiones de *P. vulgaris* L. cultivar “ñuña” las cuales fueron cultivadas a partir de semillas provenientes del banco de germoplasma INIA. Las 50 accesiones fueron registradas con códigos, desde ACC1 hasta ACC50. Estas accesiones presentan diferente denominación común, lugar de origen y grado de persistencia de hojas (Anexo 01).

3.4. Preparación del Invernadero

La parte experimental se estableció en un invernadero ubicado en las instalaciones de Estación Experimental Agraria del INIA ubicada en el distrito de Baños del Inca, provincia de Cajamarca-Perú, con las siguientes coordenadas geográficas: 7°09'49" latitud sur, 78°27'44" longitud oeste y 2667 m s.n.m (Santa Cruz y Vásquez, 2021). La temperatura del invernadero oscila entre 6.7 y 26.7 °C (16.7°C en promedio), y el porcentaje de humedad relativa entre 62 y 81% (73.3% en promedio)

El sustrato utilizado estuvo compuesto por una mezcla de tierra negra de jalca, arena de río y musgo en proporciones 1:2:2, y guano de isla según el requerimiento de las plantas, teniendo en cuenta el análisis de suelo realizado en el laboratorio de suelos de INIA- Baños del Inca (Anexo 02). El sustrato fue desinfectado con una solución de formol a concentración de 1.55% (v/v) (Apéndice 02 – Figura 12). Luego se colocó el sustrato en contenedores de plástico para vivero de 12 cm de ancho x 22.5 cm de largo, con una capacidad de 1.2 kg de sustrato (Apéndice 02 – Figura 13).

3.5. Condición de riego

En los grupos de condición de riego todas las accesiones fueron regadas hasta la capacidad de campo de 300 mL.kg⁻¹. durante toda la etapa vegetativa (V0-V4), la cual se mantuvo con riegos semanales de 360 mL a cada contenedor de plástico. La capacidad de campo se determinó mediante el cálculo de agua en el sustrato visiblemente húmedo sin que escurra.

En C0 el riego se mantuvo sin restricción durante todo el ciclo de vida de las 50 accesiones; este es el grupo control. C1 corresponde a 50 accesiones con restricción gradual de riego hasta la mitad de la capacidad de campo (150 mL.kg^{-1}), desde el inicio de la etapa de prefloración (R5), y C2 consistió en las 50 accesiones con restricción gradual del riego hasta la mitad de la capacidad de campo (150 mL.kg^{-1}), desde el inicio de la etapa de formación de vainas (R7) (Apéndice 02 – Figura 14).

El experimento se instaló el día 13 de diciembre de 2019. El esquema general resumido del diseño metodológico de la presente Tesis se muestra en la Figura 4.



Figura 4. Esquema general del diseño metodológico de la presente Tesis. Ubicación:
 INIA – Estación experimental Baños del Inca.

3.6. Evaluaciones realizadas

La evaluación de los tres grupos de condiciones de riego fue realizada bajo dos aspectos: la respuesta fisiológica y el rendimiento agronómico. El primero de ellos fue evaluado en tres etapas fenológicas del cultivo: floración plena (R6-110 días después de la siembra o dds), llenado de vainas (R8-164 dds) y madurez fisiológica (R9-234 dds). El IC y el rendimiento agronómico fueron obtenidos solo al final de la cosecha.

Para la toma de datos en cada etapa fenológica ya mencionada primero se tuvo en cuenta que el 80% de las plantas cumplan con el requisito de la etapa

fenológica respectiva. Luego se tomaron datos del área foliar, materia fresca y seca, y la cantidad de días transcurridos después de la siembra de cada planta. Luego, dichos datos se usaron para calcular los valores de los índices fisiológicos del crecimiento (IAF, TAN, TRC, TRCF).

Para calcular los valores de materia fresca de cada planta se realizó la separación de cada órgano de la planta (hojas, tallos, flores, vainas y granos) (Apéndice 02 – Figura 15) y a continuación, se llevó a cabo el pesado en fresco de los órganos. El peso seco se obtuvo luego de poner los órganos de cada planta en bolsas de papel en una estufa a 75°C, por 24 a 48 horas o hasta alcanzar un peso constante entre las pesadas realizadas cada 12 horas.

La toma de datos se llevó a cabo luego de la capacitación brindada por especialistas de la Estación de Experimentación Agraria- Baños del Inca, Cajamarca.

3.7. Indicadores de la respuesta fisiológica

Para evaluar la respuesta fisiológica se tuvo en cuenta los siguientes indicadores y ecuaciones obtenidas de Hunt (1990) para calcular IAF, TAN, TRC, TRCF e IC.

- *Expansión Foliar*. Índice que describe la expansión foliar. Para calcularlo se requiere el dato del área foliar, la cual fue estimada con el Software Easy Leaf Area Free, en aplicación para móviles (desarrollado por Easlson y Bloom, 2014 en el Departamento de Ciencias de las Plantas, Universidad de California) como se describe a continuación.

Se colocó un trozo de papel rojo de 4 cm² al lado de la hoja de ñuña a medir, asegurando que la hoja y escala estén en el mismo plano y paralelas al dispositivo Android (Samsung Galaxy A50). Luego se realizó el ajuste de los controles deslizantes para identificar correctamente las áreas de hoja verde y escala roja, y finalmente se tomó la fotografía.

El área de la hoja se calcula automáticamente a partir de las áreas de hoja verde y escala roja (Figura 5).

La fórmula que se utilizó para calcular el IAF es la siguiente:

$$\mathbf{IAF} = \frac{\mathbf{AF} \text{ (cm}^2\text{)}}{\mathbf{\text{Área del terreno por planta (cm}^2\text{)}}$$

Donde:

- IAF = Índice de área foliar
- AF = Área Foliar (cm²)



Figura 5. Procedimiento para medir el área foliar de las hojas utilizando el Software Easy Leaf Area Free. (desarrollado por Easlson y Bloom, 2014, en el Departamento de Ciencias de las Plantas, Universidad de California).

- **Tasa de Asimilación neta (TAN)**. Índice fisiológico indicador de la eficiencia de la fotosíntesis, es el cálculo de la ganancia neta de asimilados por unidad de área foliar por unidad de tiempo. Para esto se pesó una planta previamente desecada en una etapa fenológica determinada, y luego en otra etapa fenológica posterior se volvió a pesar otra muestra desecada de la misma planta. El valor de TAN fue obtenido mediante la siguiente fórmula (Hunt, 1990):

$$\mathbf{TAN} = \left(\frac{WS_2 - WS_1}{T_2 - T_1} \right) \left(\frac{\ln AF_2 - \ln AF_1}{T_2 - T_1} \right)$$

Donde:

- WS_1 = Peso seco inicial de la planta (g)
- WS_2 = Peso seco final de la planta (g)
- AF_1 = Área foliar inicial de la planta (cm²)
- AF_2 = Área foliar final de la planta (cm²)
- T_1 = Tiempo inicial (días)
- T_2 = Tiempo final (días)

- **Tasa Relativa de Crecimiento (TRC)**. Índice de producción de materia seca, que expresa la relación entre la cantidad de materia seca producida por cada unidad de materia seca presente y por unidad de tiempo. Para esto se midió el peso seco de la planta, en una etapa fenológica determinada, y posteriormente se midió el peso seco de otra muestra de la misma planta en otra etapa fenológica. El valor de TRC se calculó mediante la siguiente fórmula (Hunt, 1990):

$$\mathbf{TRC} = \frac{\ln WS_2 - \ln WS_1}{T_2 - T_1}$$

- *Tasa relativa de crecimiento foliar (TRCF)*. Es el incremento del índice de área foliar (cm²) sobre incremento de tiempo (días), es decir, mide la eficiencia de producción de nueva área foliar. Se calculó mediante la siguiente fórmula (Hunt, 1990):

$$\text{TRCF} = \frac{\text{Ln AF}_2 - \text{Ln AF}_1}{T_2 - T_1}$$

- *Índice de cosecha (IC, en %)*. Es la relación en distribución de biomasa seca en la planta completa y los órganos de importancia antropocéntrica. Se determinó a partir de la siguiente fórmula (Hunt, 1990):

$$\text{IC} = \frac{\text{Rendimiento agronómico (g)}}{\text{Rendimiento biológico (g)}} \times 100$$

Rendimiento agronómico: peso seco de granos

Rendimiento biológico: peso seco total de la planta (planta, vainas y granos)

3.8. Rendimiento agronómico en g.planta⁻¹.

Se determinó el rendimiento agronómico de cada accesión, mediante el peso seco de los granos cosechados a los 234 dds. El valor del rendimiento se expresó en g.planta⁻¹. También se registró el número de vainas y de semillas por planta, pero dichos datos no fueron mostrados por no mostrar diferencias significativas ni entre accesiones, ni condiciones de riego, ni en la interacción de ambos factores.

3.9. Registro y análisis de datos

Los datos fueron registrados en tablas elaboradas en el programa Excel versión 2010, las cuales sirvieron a su vez para obtener los valores de los índices trabajados, bajo las fórmulas ya señaladas.

A los datos obtenidos de cada índice se les aplicó el Análisis de Variancia (ANAVA), para determinar si existen o no diferencias estadísticas dentro de cada factor (Variedad y condición de riego) y/o en la interacción entre ellos (Tratamientos). Cuando se encontraron diferencias significativas ($p\text{-valor} < 0,05$), se realizó la prueba de rango múltiple de Duncan, para conocer qué tratamientos o niveles de cada factor presentaban diferencias significativas. Para esto se usó principalmente el programa SPSS versión 25 e Infostat versión 2020. Para los datos de interacción de factores significativos se realizó un análisis utilizando histogramas de frecuencia elaborados para representar gráficamente la distribución de las accesiones y las accesiones sobresalientes respecto a cada variable, donde la superficie de cada barra es proporcional a la frecuencia de los valores representados. Para esto se usó principalmente el programa Excel versión 2021.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Índice de área foliar (IAF)

El IAF de las accesiones de ñuña evaluadas (ACC1 – ACC50), por nivel de restricción de riego (C0, C1 y C2), según la etapa fenológica, presentó diferencias estadísticas, de acuerdo al ANAVA, tanto entre accesiones, condiciones de riego y su interacción (tratamientos) (Tabla 1). Los correspondientes valores de área foliar, dato que se utiliza para calcular el IAF, se presentan en el Apéndice 03.

La comparación de medias para interacción de los factores en estudio se muestra en la Figura 6 con un análisis de frecuencia, con el objetivo de resaltar los tratamientos con valores significativamente mayores, el test de Duncan realizado se encuentra en el Anexo 03. Se observa que en R6 sobresalen ACC2C2, ACC31C0 y ACC8C2, cabe señalar que los 3 tratamientos pertenecen a los grupos sin restricción de riego en esta etapa. En R8 y R9 sobresalen los tratamientos ACC38C0 y ACC1C0, y de los grupos con restricción de riego solo sobresale ACC1C2 con restricción de riego en la etapa de formación de vainas.

Se observa también que durante R6 en C1 ya no se registraron plantas en los intervalos más altos (IAF de 1.67-2.01 a 2.35-2.69; marcas de clase de 1.84 a

2.52) a diferencia de C0 y C2 que se mantuvieron sin restricción de riego, pero aumentó el número de accesiones con IAF en rangos más pequeños (intervalo 0.31- 0.65 marca de clase 0.48). En R8 y R9 también se observa una gran proporción de accesiones en los intervalos más pequeños a diferencia de C0.

Los resultados indican que la restricción de riego aplicada en etapas de reproducción reduce significativamente los valores de IAF, tanto si esta condición se da en la etapa de prefloración (C1) como en la etapa de formación de vainas (C2).

Tabla 1. Cuadrados medios y significación del ANAVA el índice de área foliar (IAF) en tres etapas fenológicas de las 50 accesiones de ñuña con tres condiciones de riego.

Fuente	<i>Floración plena (R6)</i>				<i>Llenado de vainas (R8)</i>				<i>Madurez Fisiológica (R9)</i>			
	SC	gl	CM	<i>p-valor</i>	SC	gl	CM	<i>p-valor</i>	SC	gl	CM	<i>p-valor</i>
Accesión	41.32	49	0.84	<0.0001	5.89	49	0.12	<0.0001	3.77	49	0.08	<0.0001
Riego	6.86	2	3.43	<0.0001	4.68	2	2.34	<0.0001	3.00	2	1.50	<0.0001
Acc. * Rie.	35.11	98	0.36	<0.0001	8.22	98	0.08	<0.0001	5.26	98	0.05	<0.0001
Error	2.9E-04	300	9.7E-07		3.0E-04	300	1.0E-06		5.3E-08	300	1.8E-10	
Total	83.29	449			18.80	449			12.03	449		

SC= Suma de cuadrados. CM=Cuadrados medios. gl= Grados de libertad. p-valor=significancia

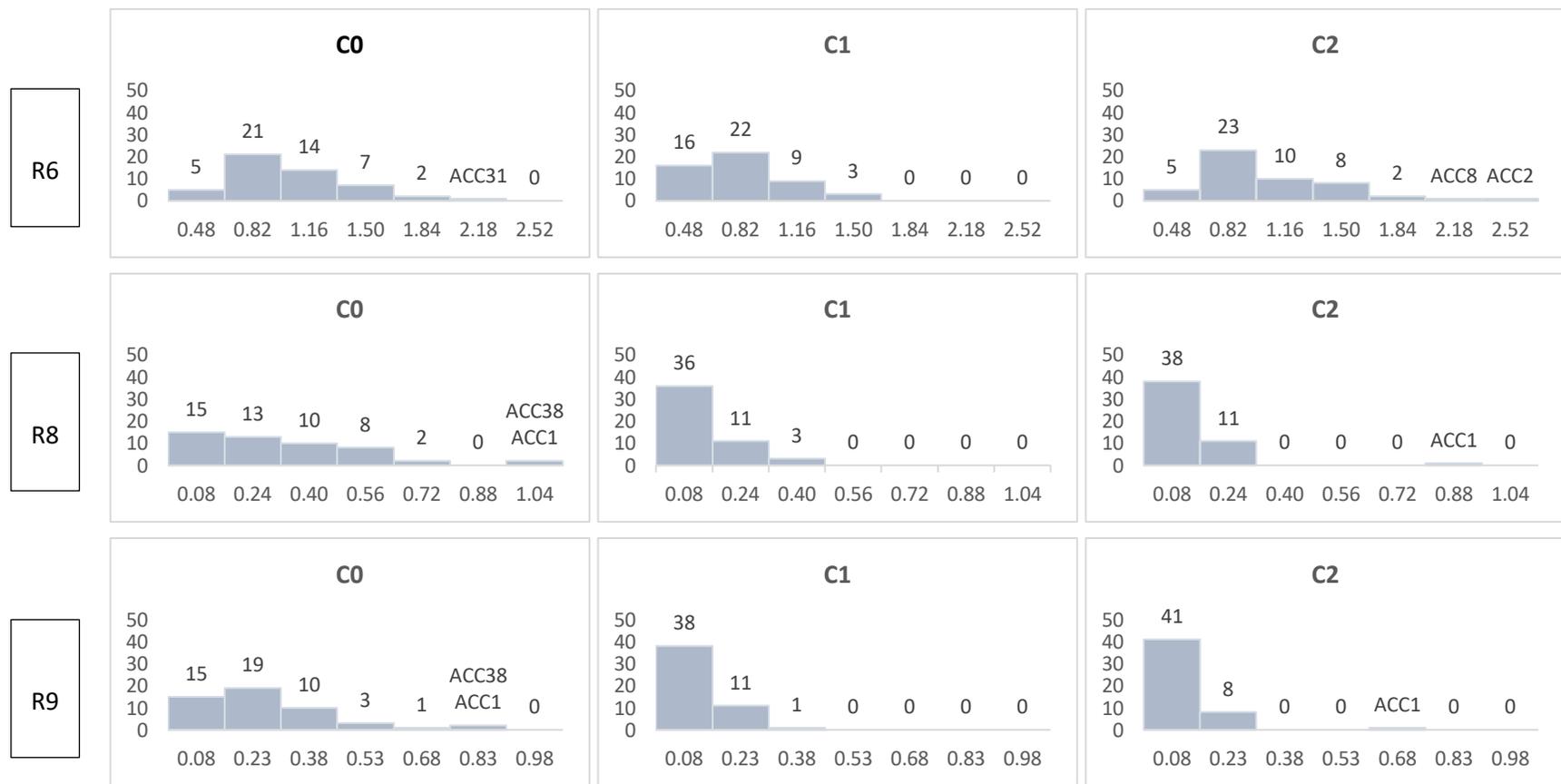


Figura 6. Histogramas de frecuencias del índice de área foliar (IAF) de accesiones de ñuña, según condición de riego y etapa fenológica. R6= Floración (110 días); R8= Llenado de vainas (164 días), R9= Madurez Fisiológica (234 días); C0= Riego sin restricción; C1= Restricción de riego en la etapa de prefloración; C2= Restricción de riego en la etapa de Formación de Vainas. Los valores en el eje X son marcas de clase correspondientes a intervalos. El único dato registrado en los intervalos más altos, después de la inducción a la sequía, de C2 en R8 y R9 corresponde a la accesión ACC1.

4.1.2. Tasa de Asimilación Neta (TAN)

TAN es un indicador de la eficiencia fotosintética que mide la ganancia neta de asimilados por unidad de área foliar y unidad de tiempo (Santos, 2010). El análisis de varianza para accesiones, restricción de riego y para la interacción de los factores en estudio, resultó en diferencias altamente significativas (Tabla 2). Los valores de TAN de las 50 accesiones de ñuñas evaluadas en este estudio fueron generalmente bajos; incluso condiciones sin restricción de riego se registraron accesiones con valores cero o negativos (Figura 7).

El análisis de frecuencia basado en el test de Duncan para la interacción entre los dos factores en estudio (Anexo 04) se muestra en la Figura 7, con el objetivo de visualizar mejor los tratamientos con valores TAN que sobresalen del resto, particularmente en grupos con restricción de riego. Durante R6, el tratamiento con el TAN significativamente más alto fue ACC31C0, el resto de tratamientos con valores altos (ACC11C0, ACC2C2 y ACC11C2) también pertenecen a los grupos sin restricción de riego en esta etapa. Durante R8 sobresalió ACC29C2 ($0.0067 \text{ g.cm}^{-2}.\text{d}^{-1}$), ACC4C2 ($0.0061 \text{ g.cm}^{-2}.\text{d}^{-1}$), ACC11C2 ($0.0061 \text{ g.cm}^{-2}.\text{d}^{-1}$), ACC8C2 ($0.0054 \text{ g.cm}^{-2}.\text{d}^{-1}$) y ACC49C2 ($0.0054 \text{ g.cm}^{-2}.\text{d}^{-1}$), ACC2C0 ($0.0051 \text{ g.cm}^{-2}.\text{d}^{-1}$) y ACC5C1 ($0.0050 \text{ g.cm}^{-2}.\text{d}^{-1}$), como se puede observar en esta etapa los valores más altos lo presentaron accesiones de C2. No se muestran valores atípicos altos de TAN en la etapa R9 a pesar de haber diferencias significativas en la interacción de factores ya que el 94% de las accesiones presentaron valores TAN iguales o menores que cero.

Tabla 2. Cuadrados medios y significación del ANAVA para la tasa de asimilación neta (TAN) en tres etapas fenológicas de las 50 accesiones de ñuña con tres condiciones de riego.

Fuente	<i>Floración plena (R6)</i>				<i>Llenado de vainas (R8)</i>				<i>Madurez Fisiológica (R9)</i>			
	SC	gl	CM	<i>p-valor</i>	SC	gl	CM	<i>p-valor</i>	SC	gl	CM	<i>p-valor</i>
Accesión	7.7E-05	49	1.6E-06	<0.0001	3.5E-04	49	7.0E-06	<0.0001	8.8E-06	49	1.8E-07	<0.0001
C.Riego	1.2E-05	2	5.8E-06	<0.0001	5.1E-05	2	2.5E-05	<0.0001	1.1E-06	2	5.7E-07	<0.0001
Acc. * Rie.	1.1E-04	98	1.1E-06	<0.0001	5.8E-04	98	5.9E-06	<0.0001	1.8E-05	98	1.8E-07	<0.0001
Error	1.5E-09	300	5.1E-12		2.1E-08	300	6.9E-11		1.8E-10	300	1.7E-10	
Total	1.9E-04	449			9.8E-04	449			2.8E-05	449		

SC= Suma de cuadrados. CM=Cuadrados medios. gl= Grados de libertad. p-valor=significancia

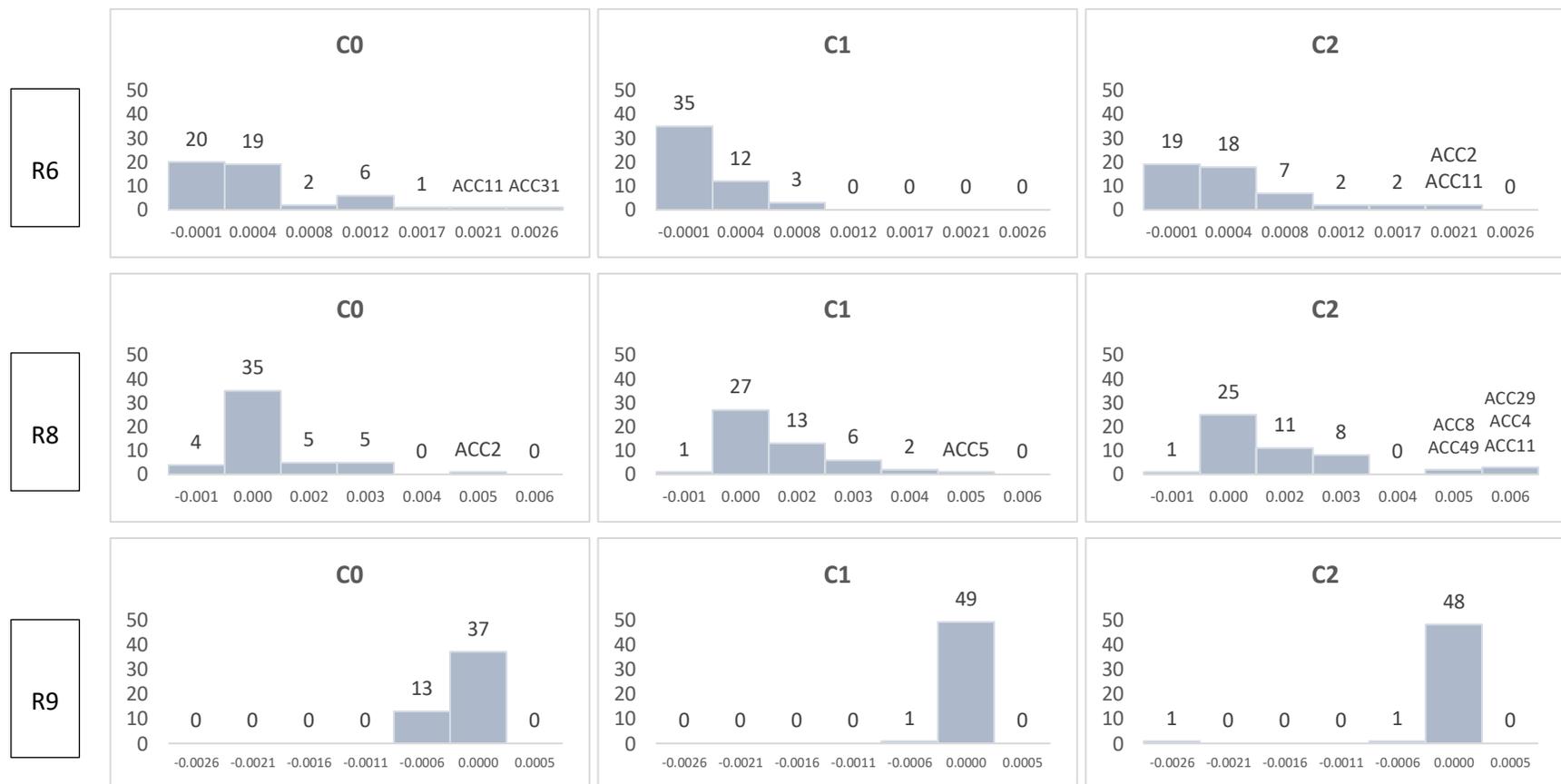


Figura 7. Histogramas de frecuencias de la Tasa de Asimilación Neta (TAN) de accesiones de ñuña, según condición de riego y etapa fenológica. R6= Floración (110 días); R8= Llenado de vainas (164 días), R9= Madurez Fisiológica (234 días); C0= Riego sin restricción; C1= Restricción de riego en la etapa de prefloración; C2= Restricción de riego en la etapa de Formación de Vainas. Los valores en el eje X son marcas de clase correspondientes a intervalos. En el segundo intervalo alto de C1 en R8 sobresale ACC5, y en el intervalo más alto de C2 en R8 se ubican las accesiones ACC29, ACC4 y ACC11.

4.1.3. Tasa Relativa de Crecimiento (TRC)

La TRC es el índice fisiológico que muestra la eficiencia en la producción de materia seca. Los valores de TRC de las accesiones evaluadas en el presente estudio también fueron bajos. La ocurrencia de valores negativos (Figura 8) significa que hubo una deficiente producción de materia seca nueva en relación a la ya existente. Dado que algunos de estos valores se observaron en plantas del grupo control (C0), posiblemente los valores negativos de TRC representen una adaptación escasa de la ñuña a las condiciones de invernadero utilizadas.

El análisis de varianza entre accesiones, condición de riego y para la interacción de factores fue significativa para este índice (Tabla 3). Analizando gráficamente los valores de TRC de las accesiones agrupados en intervalos en C1 (Figura 8) se observó que en R6, por un lado, se incrementó la proporción accesiones en uno de los intervalos más bajos: $-0.005 - 0.004$ y $0.004 - 0.012$ g. g⁻¹.d⁻¹ (marcas de clase -0.001 y 0.008), y, por otro lado, disminuyó el número de accesiones en un rango de mayor valor de TRC: $0.020-0.028$ y $0.028-0.036$ (marcas de clase 0.024 y 0.032).

Los tratamientos sobresalientes se muestran en la Figura 8, el respectivo test de Duncan se encuentra en el Anexo 05. Dado que es de interés para los objetivos de este estudio, se resalta el alto valor de TRC de dos tratamientos: ACC9C2 en R8 (TRC= 0.013 g.g⁻¹d⁻¹) y ACC5C2 en R9 (TRC= 0.06 g.g⁻¹d⁻¹).

Tabla 3. Cuadrados medios y significación del ANAVA para la tasa relativa de crecimiento (TRC) en tres etapas fenológicas de las 50 accesiones de ñuña con tres condiciones de riego

Fuente	<i>Floración plena (R6)</i>				<i>Llenado de vainas (R8)</i>				<i>Madurez Fisiológica (R9)</i>			
	SC	gl	CM	<i>p-valor</i>	SC	gl	CM	<i>p-valor</i>	SC	gl	CM	<i>p-valor</i>
Accesión	0.01	49	2.3E-04	<0.0001	0.02	49	3.3E-04	<0.0001	0.02	49	4.1E-04	<0.0001
Riego	1.9E-03	2	9.7E-04	<0.0001	3.1E-03	2	1.6E-03	<0.0001	1.5E-03	2	7.3E-04	<0.0001
Acc. * Rie.	0.01	98	1.5E-04	<0.0001	0.03	98	2.9E-04	<0.0001	0.03	98	3.1E-04	<0.0001
Error	1.4E-06	300	4.7E-09		1.2E-06	300	4.0E-09		1.6E-06	300	5.3E-09	
Total	0.03	449			0.05	449			0.05	449		

SC= Suma de cuadrados. CM=Cuadrados medios. gl= Grados de libertad. p-valor=significancia.

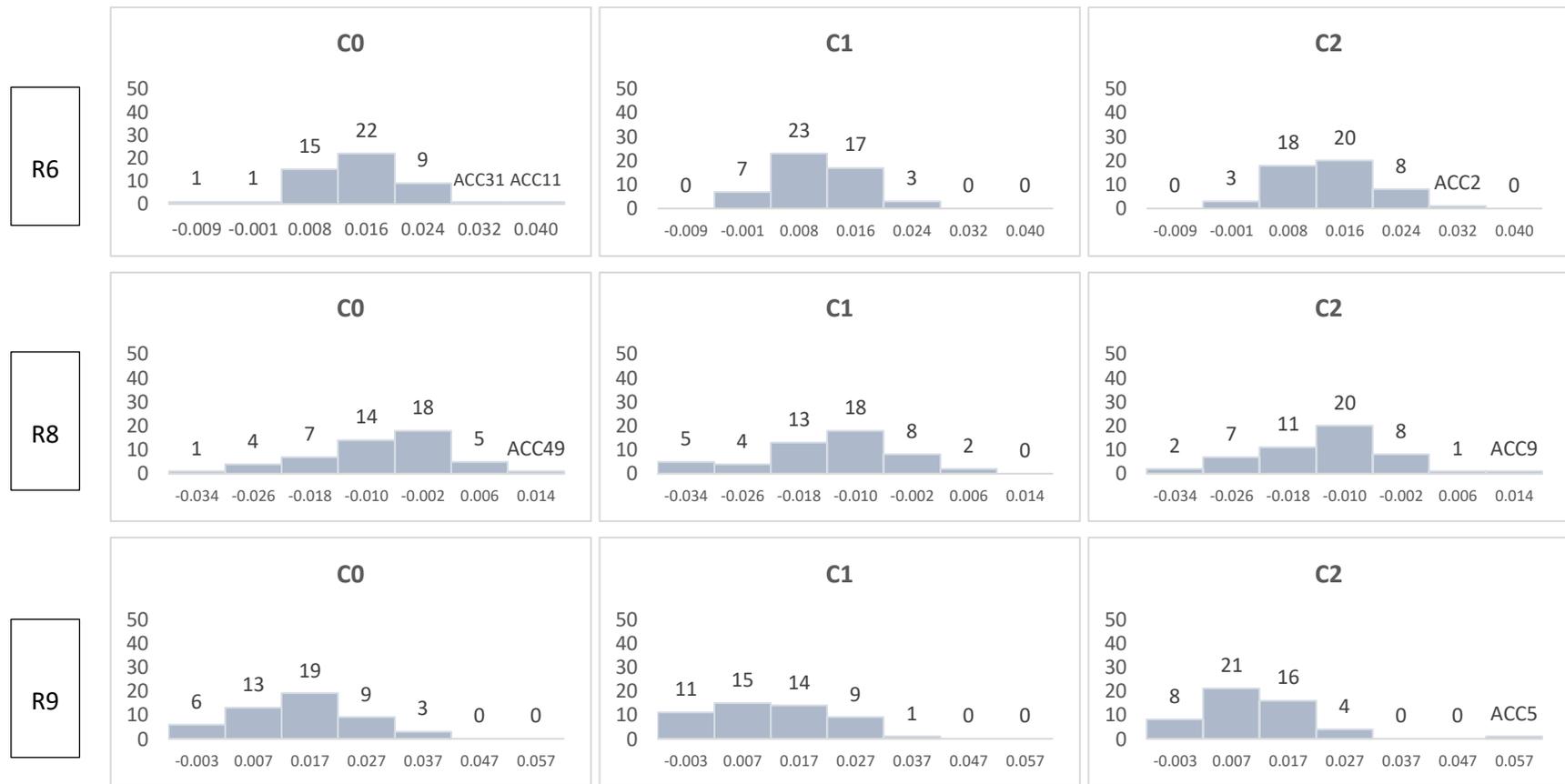


Figura 8. Histogramas de frecuencias de la Tasa Relativa de Crecimiento (TRC) de accesiones de ñuña, según condición de riego y etapa fenológica. R6= Floración (110 días); R8= Llenado de vainas (164 días), R9= Madurez Fisiológica (234 días); C0= Riego sin restricción; C1= Restricción de riego en la etapa de prefloración; C2= Restricción de riego en la etapa de Formación de Vainas. Los valores en el eje X son marcas de clase correspondientes a intervalos. Los únicos datos registrados en los intervalos más alto de C2 en R8 corresponde a la accesión ACC9 y en R9 a la accesión ACC5.

4.1.4. Tasa Relativa de Crecimiento Foliar (TRCF).

La Tasa Relativa de Crecimiento Foliar permite conocer cómo el área foliar actual influencia el incremento de la misma en una etapa fenológica determinada (Hunt, 1990). En la Tabla 4 se presenta el análisis de varianza entre accesiones, restricción de riego y para la interacción de factores, siendo altamente significativos.

En la Figura 9 se muestra los tratamientos que resaltan por tener valores significativamente más altos según el test de Duncan (Anexo 06), durante R6 los tratamientos ACC30C1 (Negra Chica de Chanshapamba) y ACC2C2, sin restricción de riego en esta etapa, (Huanchaca respectivamente) sobresalen por presentar un TRCF significativamente más alto (TRFC= 0.036 y 0.031 $\text{dm}^2 \cdot \text{dm}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ respectivamente), los cuales se diferencian de todo el resto de valores. No sobresalen tratamientos con mayores valores de TRCF, ni en R8 ni en R9 en el análisis de frecuencia, ya que en R8 todas las accesiones presentaron valores ≤ 0 y en R9 las accesiones mayores a 0 no fueron diferentes según el test de Duncan.

Tabla 4. Cuadrados medios y significación del ANAVA para la tasa relativa de crecimiento foliar (TRCF) en tres etapas fenológicas de las 50 accesiones de ñuña con tres condiciones de riego

Fuente	Floración plena (R6)				Llenado de vainas (R8)				Madurez Fisiológica (R9)			
	SC	gl	CM	p-valor	SC	gl	CM	p-valor	SC	gl	CM	p-valor
Bloques												
Accesión	0.02	49	4.0E-04	<0.0001	0.13	49	2.7E-03	<0.0001	2.5E-04	49	5.0E-06	<0.0001
Riego	2.3E-03	2	1.2E-03	<0.0001	0.02	2	0.01	<0.0001	8.5E-06	2	4.3E-06	<0.0001
Acc. * Rie.	0.03	98	2.6E-04	<0.0001	0.21	98	2.1E-03	<0.0001	3.0E-04	98	3.0E-06	<0.0001
Error	3.2E-11	300	3.2E-11		2.2E-11	300	2.2E-11		4.0E-07	300	1.3E-09	
Total	0.05	449			0.36	449			5.5E-04	449		

SC= Suma de cuadrados. CM=Cuadrados medios. gl= Grados de libertad. p-valor=significancia

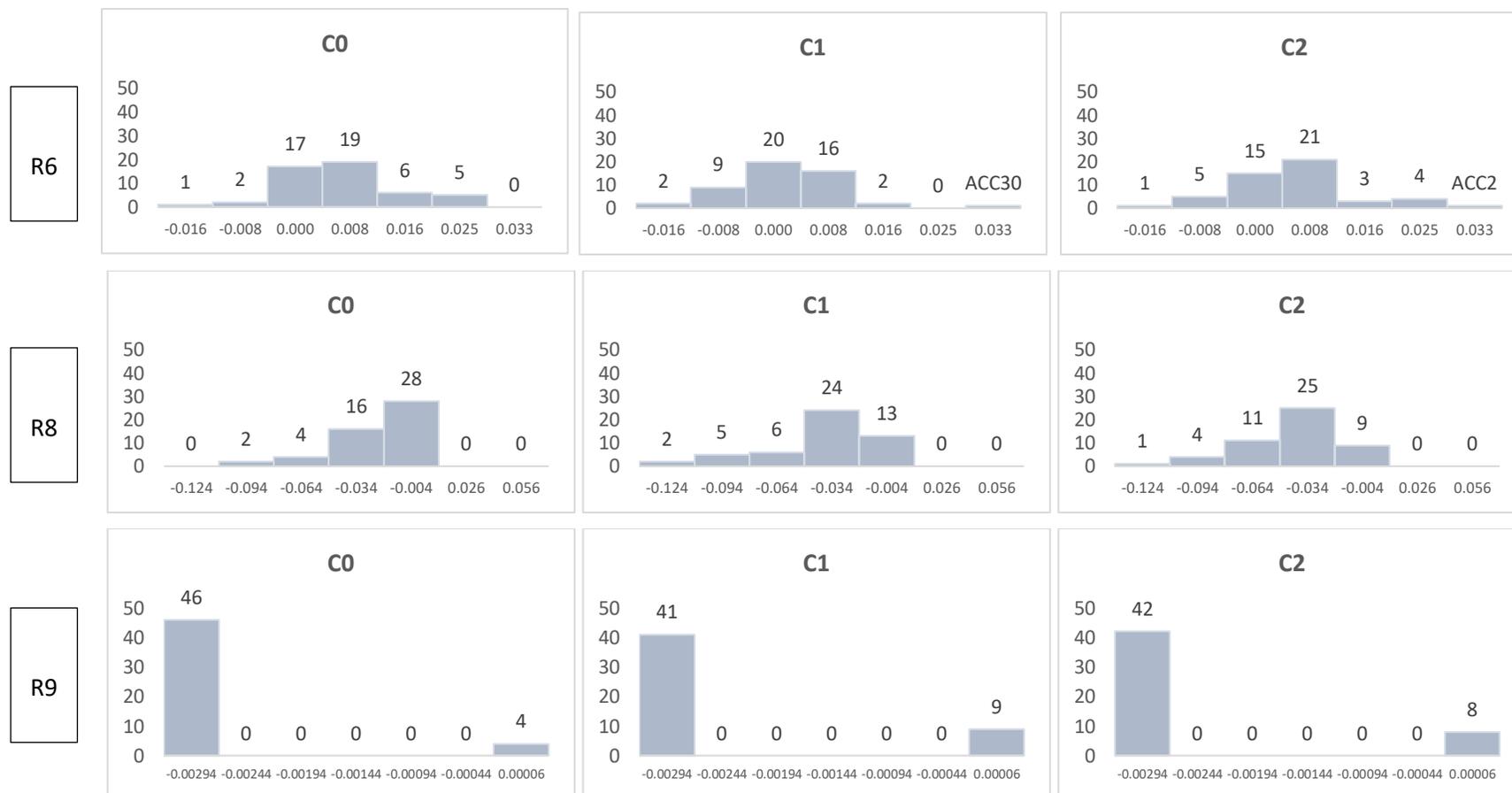


Figura 9. Histogramas de frecuencias de la Tasa Relativa de Crecimiento (TRCF) de accesiones de ñuña, según condición de riego y etapa fenológica. R6= Floración (110 días); R8= Llenado de vainas (164 días), R9= Madurez Fisiológica (234 días); C0= Riego sin restricción; C1= Restricción de riego en la etapa de prefloración; C2= Restricción de riego en la etapa de Formación de Vainas. Los valores en el eje X son marcas de clase correspondientes a intervalos. El único dato registrado en los intervalos más alto de C1 en R6 corresponde a la accesión ACC30.

4.1.5. Índice de Cosecha (IC)

Este índice determina la relación en distribución de biomasa en la planta completa y los órganos de importancia antropocéntrica. En la Tabla 5 se muestra el análisis de varianza entre accesiones, restricción de riego y para la interacción de factores, que muestran valores altamente significativos.

Los resultados del análisis de la distribución de frecuencias de las 50 accesiones según sus valores de índice de cosecha (Figura 10) basado en el test de Duncan (Anexo 07) muestra los tratamientos con mayor IC bajo diferentes condiciones de déficit hídrico. Los tratamientos más significativamente altos registrados según la comparación de medias de IC fueron ACC4C1 (42.39%) ubicado en el intervalo más alto de 42-48 (marca de clase 45), así como ACC31C0 (41.91%) y ACC4C0 (41.22%) ubicados en el segundo intervalo más alto de 36-42 (marca de clase 39). En la Figura 10, también se observa que el segundo intervalo más alto contine más accesiones de C0 que de C1 y C2.

Tabla 5. Cuadrados medios y significación del ANAVA para la el índice de cosecha en porcentaje (IC%) en la etapa de madurez fisiológica (R9) de las 50 accesiones de ñuña con tres condiciones de riego.

Fuente	Madurez fisiológica (R9)			
	SC	gl	CM	p-valor
Bloques				
Accesión	26553.40	49	541.91	<0.0001
Riego	3048.43	2	1524.22	<0.0001
Acc. * Rie.	25183.70	98	256.98	<0.0001
Error	755.64	300	2.52	
Total	55541.17	449		

SC= Suma de cuadrados. CM=Cuadrados medios. gl= Grados de libertad. p-valor=significancia

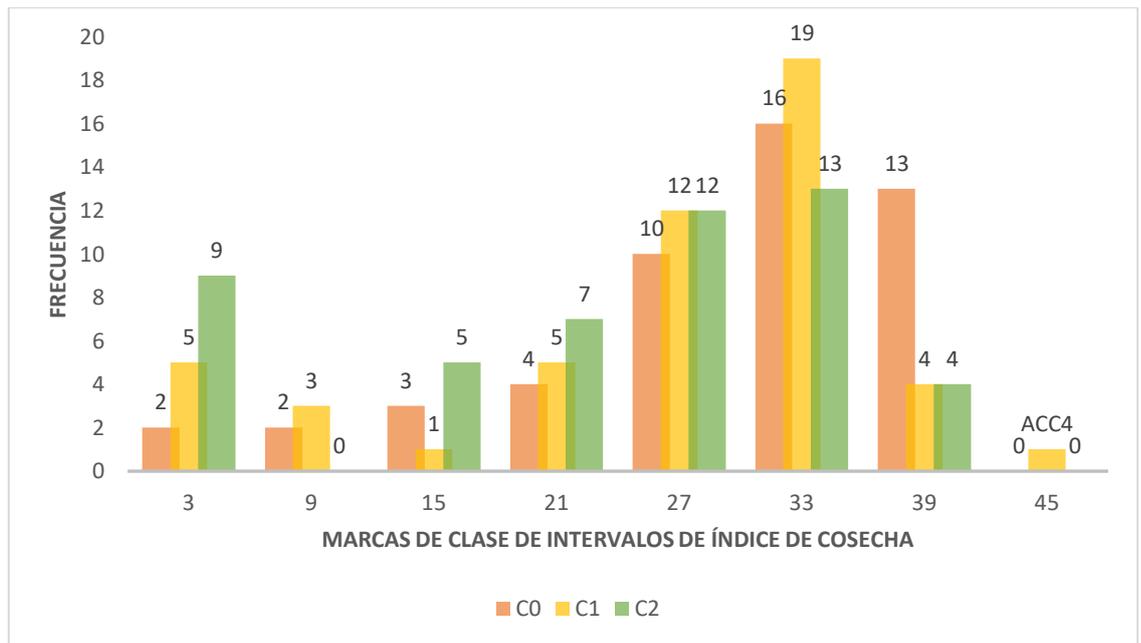


Figura 10. Distribución de frecuencia de las 50 accesiones de ñuña según su Índice de cosecha (IC) y por condición de riego. C0= Riego sin restricción; C1= Restricción de riego en la etapa de prefloración; C2= Restricción de riego en la etapa de Formación de Vainas. Los valores en el eje X son marcas de clase correspondientes a intervalos: 3 (intervalo 6%); 9 (Intervalos de 6 a 12%); 15 (Intervalos de 12 a 18%); 21 (Intervalos de 18 a 24); 27 (Intervalos de 24 a 30%); 33 (Intervalos de 30 a 36); 39(Intervalos de 36 a 42%); 45 (Intervalos de 42 a 48%).

4.1.6. Rendimiento agronómico en g.planta⁻¹

El análisis de varianza entre accesiones, condición de riego y para la interacción en relación al rendimiento mostró diferencias significativas solo entre condiciones de riego (Tabla 6), por lo que se procederá a discutir con la significancia de varianza entre los grupos de condiciones de riego.

En el presente estudio se observaron diferencias significativas ($p < 0.001$ - Tabla 7) en el rendimiento promedio de las plantas sometidas a estrés hídrico (1.039 g.planta⁻¹ en C1 y 0.993 g.planta⁻¹ en C2) y C0 (2.263 g.planta⁻¹), lo que significó reducciones de 54.01% y 56.12% en el rendimiento de las accesiones de

ñuña en C1 y C2 respectivamente. Las diferencias entre los valores en C1 y C2 no son estadísticamente significativos.

Dentro de cada grupo con restricción de riego (C1 y C2), se puede observar mayores valores de rendimiento en algunas accesiones (Figura 11), dato que es necesario señalar a pesar de no mostrar diferencias significativas pues tales accesiones pueden ser de interés para mejorar la productividad del cultivo de ñuña, particularmente bajo condiciones de déficit hídrico. Sin embargo, esta información debería ser confirmada por estudios adicionales. Se debe considerar, además, que no se cuenta con datos de estudios anteriores sobre el rendimiento de ñuña a nivel de invernadero.

Las accesiones con mayores valores fueron ACC50, ACC26 y ACC1 (2.74; 2.65 y 2.64 g.planta⁻¹ respectivamente) de C1; y ACC27 y ACC10 (2.39 y 2.43 g.planta⁻¹ respectivamente) de C2. Teniendo en cuenta que el estrés hídrico va a reducir drásticamente el rendimiento de la ñuña, como se ha observado también en el presente estudio, las accesiones que aquí se señalan pueden representar buenas alternativas para su cultivo en zonas con periodos de sequía coincidentes con las etapas reproductivas del cultivo de ñuña, ya que podrían hacer menos severa la disminución de la productividad del cultivo por desarrollar cierta tolerancia a la restricción de riego al presentar mayores rendimientos del resto de accesiones.

Tabla 6. Cuadrados medios y significación del ANAVA para el rendimiento agronómico en g.planta⁻¹ en la etapa de madurez fisiológica (R9) de las 50 accesiones de ñuña con tres condiciones de riego.

Fuente	Madurez fisiológica (R9)			
	SC	gl	CM	p-valor
Bloques				
Accesión	154.65	49	3.16	0.0905
Riego	155.67	2	77.84	<0.0001
Acc. * Rie.	174.46	98	1.78	0.9600
Error	721.55	300	2.41	
Total	1206.33	449		

SC= Suma de cuadrados. CM=Cuadrados medios. gl= Grados de libertad. p-valor=significancia

Tabla 7. Comparación de medias del rendimiento agronómico en g.planta⁻¹ según condición de riego para las 50 accesiones de ñuña en la etapa de madurez fisiológica (R9).

Rendimiento en g/planta			
Bloques	Medias	N	E.E
C0	2,263	150	A
C1	1,039	150	B
C2	0,993	150	B
p-valor	<0.001*		

R9= Madurez Fisiológica (234 días). C0= Riego sin restricción; C1= Restricción de riego en la etapa de prefloración; C2= Restricción de riego en la etapa de Formación de Vainas. Las letras (a,b,c) representan los resultados de la comparación de medias por el Test de Duncan; letras distintas en la columna indican diferencias significativas; letras iguales indican lo contrario.

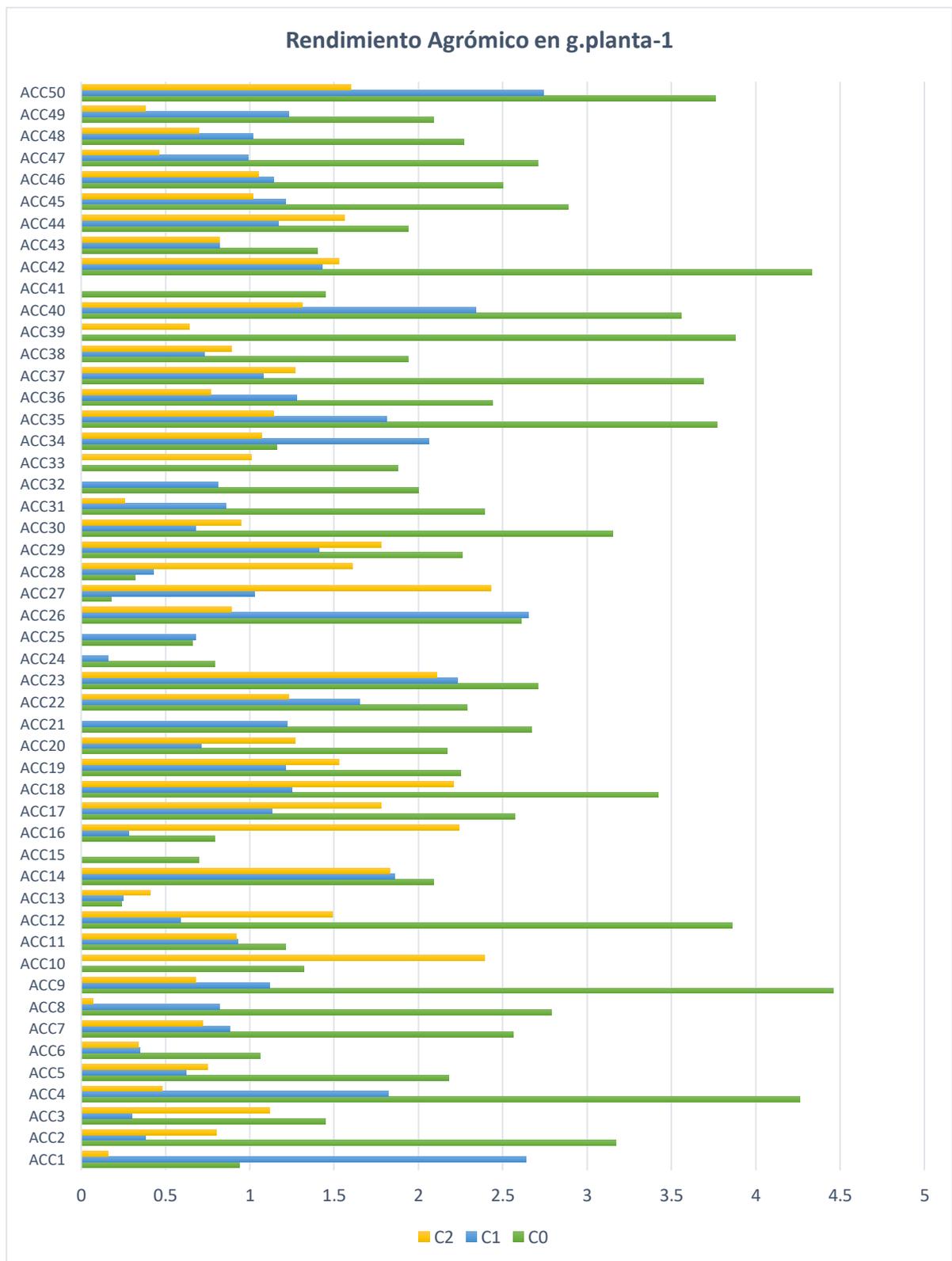


Figura 11. Valores de rendimiento agronómico de 50 accesiones de ñaña según condición de riego. C0= Riego sin restricción; C1= Restricción de riego en la etapa de prefloración; C2= Restricción de riego en la etapa de Formación de Vainas. Los valores de rendimiento más altos en los grupos con restricción de riego pertenecen a ACC50, ACC26 y ACC1 (2.74; 2.65 y 2.64 g.planta⁻¹) de C1 ; y ACC27 y ACC10 (2.39 y 2.43 g.planta⁻¹) de C2.

4.2. Discusión

El valor “cero” registrado en algunas accesiones de C0 en AF (Anexo 03) representa la pérdida completa de las hojas (defoliación), observada en 5 accesiones de ACC3, ACC10, ACC18 y ACC28, estas pertenecen a un grupo de accesiones caracterizadas con grado 3 o 5 respecto al rasgo “caída de hojas”, según la caracterización morfo-agronómica realizada por INIA, en base al descriptor del IPGRI (2001). Esto significa que tales accesiones tienen tendencia a la caída de hojas, y que el proceso de senescencia, en el que se suministran fotosintatos a los órganos de acumulación, suele ser prematuro, al igual que el llenado de vainas. Por lo tanto, es factible señalar que los valores cero del AF registrado en accesiones de ñuña sin estrés hídrico se debe a su condición de senescencia prematura.

La accesión ACC1, denominada Negra Chica de Angasmarquilla, presentó el IAF significativamente más alto en C2 (0.82 y 0.66 en R8 y R9, respectivamente; Figura 6), el cual es un valor atípico respecto de las otras accesiones. Rosales *et al.*, (2012) muestran que en condiciones de estrés por sequía el frejol Bayo Madero favorece la inversión de recursos para mantener el crecimiento de sus hojas, pero con pérdida en la producción de vainas. Al igual que el frejol Bayo Madero, la ñuña Negra Chica de Angasmarquilla favorecería el crecimiento foliar al estar en estado de estrés por sequía, lo cual no está asociado a mayor rendimiento (ver más adelante, en el ítem 4.2.).

En condiciones de restricción de riego (C1 o C2), el número de accesiones con valores IAF igual a cero aumentó. A pesar de que la senescencia de las hojas es también una estrategia de plantas en cultivo que busca evitar la pérdida de agua, ya que reduce la transpiración y, por consiguiente, la pérdida de agua esta suele acelerarse aún más en plantas sensibles a la sequía, como resultado de un programa de muerte celular activado de manera inapropiada (Rai, Kumar y Bagati, 2021). Se puede señalar entonces que bajo restricción de riego algunas accesiones de ñuña (con IAF= 0) tendrían una respuesta alterada más intensa, siendo consideradas sensibles a la sequía, bajo las condiciones trabajadas en la presente tesis.

Los bajos valores de TAN en los tres grupos de cultivo de ñuña indicaría que la tasa de fotosíntesis de las accesiones de ñuña fue deficiente en las condiciones de invernadero establecidas en el presente estudio. Cabe señalar que no se han encontrado reportes previos de TAN en ñuñas bajo condiciones de invernadero. Además la deficiencia fotosintética es generada por la obstaculización del intercambio gaseoso cuando existe disminución de la expansión foliar, senescencia prematura, oxidación de los lípidos del cloroplasto y cambios en la estructura de pigmentos y proteínas (Rai, Kumar y Bagati, 2021). En este sentido, los valores bajos de TAN estarían relacionados la disminución del IAF como se puede observar en el ítem 4.1.1.

Los resultados en R8 con más accesiones pertenecientes a C2 con mayores valores de TAN que en C0, tienen relación con los de Rosales *et al.*, 2012, en el que el cultivar de frijol resistente, Pinto Saltillo, mostró un aumento de Glicolato oxidasa (GO), esta enzima se correlaciona positiva y linealmente con la tasa fotosintética, además es una enzima importante para la fotorrespiración la cual

desempeña un papel clave en la protección de las hojas, facilitando la disipación de energía y evitando la fotoinhibición (Osmond *et al.*, 1997). Esto demuestra que la actividad de GO aumenta significativamente cuando la fotosíntesis parece estar más afectada como mecanismo de resistencia y/o tolerancia a la sequía (Guan *et al.*, 2004; Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2011), esto explicaría el comportamiento de las accesiones en R8.

Por otro lado, los resultados de ACC29 (Amarilla de Chanshapamba) muestran un valor significativamente alto de TAN en la fase R8, esto podría deberse a que en condiciones de sequía la tasa fotosintética es más alta con una conductancia más baja en frijoles resistentes, lo que sugiere que la mayor eficiencia en el uso del agua puede ser consecuencia de un mejor funcionamiento de su maquinaria de carboxilación en esas condiciones (Parry *et al.*, 2002; Tezara *et al.*, 2002; Thimmanaik *et al.*, 2002), comportamiento que registró Lizana *et al.*, 2006 en el Frijol Orfeo, el cual es considerado resistente a la sequía. De este modo ACC29 podría tener una mayor eficiencia del uso de agua como respuesta de adaptación frente a condiciones de sequía, lo cual no asegura un alto rendimiento, pero tampoco una caída drástica del mismo (ver más adelante, en el ítem 4.1.6).

El aumento en el número de accesiones en el intervalo más bajo registrado en C1 en R6 (-0.0014 – -0.0002; marca de clase: -0.001) (Figura 7) y la ausencia de accesiones en intervalos de valores más altos se debe a que, además de la reducción de la capacidad bioquímica de asimilación y uso del carbono, la eficiencia fotosintética se ve afectada por la baja conductancia estomática inducida por el déficit hídrico (Chaves, Flexas y Pinheiro, 2009), además del

efecto sobre la abundancia de proteínas involucradas en la fotosíntesis, como la Rubisco, anhidrasa carbónica, proteínas potenciadoras que generan oxígeno y otras. (Zadražnik *et al.*, 2017).

La TRC de la mayoría de especies de *Phaseolus sp*, se relaciona con su respectiva TAN, es decir que la reducción del crecimiento en dichas especies se asocia a la disminución de eficiencia fotosintética del dosel (Betancourt *et al.*, 2008), la que a su vez se asocia con la disminución de su respectiva área foliar. Esta misma relación se observa en el presente estudio ya que los valores de TAN de las accesiones evaluadas también fueron bajos. Estos resultados señalan que la ñuña podría caracterizarse por presentar valores bajos de TAN y TRC, considerando además que no se conocen estudios publicados de análisis fisiológicos en ñuña. Una evaluación con mayor número de repeticiones es necesario para comprobar esta observación.

La disminución de valores de TRC en accesiones bajo estrés hídrico ha sido relacionada con la ralentización de las tasas de crecimiento durante la fase de aclimatación al estrés hídrico a causa de una reducida actividad de la quinasa dependiente de ciclina (Rai, Kumar y Bagati, 2021), además de la inhibición de la expansión celular, reducción de la asimilación de carbono (Osório *et al.*, 1998) y el efecto resultante sobre la partición del carbono (Hsiao y Xu, 2000).

Los mayores valores de TRC en ACC9C2 y ACC5C2, denominadas “Pindila” y “Limona de Angasmarquilla”, respectivamente. Sugiere que en tales accesiones se produciría una mayor inversión de recursos en el mantenimiento del

crecimiento de las hojas y demás órganos aún bajo estrés hídrico (Rosales *et al.*, 2012). Lo cual no implicó un buen rendimiento en dichas accesiones (ver más adelante, en el ítem 4.1.6.).

El ligero aumento de los valores en general de TRC en R9 (Figura 8) posiblemente se deba al crecimiento de los nuevos órganos de la planta en esta etapa (vainas y semillas) (Ascencio, 1972). Mientras que en R8 se observa a las accesiones en rangos con menor valor. Se conoce que en el frijol común las mayores tasas de crecimiento se suelen presentar desde la emergencia hasta los 29 días después de la siembra (Apáez, Escalante y Rodríguez, 2011), con una notoria disminución en la fase reproductiva causada por la edad del cultivo, puesto que a medida que la planta aumenta de peso cada vez es menor la ganancia del mismo nuevo producido por peso ya existente (Heredia, 2015). La mayor eficiencia para elaborar nuevo material vegetal durante las etapas iniciales de desarrollo de las plantas se debe a la mayor actividad biológica y capacidad de síntesis los tejidos jóvenes (Heredia, 2015), lo cual explica los valores de TRC bajos durante R8.

Los valores bajos de TRCF incluso en el C0 (Figura 9) se debe a que al inicio del crecimiento vegetativo (aproximadamente 7 dds) el TRCF tiende a ser más alto debido a una mayor succulencia y extensión del follaje. Las hojas son los órganos más importantes en esta etapa para asegurar el crecimiento de las plantas de ñuña, así mismo la TRCF tiende a disminuir desde aproximadamente 21 dds, con mayor notoriedad en la etapa reproductiva debido a que los órganos de almacenamiento (vainas y granos, en este caso) son los elementos más importantes en esta etapa (Acosta y Kohashi, 1989; Malisch *et al.*, 2016). Además, se inicia

también el amarillamiento de las hojas, seguido de la defoliación durante en la etapa de madurez fisiológica (Valladolid, 2001). Es importante señalar que los bajos valores posiblemente también sean el resultado de una baja adaptación de las accesiones de ñuña a las condiciones de invernadero utilizadas en la presente tesis.

ACC30 al estar bajo restricción de riego en C1 y presentar un alto TRCF muestra un comportamiento de interés, el cual puede atribuirse a la inversión de recursos en el mantenimiento del crecimiento de las hojas, y producción de más follaje a partir de estas condiciones de sequía (Rosales *et al.*, 2004; Padilla *et al.*, 2007; Acosta *et al.*, 2009). Sin embargo, el mantenimiento del crecimiento de follaje de esta accesión no garantizó el mejor rendimiento.

La disminución de los valores de TRCF en las etapas R8 y R9 se atribuyen más a la ontogenia de los cultivos de ñuña, ya que son valores negativos en su mayoría. En otros casos la disminución de la tasa de crecimiento foliar de la planta puede estar asociada a una condición de mayor susceptibilidad a la sequía, dado que el mayor número de accesiones de C1 y C2 durante R8 mostraron TRCF menor o igual a cero (Figura 9) en los cuales se aplicó la restricción de riego.

Los tratamientos ACC4C1, ACC31C0 y ACC4C0 ubicados en el segundo intervalo más alto de 36-42 (marca de clase 39) y con mayores IC muestran una importante eficiencia en la producción de materia seca total de la planta, que además garantizan que parte de esa producción total esté asignada a la parte económicamente útil de la planta (Maqueira *et al.*, 2017), por este motivo la

accesión ACC4 resulta de gran interés al presentar un IC alto aún bajo restricción de riego en la etapa de prefloración (C1).

A partir de estos resultados podemos observar que la accesión ACC4 (Frontina), que además muestra un alto IC tanto en C0 como en C1, resalta por presentar un IC similar al del cultivar Pinto Villa ($\geq 40\%$), cultivar resistente a la sequía (Rosales *et al.*, 2013). Esto indica que esta accesión ha tenido una capacidad superior en la movilización de fotosintatos almacenados en estructuras vegetales para la producción de granos en comparación con las otras accesiones evaluadas. Esta capacidad juega un papel esencial en el aumento del rendimiento bajo estrés hídrico (Rao *et al.*, 2009, 2013; Assefa *et al.*, 2015). Además, esta accesión mostró un rendimiento comparativamente alto de las demás accesiones en C2.

La reducción de accesiones de C1 y C2 en el segundo intervalo más alto de IC se atribuye a que la restricción de agua tiene un fuerte efecto negativo sobre su IC asociado con deficiencias en la movilización de fotosintatos hacia los órganos de acumulación, pues ya se ha observado anteriormente que restringir el riego durante la etapa reproductiva conduce a valores más bajos de IC en frijol, del mismo modo el cultivar ñuña (Muñoz *et al.*, 2007; Blum, 2009; Assefa *et al.*, 2015). Es importante mencionar que no se han encontrado datos registrados de IC en ñuña.

La disminución del rendimiento en frijol por efecto del déficit hídrico se ha observado en otros estudios, con valores, por ejemplo, de 40% (Darkwa *et al.*, 2016) y 47% (Herrera *et al.*, 2019). Tal disminución del rendimiento en

condiciones de déficit hídrico al comienzo de la floración ha sido asociada a la generación de un estado prematuro de madurez fisiológica (Herrera *et al.*, 2019), efecto que implica la senescencia acelerada de las hojas para disminuir el tamaño del dosel (Rai, Kumar y Bagati, 2021). Considerando que, en los valores de IAF de las accesiones de ñuña disminuyó considerablemente bajo restricción de riego, es probable que la reducción del rendimiento observada fuese causada por el desencadenamiento prematuro de madurez fisiológica originado por estrés hídrico.

La tolerancia y/o resistencia a la sequía en variedades de frijol ha sido relacionada, por diversos autores, a la movilización acelerada de fotosintatos hacia las estructuras reproductivas (Acosta *et al.*, 2004) (Acosta y Kohashi, 1989; Rao, 2001; Rosales *et al.*, 2004; Rao *et al.*, 2006). Además, la resistencia y tolerancia a la sequía también se asocia a un comportamiento de ahorro de agua, formación de raíces finas y hojas más pequeñas, con el fin de reducir el uso de agua y su conductancia estomática. (Mohamed *et al.*, 2005; Butare *et al.*, 2011; Rao *et al.*, 2013; Beebe *et al.*, 2014). Los elementos responsables de los mecanismos que subyacen a la respuesta diferencial a la sequía de las accesiones serían genes reguladores, muchos de ellos asociados con la transducción de señales y factores de transcripción, y genes estructurales que modulan la expresión génica, como los implicados en las vías hormonales, el metabolismo del carbono o del nitrógeno y en la producción de metabolitos secundarios asociados a la sequía.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- a) Las condiciones de riego evaluadas (C0: Sin restricción de riego, C1: Restricción de riego durante la prefloración, y C2: Restricción de riego durante la formación de vainas) produjeron respuestas fisiológicas estadísticamente distintas en algunas de las 50 accesiones de *P. vulgaris* cultivar ñuña, bajo las condiciones de invernadero establecidas en el presente estudio; en relación al rendimiento, aunque hubo diferencias en las respuestas, estas no fueron estadísticamente significativas. Bajo restricción de riego dicha respuesta implicó la disminución de los valores de IAF, TAN, TRC, TRCF e IC y del rendimiento agronómico. En algunos casos, tal disminución fue menor.
- b) Los tratamientos que bajo restricción de riego (C1 y C2) presentaron valores estadísticamente más altos en los índices evaluados tienen los códigos completos: ACC1C2 (IAF= 0.82 en R8 y 0.66 en R9), ACC29C2 (TAN= 0.0067 en R8), ACC9C2 y ACC5C2 (TRC= 0.0132 en R8 y 0.0157 en R9, respectivamente) y ACC30C1 (TRCF= 0.0365 en R6). Bajo las condiciones establecidas, esta característica no implicó presentar valores altos en el índice de cosecha y el rendimiento agronómico.
- c) La accesión ACC4 (Frontina) presenta valores de IC significativamente más altos tanto con o sin restricción de riego (C0= 41.22% y C1=42.39%) posiblemente por presentar una capacidad superior en la movilización de fotosintatos almacenados en estructuras vegetales para la producción de

granos, pues también mostró un rendimiento comparativamente alto (1.82 g.planta⁻¹) ubicado entre los 8 primeros de C1.

- d) La restricción de riego redujo el rendimiento promedio de las 50 accesiones de ñuña en 54.01% en C1 cuando la restricción se produjo durante la etapa de prefloración y en 56.12% en C2 cuando la restricción se produjo durante la etapa de formación de vainas, lo cual podría haber sido causado por el desencadenamiento prematuro de madurez fisiológica asociado al estrés hídrico.
- e) Las accesiones con mayor rendimiento agronómico fueron ACC50, ACC26 y ACC1 (2.74; 2.65 y 2.64 g.planta⁻¹ respectivamente), en C1, y ACC27 y ACC10 (2.43 y 2.39 g.planta⁻¹ respectivamente), en C2.

5.2. Recomendaciones

- a) Aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, las accesiones de ñuña que presentaron valores de rendimiento agronómico más alto bajo condiciones de estrés hídrico representan alternativas para su cultivo en zonas con periodos de sequía coincidentes con las etapas reproductivas del cultivo de ñuña. Su utilización en zonas con períodos de aridez podría hacer menos severa la disminución de la productividad del cultivo por estrés hídrico.
- b) La caracterización de la respuesta al estrés hídrico en ñuña podría ser complementada incluyendo la búsqueda de marcadores genéticos para aumentar la eficiencia de la selección de plantas resistentes a la sequía; y el análisis de variables bioquímicas, como la producción de prolina y trehalosa, y de enzimas antioxidantes, como posibles marcadores de resistencia y/o tolerancia al estrés hídrico.
- c) En base a la experiencia obtenida en la presente tesis, se recomienda que estudios de este tipo se realicen con un conjunto más reducido de accesiones, pero con mayor número de individuos por unidad de análisis, lo cual mejoraría la significancia del análisis estadístico.
- d) Relacionar los resultados obtenidos en la presente tesis con la posibilidad de generar semillas para contribuir a la seguridad alimentaria durante los efectos del cambio climático.

LISTA DE REFERENCIAS

- Abebe, T. *et al.* (2003) 'Tolerance of mannitol-accumulating transgenic wheat to water stress and salinity', *Plant Physiology*, 131(4), pp. 1748–1755. doi:10.1104/pp.102.003616.
- Acosta Díaz, E. *et al.* (2004) 'Adaptación del frijol a sequía en la etapa reproductiva', *Terra Latinoamericana*, 22(1), pp. 49–58.
- Acosta Díaz, E. *et al.* (2009) 'Adaptation traits in dry bean cultivars grown under drought stress | Request PDF', *Agricultura Técnica México*, 35, pp. 416–425.
- Acosta Gallegos, J.A. and Kohashi Shibata, J. (1989) 'Effect of water stress on growth and yield of indeterminate dry-bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars', *Field Crops Research*, 20(2), pp. 81–93. doi:10.1016/0378-4290(89)90054-3.
- Amirul Islam, F.M. *et al.* (2004) 'Using molecular markers to assess the effect of introgression on quantitative attributes of common bean in the Andean gene pool', *Theoretical and Applied Genetics*, 108(2), pp. 243–252. doi:10.1007/s00122-003-1437-3.
- Apáez, P., Escalante, J.A. and Rodríguez, Tm.T. (2011) 'Crecimiento y rendimiento del Frijol Chino en función del tipo de espaldera y clima', *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 13(3), pp. 307–315.
- Asada, K. (1999) 'The Water-Water Cycle In Chloroplasts: Scavenging of Active Oxygens and Dissipation of Excess Photons', *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50(1), pp. 601–639. doi:10.1146/annurev.arplant.50.1.601.
- Ascencio, J. (1972) *Análisis del crecimiento y eficiencia fotosintética del frijo (Phaseolus vulgaris L. var Turrialba-4) cultivado en solución nutritiva*. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA.
- Ashraf, M. and Foolad, M.R. (2007) 'Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance', *Environmental and Experimental Botany*, 59(2), pp. 206–216. doi:10.1016/j.envexpbot.2005.12.006.
- Assefa, T. *et al.* (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(3), pp. 477–489. doi:10.1007/s10681-014-1242-x.
- Austin, C.P. (2021) *Genotipo| NIH, National Human Genome Research Institute*. Available at: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Genotipo> (Accessed: 17 January 2022).
- Beebe, S. *et al.* (2001) 'Diversity and origin of Andean landraces of common bean', *Crop Science*, 41(3), pp. 854–862. doi:10.2135/cropsci2001.413854x.
- Beebe, S.E. *et al.* (2000) 'Structure of genetic diversity among common bean landraces of Middle American origin based on correspondence analysis of RAPD.', *Crop Sci.*, 40, pp. 264–273.
- Beebe, S.E. *et al.* (2013) 'Phenotyping common beans for adaptation to drought.',

Frontiers in physiology, 4, p. 35. doi:10.3389/fphys.2013.00035.

Beebe, S.E. *et al.* (2014) ‘Common beans, biodiversity, and multiple stresses: Challenges of drought resistance in tropical soils’, *Crop and Pasture Science*, 65(7), pp. 667–675. doi:10.1071/CP13303.

Van Beem, J., Kornegay, J. and Lareo, L. (1992) ‘Nutritive value of the nuña popping bean’, *Economic Botany*, 46(2), pp. 164–170. doi:10.1007/BF02930631.

Betancourt Bahena, L. *et al.* (2008) ‘Crecimiento y Respuestas fisiológicas de *Phaseolus* spp. en Condiciones de Salinidad’, *Revista Fitotecnia Mexicana*, 31(3), pp. 213–223.

Blair, M.W. *et al.* (2006) ‘Microsatellite marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)’, *Theoretical and Applied Genetics*, 113(1), pp. 100–109. doi:10.1007/s00122-006-0276-4.

Blum, A. (2009) ‘Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress’, *Field Crops Research*, 112(2–3), pp. 119–123. doi:10.1016/J.FCR.2009.03.009.

Bota, J., Medrano, H. and Flexas, J. (2004) ‘Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress?’, *New Phytologist*, 162(3), pp. 671–681. doi:10.1111/j.1469-8137.2004.01056.x.

Le Bras, M. *et al.* (2005) ‘Reactive oxygen species and the mitochondrial signaling pathway of cell death’, *Histology and Histopathology*, pp. 205–220. doi:10.14670/HH-20.205.

Broughton, W.J. *et al.* (2003) ‘Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes’, *Plant and Soil*, 252(1), pp. 55–128. doi:10.1023/A:1024146710611.

Butare, L. *et al.* (2011) ‘New genetic sources of resistance in the genus *Phaseolus* to individual and combined aluminium toxicity and progressive soil drying stresses’, *Euphytica*, 181(3), pp. 385–404. doi:10.1007/s10681-011-0468-0.

Camarena, F. (2009) *Innovación tecnológica para el incremento de la producción de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)*. Primera ed. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina.

Camarena, F., Cerrate, A. and Huaranga, A. (1990) ‘El fríjol reventón “numia”, “ñuña” o “apa”’, *Revista INIAA*, 2(7), pp. 1–47.

Castillo, R. (2013) *Caracterización proximal de dos variedades de frijol nuña (*Phaseolus vulgaris* L.) procedente del distrito de darín - provincia de sanchez Carrion*. Universidad Nacional de Trujillo.

Chaves, M.M., Flexas, J. and Pinheiro, C. (2009) ‘Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell’, *Annals of Botany*. Oxford University Press, pp. 551–560. doi:10.1093/aob/mcn125.

Chavez, M.M. *et al.* (2002) ‘How Plants Cope with Water Stress in the Field? Photosynthesis and Growth’, *Annals of Botany*, 89(7), pp. 907–916. doi:10.1093/aob/mcf105.

Chen, C., Twito, S. and Miller, G. (2014) ‘New cross talk between ROS, ABA and auxin controlling seed maturation and germination unraveled in APX6 deficient Arabidopsis seeds’, *Plant Signaling and Behavior*, 9(12), pp. e976489-1-e976489-4.

doi:10.4161/15592324.2014.976489.

Chen, J.B. *et al.* (2016) ‘Cloning of the OAT gene and the correlation between its expression and drought tolerance in *Phaseolus vulgaris* L.’, *Journal of Integrative Agriculture*, 15(5), pp. 973–982. doi:10.1016/S2095-3119(15)61283-7.

Chiozzotto, R. *et al.* (2018) ‘Characterization of the Symbiotic Nitrogen-Fixing Common Bean Low Phytic Acid (*lpa1*) Mutant Response to Water Stress.’, *Genes*, 9(2). doi:10.3390/genes9020099.

Claussen, W. (2005) ‘Proline as a measure of stress in tomato plants’, *Plant Science*, 168(1), pp. 241–248. doi:10.1016/J.PLANTSCI.2004.07.039.

Cortés, A.J., Chavarro, M.C. and Blair, M.W. (2011) ‘SNP marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)’, *Theoretical and Applied Genetics*, 123(5), pp. 827–845. doi:10.1007/s00122-011-1630-8.

Cruz, J. *et al.* (2009) ‘Evaluación agromorfológica y caracterización molecular de la ñuña (*Phaseolus vulgaris* L.)’, *Idesia*, 27(1), pp. 29–40.

Cuadros Negri, M. del R. (2016) ‘Evaluación del rendimiento en grano de cinco cultivares de ñuña (*Phaseolus vulgaris* L.) por efecto de la fijación biológica del nitrógeno en simbiosis con *Rhizobium phaseoli*’, *Arnaldoa*, 23(1), pp. 247–270.

Darkwa, K. *et al.* (2016) ‘Evaluation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes for drought stress adaptation in Ethiopia’, *Crop Journal*, 4(5), pp. 367–376. doi:10.1016/j.cj.2016.06.007.

Domínguez, A. *et al.* (2012) ‘Algunos indicadores morfológicos y bioquímicos de cinco variedades de *Phaseolus vulgaris* L. bajo condiciones de sequía’, *Avanzada Científica*, 15(2), pp. 37–54.

Easlon, H.M. and Bloom, A.J. (2014) ‘Easy Leaf Area: Automated Digital Image Analysis for Rapid and Accurate Measurement of Leaf Area’, *Applications in Plant Sciences*, 2(7), p. 1400033. doi:10.3732/apps.1400033.

FAO (2018) *Nuestras Legumbres. Pequeñas semillas, grandes soluciones*. Ciudad de Panamá.

Fernández, F., Gepts, P. and López, M. (1986) *CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). Etapas de desarrollo de la planta de frijol común (Phaseolus vulgaris L.)*. Cali, Colombia.

Fichman, Y. *et al.* (2015) ‘Evolution of proline biosynthesis: Enzymology, bioinformatics, genetics, and transcriptional regulation’, *Biological Reviews*, 90(4), pp. 1065–1099. doi:10.1111/brv.12146.

Finkelstein, R.R. and Lynch, T.J. (2000) ‘The Arabidopsis abscisic acid response gene *ABI5* encodes a basic leucine zipper transcription factor’, *Plant Cell*, 12(4), pp. 599–609. doi:10.1105/tpc.12.4.599.

Foolad, M.R. (2004) ‘Recent advances in genetics of salt tolerance in tomato’, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Springer, pp. 101–119. doi:10.1023/B:TICU.0000007308.47608.88.

Foyer, C.H. and Noctor, G. (2005) ‘Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context’, *Plant, Cell and*

- Environment*, 28(8), pp. 1056–1071. doi:10.1111/j.1365-3040.2005.01327.x.
- Gamarra, M. *et al.* (1996) *Qosqo poroto (INIA). Primera variedad de frijol reventón, poroto, nuña o numia, para los valles interandinos de la Sierra. Boletín divulgativo.* Boletín divulgativo.
- Garg, A.K. *et al.* (2002) ‘Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(25), pp. 15898–15903. doi:10.1073/pnas.252637799.
- Gianoli, E. (2004) ‘Plasticity of traits and correlations in two populations of *Convolvulus arvensis*(Convolvulaceae) differing in environmental heterogeneity’, *International Journal of Plant Sciences*, 165(5), pp. 825–832. doi:10.1086/422050.
- Gómez, R. (2008) *Desertificación y producción agrícola: el caso de la microcuenca del Río Seco, Centro de Investigación de la Universidad del Pacífico.* Lima: Universidad del Pacífico. Centro de Investigación.
- Guan, X.Q. *et al.* (2004) ‘Photoprotective function of photorespiration in several grapevine cultivars under drought stress’, *Photosynthetica*, 42(1), pp. 31–36. doi:10.1023/B:PHOT.0000040566.55149.52.
- Hare, P.D., Cress, W.A. and van Staden, J. (1999) ‘Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction’, *Journal of Experimental Botany*, 50(333), pp. 413–434. doi:10.1093/jxb/50.333.413.
- Hare, P.D., Cress, W.A. and Van Staden, J. (1998) ‘Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress’, *Plant, Cell and Environment*, 21(6), pp. 535–553. doi:10.1046/j.1365-3040.1998.00309.x.
- Heredia Rodríguez, A.L. (2015) *Efecto del producto SAGIB en el crecimiento, desarrollo y rendimiento del frijol (Phaseolus vulgaris L.) var. Pinto Saltillo, Bajo Condiciones de Temporal).* Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Hernandez, L.G. and Barquero, E.I. (2003) *Evaluación de 16 variedades de frijol común negro (Phaseolus vulgaris L.) en época de primavera en la compañía, Carazo.* Universidad Nacional Agraria.
- Hernández, M.S. (2013) *Cultivo del Frijol. Ficha Técnica.*
- Herrera, M.D. *et al.* (2019) ‘Common bean seeds from plants subjected to severe drought, restricted- and full-irrigation regimes show differential phytochemical fingerprint’, *Food Chemistry*, 294(April), pp. 368–377. doi:10.1016/j.foodchem.2019.05.076.
- Hmida-Sayari, A. *et al.* (2005) ‘Overexpression of Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers salt tolerance in transgenic potato plants’, *Plant Science*, 169(4), pp. 746–752. doi:10.1016/j.plantsci.2005.05.025.
- Hsiao, T.C. and Xu, L. (2000) ‘Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport’, *Journal of Experimental Botany*, 51(350), pp. 1595–1616. doi:10.1093/jexbot/51.350.1595.
- Hunt, R. (1990) ‘Basic Growth Analysis’, *Basic Growth Analysis*, (London, Unwin, Hyman, Boston, Sydney and Wellington.), p. 112. doi:10.1007/978-94-010-9117-6.
- INIA (2009) ‘La nuña en Cajamarca’. Baños del Inca - Cajamarca, p. 1. Available at: <http://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/inia/244/1/HD-6-2009-Ñuña.pdf>.

- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), Cooperación Suiza para el desarrollo (COSUDE) and Red de innovación agrícola (RED SICTA) (2008) *Guía técnica para el cultivo de frijol en los municipios de Santa Lucía, Teustepe y San Lorenzo del Departamento de Boaco, Ncaragua*. Santa Lucía, Boaco.
- International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) (2001) *Descriptores para Phaseolus vulgaris, Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants*. Rome, Italy. doi:10.1007/978-94-007-1764-0_92.
- Kirch, H.H. *et al.* (2005) 'Detailed expression analysis of selected genes of the aldehyde dehydrogenase (ALDH) gene superfamily in Arabidopsis thaliana', *Plant Molecular Biology*, 57(3), pp. 315–332. doi:10.1007/s11103-004-7796-6.
- Kotchoni, S.O. and Bartels, D. (2003) *Water stress induces the up-regulation of a specific set of genes in plants: aldehyde dehydrogenase as an example*, *Bull. J. Plant Physiol. Special Issue*, .
- Laloi, C., Apel, K. and Danon, A. (2004) 'Reactive oxygen signalling: The latest news', *Current Opinion in Plant Biology*. Elsevier Current Trends, pp. 323–328. doi:10.1016/j.pbi.2004.03.005.
- Lawlor, D.W. and Tezara, W. (2009) 'Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes.', *Annals of botany*, 103(4), pp. 561–79. doi:10.1093/aob/mcn244.
- Liang, X. *et al.* (2013) 'Proline mechanisms of stress survival', *Antioxidants and Redox Signaling*. Mary Ann Liebert, Inc., pp. 998–1011. doi:10.1089/ars.2012.5074.
- Lizana, C. *et al.* (2006) 'Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress I. Effects of drought on yield and photosynthesis', *Journal of Experimental Botany*, 57(3), pp. 685–697. doi:10.1093/jxb/erj062.
- Llique, N. (1993) *Efecto del medio ambiente en el contenido de proteínas y capacidad reventón del Frijol Ñuña (Phaseolus vulgaris L.), en el Departamento de Cajamarca*. Universidad Nacional de Cajamarca.
- Mahuku, G.S. *et al.* (2002) 'Sources of resistance to Colletotrichum lindemuthianum in the secondary gene pool of Phaseolus vulgaris and in crosses of primary and secondary gene pools', *Plant Disease*, 86(12), pp. 1383–1387. doi:10.1094/PDIS.2002.86.12.1383.
- Malisch, C.S. *et al.* (2016) 'Drought Effects on Proanthocyanidins in Sainfoin (Onobrychis viciifolia Scop.) Are Dependent on the Plant's Ontogenetic Stage', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(49), pp. 9307–9316. doi:10.1021/acs.jafc.6b02342.
- Maqueira, L. *et al.* (2017) 'Crecimiento y rendimiento de cultivares de frijol negro (Phaseolus vulgaris L.) En la localidad de los Palacios', *Cultivos Tropicales*, 38(3), pp. 58–63.
- Marmolejo, K.J. (2018) *Variabilidad Genética del frijol Común tipo Ñuña (Phaseolus vulgaris L.) En las localidades de Carhuaz y Chiquián, Ancash*. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Martínez, J.P. *et al.* (2007) 'Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (Phaseolus vulgaris L.)',

European Journal of Agronomy, 26(1), pp. 30–38. doi:10.1016/J.EJA.2006.08.003.

Miklas, P.N. *et al.* (2006) ‘Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: From classical to MAS breeding’, *Euphytica*, 147(1–2), pp. 105–131. doi:10.1007/s10681-006-4600-5.

MINAM (2011) ‘La desertificación en el Perú’, *Manejo sostenible de la tierra*. Primera ed. Edited by © Fondo Editorial del MINAM, p. 73.

Mittler, R. (2002) ‘Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance.’, *Trends in plant science*, 7(9), pp. 405–10.

Mohamed, F. *et al.* (2005) ‘Comparative Drought Postponing And Tolerance Potentials Of Two Tepary Bean Lines In Relation To Seed Yield’, *African Crop Science Journal*, 13(1), pp. 49–60. doi:10.4314/ACSJ.V13I1.27903.

Mora, R. *et al.* (2006) ‘Índices De Eficiencia De Genotipos De Papa Establecidos En Condiciones De Secano’, *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 12(1), pp. 85–94. doi:10.5154/r.rchsh.2004.09.049.

Morales, E.J., Franco, O. and González, A. (2011) ‘Snap bean production using sunflowers as living trellises in the central high valleys of Mexico’, *Ciencia e Investigacion Agraria*, 38(1), pp. 53–63. doi:10.4067/S0718-16202011000100005.

Muñoz-Perea, C.G. *et al.* (2007) ‘Water use efficiency among dry bean landraces and cultivars in drought-stressed and non-stressed environments’, *Euphytica*, 155(3), pp. 393–402. doi:10.1007/s10681-006-9340-z.

National Research Council (1990) ‘Little-known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation’, in National Academy Press (ed.) *Lost Crops of the Incas*. Second. Washington, D.C.: National Academies Press, p. 428. doi:10.17226/1398.

Neumann, P.M. (2008) ‘Coping Mechanisms for Crop Plants in Drought-prone Environments’, *Annals of Botany*, 101(7), pp. 901–907. doi:10.1093/aob/mcn018.

Nicolas, P. *et al.* (2014) ‘The basic leucine zipper transcription factor Abscisic acid response element-binding factor2 is an important transcriptional regulator of abscisic acid-dependent grape berry ripening processes’, *Plant Physiology*, 164(1), pp. 365–383. doi:10.1104/pp.113.231977.

Osmond, B. *et al.* (1997) ‘Too many photon: photorespiration, photoinhibition and photooxidation’, *Trends in Plant Science*. Elsevier Ltd, pp. 119–121. doi:10.1016/S1360-1385(97)80981-8.

Osório, J. *et al.* (1998) ‘Water deficits are more important in delaying growth than in changing patterns of carbon allocation in Eucalyptus globulus’, *Tree Physiology*, 18(6), pp. 363–373. doi:10.1093/treephys/18.6.363.

Otálora, J.M., Ligarreto, G.A. and Romero, A. (2006) ‘Agronomic characteristics and grain quality of the common “popping” bean (*Phaseolus vulgaris* L.)’, *Agronomía Colombiana*, 24(1), pp. 7–16.

Padilla Ramírez, J.S. *et al.* (2007) *Indicators of dry bean performance under rainfed conditions at the highlands of Mexico. Bean Improvement Cooperative Annual Report 50, Bean Improvement Cooperative Annual Report*.

Parry, M.A.J. *et al.* (2002) ‘Rubisco activity: Effects of drought stress’, *Annals of Botany*,

89(SPEC. ISS.), pp. 833–839. doi:10.1093/aob/mcf103.

Pei, Z.F. *et al.* (2010) ‘Silicon Improves the Tolerance to Water-Deficit Stress Induced by Polyethylene Glycol in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seedlings’, *Journal of Plant Growth Regulation*, 29(1), pp. 106–115. doi:10.1007/s00344-009-9120-9.

Pessarakli, M *et al.* (1999) ‘Plant Response to Water-Deficit Conditions’, in Pessarakli, Mohammad (ed.) *Handbook of Plant and Crop Stress*. 2nd Editio. New York: Copyright, p. 1189.

Polania, J.A. *et al.* (2016) ‘Effective Use of Water and Increased Dry Matter Partitioned to Grain Contribute to Yield of Common Bean Improved for Drought Resistance.’, *Frontiers in plant science*, 7, p. 660. doi:10.3389/fpls.2016.00660.

Polón Pérez, R. *et al.* (2017) ‘Efectos del estrés hídrico sobre el rendimiento de los granos del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)’, *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 26(1), pp. 66–70.

Rai, G.K., Kumar, R.R. and Bagati, S. (2021) *Abiotic Stress Tolerance Mechanisms in Plants*. Narendra P. Edited by R.R. Kumar, Gyanendra Kumar Rai, and S. Bagati. India: CRC Press.

Rao, I. (2001) ‘Role of physiology in improving crop adaptation to abiotic stresses in the tropics: the case of common bean and tropical forages’, in Marcel Dekker Inc. (ed.) *Handbook of Plant and Crop Physiology*. Pessarakli. New York, pp. 583–613.

Rao, I. *et al.* (2013) ‘Can Tepary bean be a model for improvement of drought resistance in common bean.’, *African Crop Science Journal*, 21(4), pp. 265–281. doi:10.4314/acsj.v21i4.

Rao, I.M. *et al.* (2006) ‘Differences in drought resistance of advanced lines developed for the last 3 decades’, in *Annual Report 2006. Project IP-1: Bean Improvement for the Tropics*. CIAT. Cali- Colombia, pp. 2–6.

Rao, I.M. *et al.* (2009) ‘Physiological basis of improved drought resistance in common bean: the contribution of photosynthate mobilization to grain’, *In Interdrought-III. the 3rd international conference on integrated approaches to improve crop production under drought-prone environments*. Shanghai, p. 64. doi:10.1017/S0021859616000915.

Ríos, M. and Quirós, J. (2002) ‘El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.): Cultivo, beneficio y variedades’. Edited by FENALCE. Bogotá, Colombia, pp. 5–8.

Rosales, M. *et al.* (2013) ‘Physiological traits related to terminal drought resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)’, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), pp. 324–331. doi:10.1002/jsfa.5761.

Rosales, M.A. *et al.* (2012) ‘Physiological analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars uncovers characteristics related to terminal drought resistance’, *Plant Physiology and Biochemistry*, 56, pp. 24–34. doi:10.1016/j.plaphy.2012.04.007.

Rosales Serna, R. *et al.* (2004) ‘Biomass distribution, maturity acceleration and yield in drought-stressed common bean cultivars’, *Field Crops Research*, 85(2–3), pp. 203–211. doi:10.1016/S0378-4290(03)00161-8.

Rotimi, C.N. (2021) *Gene Pool/NIH, National Human Genome Research Institute*. Available at: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Gene-Pool> (Accessed: 20

January 2022).

Rural Advancement Foundation International [RAFI] (2001) *Preparando para 'El Nuña' / Grupo ETC, 03 de marzo*. Available at: <http://www.etcgroup.org/content/bracing-el-nuña> (Accessed: 8 September 2019).

Sánchez-Rodríguez, E. *et al.* (2011) 'Ammonia production and assimilation: Its importance as a tolerance mechanism during moderate water deficit in tomato plants', *Journal of Plant Physiology*, 168(8), pp. 816–823. doi:10.1016/j.jplph.2010.11.018.

Sánchez Reinoso, A.D., Ligarreto Moreno, G.A. and Restrepo Díaz, H. (2020) 'Evaluation of drought indices to identify tolerant genotypes in common bean bush (*Phaseolus vulgaris* L.)', *Journal of Integrative Agriculture*, 19(1), pp. 99–107. doi:10.1016/S2095-3119(19)62620-1.

Santa Cruz, A. (2017) *Influencia de la densidad de siembra en la dinámica de crecimiento y los componentes del rendimiento de dos cultivares de papa*, Universidad Nacional de Cajamarca. Universidad Nacional de Cajamarca.

Santa Cruz, Á.E. and Vásquez, J.L. (2021) *Catálogo de Ñuña (Phaseolus vulgaris L.) Del Banco de Germoplasma del INIA*. Edited by Instituto de Innovación Agraria - INIA. Lima. Perú.

Santos, M. (2010) *Evaluación del crecimiento, desarrollo y componentes de rendimiento de cuatro cultivares de papa criolla en dos localidades del departamento de Cundinamarca*. Universidad Nacional d Colombia.

Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Seki, M. (2003) 'Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses', *Current Opinion in Plant Biology*. Elsevier Ltd, pp. 410–417. doi:10.1016/S1369-5266(03)00092-X.

Singh, S.P., Gepts, P. and Debouck, D.G. (1991) 'Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae).', *Econ. Bot.*, 45, pp. 379–396.

Sitte, P. *et al.* (2004) *Strasburger Tratado de Botánica*. 35^a ed., Omega ed. Barcelona. 35^a ed.

Tezara, W. *et al.* (2002) 'Effects of water deficit and its interaction with CO₂ supply on the biochemistry and physiology of photosynthesis in sunflower', *Journal of Experimental Botany*, 53(375), pp. 1781–1791. doi:10.1093/jxb/erf021.

Thimmanaik, S. *et al.* (2002) 'Photosynthesis and the enzymes of photosynthetic carbon reduction cycle in mulberry during water stress and recovery', *Photosynthetica*, 40(2), pp. 233–236. doi:10.1023/A:1021397708318.

Thung, M. and Rao, I.M. (1999) 'Integrated Management of Abiotic Stresses', in Singh, S.P. (ed.) *Common Bean Improvement in the Twenty-First Century*. Springer, Dordrecht, pp. 331–370. doi:10.1007/978-94-015-9211-6_13.

Tohme, J. *et al.* (1995) 'Variability in Andean Ñuña common beans (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae)', *Economic Botany*, 49(1), pp. 78–95. doi:10.1007/BF02862280.

Torres, J. and Gómez, A. (2008) *Adaptación al cambio climático: de los fríos y los calores en los Andes. Experiencias de adaptación tecnológica en siete zonas del Perú*. Primera ed. Edited by Soluciones Prácticas ITDG. Lima - Perú.

Ulloa, J. *et al.* (2011) 'El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como

- fuentes de fitoquímicos, Universidad Autónoma de Nayarit', *Revista Fuente Año*, 3(8), pp. 5–9.
- Umezawa, T. *et al.* (2006) 'Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes to unlock the future', *Current Opinion in Biotechnology*. Elsevier Current Trends, pp. 113–122. doi:10.1016/j.copbio.2006.02.002.
- Valladolid, A. (2001) *El cultivo del frijol (Phaseolus vulgaris L.) en la costa del Perú*. Primera Ed. Edited by Comité Central de Edición y Publicaciones. Lima: Instituto Nacional de Innovación Agraria.
- Villordo, E. *et al.* (2015) 'Identification of novel drought-tolerant-associated SNPs in common bean (*Phaseolus vulgaris*).', *Frontiers in plant science*, 6, p. 546. doi:10.3389/fpls.2015.00546.
- Voyses, O. (2000) 'Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.): Legado de variedades de América Latina 1930-1999', *Centro Internacional de Agricultura Tropical*, (231), p. 195.
- Waditee, R. *et al.* (2005) 'Genes for direct methylation of glycine provide high levels of glycinebetaine and abiotic-stress tolerance in *Synechococcus* and *Arabidopsis*', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(5), pp. 1318–1323. doi:10.1073/pnas.0409017102.
- White, J.W. and Singh, S.P. (1991) 'Sources and inheritance of earliness in tropically adapted indeterminate common bean', *Euphytica*, 55(1), pp. 15–19. doi:10.1007/BF00022554.
- Xiong, L., Schumaker, K.S. and Zhu, J.K. (2002) 'Cell signaling during cold, drought, and salt stress', *Plant Cell*, 14(SUPPL.), p. s165. doi:10.1105/tpc.000596.
- Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. (2005) 'Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic- and cold-stress-responsive promoters', *Trends in Plant Science*. Elsevier Ltd, pp. 88–94. doi:10.1016/j.tplants.2004.12.012.
- Yuste, F.J. *et al.* (2012) 'Marker-based linkage map of Andean common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and mapping of QTLs underlying popping ability traits', *BMC Plant Biology*, 12, p. 136. doi:10.1186/1471-2229-12-136.
- Zdražnik, T. *et al.* (2017) 'Proteomic analysis of common bean stem under drought stress using in-gel stable isotope labeling', *Journal of Plant Physiology*, 209, pp. 42–50. doi:10.1016/j.jplph.2016.10.015.
- Zhang, J. *et al.* (2006) 'Role of ABA in integrating plant responses to drought and salt stresses', in *Field Crops Research*. Elsevier, pp. 111–119. doi:10.1016/j.fcr.2005.08.018.
- Zimmerer, C. (1986) "La ñuña", *En V Congreso Internacional de Sistemas Agropecuarios Andinos* [Preprint]. Puno - Perú: Code Puno, INIPACIPA XV.
- Zimmerer, K.S. (2021) 'Ñuña o poroto', in de Haan, S., Zeigler, M., and Guzman Vidal, F. (eds) *Los andes y los alimentos del futuro. 50 futuros alimentos andinos*. Primera ed. Lima, Perú, p. 205. Available at: <https://cipotato.org/publications/bibliografia-bibliography-los-andes-y-los-alimentos-del-futuro/>.

APÉNDICES

APÉNDICE 01: Factores, niveles y tratamientos en estudio.

Factores	Riego					
	Accesión	C0	Descripción	C1	Descripción	C2
ACC1	ACC1C0	ACC1, sin restricción de riego	ACC1C1	ACC1, con restricción de riego en R5	ACC1C2	ACC1, con restricción de riego en R7
ACC2	ACC2C0	ACC2, sin restricción de riego	ACC2C1	ACC2, con restricción de riego en R5	ACC2C2	ACC2, con restricción de riego en R7
ACC3	ACC3C0	ACC3, sin restricción de riego	ACC3C1	ACC3, con restricción de riego en R5	ACC3C2	ACC3, con restricción de riego en R7
ACC4	ACC4C0	ACC4, sin restricción de riego	ACC4C1	ACC4, con restricción de riego en R5	ACC4C2	ACC4, con restricción de riego en R7
ACC5	ACC5C0	ACC5, sin restricción de riego	ACC5C1	ACC5, con restricción de riego en R5	ACC5C2	ACC5, con restricción de riego en R7
ACC6	ACC6C0	ACC6, sin restricción de riego	ACC6C1	ACC6, con restricción de riego en R5	ACC6C2	ACC6, con restricción de riego en R7
ACC7	ACC7C0	ACC7, sin restricción de riego	ACC7C1	ACC7, con restricción de riego en R5	ACC7C2	ACC7, con restricción de riego en R7
ACC8	ACC8C0	ACC8, sin restricción de riego	ACC8C1	ACC8, con restricción de riego en R5	ACC8C2	ACC8, con restricción de riego en R7
ACC9	ACC9C0	ACC9, sin restricción de riego	ACC9C1	ACC9, con restricción de riego en R5	ACC9C2	ACC9, con restricción de riego en R7
ACC10	ACC10C0	ACC10, sin restricción de riego	ACC10C1	ACC10, con restricción de riego en R5	ACC10C2	ACC10, con restricción de riego en R7
ACC11	ACC11C0	ACC11, sin restricción de riego	ACC11C1	ACC11, con restricción de riego en R5	ACC11C2	ACC11, con restricción de riego en R7
ACC12	ACC12C0	ACC12, sin restricción de riego	ACC12C1	ACC12, con restricción de riego en R5	ACC12C2	ACC12, con restricción de riego en R7
ACC13	ACC13C0	ACC13, sin restricción de riego	ACC13C1	ACC13, con restricción de riego en R5	ACC13C2	ACC13, con restricción de riego en R7
ACC14	ACC14C0	ACC14, sin restricción de riego	ACC14C1	ACC14, con restricción de riego en R5	ACC14C2	ACC14, con restricción de riego en R7
ACC15	ACC15C0	ACC15, sin restricción de riego	ACC15C1	ACC15, con restricción de riego en R5	ACC15C2	ACC15, con restricción de riego en R7
ACC16	ACC16C0	ACC16, sin restricción de riego	ACC16C1	ACC16, con restricción de riego en R5	ACC16C2	ACC16, con restricción de riego en R7
ACC17	ACC17C0	ACC17, sin restricción de riego	ACC17C1	ACC17, con restricción de riego en R5	ACC17C2	ACC17, con restricción de riego en R7
ACC18	ACC18C0	ACC18, sin restricción de riego	ACC18C1	ACC18, con restricción de riego en R5	ACC18C2	ACC18, con restricción de riego en R7
ACC19	ACC19C0	ACC19, sin restricción de riego	ACC19C1	ACC19, con restricción de riego en R5	ACC19C2	ACC19, con restricción de riego en R7
ACC20	ACC20C0	ACC20, sin restricción de riego	ACC20C1	ACC20, con restricción de riego en R5	ACC20C2	ACC20, con restricción de riego en R7
ACC21	ACC21C0	ACC21, sin restricción de riego	ACC21C1	ACC21, con restricción de riego en R5	ACC21C2	ACC21, con restricción de riego en R7
ACC22	ACC22C0	ACC22, sin restricción de riego	ACC22C1	ACC22, con restricción de riego en R5	ACC22C2	ACC22, con restricción de riego en R7
ACC23	ACC23C0	ACC23, sin restricción de riego	ACC23C1	ACC23, con restricción de riego en R5	ACC23C2	ACC23, con restricción de riego en R7
ACC24	ACC24C0	ACC24, sin restricción de riego	ACC24C1	ACC24, con restricción de riego en R5	ACC24C2	ACC24, con restricción de riego en R7
ACC25	ACC25C0	ACC25, sin restricción de riego	ACC25C1	ACC25, con restricción de riego en R5	ACC25C2	ACC25, con restricción de riego en R7
ACC26	ACC26C0	ACC26, sin restricción de riego	ACC26C1	ACC26, con restricción de riego en R5	ACC26C2	ACC26, con restricción de riego en R7
ACC27	ACC27C0	ACC27, sin restricción de riego	ACC27C1	ACC27, con restricción de riego en R5	ACC27C2	ACC27, con restricción de riego en R7
ACC28	ACC28C0	ACC28, sin restricción de riego	ACC28C1	ACC28, con restricción de riego en R5	ACC28C2	ACC28, con restricción de riego en R7
ACC29	ACC29C0	ACC29, sin restricción de riego	ACC29C1	ACC29, con restricción de riego en R5	ACC29C2	ACC29, con restricción de riego en R7
ACC30	ACC30C0	ACC30, sin restricción de riego	ACC30C1	ACC30, con restricción de riego en R5	ACC30C2	ACC30, con restricción de riego en R7
ACC31	ACC31C0	ACC31, sin restricción de riego	ACC31C1	ACC31, con restricción de riego en R5	ACC31C2	ACC31, con restricción de riego en R7
ACC32	ACC32C0	ACC32, sin restricción de riego	ACC32C1	ACC32, con restricción de riego en R5	ACC32C2	ACC32, con restricción de riego en R7
ACC33	ACC33C0	ACC33, sin restricción de riego	ACC33C1	ACC33, con restricción de riego en R5	ACC33C2	ACC33, con restricción de riego en R7
ACC34	ACC34C0	ACC34, sin restricción de riego	ACC34C1	ACC34, con restricción de riego en R5	ACC34C2	ACC34, con restricción de riego en R7

Continúa en la página 74

ACC35	ACC35C0	ACC35, sin restricción de riego	ACC35C1	ACC35, con restricción de riego en R5	ACC35C2	ACC35, con restricción de riego en R7
ACC36	ACC36C0	ACC36, sin restricción de riego	ACC36C1	ACC36, con restricción de riego en R5	ACC36C2	ACC36, con restricción de riego en R7
ACC37	ACC37C0	ACC37, sin restricción de riego	ACC37C1	ACC37, con restricción de riego en R5	ACC37C2	ACC37, con restricción de riego en R7
ACC38	ACC38C0	ACC38, sin restricción de riego	ACC38C1	ACC38, con restricción de riego en R5	ACC38C2	ACC38, con restricción de riego en R7
ACC39	ACC39C0	ACC39, sin restricción de riego	ACC39C1	ACC39, con restricción de riego en R5	ACC39C2	ACC39, con restricción de riego en R7
ACC40	ACC40C0	ACC40, sin restricción de riego	ACC40C1	ACC40, con restricción de riego en R5	ACC40C2	ACC40, con restricción de riego en R7
ACC41	ACC41C0	ACC41, sin restricción de riego	ACC41C1	ACC41, con restricción de riego en R5	ACC41C2	ACC41, con restricción de riego en R7
ACC42	ACC42C0	ACC42, sin restricción de riego	ACC42C1	ACC42, con restricción de riego en R5	ACC42C2	ACC42, con restricción de riego en R7
ACC43	ACC43C0	ACC43, sin restricción de riego	ACC43C1	ACC43, con restricción de riego en R5	ACC43C2	ACC43, con restricción de riego en R7
ACC44	ACC44C0	ACC44, sin restricción de riego	ACC44C1	ACC44, con restricción de riego en R5	ACC44C2	ACC44, con restricción de riego en R7
ACC45	ACC45C0	ACC45, sin restricción de riego	ACC45C1	ACC45, con restricción de riego en R5	ACC45C2	ACC45, con restricción de riego en R7
ACC46	ACC46C0	ACC46, sin restricción de riego	ACC46C1	ACC46, con restricción de riego en R5	ACC46C2	ACC46, con restricción de riego en R7
ACC47	ACC47C0	ACC47, sin restricción de riego	ACC47C1	ACC47, con restricción de riego en R5	ACC47C2	ACC47, con restricción de riego en R7
ACC48	ACC48C0	ACC48, sin restricción de riego	ACC48C1	ACC48, con restricción de riego en R5	ACC48C2	ACC48, con restricción de riego en R7
ACC49	ACC49C0	ACC49, sin restricción de riego	ACC49C1	ACC49, con restricción de riego en R5	ACC49C2	ACC49, con restricción de riego en R7
ACC50	ACC50C0	ACC50, sin restricción de riego	ACC50C1	ACC50, con restricción de riego en R5	ACC50C2	ACC50, con restricción de riego en R7

TOTAL 50ACC x 3C = 150 tratamientos

APÉNDICE 02: PANEL DE FOTOGRAFÍAS



Figura 12. Esterilización del sustrato con formol a concentración de 1.55% (v/v) en la EEA Baños del Inca.



Figura 13. Distribución del sustrato en contenedores de plástico para vivero (1.2kg / contenedor) en el invernadero ubicado en EEA- Baños del Inca.



Figura 14. Instalación en invernadero, con tres grupos de condición de riego (C0: sin restricción de riego, C1: con restricción de riego en R5 y C2: con restricción de riego en R7) y 150 tratamientos.



Figura 15. Recopilación de datos de los 150 tratamientos de ñaña. La autora en labor de recopilación de datos.

APÉNDICE 03: Área foliar (AF) de 50 accesiones de *Phaseolus vulgaris* - cultivar ñuña, según condiciones de riego (C0 – C2) y etapas fenológicas (R6, R8 y R9).

Accs	R6			R8			R9		
	C0	C1	C2	C0	C1	C2	C0	C1	C2
ACC1	1216.1	713.4	1125.1	702.7	16.3	573.8	562.2	13.1	459.1
ACC2	883.0	727.8	2328.0	3.8	226.6	0.0	3.1	181.3	0.0
ACC3	774.4	288.5	568.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
ACC4	1028.4	315.7	1519.3	399.9	0.0	29.6	320.0	0.0	23.7
ACC5	776.7	638.0	798.8	200.6	0.7	15.5	160.5	0.5	12.4
ACC6	1020.8	653.3	615.5	247.7	10.6	33.8	198.2	8.5	27.1
ACC7	822.7	542.8	400.1	363.1	6.8	120.9	290.5	5.4	96.7
ACC8	1058.6	802.2	1606.1	555.4	193.6	11.6	444.3	154.9	9.3
ACC9	725.6	843.9	555.9	265.7	0.0	73.1	212.5	0.0	58.5
ACC10	482.2	600.5	606.3	0.0	179.1	3.8	0.0	143.3	3.0
ACC11	879.3	617.8	1330.2	71.6	100.5	23.9	57.3	80.4	19.2
ACC12	773.7	249.5	550.6	92.1	202.9	116.9	73.7	162.3	93.5
ACC13	793.6	588.6	662.5	165.7	138.5	151.2	132.6	110.8	121.0
ACC14	672.2	634.4	629.1	11.6	39.8	88.1	9.3	31.8	70.5
ACC15	526.9	338.8	173.8	185.0	4.6	21.0	148.0	3.7	16.8
ACC16	623.0	735.2	383.0	372.5	26.7	80.3	298.0	21.3	64.2
ACC17	509.2	543.9	347.3	257.7	38.2	0.0	206.2	30.5	0.0
ACC18	761.0	674.0	573.6	0.0	64.8	98.0	0.0	51.8	78.4
ACC19	538.8	482.3	648.4	69.2	72.0	48.7	55.4	57.6	39.0
ACC20	569.6	356.1	812.8	212.4	0.0	223.9	169.9	0.0	179.1
ACC21	456.3	576.1	659.5	214.0	164.6	61.5	171.2	131.7	49.2
ACC22	999.1	823.5	719.0	179.2	119.5	32.0	143.4	95.6	25.6
ACC23	1063.8	1055.6	1054.9	433.6	206.7	45.5	346.9	165.4	36.4
ACC24	585.5	651.5	523.1	227.8	7.0	83.0	182.3	5.6	66.4
ACC25	419.1	436.5	362.3	305.1	34.9	59.7	244.1	27.9	47.8
ACC26	620.6	632.8	767.1	222.2	44.3	0.0	177.8	35.4	0.0
ACC27	618.9	330.0	705.3	256.1	25.2	49.2	204.9	20.1	39.3
ACC28	692.3	514.3	363.3	0.0	276.7	0.0	0.0	221.4	0.0
ACC29	1055.5	654.2	1146.1	359.2	1.5	8.9	287.3	1.2	7.1
ACC30	454.9	423.6	641.9	334.4	0.0	0.0	267.6	0.0	0.0
ACC31	1481.0	470.6	963.3	207.8	2.0	139.2	166.3	1.6	111.3
ACC32	726.4	765.3	1130.8	29.3	166.1	166.8	23.4	132.9	133.5
ACC33	711.7	368.0	1127.6	298.4	4.4	0.6	238.7	3.5	0.5
ACC34	583.6	660.3	994.7	295.7	0.0	96.4	236.5	0.0	77.1
ACC35	475.8	384.1	1102.8	74.0	97.7	70.1	59.2	78.2	56.1
ACC36	785.4	469.7	417.3	147.8	93.3	72.0	118.2	74.6	57.6
ACC37	816.8	1102.3	1132.6	57.8	22.8	124.7	46.3	18.2	99.7
ACC38	1238.6	506.9	888.4	759.1	184.4	207.1	607.3	147.5	165.7
ACC39	459.4	394.0	694.4	364.8	44.6	181.9	291.8	35.7	145.5
ACC40	663.9	509.6	579.6	145.2	0.0	0.0	116.2	0.0	0.0
ACC41	741.6	287.5	537.9	362.0	34.6	68.2	289.6	27.7	54.6
ACC42	554.6	477.9	615.4	5.5	0.0	145.5	4.4	0.0	116.4
ACC43	1096.3	977.9	565.0	525.0	236.4	3.3	420.0	189.1	2.6
ACC44	549.3	308.6	501.8	219.5	0.0	30.0	175.6	0.0	24.0
ACC45	654.8	492.9	585.8	353.7	242.9	98.3	283.0	194.3	78.7
ACC46	602.9	375.7	599.6	212.6	29.9	85.7	170.1	23.9	68.5
ACC47	645.9	450.7	245.4	25.9	36.4	0.0	20.7	29.1	0.0
ACC48	414.1	235.4	325.9	246.6	21.7	20.0	197.3	17.3	16.0
ACC49	216.5	721.3	1095.0	7.1	26.1	34.0	5.7	20.9	27.2
ACC50	576.7	729.3	708.7	181.3	121.0	149.3	145.1	96.8	119.4

V2= Hojas primarias (33 días); V4= Tercera hoja trifoliada (66 días); R6= Flotación (110); R8= Llenado de vainas (164 días), R9= Madurez Fisiológica (234 días). T0= Riego sin restricción; T1= Restricción de riego en la etapa de prefloración; T2= Restricción de riego en la etapa de Formación de Vainas.

ANEXOS

ANEXO 01: Procedencia de las 50 accesiones de ñaña utilizadas en esta tesis y según los códigos asignados, así como su denominación común y el rasgo persistencia de hojas, según IPGRI (2001).

N°	ELEVACIÓN	LATITUD	LONGITUD	PROVINCIA	DISTRITO	LOCALIDAD	NOM. LOCAL	PERSISTENCIA DE HOJA
ACC1	2800	-7.72510	-78.15520	SANCHEZ CARRION	SANAGORAN	ANGASMARQUILLA	NEGRA CHICA	5
ACC2	2800	-7.72510	-78.15520	SANCHEZ CARRION	SANAGORAN	ANGASMARQUILLA	HUANCHACA	5
ACC3	2800	-7.72510	-78.15520	SANCHEZ CARRION	SANAGORAN	ANGASMARQUILLA	PAVA GRANDE	3
ACC4	2800	-7.72510	-78.15520	SANCHEZ CARRION	SANAGORAN	ANGASMARQUILLA	FRONTINA	7
ACC5	2800	-7.72510	-78.15520	SANCHEZ CARRION	SANAGORAN	ANGASMARQUILLA	LIMONA	5
ACC6	2800	-7.72510	-78.15520	SANCHEZ CARRION	SANAGORAN	ANGASMARQUILLA	CONEJA	7
ACC7	2800	-7.72510	-78.15520	SANCHEZ CARRION	SANAGORAN	ANGASMARQUILLA	NEGRA GRANDE	3
ACC8	2800	-7.72510	-78.15520	SANCHEZ CARRION	SANAGORAN	ANGASMARQUILLA	MARRONA	5
ACC9	2800	-7.72510	-78.15520	SANCHEZ CARRION	SANAGORAN	ANGASMARQUILLA	PINDILA	3
ACC10	2950	-7.78020	-77.95590	SANCHEZ CARRION	HUAMACHUCO	YANAC	PAVA GRANDE	3
ACC11	2950	-7.78020	-77.95590	SANCHEZ CARRION	HUAMACHUCO	YANAC	PAVA CHICA	7
ACC12	2950	-7.78020	-77.95590	SANCHEZ CARRION	HUAMACHUCO	YANAC	PAVA BARROSITA	7
ACC13	2950	-7.78020	-77.95590	SANCHEZ CARRION	HUAMACHUCO	YANAC	PAVA COLORADA	5
ACC14	2950	-7.78020	-77.95590	SANCHEZ CARRION	HUAMACHUCO	YANAC	MANI	7
ACC15	2950	-7.78020	-77.95590	SANCHEZ CARRION	HUAMACHUCO	YANAC	LIMONA O HUEVO DE GALLO	7
ACC16	2950	-7.78020	-77.95590	SANCHEZ CARRION	HUAMACHUCO	YANAC	ROMERITA	7
ACC17	2950	-7.78020	-77.95590	SANCHEZ CARRION	HUAMACHUCO	YANAC	NEGRA CHICA	5
ACC18	2950	-7.78020	-77.95590	SANCHEZ CARRION	HUAMACHUCO	YANAC	VAQUITA	5
ACC19	2950	-7.78020	-77.95590	SANCHEZ CARRION	HUAMACHUCO	YANAC	HUEVO DE VISHLAN	7
ACC20	2950	-7.78020	-77.95590	SANCHEZ CARRION	HUAMACHUCO	YANAC	HIJADO DE BUEY	5
ACC21	2800	-7.81480	-78.05000	SANCHEZ CARRION	HUAMACHUCO	OLICHOCO	ONZA DE ORO	5
ACC22	2800	-7.81480	-78.05000	SANCHEZ CARRION	HUAMACHUCO	OLICHOCO	CONEJA	5
ACC23	2850	-7.81480	-78.05000	SANCHEZ CARRION	HUAMACHUCO	LA HUARALLA	PERUANA	5
ACC24	2850	-7.81480	-78.05000	SANCHEZ CARRION	HUAMACHUCO	LA HUARALLA	VAQUITA CHICA	7
ACC25	2850	-7.81480	-78.05000	SANCHEZ CARRION	HUAMACHUCO	LA HUARALLA	MARRONA	5
ACC26	2800	-7.66750	-78.05180	CAJABAMBA	CAJABAMBA	CHANSHPAMBA	PAVA	5

Continúa en la página 80

N°	ELEVACIÓN	LATITUD	LONGITUD	PROVINCIA	DISTRITO	LOCALIDAD	NOM. LOCAL	PERSISTENCIA DE HOJA
ACC27	2800	-7.66750	-78.05180	CAJABAMBA	CAJABAMBA	CHANSHAPAMBA	NEGRA	5
ACC28	2800	-7.66750	-78.05180	CAJABAMBA	CAJABAMBA	CHANSHAPAMBA	PAVA	3
ACC29	2800	-7.66750	-78.05180	CAJABAMBA	CAJABAMBA	CHANSHAPAMBA	AMARILLA	5
ACC30	2800	-7.66750	-78.05180	CAJABAMBA	CAJABAMBA	CHANSHAPAMBA	NEGRA CHICA	5
ACC31	2800	-7.66750	-78.05180	CAJABAMBA	CAJABAMBA	CHANSHAPAMBA	NEGRA GRANDE	5
ACC32	2800	-7.66750	-78.05180	CAJABAMBA	CAJABAMBA	CHANSHAPAMBA	FRONTINA NEGRA	7
ACC33	2800	-7.66750	-78.05180	CAJABAMBA	CAJABAMBA	CHANSHAPAMBA	GRANATE	7
ACC34	2800	-7.66750	-78.05180	CAJABAMBA	CAJABAMBA	CHANSHAPAMBA	MOLLE	5
ACC35	2800	-7.66750	-78.05180	CAJABAMBA	CAJABAMBA	CHANSHAPAMBA	MORADA	5
ACC36	2800	-7.66750	-78.05180	CAJABAMBA	CAJABAMBA	CHANSHAPAMBA	ROSADA	7
ACC37	2800	-7.66750	-78.05180	CAJABAMBA	CAJABAMBA	CHANSHAPAMBA	BARROSA	5
ACC38	2800	-7.66750	-78.05180	CAJABAMBA	CAJABAMBA	CHANSHAPAMBA	FRONTINA GRANATE	5
ACC39	2450	-7.56360	-78.09330	CAJABAMBA	CONDEBAMBA	OGOSGON	NEGRA	5
ACC40	2450	-7.56360	-78.09330	CAJABAMBA	CONDEBAMBA	OGOSGON	PAVA	5
ACC41	2450	-7.56360	-78.09330	CAJABAMBA	CONDEBAMBA	OGOSGON	AMARILLA	5
ACC42	2450	-7.56360	-78.09330	CAJABAMBA	CONDEBAMBA	OGOSGON	PLOMA	5
ACC43	2450	-7.56360	-78.09330	CAJABAMBA	CONDEBAMBA	OGOSGON	GRANATE	5
ACC44	2450	-7.56360	-78.09330	CAJABAMBA	CONDEBAMBA	OGOSGON	PEPA DE CAPULI	7
ACC45	2450	-7.56360	-78.09330	CAJABAMBA	CONDEBAMBA	OGOSGON	PAVA CRUZADA	7
ACC46	2850	-7.67480	-78.03730	CAJABAMBA	CAJABAMBA	SHITABAMBA	ALVERJA	5
ACC47	2850	-7.67480	-78.03730	CAJABAMBA	CAJABAMBA	SHITABAMBA	FRONTINA PAQUITA	7
ACC48	2850	-7.67480	-78.03730	CAJABAMBA	CAJABAMBA	SHITABAMBA	FRONTINA COLORADA	7
ACC49	2850	-7.67480	-78.03730	CAJABAMBA	CAJABAMBA	SHITABAMBA	NEGRA	5
ACC50	2850	-7.67480	-78.03730	CAJABAMBA	CAJABAMBA	SHITABAMBA	NEGRA	5

Persistencia de hoja Observado cuando el 90% de las vainas están secas en la etapa R9.
3= Todas las hojas caídas; 5= Intermedio; 7= Todas las hojas persistentes.

ANEXO 02: Resultados del análisis de suelo usado como sustrato en la presente tesis.

PROCEDENCIA : Baños del Inca

Fecha: **16-09-2019**

Nombre Parcela	Código Laboratorio	P ppm	K ppm	pH	M.O %	C.E. dS/M	SALINIDAD
Invernadero	SU0776-EEBI-19	9.07	305.0	6.5	4.12	0.68	0.09

INTERPRETACIÓN

Fósforo (P) : MEDIO
Potasio (K) : MEDIO
pH (reacción) : LIGERAMENTE ÁCIDO
Materia orgánica (M.O) : ALTO
Salinidad : BAJO

RECOMENDACIONES DE NUTRIENTES

Cultivo a sembrar: ÑUÑA

NUTRIENTES	N Kg/ha	P ₂ O ₅ Kg/ha	K ₂ O Kg/ha	CAL Ton /ha
Cantidad	40	90	40	--

**Laboratorio de suelos de la Estación Experimental Baños del Inca – INIA
Cajamarca**

ANEXO 03: Resumen de la tabla del Test de Duncan para la interacción de factores (accesión y restricción de riego) para índice área foliar (IAF) de 50 accesiones de *Phaseolus vulgaris* cultivar “ñuña”, según condiciones de riego (C0:Testigo, C1:restricción de riego en pre-floración y C2: con restricción en riego en formación de vainas) y etapas fenológicas (R6, R8 y R9).

Test:Duncan R6 Alfa=0.05

Error: 0.0310 gl: 300

ACCESIÓN	TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.		z	0	1
ACC4	C2	1.94	3	0.10				
ACC8	C2	2.03	3	0.10			0	1
ACC31	C0	2.12	3	0.10				1
ACC2	C0	2.64	3	0.10				2

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan R8 Alfa=0.05

Error: 0.0000 gl: 300

ACCESIÓN	TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
ACC1	C2	0.82	3	5.8E-04	.d
ACC1	C0	1.00	3	5.8E-04	.e
ACC38	C0	1.08	3	5.8E-04	.f

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan R9 Alfa=0.05

Error: 0.0000 gl: 300

ACCESIÓN	TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
ACC1	C2	0.66	3	7.6E-06	..F
ACC1	C0	0.80	3	7.6E-06	..G
ACC38	C0	0.87	3	7.6E-06	..H

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

ANEXO 04: Test de Duncan para la interacción de factores (accesión y restricción de riego) para tasa de asimilación neta (TAN) de 50 accesiones de *Phaseolus vulgaris* cultivar “ñuña”, según condiciones de riego (C0:Testigo, C1:restricción de riego en pre-floración y C2: con restricción en riego en formación de vainas) y etapas fenológicas (R6, R8 y R9).

Test:Duncan R6 Alfa=0.05

Error: 0.0000 gl: 300

ACCESIÓN	TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
ACC11	C2	2.1E-03	3	1.8E-04	X Y Z a
ACC2	C2	2.1E-03	3	1.8E-04	Y Z a
ACC11	C0	2.3E-03	3	1.8E-04	Z a
ACC31	C0	2.6E-03	3	1.8E-04	a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan R8 Alfa=0.05

Error: 0.0000 gl: 300

ACCESIÓN	TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
ACC5	C1	5.0E-03	3	4.8E-06	.X
ACC2	C0	0.01	3	4.8E-06	.Y
ACC49	C2	0.01	3	4.8E-06	.Z
ACC8	C2	0.01	3	4.8E-06	.a
ACC11	C2	0.01	3	4.8E-06	.b
ACC4	C2	0.01	3	4.8E-06	.c
ACC29	C2	0.01	3	4.8E-06	.d

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Duncan R9 Alfa=0.05

Error: 0.0000 gl: 300

ACCESIÓN	TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
ACC13	C1	6.4E-05	3	4.4E-07	.o
ACC13	C0	9.2E-05	3	4.4E-07	.p
ACC16	C0	9.7E-05	3	4.4E-07	.q
ACC32	C2	1.0E-04	3	4.4E-07	.r

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

ANEXO 05: Test de Duncan para la interacción de factores (accesión y restricción de riego) para tasa relativa de crecimiento (TRC) 50 accesiones de *Phaseolus vulgaris* cultivar “ñuña”, según condiciones de riego (C0:Testigo, C1:restricción de riego en pre-floración y C2: con restricción en riego en formación de vainas) y etapas fenológicas (R6, R8 y R9).

Test:Duncan R6 Alfa=0.05

Error: 0.0000 gl: 300

ACCESIÓN	TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
ACC31	C0	0.03	3	2.2E-03	2 3
ACC2	C2	0.03	3	2.2E-03	3
ACC11	C0	0.04	3	2.2E-03	4

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Test:Duncan R8 Alfa=0.05

Error: 0.0000 gl: 300

ACCESIÓN	TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
ACC13	C0	0.01	3	3.6E-05	.w
ACC49	C0	0.01	3	3.6E-05	.x
ACC9	C2	0.01	3	3.6E-05	.y

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Test:Duncan R9 Alfa=0.05

Error: 0.0000 gl: 300

ACCESIÓN	TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
ACC42	C0	0.04	3	4.2E-05	.s
ACC5	C2	0.06	3	4.2E-05	.t

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

ANEXO 06: Test de Duncan para la interacción de factores (accesión y restricción de riego) para tasa relativa de crecimiento foliar (TRCF) de 50 accesiones de *Phaseolus vulgaris* cultivar “ñuña”, según condiciones de riego (C0:Testigo, C1:restricción de riego en pre-floración y C2: con restricción en riego en formación de vainas) y etapas fenológicas (R6, R8 y R9).

Test:Duncan R6 Alfa=0.05

Error: 0.0000 gl: 300

ACCESIÓN	TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
ACC11	C0	0.03	3	2.5E-03	w x
ACC2	C2	0.03	3	2.5E-03	x y
ACC30	C1	0.04	3	2.5E-03	y

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Test:Duncan R8 Alfa=0.05

Error: 0.0000 gl: 300

ACCESIÓN	TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
ACC10	C0	0.00	3	1.6E-07	..H
ACC40	C2	0.00	3	1.6E-07	..H
ACC9	C0	0.00	3	1.6E-07	..H

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Test:Duncan R9 Alfa=0.05

Error: 0.0000 gl: 300

ACCESIÓN	TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
ACC26	C2	0.00	3	2.1E-05	B
ACC40	C1	0.00	3	2.1E-05	B
ACC47	C2	0.00	3	2.1E-05	B
ACC44	C1	0.00	3	2.1E-05	B
ACC42	C1	0.00	3	2.1E-05	B
ACC4	C1	0.00	3	2.1E-05	B
ACC20	C1	0.00	3	2.1E-05	B
ACC34	C1	0.00	3	2.1E-05	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

ANEXO 07: Test de Duncan para la interacción de factores (accesión y restricción de riego) para índice de cosecha (IC) de 50 accesiones de *Phaseolus vulgaris* cultivar “ñuña según condiciones de riego (C0:Testigo, C1:restricción de riego en pre-floración y C2: con restricción en riego en formación de vainas)

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 2.5188 gl: 300

ACCESIÓN	TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.			
ACC21	C0	40.80	3	0.92	0	1	2
ACC4	C0	41.22	3	0.92		1	2
ACC31	C0	41.91	3	0.92			2
ACC4	C1	42.39	3	0.92			2

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

