



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

Variación natural en fenotipos de raíces en líneas
recombinantes multiparentales de *Arabidopsis thaliana*

Tesis que para obtener el título de
LICENCIADO (A) EN BIÓLOGIA

PRESENTA:

Perla Karina Salazar Hernández



DIRECTOR: Dr. Ulises Yunuén Rosas López

MAYO-2022

Agradecimiento

En primer lugar, me resulta importante agradecerle al Dr. Ulises Rosas ya que él creyó en mi desde el principio y me dio la oportunidad de formar parte de este maravilloso proyecto. Gracias Uli por tu infinita paciencia conmigo y sobre todo por ayudarme en todo el proceso.

Agradezco a mis revisores por tomarse el tiempo de apoyarme en esta etapa.

De manera muy especial, con toda mi admiración y respeto le agradezco a todos mis profesores de la FCB, le agradezco a cada uno sus conocimientos, su tiempo y su esfuerzo. De manera especial le agradezco a la Dra. Lourdes por siempre invitarme a trabajar con ella y por ser además de mi profesora un amiga, muchas gracias.

A mis padres que siempre pusieron su esfuerzo y su ejemplo. Mamita linda gracias por sostenerme todos estos meses, porque sin tu impulso no habría podido terminar. Gracias por darme la oportunidad de estudiar lo que amo, gracias por el tesoro que me regalaste. Gracias por darme todo lo que soy.

Querido Tito tú que eres mi segundo papá sabes mejor que nadie lo feliz que he sido estudiando. Gracias por siempre estar ahí para mí y apoyarme en mis travesuras, mi vida querido tío no habría valido sin el amor de mi familia. Gracias por estar orgulloso y apoyarme en lo que me hiciera falta.

A mi hermana gracias por estar ahí cuando me hacía falta entrar en razón. Querida hermana nunca podré agradecerte lo suficiente por estar en mi vida. Gracias por darme una razón para seguir. A mi princesita Romina, aunque todavía eres muy pequeña quiero agradecerte tu alegría que contagias solo por existir.

A mis tíos, primos y sobrinos-primos, gracias porque de alguna manera creyeron en mí y me impulsaron siempre que pudieron.

Dedicatoria

A ti que fuiste fuerza y ejemplo,
a tus manos que sostienen y que impulsan
a tus ojos que miraron con ilusión.

A ti farol que se ha apagado
Te dedico hoy mi logro
Te regalo mi orgullo y mi ilusión.

A ti que esperabas y apoyabas
A la falta que me haces
Te dedico mis desvelos, te brindo mis palabras

Ya pasó mucho desde la última vez que nos abrazamos y soñamos que llegaría a casa triunfante con tesis en mano, ahora que está terminada y puedo mirarla orgullosa ustedes se han ido. Les regalo mi esfuerzo, mi amor y mis palabras porque no tengo nada que sea suficiente para agradecerles su vida.

Papi te dedico esta tesis que con ilusión ya esperabas leer, te la dedico porque eras el primero en ir a verme en las madrugadas y decirme que siguiera adelante cuando ya no podía. Querido valiente te dedico el fruto de mis años estudiando, te dedico mi alma y te pongo en alto porque a pesar de todo, aunque mis ojos no paren de llorar te prometo que sigo siendo Salazar. Querido papi este es mi bebé y espero que donde estés sepas lo agradecida que estoy por tu vida y por haberte disfrutado tantos años.

Eve te dedico mi trabajo porque esperabas estar ahí cuando acabará, porque te admiro y espero un día ser como tú. Todavía extraño tus brazos y tus risas, y con el corazón roto te dedico lo mejor que tengo. Gus tenías tanta fe en mí que con esto pretendo honrar tu memoria, amado tío quiero que sepas que si lo logré.

No te rindas, por favor no cedas,
aunque el frío queme,
aunque el miedo muerda,
aunque el sol se esconda y se calle el viento,
aún hay fuego en tu alma,
aún hay vida en tus sueños,
porque la vida es tuya y tuyo también el deseo,
porque lo has querido y porque te quiero.

-Mario Benedetti-

Índice

Agradecimiento	1
Dedicatoria.....	2
Índice.....	4
Resumen	5
1. Introducción	6
2. Antecedentes	8
2.1 Morfología de la raíz	8
2.2 Variación natural y diversidad.....	8
2.3 Heredabilidad.....	9
2.4 Líneas recombinantes.....	10
2.5 Líneas MAGIC (Multi-Parent Advance Generation Inter-Cross)	11
3. Justificación	13
4. Hipótesis	14
5. Objetivos.....	14
5.1 General	14
5.2 Específicos	14
6. Material y métodos.....	14
6.1 Formación de líneas MAGIC.....	14
6.2 Medición de la muestra.....	15
6.3 Análisis estadístico	15
7. Resultados.....	16
7.1 Variación del fenotipo de la raíz entre líneas	17
7.2 Variación del fenotipo de la raíz entre individuos.....	17
7.3 Tendencias de la variación	20
8. Discusión	22
9. Conclusión.....	26
10. Referencias	27
11. Anexos.....	30
11.1 ANEXO I (Tablas)	30
11.2 ANEXO II (Paquetería de R).....	30
11.3 ANEXO III (Bases de datos)	31
11.4 ANEXO IV (Código de R).....	31

Resumen

La variación natural es la materia prima de la evolución. Los cambios fenotípicos, que constituyen la variación natural, están dados por los cambios genéticos que pueden ser determinados por los QTLs (Quantitative Trait Loci). A pesar de que la raíz es uno de los órganos más importantes para las plantas, la variación natural en la arquitectura de la raíz resulta difícil de estudiar. Para poder entender la variación determinada por los QTLs se pueden utilizar poblaciones multiparentales. Uno de los modelos vegetales más utilizado para estudios genéticos es *Arabidopsis thaliana*. En este estudio caracterizamos la arquitectura de la raíz en líneas recombinantes MAGIC. Éstas resultan del entrecruzamiento de 19 accesiones naturales de *A. thaliana*. Las semillas fueron desinfectadas y sembradas en placas con medio MS 50%. 18 días después de la siembra se tomaron fotos para la posterior medición y análisis de las raíces. Se trabajó con 282 líneas MAGIC de las cuales solo el 54% pudo germinar; además cada línea se constituye de un número diferente de individuos. A partir del análisis de la base de datos, obtenida de las medidas de los caracteres de la raíz, se observó que el largo y el número de raíces laterales condicionan una parte de la variabilidad. Estas líneas MAGIC se pueden clasificar en cuatro categorías de acuerdo con los atributos globales de los caracteres de la raíz. Finalmente, se espera estos fenotipos sean empleados para detectar QTLs que explican la variación en la arquitectura de la raíz en líneas MAGIC de *A. thaliana*.

1. Introducción

La variación natural es todo el espectro de rasgos fenotípicos y por tanto genotípicos, que se pueden expresar en una especie. Esta variación responde a la necesidad que tienen los organismos de adaptarse a su entorno (Liang, Liu, Yan, & Tian, 2021). Existen diferentes procesos que pueden desencadenar en la variación natural en este sentido el entorno juega un papel importante, no obstante, existen también cambios al azar que pueden resultar útiles o no para adaptarse.

La variación natural a lo largo del tiempo desemboca en el proceso evolutivo de las especies. Todo atisbo de variabilidad comienza a nivel genético y en este sentido se pueden diferenciar dos tipos de variabilidad: 1) la *variación neutral*, implica un cambio en loci que no tienen una implicación en la eficacia biológica del individuo; y 2) la *variación adaptativa*, en este caso implica un cambio significativo en loci cuantitativos, lo cual implica una modificación a los rasgos adaptativos de una especie (González, 2019).

El estudio de la variación natural en los organismos vegetales resulta complejo debido a la gran cantidad de factores que pueden promoverla, las relaciones interespecíficas, las condiciones abióticas del medio y las mutaciones resultan difíciles de identificar, a primera vista. A esta complejidad se añade la naturaleza de las plantas, que son organismos que habitan dos ambientes completamente diferentes al mismo tiempo: el aéreo y el subterráneo.

Los rasgos cuantitativos que tienen más estudios son la floración, morfología de las hojas, rendimiento del grano, entre otros. Los rasgos estudiados son complejos y para poder comprenderlos se tuvieron que desarrollar nuevas estrategias para obtener poblaciones que nos permitieran observar y analizar la variación natural (Huang, y otros, 2011).

Uno de los órganos más importantes para la planta es la raíz. La raíz es vital para que la planta pueda obtener agua y nutrientes del suelo. Así mismo es el ancla y establecen relaciones con los organismos microscópicos que habitan la rizosfera. A pesar de la importancia que tiene la raíz no se hayan suficientes estudios que

expliquen la arquitectura que posee y por tanto la variación que existe entre los individuos. (Aceves-García, y otros, 2016). Aunque resulta difícil la observación de los fenotipos que presenta la raíz, ya contamos con diferentes métodos de cultivo en medios traslucidos, en cultivos en cajas petri con agar.

Uno de los modelos biológicos de estudio genético más importantes es la especie *Arabidopsis thaliana*. Su importancia radica en que está totalmente secuenciada gracias a que su genoma es relativamente pequeño (125 Mb). Éste se organiza en 5 cromosomas. Otra ventaja de trabajar con esta especie es su ciclo de vida corto (Cuesta & Cires, 2014). Resulta muy útil trabajar con *A. thaliana* ya que al ser un organismo diploide permite el estudio de mutaciones recesivas, mutagénesis y clonación de genes, pero al mismo tiempo resulta difícil extrapolar a plantas poliploides (Marsch Martínez, Zúñiga-Mayo, Reyes-Olalde, Salazar-Moya, & Folter, 2009)

Por décadas se han trabajado líneas de mapeo recombinante, que se generan a partir de la cruce de genotipos parentales y sucesivas rondas de entrecruzamiento y auto cruzamiento para promover eventos de recombinación y de homocigosidad. Las más populares son las RILs (Recombinant Inbred Lines) que se generan a partir de dos linajes parentales. Las líneas MAGIC son líneas recombinantes multiparentales que son útiles para identificar las bases genéticas de la variación natural, pero a diferencia de líneas recombinantes biparentales, las MAGIC capturan una mayor amplitud de la variación natural puesto que se generan a partir de más de dos pools parentales (Kover et al, 2009).

En este trabajo se presenta un análisis de los fenotipos de la arquitectura de la raíz por medio de líneas MAGIC, los cuales fueron obtenidos en el laboratorio de Biología de Raíces del Jardín Botánico del IBUNAM, con los cuales se caracterizó cuantitativamente a la población, y la variación en diferentes atributos de la arquitectura de la raíz en cada línea. Con esto se espera poder hacer mapeos genéticos para identificar los loci que explican la variación natural en la arquitectura de la raíz.

2. Antecedentes

2.1 Morfología de la raíz

Para crecer y sobrevivir, las plantas necesitan acceso a la luz solar, nutrientes y recursos hídricos que no están distribuidos uniformemente en el entorno. Como organismos sésiles, las plantas ajustan su arquitectura de acuerdo con la distribución de recursos modulando así el crecimiento y desarrollo de órganos (Ristova, Giovannetti, Metesch, & Busch, 2018).

El desarrollo, la arquitectura y la morfología de las raíces pueden verse afectados también por factores ambientales, como la disponibilidad de nutrientes, la humedad y la temperatura. Para conferir ventajas adaptativas o resistencias bajo algunas condiciones ambientales algunos rasgos han sido modificados por la evolución. La raíz de *A. thaliana* es un órgano radial y simétrico, compuesto por conjuntos concéntricos de diferentes tipos de células que del exterior al interior del órgano son: epidermis, corteza, endodermis, periciclo y tejidos vasculares (Aceves-García *et.al*, 2016).

2.2 Variación natural y diversidad

La variación natural es la principal fuente de cambio evolutivo y el sustrato para la selección y adaptación de poblaciones a un entorno específico (Aceves-García *et.al*, 2016). Las poblaciones naturales proporcionan modelos experimentales incomparables construidos a lo largo de miles de años. Estas poblaciones contienen simultáneamente replicaciones de variantes segregantes codificadas en millones de loci y cientos de alelos en cada locus. Estos cambios naturales son ideales no solo para descubrir la causalidad genética, sino también para mejorar la comprensión mecanicista de las conexiones genotipo-fenotipo.

El análisis del conjunto representativo de QTL brinda una excelente oportunidad para aumentar nuestra comprensión de cómo se regula y ha evolucionado la variación natural. Durante las últimas tres décadas, se han clonado variantes naturales de muchos genes correspondientes a varios rasgos importantes, proporcionando recursos fundamentales para el mejoramiento de cultivos guiados por el conocimiento (Liang, Liu, Yan, & Tian, 2021).

2.3 Heredabilidad

Uno de los atributos evolutivos más importantes de las especies nativas y naturalizadas, es la adaptación a condiciones ambientales; esta característica evolutiva ha promovido una importante variabilidad genética y plasticidad fenotípica en las especies biológicas (Pistorale, Abbott, & Andrés, 2008). La heredabilidad es un concepto que explica que tan probable es heredar a la prole el fenotipo de interés, en particular con referencia al parecido que existe de los descendientes y los padres. La estimación de la heredabilidad depende de la porción de la variación observada en los factores genéticos y ambientales no observados (Visscher, Hill, & Wray, 2008).

La heredabilidad formalmente se define como una porción de la varianza, específicamente como la porción de varianza total en una población para una medida particular, tomando en cuenta un tiempo o edad en específico. Se establecen dos tipos de heredabilidad según los rasgos que se buscan estudiar: I) heredabilidad en sentido estricto (o simplemente heredabilidad, h^2) que busca medir la variación de los valores genéticos acumulativos; II) heredabilidad en sentido amplio (H^2) que pretende medir los valores genéticos totales (Visscher, Hill, & Wray, 2008). La heredabilidad en sentido amplio tiene validez para fines de comparación entre caracteres e interesa para considerar las expectativas de selección existentes (Pistorale, Abbott, & Andrés, 2008).

La heredabilidad en sentido estricto sólo cuantifica los efectos genéticos aditivos, mientras que la heredabilidad en sentido amplio comprende la suma de los efectos aditivos, de dominancia y epistáticos (Rossi, Ruiz, Di Renzo, & Bonamico, 2019). La heredabilidad es un parámetro importante que determina la eficacia estadística en estudios de mapeo genético que utilicen información de pedigrí. Es decir, los valores de heredabilidad implican una gran correlación entre el fenotipo y el genotipo (Visscher, Hill, & Wray, 2008). Esto es importante, pues quiere decir que un atributo fenotípico que sea altamente heredable tendrá mayor probabilidad de que sus factores genéticos subyacentes puedan ser identificados.

2.4 Líneas recombinantes

Desde la década de 1980 gracias a los avances en la tecnología genética se han realizado importantes avances en el mejoramiento de cultivos. En su mayoría los rasgos cuantitativos que resultan de gran interés para los agricultores son controlados por diversos loci, sin embargo, la mayoría de estas tecnologías han sido enfocadas al estudio de rasgos monogénicos. Por ejemplo, el caso del color de los frutos en la palma datilera que cambian según el grado de maduración, este es un rasgo monogénico y en este caso el color está ligado a las variaciones alélicas del gen VIR (Hazzouri et al, 2019). El hecho de que las tecnologías desarrolladas fueron diseñadas para rasgos monogénicos supone un reto para comprender mejor los rasgos más complejos como son los multigénicos (Arrones *et.al*, 2020).

Los rasgos como el tamaño, el peso o la longevidad varían mucho entre individuos, estos rasgos fenotípicos son un buen ejemplo de rasgos complejos ya que no presentan una herencia mendeliana (Hill, 2010). Tal es el caso puntual de la biosíntesis de los ginsenósidos en el ginseng que es controlado por 10 genes, el largo de las fibras de algodón que está determinado por la interacción de 18 genes y el rendimiento de los granos de maíz que se determina por 8 genes (Zhang et al, 2020). Uno de los mayores retos es intentar comprender las complejas redes de interacciones de los genes implicados en la expresión de un rasgo específico.

Debido a los retos que presenta el estudio de rasgos cuantitativos que son controlados por múltiples loci, Geldermann introdujo el término loci de rasgos cuantitativos, que en inglés es Quantitative Trait Loci (QTL) para describir una región del genoma asociada con el efecto sobre un rasgo continuo. Los QTLs se estudian a partir de cuatro elementos básicos: I) una población segregante con una alta variabilidad genética y progenitores contrastantes para el fenotipo objetivo; II) un sistema de marcadores que permita genotipificar a la población; III) metodologías reproducibles de fenotipificación cuantitativa y IV) un diseño experimental adecuado para evaluar los efectos ambientales además de métodos estadísticos para detectar y localizar en el genoma un QTL (Arrones *et.al*, 2020) .

Tradicionalmente los estudios de mapeo genético para la detección de QTLs en plantas han sido realizados con datos recopilados de poblaciones experimentales, especialmente de poblaciones biparentales. Pueden analizarse o estudiarse directamente después de la fijación mediante autofecundación hasta que se obtengan poblaciones inmortales homocigotas a través de diferentes metodologías como es la construcción de líneas endogámicas recombinantes (RIL), líneas endogámicas retrocruzadas (BIL), líneas casi isogénicas (NIL) o poblaciones dobles haploides (DH) (Arrones *et.al*, 2020) (Figura 1).

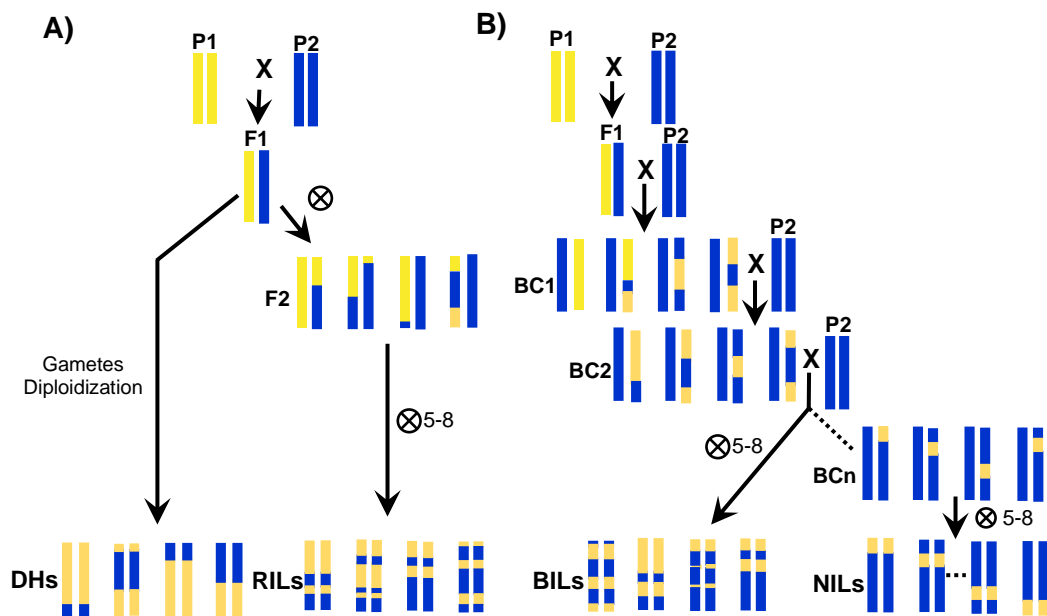


Figura 1. Poblaciones biparentales de menor a mayor número de eventos de recombinación y esfuerzos necesarios en el desarrollo de la población. Los parentales fundadores P1 y P2 son contrastantes en los rasgos de interés y la F1 es el híbrido simple derivado del entrecruce de los parentales: A) Dobles Haploides (DHs), F2 y líneas endogámicas recombinantes (RIL) desarrolladas por medio de generaciones sucesivas de autofecundación; B) Retrocruzamientos (BC), líneas endogámicas retrocruzadas (BIL), líneas casi isogénicas (NIL) obtenidas por medio de generaciones sucesivas de autofecundación. (tomado de Arrones, *et. al* (2020))

2.5 Líneas MAGIC (Multi-Parent Advance Generation Inter-Cross)

Dos tipos principales de poblaciones multiparentales se pueden distinguir: I) poblaciones únicas desarrolladas a partir del cruzamiento de varios padres, seguidas por una o unas pocas rondas de apareamiento de la descendencia y unas pocas rondas finales de consanguinidad y II) poblaciones que consisten en un conjunto conectado de cruces o familias. Las poblaciones multicruzadas permiten

pruebas fáciles y potentes para la epistasia en forma de QTL. En plantas, poblaciones multiparentales similares fueron propuestas por Cavanagh (2008), bajo el nombre de líneas multiparentales de generaciones avanzadas entrecruzadas (MAGIC) (Huang *et.al*, 2011).

Las accesiones varían en varios rasgos. La forma más general de identificar genes es cruzando dos accesiones, que pueden o no tener un fenotipo diferente, esto produce una progenie (F2) no uniforme. Para determinar las contribuciones de los genomas de los padres en la F2, los fenotipos específicos se asocian con marcadores genéticos segregantes (Weigel, 2020).

Las líneas multiparentales de generaciones avanzadas intercruzadas (MAGIC) fueron propuestas y aplicadas por primera vez en ratones y fueron descritas como un “stock heterogéneo”. Una ventaja de este método es que la población que se establece para las líneas puede capturar la mayor variabilidad disponible del pool genético (Mackay & Powell, 2007). Es decir, una población recombinante multi-parental, puede representar de mejor manera la variabilidad genética que tiene una especie, en comparación a la variabilidad genética que se puede obtener de la recombinación de solo dos líneas parentales. Para establecer las poblaciones recombinantes existen dos métodos:

a) El método de “embudo” por lo general se crea mediante varias generaciones de entrecruzamiento entre un número (n) de líneas parentales fundadoras para obtener n/2 híbridos de la F1, que posteriormente se entrecruzan en un diseño de apareamiento establecido para combinar los genomas de todos los fundadores (Arrones *et.al*, 2020).

(b) El método "dialélico" se basa en el entrecruzamiento de los padres en múltiples embudos mediante un sistema de apareamiento parcialmente dialélico (entrecruces de dos vías), seguido del cruce de las F1 resultantes hasta que todos los fundadores estén representados en una generación única. (Figura 2) (Arrones *et.al*, 2020).

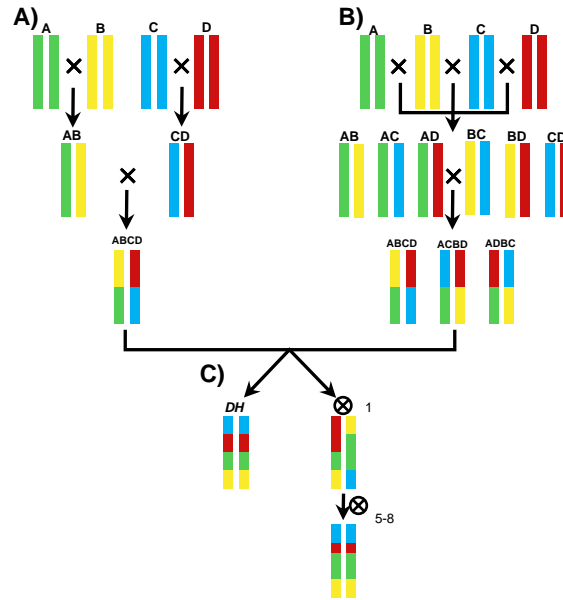


Figura 2. Se presenta un diseño de entrecruces de 4 vías para poblaciones MAGIC donde los fundadores son A, B, C y D: A) método de "embudo"; B) método "dialélico"; C) obtención de individuos homogamos mediante la producción de dobles haploides (DH), o por medio de varias rondas de autofecundación de descendientes de una sola semilla (SSD) (tomado de Arrones, *et. al* (2020))

Arabidopsis thaliana es un modelo que ofrece una gran oportunidad para estudiar genes implicados en la plasticidad fenotípica en respuesta a perturbaciones experimentales de

laboratorio, mientras que sus variantes naturales ofrecen la oportunidad de estudiar la base genética para la variación del desarrollo observada en la naturaleza (Rosas *et.al*, 2013).

Uno de los primeros estudios en *A. thaliana* fue realizado por Kover *et. al*, 2009 quienes construyeron líneas MAGIC mediante el entrecruzamiento de 19 accesiones fundadoras durante 4 generaciones. Para evitar el apareamiento selectivo durante la mezcla de las accesiones, utilizaron una plantación en esquema escalonada y las familias fueron replantadas según los cruces asignado.

3. Justificación

La raíz es uno de los órganos más importantes de la planta, y a pesar de ello es uno de los menos estudiados debido al difícil acceso a sus fenotipos. Este trabajo es pertinente debido a la escasez de estudios que existen acerca de las bases genéticas de la arquitectura de la raíz.

A la fecha, solo se han identificado en *A. thaliana*, 68 loci que explican la variación natural en la arquitectura de la raíz. Así mismo este trabajo resulta novedoso debido a la utilización de líneas recombinantes multiparentales, lo que permite el estudio de los QTLs. Es importante poder caracterizar las bases genéticas de la variación natural en el fenotipo de la arquitectura de la raíz, por ejemplo, para el mejoramiento de cultivos o estudios evolutivos.

4. Hipótesis

Dado que las líneas MAGIC segregan genotipos de 19 progenitores se espera observar una amplia variación de fenotipos de la raíz

5. Objetivos

5.1 General

Caracterizar la variación natural en el fenotipo de la raíz en líneas recombinantes multiparentales de *Arabidopsis thaliana*.

5.2 Específicos

- 1) Comparar los fenotipos de la raíz de *A. thaliana* entre las líneas multiparentales
- 2) Comparar los fenotipos de la raíz de *A. thaliana* dentro de cada línea multiparental
- 3) Encontrar las tendencias principales de la variación

6. Material y métodos

6.1 Formación de líneas MAGIC

La siembra, cuidado y medición de los componentes de la raíz de las líneas MAGIC durante este estudio fue realizado por las estudiantes del Dr. Ulises Rosas, Andrea Alfaro Mendoza e Ing. agrónoma Daniela Espinoza Gutiérrez, quien proporcionó el material biológico. Cabe aclarar que las semillas tenían 10 años al momento de la siembra.

De manera breve se explican los procedimientos experimentales de obtención de las plántulas. Se utilizaron 282 líneas MAGIC (LM) producidas a partir

del entrecruzamiento de 19 accesiones de *A. thaliana* en estudios previamente publicados (Kover et al 2009). Las semillas de cada LM se desinfectaron con una solución de etanol (70%), seguida por una solución de cloro (50%) y tres enjuagues de agua destilada esterilizada. Las semillas desinfectadas se sembraron en placas cuadradas de 12 cm de lado que albergaba alrededor de 24 semillas con medio MS al 50% (Caisson, MSP09-1LT), sales de sodio MES 0.05%, pH de 5.7, y agar al 1%. Las placas, después de ser sembradas, se mantuvieron en oscuridad a 4° C por 3 días; después se trasladaron a una cámara de crecimiento, donde se posicionan verticalmente y mantuvieron a 22° C en condiciones de día largo (16h luz/8h oscuridad), la cual son condiciones inductivas del crecimiento y de la floración en *A. thaliana*.

6.2 Medición de la muestra

Se tomaron imágenes de las raíces a los 18 días después de la siembra, con una resolución de 600ppp. Mediante el software ImageJ se realizó la medición de diferentes características que describen a la raíz: Número de raíces laterales (Núm.RL), longitud de las raíces laterales (RL), longitud de la raíz primaria (RP), número de raíces adventicias (Núm.RA), longitud de las raíces adventicias (RA) (Figura 3).

6.3 Análisis estadístico

Una vez obtenidos los datos de la medición se realizaron diferentes análisis, utilizando varias paqueterías del programa estadístico R (Anexo II) (Team R core, 2021), del cual se pretende obtener las medidas de tendencia central para los componentes de la raíz que se describen a continuación:

- 1) Cantidad de individuos por línea recombinante
- 2) Longitud de la raíz primaria por individuo y por línea recombinante
- 3) Cantidad de raíces laterales por individuo y por línea recombinante

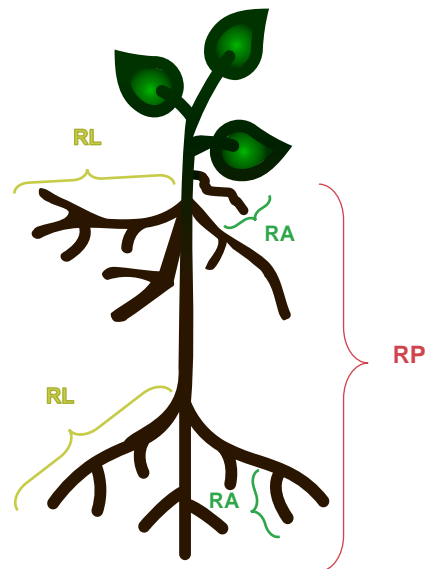


Figura 3. Características que tiene la raíz: longitud de las raíces laterales (RL), longitud de la raíz primaria (RP), longitud de las raíces adventicias (RA)

- 4) Longitud de la raíz lateral por individuo y por línea recombinante
- 5) Cantidad de raíces adventicias por individuo y por línea recombinante
- 6) Longitud de la raíz adventicia por individuo y por línea recombinante

Para el análisis también se obtuvieron de manera gráfica las frecuencias por línea recombinante y frecuencias por individuo de los componentes de la raíz, así como el número de raíces laterales y adventicias y el número de individuos.

7. Resultados

De las semillas de 282 LM que se pusieron a germinar solamente las semillas de 153 líneas germinaron (Figura 4).



Figura 4. Se germinaron semillas de 282 líneas, pero solamente 54% de ellas lograron germinar.

De las LM que germinaron, el número de individuos obtenidos varió en cada línea teniendo como mínimo 1 individuo y como máximo 18 individuos. En promedio las LM tienen 10.6 individuos, aunque la frecuencia más alta de LM está entre los 13 y 15 individuos (Figura 5B).

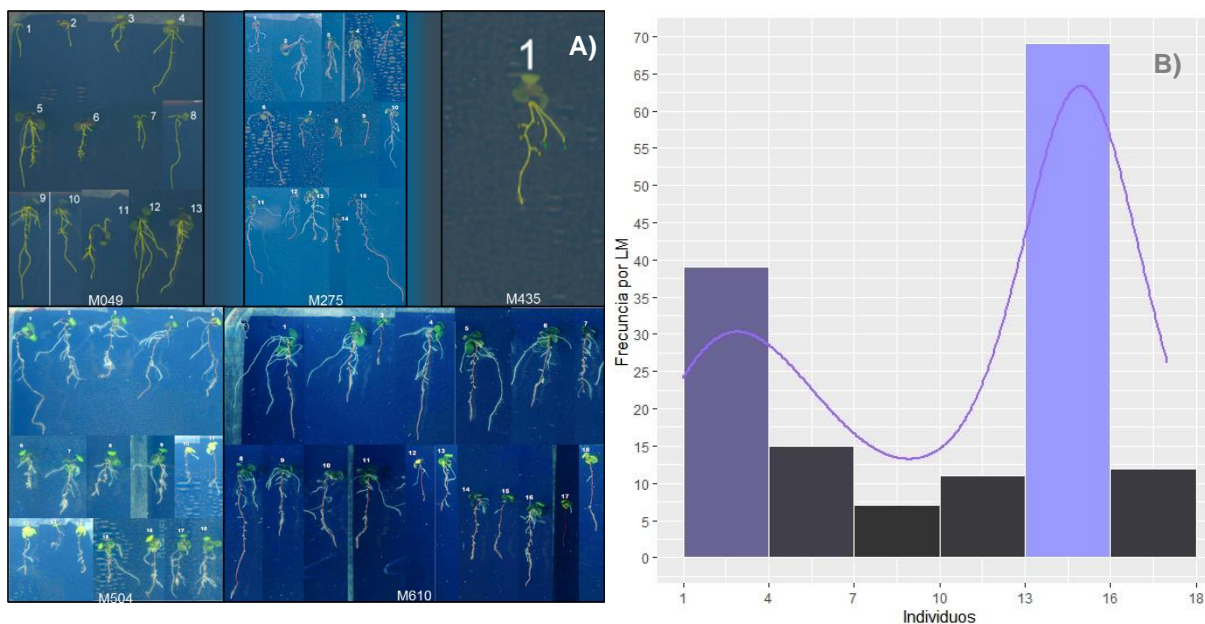


Figura 5. A) Se observan en las imágenes la variación en la morfología entre diferentes individuos de líneas diferentes, así mismo podemos observar esa variación entre individuos de cada línea, además cada línea posee un diferente número de individuos (fotografías tomadas por Andrea Alfaro Mendoza e Ing. agrónoma Daniela Espinoza Gutiérrez); B) Frecuencias de individuos por LM, se observa que la mayoría de las líneas poseen entre 13 y 15 individuos.

7.1 Variación del fenotipo de la raíz entre líneas

El fenotipo en los caracteres de la raíz varía entre cada línea, lo cual se ejemplifica con una muestra de fotografías de las raíces en la Figura 5A. Para cuantificar esto se obtuvo la media de los datos de cada carácter por línea, de tal manera que tenemos que la longitud de la raíz primaria varía entre 0 y 50.8 cm; sin embargo, la longitud promedio se encuentra en 12 cm (Figura 6).

La longitud de la raíz lateral varía entre 0 y 140.4 cm siendo la longitud promedio 11.9 cm. Así mismo el número de raíces laterales fluctúa entre 0 y 187 raíces por línea, pero en promedio las líneas poseen alrededor de 42 raíces (Figura 7).

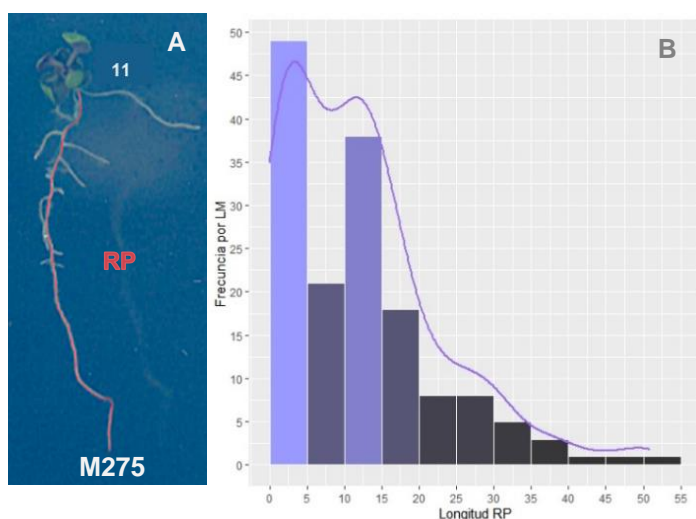


Figura 6. A) Fotografía editada de un individuo que nos permite observar resaltado en rojo la raíz principal, basado en estas fotografías se obtuvieron las longitudes de cada carácter (fotografías tomadas por Andrea Alfaro Mendoza e Ing. agrónoma Daniela Espinoza Gutiérrez); B) Frecuencias de longitud de la raíz principal por LM, observamos que la frecuencia más alta la encontramos en las longitudes de entre 0 a 5 cm y 10 a 15 cm.

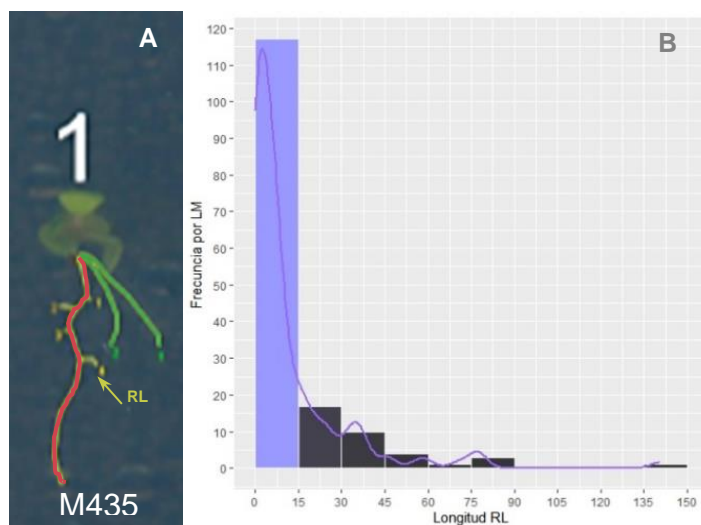


Figura 7.A) Fotografía editada de un individuo que nos permite observar resaltado en amarillo las raíces laterales, basado en estas fotografías se obtuvieron las longitudes de cada carácter (fotografías tomadas por Andrea Alfaro Mendoza e Ing. agrónoma Daniela Espinoza Gutiérrez); B) Frecuencias de longitud de las raíces laterales por LM, se observa que la mayor frecuencia se encuentra en líneas cuya longitud se encuentra en el rango de 0-15 cm.

En el caso de las raíces adventicias las líneas poseen entre 0 y 48 raíces por línea y en promedio tienen 11.5 raíces por línea, así mismo la longitud de las raíces adventicias fluctúa entre 0 y 33.3 cm teniendo en promedio 6.4 cm (Figura 8).

7.2 Variación del fenotipo de la raíz entre individuos

Es observable en las fotografías de la Figura 5A que los individuos que componen cada línea difieren entre sí en su morfología. Para poder observar de manera gráfica el comportamiento de las líneas se muestra en la Figura 9, de la cual

podemos describir de manera general que el carácter circular más grande representa la media en la longitud de los distintos caracteres de la raíz. Las barras por su parte muestran qué tan amplia es la variación de la longitud entre los individuos que componen cada línea. Los puntos por su parte representan los valores atípicos. Cabe aclarar que la escala para RP, RL y RA es logarítmica, esto es así para observar de mejor manera la tendencia de los valores en la gráfica ya que estos son muy pequeños.

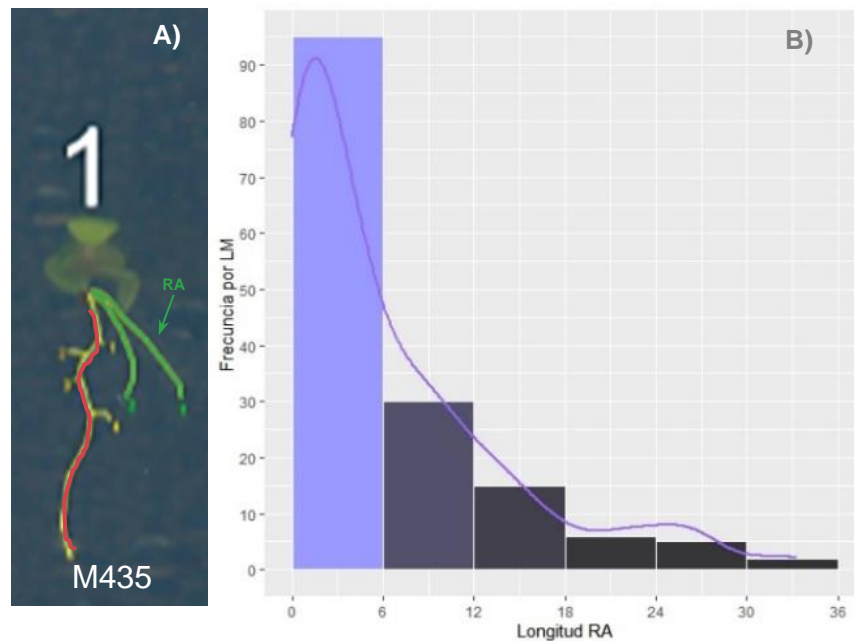


Figura 8. A) Fotografía editada de un individuo que nos permite observar resaltado en verde las raíces adventicias, basado en estas fotografías se obtuvieron las longitudes de cada carácter (fotografías tomadas por Andrea Alfaro Mendoza e Ing. agrónoma Daniela Espinoza Gutiérrez); C) Frecuencias de longitud de las raíces adventicias por LM, se observa que la mayor frecuencia se encuentra en líneas cuya longitud se encuentra en el rango de 0-6 cm.

Para la longitud de la raíz primaria se observa que de manera general la variación de longitudes dentro de cada línea es amplia, es decir que los individuos difieren bastante en la longitud de sus RP. Así mismo gracias a la distribución observada de las medias se puede deducir que la variación entre líneas no es tan amplia como en otros caracteres, pues la desviación estándar de 1.07 cm (Figura 9B). La mayor variación observable según los gráficos está en la longitud de las raíces laterales, tanto entre los individuos de cada línea, ya que podemos ver en varias líneas que las barras intercuartílicas son muy grandes y tienen muchos datos

atípicos, como entre las líneas ya que se puede ver que las medias se encuentran dispersas a lo largo de la ordenada, la desviación estándar de 3.24 cm (Figura 9D). Para las longitudes que tiene la RA podemos observar una variación entre líneas, pero no es tan clara esa variación entre los individuos de una línea, la desviación estándar de 1.21cm (Figura 9F).

El número de raíces laterales al igual que las longitudes presenta una considerable variación, observable en el gráfico, la desviación estándar es de 4.93 raíces (Figura 9C); existe una relación entre la longitud de la RP y el número de raíces laterales según el coeficiente de correlación de Pearson (Anexo I, Tabla 1) que es de 0.92. Esto significa que existe una fuerte correlación positiva entre estas variables. El número de raíces adventicias presenta una variación ligera ya que se observa en el gráfico que las medias no se dispersan demasiado, y la desviación estándar es de 1.25 raíces (Figura 9E); existe una relación entre la longitud de la RP y el número de raíces adventicias según el coeficiente de correlación de Pearson (Anexo I, Tabla 1) que es de 0.76; esto significa que existe una fuerte correlación positiva entre estas variables.

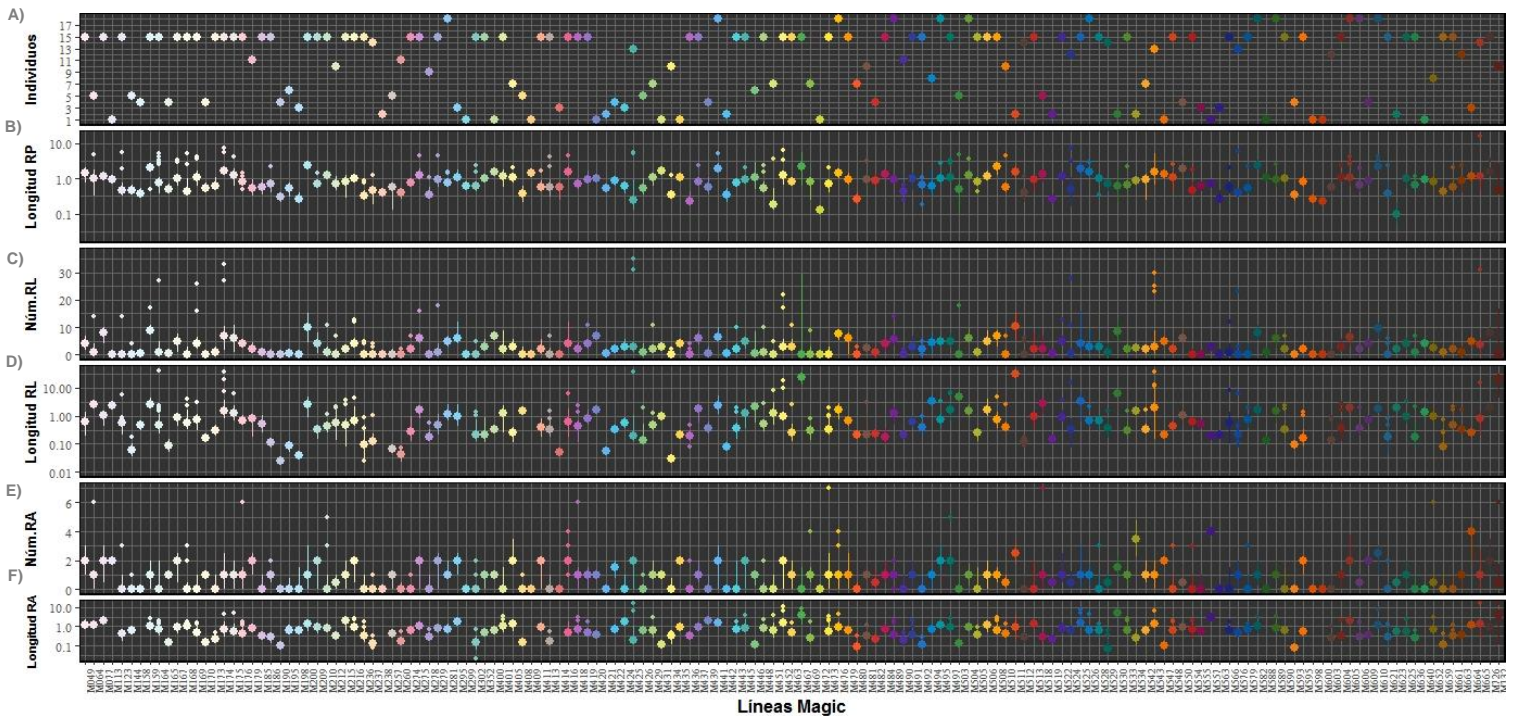


Figura 9. Gráfico tipo manhattan A) Individuos por línea; B) variación de la longitud de la raíz principal; C) variación en el número de raíces laterales; D) variación en la longitud de las raíces laterales; E) variación en el número de raíces adventicias por línea ; F) variación en la longitud de las raíces adventicias.

7.3 Tendencias de la variación

Debido a la naturaleza de la base de datos fue necesario hacer un análisis que permitiera reducir la complejidad de los datos. Para ello se realizó el análisis de componentes principales. Los valores del análisis matemático muestran que en el Componente Principal 1 (CP1) está influenciado en gran medida por el Núm. RL (-0.8946), en menor medida por RL (-0.3343) y por RP (-0.2040); el CP2 está influenciado en mayor medida por la RL (-0.9041) y en menor medida por el número de RA (0.3309) y por número de RL (0.2697). Con estos datos es posible afirmar que la variación mayor está íntimamente relacionada a las características de las RL (Figura 10 / Anexo I, Tabla 2). De manera gráfica se observa que los PCs 1 y 2 son aquellos que abarcan la mayor variación de la población, teniendo el primero el 92.3%, mientras que el segundo abarca el 5.3% (Figura 11).

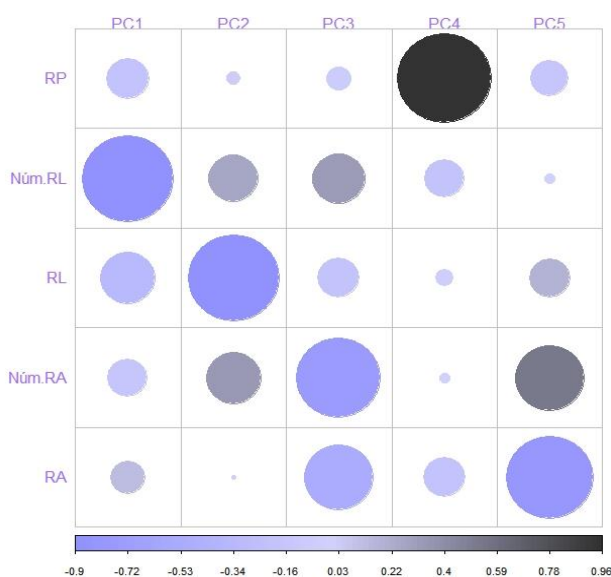


Figura 10. Gráfico de correlación, muestra la influencia por parte de las variables de los caracteres de la raíz en el cálculo de los componentes principales.

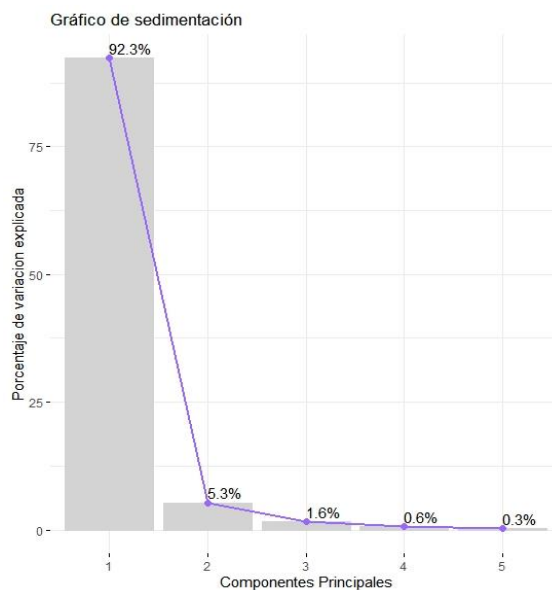


Figura 11. Gráfico de sedimentación, representa la variación que abarca cada uno de los componentes principales.

Con los datos anteriores se describe el gráfico obtenido del análisis, en el que las líneas que se ubican en el primer cuadrante son aquella que tienen una longitud de RP más corta (menor a 12 cm), longitud de RL más corta (menor a 11 cm), longitud de RA más larga (mayor a 4 cm), un número de raíces laterales

pequeño (menor a 26 raíces) y un número de raíces adventicia grande (mayor a 9 raíces). En el cuadrante dos las líneas tienen una longitud de RP más larga (mayor a 12 cm), longitud de RL más corta (menor a 11 cm), longitud de RA más corta (menor a 4 cm), un número de raíces laterales y de raíces adventicia grande (mayor a 26 y 9 raíces respectivamente). En el cuadrante tres las líneas tienen una longitud de RP más larga (mayor a 12 cm), longitud de RL más larga (mayor a 11 cm), longitud de RA más corta (menor a 4 cm), un número de raíces laterales grande (mayor a 26 raíces) y un número de raíces adventicia pequeño (menor a 9 raíces). En el cuarto cuadrantes las líneas tienen una longitud de RP más corta (menor a 12 cm), longitud de RL más larga (mayor a 11 cm), longitud de RA más larga (mayor a 4 cm), un número de raíces laterales y de raíces adventicia pequeño (menor a 26 y 9 raíces respectivamente). Las líneas que podemos ver más cercanas al cero son aquellas que se acercan más a la media de los caracteres de la raíz (Figura 12). Sin embargo, en conclusión, las líneas MAGIC se pueden catalogar como cuatro tipos de líneas de acuerdo con sus atributos globales de la arquitectura de su raíz.

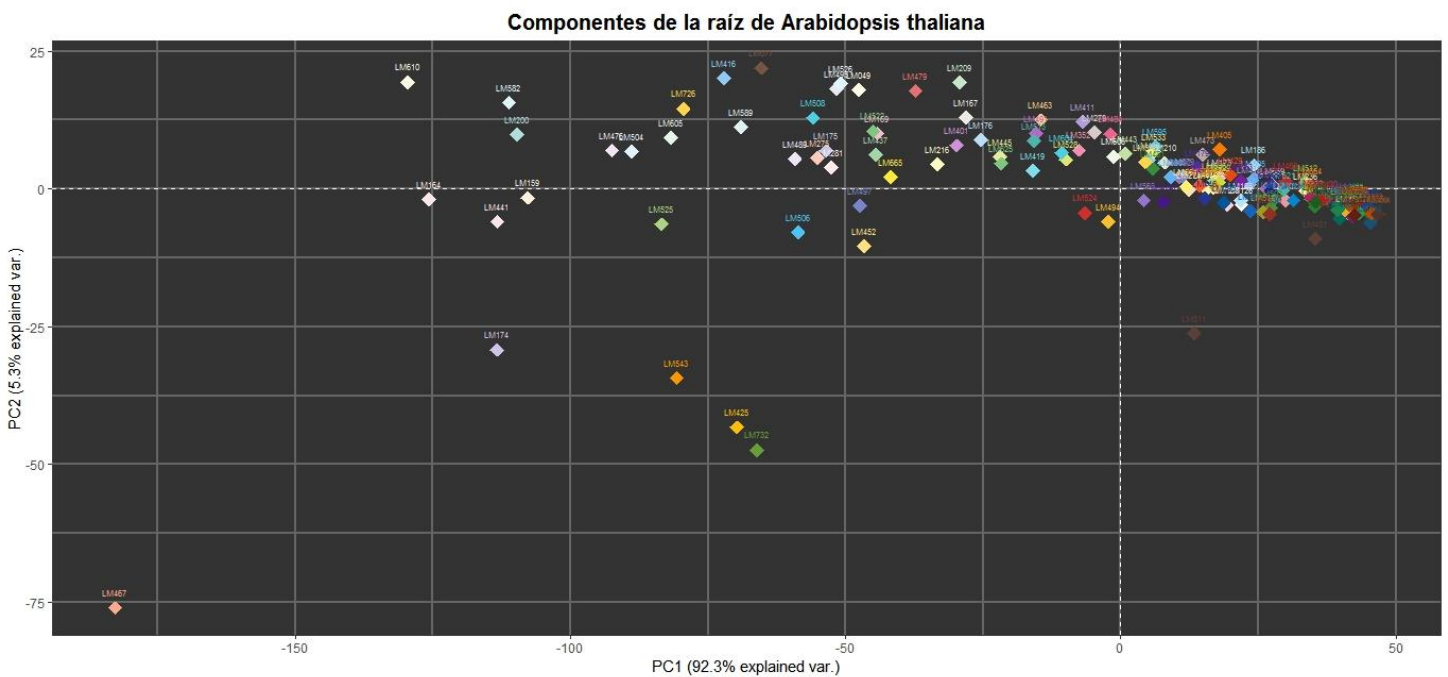


Figura 12. Representación gráfica del análisis de componentes principales

La variación de los fenotipos está altamente relacionada a la longitud y el número de raíces laterales. Esto es observable en la Figura 13, cuyo gráfico

proporciona información adicional sobre cómo se relacionan las variables con cada una de las líneas, así como entre ellas. Así se observa que el número de raíces laterales se encuentra en un cluster separado del resto de los caracteres de la raíz, sin embargo y como anotó anteriormente se encuentra muy cercanamente relacionado a la longitud de la raíz lateral. En el caso de las líneas MAGIC se observan cuatro grandes grupos bien diferenciados: en el primero se agrupan 7 LM, en el segundo grupo se encuentran 10 LM, el tercero es el más grande y agrupa a 247 LM y el cuarto grupo tiene a 18 LM.

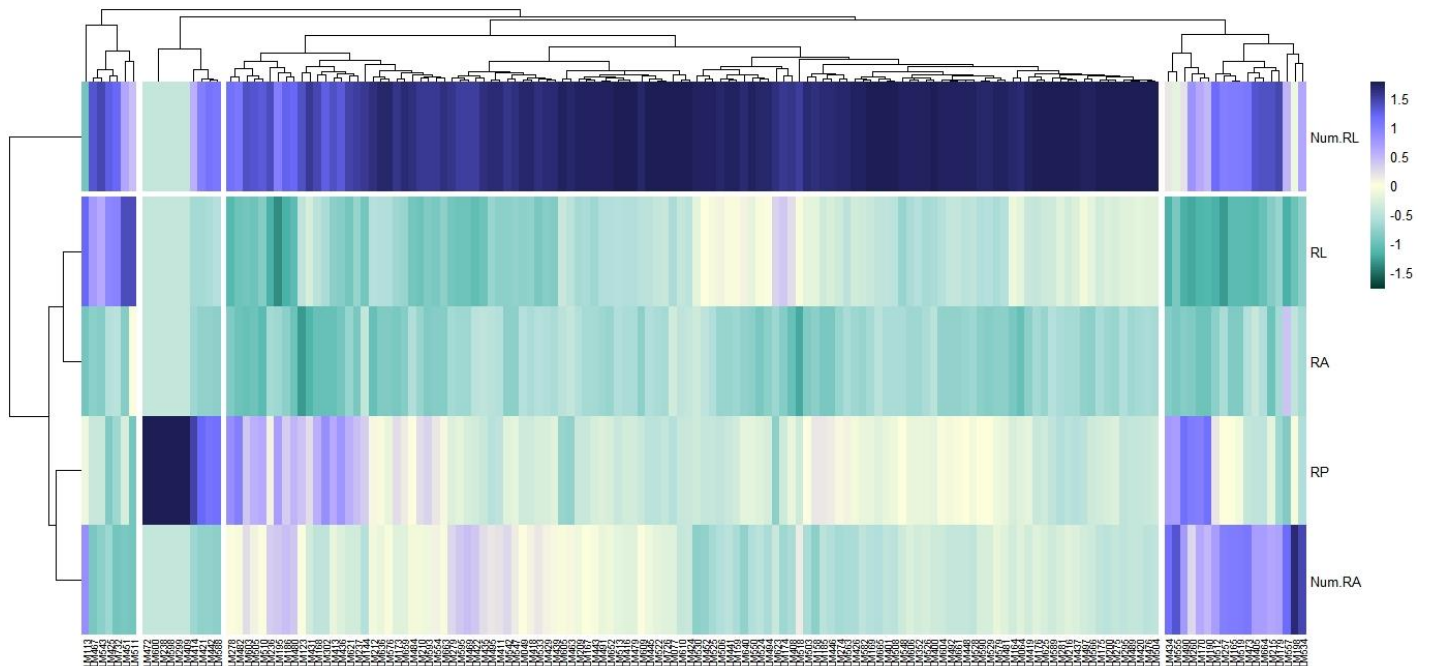


Figura 13. Mapa de calor, se observan 4 grupos bien diferenciados. Las LM se agrupan de acuerdo con la longitud de su raíz lateral.

8. Discusión

De acuerdo con los resultados, la variación en el fenotipo está íntimamente ligada a la longitud y el número de raíces laterales, lo cual podría darnos un indicio de que estos caracteres podrían tener un alto grado de heredabilidad. Se observa que las líneas MAGIC tienden a formar grupos. Estos se componen a partir de aquellas líneas que poseen mayores similitudes fenotípicas. Se observan cuatro grandes grupos bien diferenciados: en el primero se agrupan 7 LM, en el segundo grupo se

encuentran 10 LM, el tercero es el más grande y agrupa a 247 LM y el cuarto grupo tiene 18 LM.

- ◆ Grupo 1.- encontramos aquí a las líneas que poseen las RP más largas del promedio, las RA más cortas del promedio y el número de RL más alto del promedio.
- ◆ Grupo 2.- encontramos aquí a las líneas que poseen las RA más largas del promedio, las RP más cortas del promedio y el número de RL más bajo del promedio.
- ◆ Grupo 3.- encontramos aquí a las líneas que poseen las RA más cortas del promedio, las RP más largas del promedio, el número de RL más alto del promedio.
- ◆ Grupo 4.- encontramos aquí a las líneas que poseen las RP más largas del promedio, las RA más cortas del promedio y el número de RL más bajo del promedio.

Para poder comprender y entender un problema biológico, en ocasiones es útil compactar la información y agrupar los entes biológicos en categorías. En la necesidad de agrupar y ordenar, se han desarrollado estrategias para diferenciar las categorías que resultan de similitudes biológicas de las que no. Para las ciencias biológicas el ordenamiento se realiza según caracteres morfológicos y/o genéticos.

Las agrupaciones que se encontraron en este estudio resultan de las similitudes fenéticas morfológicas de las raíces, y por lo tanto no puede ser considerada como una categorización biológica o “natural” (Fernández-Medina, 2012). Sin embargo, nos ayudan a entender las tendencias de la variación que presenta la morfología de la arquitectura de la raíz, en función de la segregación de genotipos multiparentales de las líneas MAGIC. Es así como de acuerdo con la categorización basada en el análisis multivariado de componentes principales se obtuvieron cuatro grupos, que podemos considerar que de alguna manera convierten la variación continua en discreta (Figura 12). Dichos grupos también se pudieron distinguir basado en un análisis de distancia euclidiana (Figura 13).

Según el estudio realizado por Gifford y colaboradores (2013) sobre la plasticidad de los rasgos de la raíz de *A. thaliana* en diferentes entornos de nitrógeno, los resultados demuestran que las raíces laterales tienen mayor densidad según aumenta el nitrógeno en el medio. Así mismo se obtuvieron diferentes categorías siendo que las accesiones se agrupan de acuerdo a las raíces laterales, siendo estas dependientes de la cantidad de nitrógeno. Los resultados sugieren que los mecanismos que alteran los rasgos en entornos específicos pueden ser bastante comunes.

Las crucíferas incluyen cultivos importantes en México, se pueden producir en suelos ricos en materia orgánica, climas frescos y húmedos, desde el punto de vista nutricional aportan grandes cantidades de minerales, proteínas y vitaminas. Ejemplos de ello son la col, coliflor, las coles de Bruselas, el brócoli y el nabo. Cabe señalar que a partir de las semillas de *Brassica sp.*, se obtienen aceites (Moreno Flores & Cerda Lemus, 2010). Los cultivos representan una importante industria que se debe mejorar constantemente, desde la resistencia a plagas al tamaño del fruto, el mejoramiento de cultivos es una herramienta muy útil. Debido a que la raíz es el órgano que sirve de sostén y anclaje de la planta, poder caracterizar QTLs de la raíz de *A. thaliana* puede ayudar a entender y modificar su función en beneficio de la industria agrícola. Si deseamos alimentos más grandes y cultivos más resistentes es posible iniciar desde la raíz. Los genes podrían explotarse para personalizar los fenotipos de cultivos para un entorno específico, como un bajo contenido de nitrógeno, sin, por ejemplo, cambiar un fenotipo óptimo en entornos con alto contenido de nitrógeno. (Gifford, et.al, 2013)

Las plantas son organismos que en su ambiente natural pueden afrontar cambios bruscos de las condiciones climáticas y las condiciones abióticas. Además, las plantas llevan a cabo interacciones complejas con organismos de diferentes reinos. Ya que este trabajo se enfoca específicamente en los atributos de la arquitectura de la raíz, es necesario recordar que este es uno de los órganos más complejos de estudiar y por tanto su hábitat resulta más difícil de replicar.

Las raíces de las plantas están expuestas a una variedad de señales ambientales que cambian en el tiempo y el espacio a escalas muy diferentes que se integran en el sistema de toda la planta. Es un desafío importante en biología desarrollar métodos de cultivo y estudio de plantas que presenten tales estímulos de una manera que la planta pueda encontrar en la naturaleza. Después de todo, las plantas que estudiamos han evolucionado para sobrevivir a través de mecanismos que han sido seleccionados, a lo largo del tiempo evolutivo, en la naturaleza (Rellan-Álvarez, *et.al*, 2015).

Uno de los sesgos que tiene el estudio es que las condiciones experimentales nos son las que se encuentran en el campo. Este detalle es algo que debería ser tomado en cuenta en cualquier estudio debido a que resulta sumamente difícil replicar en el laboratorio las condiciones del campo.

Otra de las razones que contribuyen a la variación en las medidas de los caracteres de la raíz y al mismo tiempo implica un sesgo, es la edad de las plántulas. En este estudio las medidas fueron tomadas a los 18 días posterior a la siembra, lo cual implica que las plántulas pueden diferir ligeramente en el momento de la germinación. Debido a que las plántulas no fueron medidas en un mismo grado de maduración es posible que las mediciones no sean completamente comparables, ya que no en todos los individuos las estructuras se encuentran completamente desarrolladas. Si este experimento pretende repetirse es oportuno plantearse realizar la medición tomando en cuenta el momento de la germinación de cada individuo Para este estudio propongo identificar la germinación como el momento en que sea observable la radícula, aunque dicha aproximación puede ser laboriosa aun siendo en condiciones experimentales de laboratorio.

Además de que el momento de la germinación es variable para cada individuo, existe la posibilidad de que la semilla no germine. La dormancia de las semillas se debe a las condiciones internas que no permiten la germinación, y si bien las semillas pueden ser viables no siempre es posible que germinen. Por ello no todas las líneas MAGIC tienen el mismo número de individuos. El hecho de que las líneas difieran en el número de individuos dificulta el análisis y las

comparaciones entre líneas. A pesar del reto que presenta estudiar una población tan compleja se utilizaron análisis que permitieran analizar de manera óptima el comportamiento de los caracteres de la raíz.

Estudiar cualquier característica de la raíz implica un reto importante debido al difícil acceso a su morfología, a pesar de ello es de suma importancia estudiarlas para aplicar ese conocimiento, por ejemplo, en el mejoramiento de los cultivos. El presente estudio representa un avance en la comprensión de la morfología de la raíz, así mismo nos da una pauta para la metodología. Resulta importante realizar ajustes a cualquier método y para este propósito, propongo que para mejorar este estudio en primer lugar el homogeneizar el número de individuos por línea y en segundo lugar utilizar individuos que tengan una edad similar.

Es importante puntualizar que este estudio sea replicado en diferentes especies sobre todo aquellas de importancia económica y alimentaria. Para México resulta muy importante el maíz (*Zea mays*) ya que además de ser una planta de importancia económica es la base de la alimentación y parte fundamental de la cultura, por tanto, sugiero sea otro modelo de estudio. Es pertinente considerar al maíz como modelo de estudio debido a que actualmente ya existen datos acerca de su secuencia genética y más importante para nuestro propósito, ya existen antecedentes de estudios con LM para el maíz, un claro ejemplo es el trabajo de Rossi, Ruiz, Di Renzo, & Bonamico, 2019.

9. Conclusión

En las líneas MAGIC estudiadas, la variación en el fenotipo está determinada principalmente por longitud y el número de raíces laterales, lo cual podría darnos un indicio de que estos caracteres podrían tener un alto grado de heredabilidad. A pesar del avance que implica este estudio, es necesario poner de manifiesto que es importante seguir realizando más investigaciones acerca de la raíz, tanto de su morfología como de su fisiología.

10. Referencias

1. Aceves-García, P., Álvarez-Buylla, E. R., Garay-Arroyo, A., García-Ponce, B., Muñoz, R., & María de la Paz Sánchez, M. (2016). Root Architecture Diversity and Meristem Dynamics in Different Populations of *Arabidopsis thaliana*. *Front. Plant Sci.*, 7(858). doi:10.3389/fpls.2016.00858
2. Arrones, A., Villanova, S., Plazas, M., Manguino, G., Pascual, L., Díez, M. J., . . . Gramazio, P. (2020). The Dawn of the Age of Multi-Parent MAGIC Populations in Plant Breeding: Novel Powerful Next-Generation Resources for Genetic Analysis and Selection of Recombinant Elite Material. *Biology*, 9(8: 229). doi:https://doi.org/10.3390/biology9080229
3. Cuesta, C., & Cires , E. (2014). *Arabidopsis thaliana* como organismo modelo en biología. *Boletín de Ciencias Naturales del R.I.D.E.A*, 52, 175-178.
4. Fernández-Medina, R. D. (2012). Algunas reflexiones sobre la clasificación de los organismos vivos. *História, Ciências, Saúde – Manguinhos*, 19(3), 883-898. doi:10.1590/S0104-59702012000300006
5. Gifford, M., Banta , J., Katari, M., Hulsmans, J., Chen, L., Ristova, D., . . . Birnbaum, K. (2013). Plasticity Regulators Modulate Specific Root Traits in Discrete Nitrogen Environments. *Plos Genetics*, 9(9), -. doi:https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003760
6. Gonzáles, J. (2019). DIVERSIDAD GENÉTICA NEUTRAL Y ADAPTATIVA, UNA SIMPLE EXPLICACIÓN. *Ciencia e Investigación Forestal*. doi:10.52904/0718-4646.2019.512
7. Hazzouri, K. M., Gros-Balthazard, M., Flowers, J. M., Copetti, D., Lemansour, A., Lebrun, M., . . . Purugganan, M. D. (2019). Genome-wide association mapping of date palm fruit traits. *Nature*, 10(4680). doi:https://doi.org/10.1038/s41467-019-12604-9
8. Hill, W. G. (2010). Understanding and using quantitative genetic variation. *Philosophical Transactions B*, 365, 73-85. doi:https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0203
9. Huang, X., Paulo, M.-J., Boer, M., Effgen, S., Keizer, P., Koornneef, M., & van Eeuwijk, F. A. (2011). Analysis of natural allelic variation in *Arabidopsis* using a multiparent

- recombinant inbred line population. *PNAS*, 108(11), 4488-4493.
doi:www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1100465108
10. Kover, P. X., Valdar, W., Trakalo, J., Scarcelli, N., Ehrenreich, I. M., Purugganan, M. D., . . . Mott, R. (2009). A Multiparent Advanced Generation Inter-Cross to Fine-Map Quantitative Traits in *Arabidopsis thaliana*. *PLOS Genetics*, 5(7): e1000551. doi:https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000551
 11. Liang, Y., Liu, H.-J., Yan, J., & Tian, F. (2021). Natural Variation in Crops: Realized Understanding, Continuing Promise. *Annual Reviews of Plant Biology*, 7.1-7.29. doi:https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-080720-
 12. Mackay, I., & Powell, W. (2007). Methods for linkage disequilibrium mapping in crops. *TRENDS in Plant Science*, 12(2), 57-63. doi:https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.12.001
 13. Marsch Martínez, Zúñiga-Mayo, Reyes-Olalde, Salazar-Moya, & Folter. (2009). Genómica Funcional de Plantas: Estudio del Desarrollo de Flores y Frutos. *Acta Universitaria*, 19(1), 21-29.
 14. Moreno Flores, A. C., & Cerda Lemus, M. (2010). La familia Cruciferae en el Estado de Aguascalientes. *La familia Cruciferae en el Estado de Aguascalientes*, 18(49), 12-19.
 15. Pistorale, S. M., Abbott, L. A., & Andrés, A. (2008). Diversidad genética y heredabilidad en sentido amplio en agropiro alargado, *Thinopyrum ponticum*. *CIENCIA E INVESTIGACION AGRARIA*, 35(3), 259-264. doi:http://dx.doi.org/10.4067/S0718-162020080003000003.
 16. Rellan-Álvarez, R., Lobet, G., Lindner, H., Pradier, P.-L., Sebastian, J., Yee, M.-C., . . . LaRue, T. (2015). GLO-Roots: an imaging platform enabling multidimensional characterization of soil-grown root systems. *eLife Sciences Publications, Ltd*. doi: 10.7554/eLife.07597
 17. Ristova, D., Giovannetti, M., Metesch, K., & Busch, W. (2018). Natural genetic variation shapes root system responses to phytohormones in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 96, 468–481. doi:10.1111/tpj.14034

18. Rojas-Chavez, S., & Vibrans, H. (s.f.). Catálogo de Malezas de México: Familia Brassicaceae (Cruciferae).
19. Rosas, U., Cibrian-Jaramillo, A., Ristova, D., Banta, J. A., Gifford, M. L., Huihui Fan, A., . . . Coruzzi, G. M. (2013). Integration of responses within and across Arabidopsis natural accessions uncovers loci controlling root systems architecture. *PNAS*, *10*(37), 15133–15138. doi:10.1073/pnas.1305883110
20. Rossi, E. A., Ruiz, M., Di Renzo, M., & Bonamico, N. C. (2019). GENOTYPIC DIVERSITY IN 291 MAIZE LINES FROM CIMMYT AND PHENOTYPIC CHARACTERIZATION IN SOUTHERN CÓRDOBA, ARGENTINA. *Journal of Basics & Applied Genetics*, *30*(1), 25-33. doi:https://doi.org/ 10.35407/bag.2019.XXX.01.04
21. Team, R. C. (2021). R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*. Obtenido de <https://www.R-project.org/>
22. Visscher, P. M., Hill, W. G., & Wray, N. R. (2008). Heritability in the genomics era concepts and misconceptions. *Nature Reviews Genetics*, *9*, 255-266. doi:https://doi.org/10.1038/nrg2322
23. Weigel, D. (2020). Natural Variation in Arabidopsis: From Molecular Genetics to Ecological Genomics. *Plant Physiology*, *158*, 2-22. doi:https://doi.org/10.1104/pp.111.189845
24. Zhang, M., Liu, Y.-H., Xu, W., Smith, C., Murray, S., & Zhang, H.-B. (2020). Analysis of the genes controlling three quantitative traits in threediverse plant species reveals themolecular basis of quantitative traits. *Scientific Reports*, *10*(10074). doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66271-8>

11. Anexos

11.1 ANEXO I (Tablas)

Tabla 1. Coeficiente de correlación de Pearson

	Individuos	RP	RL	RA	N° RL	N° RA
Individuos	1.00	0.71	0.39	0.55	0.67	0.69
RP	0.71	1.00	0.77	0.78	0.92	0.76
RL	0.39	0.77	1.00	0.73	0.79	0.50
RA	0.55	0.78	0.73	1.00	0.83	0.85
N° RL	0.67	0.92	0.79	0.83	1.00	0.80
N° RA	0.69	0.76	0.50	0.85	0.80	1.00

Tabla 2. Análisis de componentes principales

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
RP	-0.2040	0.0201	-0.0677	0.9641	-0.1544
N° RL	-0.8946	0.2697	0.3099	-0.1752	-0.0132
RL	-0.3343	-0.9041	-0.1910	-0.0362	0.1819
N° RA	-0.1706	0.3309	-0.7652	-0.0127	0.5251
RA	0.1311	0.0032	-0.5267	-0.1956	-0.8168

11.2 ANEXO II (Paquetería de R)

Tabla 3. A continuación, se enlistan las librerías utilizadas para el análisis y condensación de los datos, así como para la generación de gráficos de este documento.

a) pheatmap	g) knitr	m) vctrs
b) ggplot2	h) usethis	n) devtools
c) scales	i) grid	o) factoextra
d) foreign	j) base	p) cowplot
e) plyr	k) dplyr	q) ggbiplot
f) corrplot	l) plotrix	r) vqv

11.3 ANEXO III (Bases de datos)

raiz(base de datos para R)

<https://drive.google.com/file/d/1yRNbHL0eHNKFwRG2KochC6oHTtSWsQO/view?usp=sharing>

raiz(base sin repeticiones x ind)

<https://drive.google.com/file/d/1N6faOqbgDpbyCS0snx14VSQ2wsMisEx8/view?usp=sharing>

raiz(base sin repeticiones x LM)

<https://drive.google.com/file/d/1Mz3mqaFGvR7oX9G1Y1OU5-v-lef8TtcY/view?usp=sharing>

11.4 ANEXO IV (Código de R)

Código de R para el análisis de datos del presente estudio¹²

#PAQUETERIA UTILIZADA#

```
install.packages("knitr")
install.packages("vctrs")
install.packages("ggplot2")
install.packages("usethis")
install.packages("devtools")
install.packages("ggbiplot")
install.packages("vqv")
install.packages("factoextra")
install.packages("dplyr")
install_github("vqv/ggbiplot",force= TRUE)
install.packages("plotrix")
install.packages("cowplot")
install.packages("gplots")
install.packages("corrplot")
library(pheatmap)
library(corrplot)
library(knitr)
library(vctrs, warn.conflicts = FALSE)
library(ggplot2)
library(usethis)
library(devtools)
library(scales)
library(grid)
library(factoextra)
library(foreign)
library(base)
library(cowplot)
library(plyr);library(dplyr, warn.conflicts = FALSE);library(ggbiplot);library(plotrix, warn.conflicts = FALSE)
```

#CODIGO PARA CARGAR LA BASE DE DATOS#

```
setwd("C:/Users/Perla/Documents")
raiz<-read.table("raiz.txt", header = T)
attach(raiz)
```

#CHECAR QUE ESTÉ BIEN LA BASE#

```
head(raiz)
names(raiz)
table(individuo,n.rl)
```

#EXPLORACIÓN Y DEPURACIÓN DE LOS DATOS#

##BASE SIN REPETICION X LINEA#

```
rl1<-
c(sum(rl2[lm2=="M281"]),sum(rl2[lm2=="M441"]),sum(rl2[lm2=="M476"]),sum(rl2[lm2=="M489"]),sum(rl2[lm2=="M495"]),sum(rl2[lm2=="M504"]),sum(rl2[lm2=="M526"]),sum(rl2[lm2=="M582"]),sum(rl2[lm2=="M589"]),sum(rl2[lm2=="M605"]),sum(rl2[lm2=="M606"]),sum(rl2[lm2=="M610"]))
rl02<-
c(sum(rl2[lm2=="M049"]),sum(rl2[lm2=="M123"]),sum(rl2[lm2=="M159"]),sum(rl2[lm2=="M164"]),sum(rl2[lm2=="M167"]),sum(rl2[lm2=="M168"]),sum(rl2[lm2=="M169"]),sum(rl2[lm2=="M173"]),sum(rl2[lm2=="M174"]),sum(rl2[lm2=="M175"]),sum(rl2[lm2=="M176"]),sum(rl2[lm2=="M185"]))
rl3<-
c(sum(rl2[lm2=="M186"]),sum(rl2[lm2=="M200"]),sum(rl2[lm2=="M209"]),sum(rl2[lm2=="M210"]),sum(rl2[lm2=="M215"]),sum(rl2[lm2=="M216"]),sum(rl2[lm2=="M236"]),sum(rl2[lm2=="M274"]),sum(rl2[lm2=="M275"]),sum(rl2[lm2=="M279"]),sum(rl2[lm2=="M302"]),sum(rl2[lm2=="M352"]))
rl4<-
c(sum(rl2[lm2=="M401"]),sum(rl2[lm2=="M411"]),sum(rl2[lm2=="M413"]),sum(rl2[lm2=="M416"]),sum(rl2[lm2=="M418"]),sum(rl2[lm2=="M419"]),sum(rl2[lm2=="M436"]),sum(rl2[lm2=="M437"]),sum(rl2[lm2=="M443"]),sum(rl2[lm2=="M445"]),sum(rl2[lm2=="M448"]),sum(rl2[lm2=="M452"]))
rl5<-
c(sum(rl2[lm2=="M463"]),sum(rl2[lm2=="M467"]),sum(rl2[lm2=="M473"]),sum(rl2[lm2=="M479"]),sum(rl2[lm2=="M484"]),sum(rl2[lm2=="M491"]),sum(rl2[lm2=="M492"]),sum(rl2[lm2=="M497"]),sum(rl2[lm2=="M505"]),sum(rl2[lm2=="M506"]),sum(rl2[lm2=="M508"]),sum(rl2[lm2=="M513"]))
rl6<-
c(sum(rl2[lm2=="M522"]),sum(rl2[lm2=="M525"]),sum(rl2[lm2=="M528"]),sum(rl2[lm2=="M533"]),sum(rl2[lm2=="M548"]),sum(rl2[lm2=="M554"]),sum(rl2[lm2=="M566"]),sum(rl2[lm2=="M579"]),sum(rl2[lm2=="M590"]),sum(rl2[lm2=="M595"]),sum(rl2[lm2=="M604"]),sum(rl2[lm2=="M621"]))
rl7<-
c(sum(rl2[lm2=="M625"]),sum(rl2[lm2=="M636"]),sum(rl2[lm2=="M659"]),sum(rl2[lm2=="M661"]),sum(rl2[lm2=="M726"]),sum(rl2[lm2=="M237"]),sum(rl2[lm2=="M512"]),sum(rl2[lm2=="M529"]),sum(rl2[lm2=="M665"]),sum(rl2[lm2=="M425"]),sum(rl2[lm2=="M543"]),sum(rl2[lm2=="M576"]))
rl8<-
c(sum(rl2[lm2=="M077"]),sum(rl2[lm2=="M524"]),sum(rl2[lm2=="M603"]),sum(rl2[lm2=="M663"]),sum(rl2[lm2=="M179"]),sum(rl2[lm2=="M260"]),sum(rl2[lm2=="M490"]),sum(rl2[lm2=="M510"]),sum(rl2[lm2=="M212"]),sum(rl2[lm2=="M434"]),sum(rl2[lm2=="M481"]),sum(rl2[lm2=="M732"]))
rl9<-
c(sum(rl2[lm2=="M278"]),sum(rl2[lm2=="M494"]),sum(rl2[lm2=="M652"]),sum(rl2[lm2=="M405"]),sum(rl2[lm2=="M429"]),sum(rl2[lm2=="M451"]),sum(rl2[lm2=="M469"]),sum(rl2[lm2=="M480"]),sum(rl2[lm2=="M542"]),sum(rl2[lm2=="M195"]),sum(rl2[lm2=="M446"]),sum(rl2[lm2=="M064"]))
rl10<-
c(sum(rl2[lm2=="M144"]),sum(rl2[lm2=="M257"]),sum(rl2[lm2=="M408"]),sum(rl2[lm2=="M426"]),sum(rl2[lm2=="M503"]),sum(rl2[lm2=="M518"]),sum(rl2[lm2=="M158"]),sum(rl2[lm2=="M165"]),sum(rl2[lm2=="M170"]),sum(rl2[lm2=="M190"]),sum(rl2[lm2=="M422"]),sum(rl2[lm2=="M439"]))
rl11<-
c(sum(rl2[lm2=="M482"]),sum(rl2[lm2=="M550"]),sum(rl2[lm2=="M593"]),sum(rl2[lm2=="M609"]),sum(rl2[lm2=="M198"]),sum(rl2[lm2=="M295"]),sum(rl2[lm2=="M414"]),sum(rl2[lm2=="M424"]),sum(rl2[lm2=="M555"]),sum(rl2[lm2=="M563"]),sum(rl2[lm2=="M664"]),sum(rl2[lm2=="M238"]))
rla<-
c(sum(rl2[lm2=="M421"]),sum(rl2[lm2=="M442"]),sum(rl2[lm2=="M511"]),sum(rl2[lm2=="M519"]),sum(rl2[lm2=="M530"]),sum(rl2[lm2=="M534"]),sum(rl2[lm2=="M623"]),sum(rl2[lm2=="M113"]),sum(rl2[lm2=="M299"]),sum(rl2[lm2=="M400"]),sum(rl2[lm2=="M409"]),sum(rl2[lm2=="M420"]))
```

```

rlb<-
c(sum(rl2[lm2=="M431"]),sum(rl2[lm2=="M435"]),sum(rl2[lm2=="M472"]),sum(rl2[lm2=="M547"]),sum(rl2[lm2=="M557"]),sum(rl2[lm2=="M588"]),sum(rl2[lm2=="M598"]),sum(rl2[lm2=="M600"]),sum(rl2[lm2=="M640"]))
rl12<-c(rla,rlb)
RL<-c(rl1,rl02,rl3,rl4,rl5,rl6,rl7,rl8,rl9,rl10,rl11,rl12)
rln1<-
c(sum(rln[lm2=="M281"]),sum(rln[lm2=="M441"]),sum(rln[lm2=="M476"]),sum(rln[lm2=="M489"]),sum(rln[lm2=="M495"]),sum(rln[lm2=="M504"]),sum(rln[lm2=="M526"]),sum(rln[lm2=="M582"]),sum(rln[lm2=="M589"]),sum(rln[lm2=="M605"]),sum(rln[lm2=="M606"]),sum(rln[lm2=="M610"]))
rln2<-
c(sum(rln[lm2=="M049"]),sum(rln[lm2=="M123"]),sum(rln[lm2=="M159"]),sum(rln[lm2=="M164"]),sum(rln[lm2=="M167"]),sum(rln[lm2=="M168"]),sum(rln[lm2=="M169"]),sum(rln[lm2=="M173"]),sum(rln[lm2=="M174"]),sum(rln[lm2=="M175"]),sum(rln[lm2=="M176"]),sum(rln[lm2=="M185"]))
rln3<-
c(sum(rln[lm2=="M186"]),sum(rln[lm2=="M200"]),sum(rln[lm2=="M209"]),sum(rln[lm2=="M210"]),sum(rln[lm2=="M215"]),sum(rln[lm2=="M216"]),sum(rln[lm2=="M236"]),sum(rln[lm2=="M274"]),sum(rln[lm2=="M275"]),sum(rln[lm2=="M279"]),sum(rln[lm2=="M302"]),sum(rln[lm2=="M352"]))
rln4<-
c(sum(rln[lm2=="M401"]),sum(rln[lm2=="M411"]),sum(rln[lm2=="M413"]),sum(rln[lm2=="M416"]),sum(rln[lm2=="M418"]),sum(rln[lm2=="M419"]),sum(rln[lm2=="M436"]),sum(rln[lm2=="M437"]),sum(rln[lm2=="M443"]),sum(rln[lm2=="M445"]),sum(rln[lm2=="M448"]),sum(rln[lm2=="M452"]))
rln5<-
c(sum(rln[lm2=="M463"]),sum(rln[lm2=="M467"]),sum(rln[lm2=="M473"]),sum(rln[lm2=="M479"]),sum(rln[lm2=="M484"]),sum(rln[lm2=="M491"]),sum(rln[lm2=="M492"]),sum(rln[lm2=="M497"]),sum(rln[lm2=="M505"]),sum(rln[lm2=="M506"]),sum(rln[lm2=="M508"]),sum(rln[lm2=="M513"]))
rln6<-
c(sum(rln[lm2=="M522"]),sum(rln[lm2=="M525"]),sum(rln[lm2=="M528"]),sum(rln[lm2=="M533"]),sum(rln[lm2=="M548"]),sum(rln[lm2=="M554"]),sum(rln[lm2=="M566"]),sum(rln[lm2=="M579"]),sum(rln[lm2=="M590"]),sum(rln[lm2=="M595"]),sum(rln[lm2=="M604"]),sum(rln[lm2=="M621"]))
rln7<-
c(sum(rln[lm2=="M625"]),sum(rln[lm2=="M636"]),sum(rln[lm2=="M659"]),sum(rln[lm2=="M661"]),sum(rln[lm2=="M726"]),sum(rln[lm2=="M237"]),sum(rln[lm2=="M512"]),sum(rln[lm2=="M529"]),sum(rln[lm2=="M665"]),sum(rln[lm2=="M425"]),sum(rln[lm2=="M543"]),sum(rln[lm2=="M576"]))
rln8<-
c(sum(rln[lm2=="M077"]),sum(rln[lm2=="M524"]),sum(rln[lm2=="M603"]),sum(rln[lm2=="M663"]),sum(rln[lm2=="M179"]),sum(rln[lm2=="M260"]),sum(rln[lm2=="M490"]),sum(rln[lm2=="M510"]),sum(rln[lm2=="M212"]),sum(rln[lm2=="M434"]),sum(rln[lm2=="M481"]),sum(rln[lm2=="M732"]))
rln9<-
c(sum(rln[lm2=="M278"]),sum(rln[lm2=="M494"]),sum(rln[lm2=="M652"]),sum(rln[lm2=="M405"]),sum(rln[lm2=="M429"]),sum(rln[lm2=="M451"]),sum(rln[lm2=="M469"]),sum(rln[lm2=="M480"]),sum(rln[lm2=="M542"]),sum(rln[lm2=="M195"]),sum(rln[lm2=="M446"]),sum(rln[lm2=="M064"]))
rln10<-
c(sum(rln[lm2=="M144"]),sum(rln[lm2=="M257"]),sum(rln[lm2=="M408"]),sum(rln[lm2=="M426"]),sum(rln[lm2=="M503"]),sum(rln[lm2=="M518"]),sum(rln[lm2=="M158"]),sum(rln[lm2=="M165"]),sum(rln[lm2=="M170"]),sum(rln[lm2=="M190"]),sum(rln[lm2=="M422"]),sum(rln[lm2=="M439"]))
rln11<-
c(sum(rln[lm2=="M482"]),sum(rln[lm2=="M550"]),sum(rln[lm2=="M593"]),sum(rln[lm2=="M609"]),sum(rln[lm2=="M198"]),sum(rln[lm2=="M295"]),sum(rln[lm2=="M414"]),sum(rln[lm2=="M424"]),sum(rln[lm2=="M555"]),sum(rln[lm2=="M563"]),sum(rln[lm2=="M664"]),sum(rln[lm2=="M238"]))
rlna<-
c(sum(rln[lm2=="M421"]),sum(rln[lm2=="M442"]),sum(rln[lm2=="M511"]),sum(rln[lm2=="M519"]),sum(rln[lm2=="M530"]),sum(rln[lm2=="M534"]),sum(rln[lm2=="M623"]),sum(rln[lm2=="M113"]),sum(rln[lm2=="M299"]),sum(rln[lm2=="M400"]),sum(rln[lm2=="M409"]),sum(rln[lm2=="M420"]))
rlnb<-
c(sum(rln[lm2=="M431"]),sum(rln[lm2=="M435"]),sum(rln[lm2=="M472"]),sum(rln[lm2=="M547"]),sum(rln[lm2=="M557"]),sum(rln[lm2=="M588"]),sum(rln[lm2=="M598"]),sum(rln[lm2=="M600"]),sum(rln[lm2=="M640]))

```

```

m2=="M557")),sum(rln[lm2=="M588"]),sum(rln[lm2=="M598"]),sum(rln[lm2=="M600"]),sum(rln[lm2=="M6
40"]))
rln12<-c(rlna,rlnb)
Num.RL<-c(rln1,rln2,rln3,rln4,rln5,rln6,rln7,rln8,rln9,rln10,rln11,rln12)
ra1<-
c(sum(ra2[lm2=="M281"]),sum(ra2[lm2=="M441"]),sum(ra2[lm2=="M476"]),sum(ra2[lm2=="M489"]),sum(ra2
[lm2=="M495"]),sum(ra2[lm2=="M504"]),sum(ra2[lm2=="M526"]),sum(ra2[lm2=="M582"]),sum(ra2[lm2=="
M589"]),sum(ra2[lm2=="M605"]),sum(ra2[lm2=="M606"]),sum(ra2[lm2=="M610"]))
ra02<-
c(sum(ra2[lm2=="M049"]),sum(ra2[lm2=="M123"]),sum(ra2[lm2=="M159"]),sum(ra2[lm2=="M164"]),sum(ra2
[lm2=="M167"]),sum(ra2[lm2=="M168"]),sum(ra2[lm2=="M169"]),sum(ra2[lm2=="M173"]),sum(ra2[lm2=="
M174"]),sum(ra2[lm2=="M175"]),sum(ra2[lm2=="M176"]),sum(ra2[lm2=="M185"]))
ra3<-
c(sum(ra2[lm2=="M186"]),sum(ra2[lm2=="M200"]),sum(ra2[lm2=="M209"]),sum(ra2[lm2=="M210"]),sum(ra2
[lm2=="M215"]),sum(ra2[lm2=="M216"]),sum(ra2[lm2=="M236"]),sum(ra2[lm2=="M274"]),sum(ra2[lm2=="
M275"]),sum(ra2[lm2=="M279"]),sum(ra2[lm2=="M302"]),sum(ra2[lm2=="M352"]))
ra4<-
c(sum(ra2[lm2=="M401"]),sum(ra2[lm2=="M411"]),sum(ra2[lm2=="M413"]),sum(ra2[lm2=="M416"]),sum(ra2
[lm2=="M418"]),sum(ra2[lm2=="M419"]),sum(ra2[lm2=="M436"]),sum(ra2[lm2=="M437"]),sum(ra2[lm2=="
M443"]),sum(ra2[lm2=="M445"]),sum(ra2[lm2=="M448"]),sum(ra2[lm2=="M452"]))
ra5<-
c(sum(ra2[lm2=="M463"]),sum(ra2[lm2=="M467"]),sum(ra2[lm2=="M473"]),sum(ra2[lm2=="M479"]),sum(ra2
[lm2=="M484"]),sum(ra2[lm2=="M491"]),sum(ra2[lm2=="M492"]),sum(ra2[lm2=="M497"]),sum(ra2[lm2=="
M505"]),sum(ra2[lm2=="M506"]),sum(ra2[lm2=="M508"]),sum(ra2[lm2=="M513"]))
ra6<-
c(sum(ra2[lm2=="M522"]),sum(ra2[lm2=="M525"]),sum(ra2[lm2=="M528"]),sum(ra2[lm2=="M533"]),sum(ra2
[lm2=="M548"]),sum(ra2[lm2=="M554"]),sum(ra2[lm2=="M566"]),sum(ra2[lm2=="M579"]),sum(ra2[lm2=="
M590"]),sum(ra2[lm2=="M595"]),sum(ra2[lm2=="M604"]),sum(ra2[lm2=="M621"]))
ra7<-
c(sum(ra2[lm2=="M625"]),sum(ra2[lm2=="M636"]),sum(ra2[lm2=="M659"]),sum(ra2[lm2=="M661"]),sum(ra2
[lm2=="M726"]),sum(ra2[lm2=="M237"]),sum(ra2[lm2=="M512"]),sum(ra2[lm2=="M529"]),sum(ra2[lm2=="
M665"]),sum(ra2[lm2=="M425"]),sum(ra2[lm2=="M543"]),sum(ra2[lm2=="M576"]))
ra8<-
c(sum(ra2[lm2=="M077"]),sum(ra2[lm2=="M524"]),sum(ra2[lm2=="M603"]),sum(ra2[lm2=="M663"]),sum(ra2
[lm2=="M179"]),sum(ra2[lm2=="M260"]),sum(ra2[lm2=="M490"]),sum(ra2[lm2=="M510"]),sum(ra2[lm2=="
M212"]),sum(ra2[lm2=="M434"]),sum(ra2[lm2=="M481"]),sum(ra2[lm2=="M732"]))
ra9<-
c(sum(ra2[lm2=="M278"]),sum(ra2[lm2=="M494"]),sum(ra2[lm2=="M652"]),sum(ra2[lm2=="M405"]),sum(ra2
[lm2=="M429"]),sum(ra2[lm2=="M451"]),sum(ra2[lm2=="M469"]),sum(ra2[lm2=="M480"]),sum(ra2[lm2=="
M542"]),sum(ra2[lm2=="M195"]),sum(ra2[lm2=="M446"]),sum(ra2[lm2=="M064"]))
ra10<-
c(sum(ra2[lm2=="M144"]),sum(ra2[lm2=="M257"]),sum(ra2[lm2=="M408"]),sum(ra2[lm2=="M426"]),sum(ra2
[lm2=="M503"]),sum(ra2[lm2=="M518"]),sum(ra2[lm2=="M158"]),sum(ra2[lm2=="M165"]),sum(ra2[lm2=="
M170"]),sum(ra2[lm2=="M190"]),sum(ra2[lm2=="M422"]),sum(ra2[lm2=="M439"]))
ra11<-
c(sum(ra2[lm2=="M482"]),sum(ra2[lm2=="M550"]),sum(ra2[lm2=="M593"]),sum(ra2[lm2=="M609"]),sum(ra2
[lm2=="M198"]),sum(ra2[lm2=="M295"]),sum(ra2[lm2=="M414"]),sum(ra2[lm2=="M424"]),sum(ra2[lm2=="
M555"]),sum(ra2[lm2=="M563"]),sum(ra2[lm2=="M664"]),sum(ra2[lm2=="M238"]))
raa<-
c(sum(ra2[lm2=="M421"]),sum(ra2[lm2=="M442"]),sum(ra2[lm2=="M511"]),sum(ra2[lm2=="M519"]),sum(ra2
[lm2=="M530"]),sum(ra2[lm2=="M534"]),sum(ra2[lm2=="M623"]),sum(ra2[lm2=="M113"]),sum(ra2[lm2=="
M299"]),sum(ra2[lm2=="M400"]),sum(ra2[lm2=="M409"]),sum(ra2[lm2=="M420"]))
rab<-
c(sum(ra2[lm2=="M431"]),sum(ra2[lm2=="M435"]),sum(ra2[lm2=="M472"]),sum(ra2[lm2=="M547"]),sum(ra2
[lm2=="M557"]),sum(ra2[lm2=="M588"]),sum(ra2[lm2=="M598"]),sum(ra2[lm2=="M600"]),sum(ra2[lm2=="
M640"]))
ra12<-c(raa,rab)

```

```

RA<-c(ra1,ra02,ra3,ra4,ra5,ra6,ra7,ra8,ra9,ra10,ra11,ra12)
ran1<-
c(sum(ran[lm2=="M281"]),sum(ran[lm2=="M441"]),sum(ran[lm2=="M476"]),sum(ran[lm2=="M489"]),sum(ran
[lm2=="M495"]),sum(ran[lm2=="M504"]),sum(ran[lm2=="M526"]),sum(ran[lm2=="M582"]),sum(ran[lm2=="
M589"]),sum(ran[lm2=="M605"]),sum(ran[lm2=="M606"]),sum(ran[lm2=="M610"]))
ran2<-
c(sum(ran[lm2=="M049"]),sum(ran[lm2=="M123"]),sum(ran[lm2=="M159"]),sum(ran[lm2=="M164"]),sum(ran
[lm2=="M167"]),sum(ran[lm2=="M168"]),sum(ran[lm2=="M169"]),sum(ran[lm2=="M173"]),sum(ran[lm2=="
M174"]),sum(ran[lm2=="M175"]),sum(ran[lm2=="M176"]),sum(ran[lm2=="M185"]))
ran3<-
c(sum(ran[lm2=="M186"]),sum(ran[lm2=="M200"]),sum(ran[lm2=="M209"]),sum(ran[lm2=="M210"]),sum(ran
[lm2=="M215"]),sum(ran[lm2=="M216"]),sum(ran[lm2=="M236"]),sum(ran[lm2=="M274"]),sum(ran[lm2=="
M275"]),sum(ran[lm2=="M279"]),sum(ran[lm2=="M302"]),sum(ran[lm2=="M352"]))
ran4<-
c(sum(ran[lm2=="M401"]),sum(ran[lm2=="M411"]),sum(ran[lm2=="M413"]),sum(ran[lm2=="M416"]),sum(ran
[lm2=="M418"]),sum(ran[lm2=="M419"]),sum(ran[lm2=="M436"]),sum(ran[lm2=="M437"]),sum(ran[lm2=="
M443"]),sum(ran[lm2=="M445"]),sum(ran[lm2=="M448"]),sum(ran[lm2=="M452"]))
ran5<-
c(sum(ran[lm2=="M463"]),sum(ran[lm2=="M467"]),sum(ran[lm2=="M473"]),sum(ran[lm2=="M479"]),sum(ran
[lm2=="M484"]),sum(ran[lm2=="M491"]),sum(ran[lm2=="M492"]),sum(ran[lm2=="M497"]),sum(ran[lm2=="
M505"]),sum(ran[lm2=="M506"]),sum(ran[lm2=="M508"]),sum(ran[lm2=="M513"]))
ran6<-
c(sum(ran[lm2=="M522"]),sum(ran[lm2=="M525"]),sum(ran[lm2=="M528"]),sum(ran[lm2=="M533"]),sum(ran
[lm2=="M548"]),sum(ran[lm2=="M554"]),sum(ran[lm2=="M566"]),sum(ran[lm2=="M579"]),sum(ran[lm2=="
M590"]),sum(ran[lm2=="M595"]),sum(ran[lm2=="M604"]),sum(ran[lm2=="M621"]))
ran7<-
c(sum(ran[lm2=="M625"]),sum(ran[lm2=="M636"]),sum(ran[lm2=="M659"]),sum(ran[lm2=="M661"]),sum(ran
[lm2=="M726"]),sum(ran[lm2=="M237"]),sum(ran[lm2=="M512"]),sum(ran[lm2=="M529"]),sum(ran[lm2=="
M665"]),sum(ran[lm2=="M425"]),sum(ran[lm2=="M543"]),sum(ran[lm2=="M576"]))
ran8<-
c(sum(ran[lm2=="M077"]),sum(ran[lm2=="M524"]),sum(ran[lm2=="M603"]),sum(ran[lm2=="M663"]),sum(ran
[lm2=="M179"]),sum(ran[lm2=="M260"]),sum(ran[lm2=="M490"]),sum(ran[lm2=="M510"]),sum(ran[lm2=="
M212"]),sum(ran[lm2=="M434"]),sum(ran[lm2=="M481"]),sum(ran[lm2=="M732"]))
ran9<-
c(sum(ran[lm2=="M278"]),sum(ran[lm2=="M494"]),sum(ran[lm2=="M652"]),sum(ran[lm2=="M405"]),sum(ran
[lm2=="M429"]),sum(ran[lm2=="M451"]),sum(ran[lm2=="M469"]),sum(ran[lm2=="M480"]),sum(ran[lm2=="
M542"]),sum(ran[lm2=="M195"]),sum(ran[lm2=="M446"]),sum(ran[lm2=="M064"]))
ran10<-
c(sum(ran[lm2=="M144"]),sum(ran[lm2=="M257"]),sum(ran[lm2=="M408"]),sum(ran[lm2=="M426"]),sum(ran
[lm2=="M503"]),sum(ran[lm2=="M518"]),sum(ran[lm2=="M158"]),sum(ran[lm2=="M165"]),sum(ran[lm2=="
M170"]),sum(ran[lm2=="M190"]),sum(ran[lm2=="M422"]),sum(ran[lm2=="M439"]))
ran11<-
c(sum(ran[lm2=="M482"]),sum(ran[lm2=="M550"]),sum(ran[lm2=="M593"]),sum(ran[lm2=="M609"]),sum(ran
[lm2=="M198"]),sum(ran[lm2=="M295"]),sum(ran[lm2=="M414"]),sum(ran[lm2=="M424"]),sum(ran[lm2=="
M555"]),sum(ran[lm2=="M563"]),sum(ran[lm2=="M664"]),sum(ran[lm2=="M238"]))
rana<-
c(sum(ran[lm2=="M421"]),sum(ran[lm2=="M442"]),sum(ran[lm2=="M511"]),sum(ran[lm2=="M519"]),sum(ran
[lm2=="M530"]),sum(ran[lm2=="M534"]),sum(ran[lm2=="M623"]),sum(ran[lm2=="M113"]),sum(ran[lm2=="
M299"]),sum(ran[lm2=="M400"]),sum(ran[lm2=="M409"]),sum(ran[lm2=="M420"]))
ranb<-
c(sum(ran[lm2=="M431"]),sum(ran[lm2=="M435"]),sum(ran[lm2=="M472"]),sum(ran[lm2=="M547"]),sum(ran
[lm2=="M557"]),sum(ran[lm2=="M588"]),sum(ran[lm2=="M598"]),sum(ran[lm2=="M600"]),sum(ran[lm2=="
M640"]))
ran12<-c(rana,ranb)
Num.RA<-c(ran1,ran2,ran3,ran4,ran5,ran6,ran7,ran8,ran9,ran10,ran11,ran12)
rp1<-
c(sum(rp2[lm2=="M281"]),sum(rp2[lm2=="M441"]),sum(rp2[lm2=="M476"]),sum(rp2[lm2=="M489"]),sum(rp

```

```

2[lm2=="M495"],sum(rp2[lm2=="M504"],sum(rp2[lm2=="M526"],sum(rp2[lm2=="M582"],sum(rp2[lm2=="
M589"],sum(rp2[lm2=="M605"],sum(rp2[lm2=="M606"],sum(rp2[lm2=="M610]))))
rp02<-
c(sum(rp2[lm2=="M049"],sum(rp2[lm2=="M123"],sum(rp2[lm2=="M159"],sum(rp2[lm2=="M164"],sum(rp
2[lm2=="M167"],sum(rp2[lm2=="M168"],sum(rp2[lm2=="M169"],sum(rp2[lm2=="M173"],sum(rp2[lm2=="
M174"],sum(rp2[lm2=="M175"],sum(rp2[lm2=="M176"],sum(rp2[lm2=="M185]))))
rp3<-
c(sum(rp2[lm2=="M186"],sum(rp2[lm2=="M200"],sum(rp2[lm2=="M209"],sum(rp2[lm2=="M210"],sum(rp
2[lm2=="M215"],sum(rp2[lm2=="M216"],sum(rp2[lm2=="M236"],sum(rp2[lm2=="M274"],sum(rp2[lm2=="
M275"],sum(rp2[lm2=="M279"],sum(rp2[lm2=="M302"],sum(rp2[lm2=="M352]))))
rp4<-
c(sum(rp2[lm2=="M401"],sum(rp2[lm2=="M411"],sum(rp2[lm2=="M413"],sum(rp2[lm2=="M416"],sum(rp
2[lm2=="M418"],sum(rp2[lm2=="M419"],sum(rp2[lm2=="M436"],sum(rp2[lm2=="M437"],sum(rp2[lm2=="
M443"],sum(rp2[lm2=="M445"],sum(rp2[lm2=="M448"],sum(rp2[lm2=="M452]))))
rp5<-
c(sum(rp2[lm2=="M263"],sum(rp2[lm2=="M467"],sum(rp2[lm2=="M473"],sum(rp2[lm2=="M479"],sum(rp
2[lm2=="M484"],sum(rp2[lm2=="M491"],sum(rp2[lm2=="M492"],sum(rp2[lm2=="M497"],sum(rp2[lm2=="
M505"],sum(rp2[lm2=="M506"],sum(rp2[lm2=="M508"],sum(rp2[lm2=="M513]))))
rp6<-
c(sum(rp2[lm2=="M522"],sum(rp2[lm2=="M525"],sum(rp2[lm2=="M528"],sum(rp2[lm2=="M533"],sum(rp
2[lm2=="M548"],sum(rp2[lm2=="M554"],sum(rp2[lm2=="M566"],sum(rp2[lm2=="M579"],sum(rp2[lm2=="
M590"],sum(rp2[lm2=="M595"],sum(rp2[lm2=="M604"],sum(rp2[lm2=="M621]))))
rp7<-
c(sum(rp2[lm2=="M625"],sum(rp2[lm2=="M636"],sum(rp2[lm2=="M659"],sum(rp2[lm2=="M661"],sum(rp
2[lm2=="M726"],sum(rp2[lm2=="M237"],sum(rp2[lm2=="M512"],sum(rp2[lm2=="M529"],sum(rp2[lm2=="
M665"],sum(rp2[lm2=="M425"],sum(rp2[lm2=="M543"],sum(rp2[lm2=="M576]))))
rp8<-
c(sum(rp2[lm2=="M077"],sum(rp2[lm2=="M524"],sum(rp2[lm2=="M603"],sum(rp2[lm2=="M663"],sum(rp
2[lm2=="M179"],sum(rp2[lm2=="M260"],sum(rp2[lm2=="M490"],sum(rp2[lm2=="M510"],sum(rp2[lm2=="
M212"],sum(rp2[lm2=="M434"],sum(rp2[lm2=="M481"],sum(rp2[lm2=="M732]))))
rp9<-
c(sum(rp2[lm2=="M278"],sum(rp2[lm2=="M494"],sum(rp2[lm2=="M652"],sum(rp2[lm2=="M405"],sum(rp
2[lm2=="M429"],sum(rp2[lm2=="M451"],sum(rp2[lm2=="M469"],sum(rp2[lm2=="M480"],sum(rp2[lm2=="
M542"],sum(rp2[lm2=="M195"],sum(rp2[lm2=="M446"],sum(rp2[lm2=="M064]))))
rp10<-
c(sum(rp2[lm2=="M144"],sum(rp2[lm2=="M257"],sum(rp2[lm2=="M408"],sum(rp2[lm2=="M426"],sum(rp
2[lm2=="M503"],sum(rp2[lm2=="M518"],sum(rp2[lm2=="M158"],sum(rp2[lm2=="M165"],sum(rp2[lm2=="
M170"],sum(rp2[lm2=="M190"],sum(rp2[lm2=="M422"],sum(rp2[lm2=="M439]))))
rp11<-
c(sum(rp2[lm2=="M482"],sum(rp2[lm2=="M550"],sum(rp2[lm2=="M593"],sum(rp2[lm2=="M609"],sum(rp
2[lm2=="M198"],sum(rp2[lm2=="M295"],sum(rp2[lm2=="M414"],sum(rp2[lm2=="M424"],sum(rp2[lm2=="
M555"],sum(rp2[lm2=="M563"],sum(rp2[lm2=="M664"],sum(rp2[lm2=="M238]))))
rpa<-
c(sum(rp2[lm2=="M421"],sum(rp2[lm2=="M442"],sum(rp2[lm2=="M511"],sum(rp2[lm2=="M519"],sum(rp
2[lm2=="M530"],sum(rp2[lm2=="M534"],sum(rp2[lm2=="M623"],sum(rp2[lm2=="M113"],sum(rp2[lm2=="
M299"],sum(rp2[lm2=="M400"],sum(rp2[lm2=="M409"],sum(rp2[lm2=="M420]))))
rpb<-
c(sum(rp2[lm2=="M431"],sum(rp2[lm2=="M435"],sum(rp2[lm2=="M472"],sum(rp2[lm2=="M547"],sum(rp
2[lm2=="M557"],sum(rp2[lm2=="M588"],sum(rp2[lm2=="M598"],sum(rp2[lm2=="M600"],sum(rp2[lm2=="
M640]))))
rp12<-c(rpa,rpb)
RP<-c(rp1,rp02,rp3,rp4,rp5,rp6,rp7,rp8,rp9,rp10,rp11,rp12)
i1<-c(rep(18,12),rep(15,65),rep(14,4),rep(13,3),rep(12,4),rep(11,4),rep(10,4),rep(9,1))
i2<-c(rep(8,2),rep(7,6),rep(6,2),rep(5,7),rep(4,10),rep(3,7),rep(2,8),rep(1,14))
IND<-c(i1,i2)

```

```

ln1<-
c("LM281","LM441","LM476","LM489","LM495","LM504","LM526","LM582","LM589","LM605","LM606","LM610")
ln2<-
c("LM049","LM123","LM159","LM164","LM167","LM168","LM169","LM173","LM174","LM175","LM176","LM185")
ln3<-
c("LM186","LM200","LM209","LM210","LM215","LM216","LM236","LM274","LM275","LM279","LM302","LM352")
ln4<-
c("LM401","LM411","LM413","LM416","LM418","LM419","LM436","LM437","LM443","LM445","LM448","LM452")
ln5<-
c("LM463","LM467","LM473","LM479","LM484","LM491","LM492","LM497","LM505","LM506","LM508","LM513")
ln6<-
c("LM522","LM525","LM528","LM533","LM548","LM554","LM566","LM579","LM590","LM595","LM604","LM621")
ln7<-
c("LM625","LM636","LM659","LM661","LM726","LM237","LM512","LM529","LM665","LM425","LM543","LM576")
ln8<-
c("LM077","LM524","LM603","LM663","LM179","LM260","LM490","LM510","LM212","LM434","LM481","LM732")
ln9<-
c("LM278","LM494","LM652","LM405","LM429","LM451","LM469","LM480","LM542","LM195","LM446","LM064")
ln10<-
c("LM144","LM257","LM408","LM426","LM503","LM518","LM158","LM165","LM170","LM190","LM422","LM439")
ln11<-
c("LM482","LM550","LM593","LM609","LM198","LM295","LM414","LM424","LM555","LM563","LM664","LM238")
lna<-
c("LM421","LM442","LM511","LM519","LM530","LM534","LM623","LM113","LM299","LM400","LM409","LM420")
lnb<-c("LM431","LM435","LM472","LM547","LM557","LM588","LM598","LM600","LM640")
ln12<-c(lna,lnb)
LM<-c(ln1,ln2,ln3,ln4,ln5,ln6,ln7,ln8,ln9,ln10,ln11,ln12)
raz<-data.frame(LM,IND,RP,Num.RL,RL,Num.RA,RA)
raz

```

##GUARDAR LOS data.frame##

```
write.table(raz, file = "raiz3.txt", row.names = F)
```

##OBJETOS##

```
z<-seq(0,6)
```

```
p<-seq(0,3)
```

```
razz <- select(raz, -LM,-IND)
```

```
head(razz)
```

```
germ<-c(153,129)
```

```
lab<-c("Germinados 54%","No Germinados 46%")
```

```
copt<-matrix(cbind(c(-0.2040,-0.8946,-0.3343,-0.1706,0.1311),c(0.0201,0.2697,-0.9041,0.3309,0.0032),c(-0.0677,0.3099,-0.1910,-0.7652,-0.5267),c(0.9641,-0.1752,-0.0362,-0.0127,-0.1956),c(-0.1544,-0.0132,0.1819,0.5251,-0.8168)), nrow = 5,ncol = 5, dimnames = list(c("RP","Núm.RL","RL","Núm.RA","RA"),c("PC1","PC2","PC3","PC4","PC5")))
```

##ANALISIS EXPLORATORIOS##

```
summarise(raz, minimo=min(IND),promedio=mean(IND),mediana = median(IND), variance = var(IND),desviacion=sd(IND),erro=std.error(IND),maximo=max(IND))
```

```

summarise(raz, minimo=min(RP),promedio=mean(RP),mediana = median(RP), variance =
var(RP),desviacion=sd(RP),erro=std.error(RP),maximo=max(RP))
summarise(raz, minimo=min(RL),promedio=mean(RL),mediana = median(RL), variance =
var(RL),desviacion=sd(RL),erro=std.error(RL),maximo=max(RL))
summarise(raz, minimo=min(RA),promedio=mean(RA),mediana = median(RA), variance =
var(RA),desviacion=sd(RA),erro=std.error(RA),maximo=max(RA))
summarise(raz, minimo=min(Num.RA),promedio=mean(Num.RA),mediana = median(Num.RA), variance =
var(Num.RA),desviacion=sd(Num.RA),erro=std.error(Num.RA),maximo=max(Num.RA))
summarise(raz, minimo=min(Num.RL),promedio=mean(Num.RL),mediana = median(Num.RL), variance =
var(Num.RL),desviacion=sd(Num.RL),erro=std.error(Num.RL),maximo=max(Num.RL))
summarise(raiz, minimo=min(individuos),promedio=mean(individuos),mediana = median(individuos), variance =
var(individuos),desviacion=sd(individuos),erro=std.error(individuos),maximo=max(individuos))
round(summarise(raiz, minimo=min(rp2),promedio=mean(rp2),mediana = median(rp2), variance =
var(rp2),desviacion=sd(rp2),erro=std.error(rp2),maximo=max(rp2)),2)
round(summarise(raiz, minimo=min(rl2),promedio=mean(rl2),mediana = median(rl2), variance =
var(rl2),desviacion=sd(rl2),erro=std.error(rl2),maximo=max(rl2)),2)
round(summarise(raiz, minimo=min(ra2),promedio=mean(ra2),mediana = median(ra2), variance =
var(ra2),desviacion=sd(ra2),erro=std.error(ra2),maximo=max(ra2)),2)
round(summarise(raiz, minimo=min(ran),promedio=mean(ran),mediana = median(ran), variance =
var(ran),desviacion=sd(ran),erro=std.error(ran),maximo=max(ran)),2)
round(summarise(raiz, minimo=min(rln),promedio=mean(rln),mediana = median(rln), variance =
var(rln),desviacion=sd(rln),erro=std.error(rln),maximo=max(rln)),2)
names(raz)
cor(razz)%>%round(2)

```

COMPONENTES PRINCIPALES

```

###NORMALIZACION DE LOS DATOS###
norm1<-function(x) {(x-min(x)/max(x)-min(x))}
raz.norm<- data.frame(apply(razz,2,norm1))
apply(raz.norm,2,min)%>%round(2)
apply(raz.norm,2,mean)%>%round(2)
apply(raz.norm,2,max)%>%round(2)
###ANALISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES###
acpz<-prcomp(raz.norm)
var <- get_pca_var(acpz)
var

```

GRÁFICOS

```

###HISTOGRAMAS###
****INDIVIDUOS X LINEA****
hin<-ggplot(data=raz, aes(IND))+geom_histogram(breaks=seq(1, 20,
by=3),col="white",aes(fill=..count..),binwidth = 5)+
  scale_fill_gradient("Frecuencia", low="#333333", high="#9999ff")+
  labs(x="Individuos",y="Frecuencia por LM")+
  geom_density(aes(y=4 * ..count..),col="#9966ff",cex=1)+
  scale_x_continuous(breaks = round(seq(min(raz$IND), max(20), by =
3),1),labels=c("1","4","7","10","13","16","18"))+
  scale_y_continuous(breaks = round(seq(min(0), max(80), by = 5),1))+
  guides(fill=FALSE, color=FALSE)
****RAÍZ PRIMARIA X LINEA****
hrp<-ggplot(data=raz, aes(RP))+ geom_histogram(breaks=seq(0, 55,
by=5),col="white",aes(fill=..count..),binwidth = 5)+
  scale_fill_gradient("Frecuencia", low="#333333", high="#9999ff")+
  labs(x="Longitud RP", y="Frecuencia por LM")+
  geom_density(aes(y=7 * ..count..),col="#9966ff",cex=1)+
  scale_x_continuous(breaks = round(seq(min(raz$RP), max(55), by = 5),1))+
  scale_y_continuous(breaks = round(seq(min(0), max(55), by = 5),1))+
  guides(fill=FALSE, color=FALSE)
****RAÍZ LATERAL X LINEA****

```

```

hrl<-ggplot(data=raz, aes(RL))+ geom_histogram(breaks=seq(0, 155,
by=15),col="white",aes(fill=..count.),binwidth = 0.12)+
  scale_fill_gradient("Frecuencia", low="#333333", high="#9999ff")+
  labs(x="Longitud RL", y="Frecuencia por LM")+
  geom_density(aes(y=12 * ..count.),col="#9966ff",cex=1)+
  scale_x_continuous(breaks = round(seq(min(raz$RL), max(155), by = 15),1))+
  scale_y_continuous(breaks = round(seq(min(0), max(130), by = 10),1))+
  guides(fill=FALSE, color=FALSE)
****RAÍZ ADVENTICIA X LINEA****
hra<-ggplot(data=raz, aes(RA))+ geom_histogram(breaks=seq(0, 40,
by=6),col="white",aes(fill=..count.),binwidth = 0.12)+
  scale_fill_gradient("Count", low="#333333", high="#9999ff")+
  labs(x="Longitud RA", y="Frecuencia por LM")+
  geom_density(aes(y=6.5 * ..count.),col="#9966ff",cex=1)+
  scale_x_continuous(breaks = round(seq(min(raz$RA), max(40), by = 6),1))+
  scale_y_continuous(breaks = round(seq(min(0), max(100), by = 10),1))+
  guides(fill=FALSE, color=FALSE)
****HIST X LINEA****
histo<-cowplot::plot_grid(hin,hrp,hrl,hra, align="v",ncol=2,labels = c("1","2","3","4"),label_size = 10,label_x
= 0.9, label_y = 0.9, hjust = -0.5, vjust = -0.5)
histo
****INDIVIDUOS X IND****
iin<-ggplot(data=raiz, aes(individuos))+geom_histogram(breaks=seq(1, 21,
by=3),col="white",aes(fill=..count.),binwidth = 5)+
  scale_fill_gradient("Frecuencia", low="#333333", high="#9999ff")+
  labs(x="Individuos",y="")+
  geom_density(aes(y=3 * ..count.),col="#9966ff",cex=1)+
  scale_x_continuous(breaks = round(seq(min(raiz$individuos), max(21), by = 3),1))+
  scale_y_continuous(breaks = round(seq(min(0), max(600), by = 50),1))+
  guides(fill=FALSE, color=FALSE)
****RAÍZ PRIMARIA X IND****
irp<-ggplot(data=raiz, aes(rp2))+ geom_histogram(breaks=seq(0, 15,
by=1.5),col="white",aes(fill=..count.),binwidth = 5)+
  scale_fill_gradient("Frecuencia", low="#333333", high="#9999ff")+
  labs(x="Longitud RP", y="")+
  geom_density(aes(y=1 * ..count.),col="#9966ff",cex=1)+
  scale_x_continuous(breaks = round(seq(min(raiz$rp2), max(15), by = 1.5),1))+
  scale_y_continuous(breaks = round(seq(min(0), max(1500), by = 100),1))+
  guides(fill=FALSE, color=FALSE)
****RAÍZ LATERAL X IND****
irl<-ggplot(data=raiz, aes(rl2))+ geom_histogram(breaks=seq(0.5, 40,
by=4),col="white",aes(fill=..count.),binwidth = 0.12)+
  scale_fill_gradient("Frecuencia", low="#333333", high="#9999ff")+
  labs(x="Longitud RL", y="")+
  geom_density(aes(y=0.3 * ..count.),col="#9966ff",cex=1)+
  scale_x_continuous(breaks = round(seq(min(0), max(40), by = 4),1))+
  scale_y_continuous(breaks = round(seq(min(0), max(600), by = 50),1))+
  guides(fill=FALSE, color=FALSE)
****RAÍZ ADVENTICIA X IND****
ira<-ggplot(data=raiz, aes(ra2))+ geom_histogram(breaks=seq(0, 15,
by=1.5),col="white",aes(fill=..count.),binwidth = 0.12)+
  scale_fill_gradient("Count", low="#333333", high="#9999ff")+
  labs(x="Longitud RA", y="")+
  geom_density(aes(y=0.5 * ..count.),col="#9966ff",cex=1)+
  scale_x_continuous(breaks = round(seq(min(raiz$ra2), max(15), by = 1.5),1))+
  scale_y_continuous(breaks = round(seq(min(0), max(1500), by = 100),1))+
  guides(fill=FALSE, color=FALSE)

```

******HIST X IND******

```
histi<-cowplot::plot_grid(iin,irp,irl,ira, align="v",ncol=2,labels = c("1","2"),"3"),"4"),label_size = 10,label_x = 0.9, label_y = 0.9, hjust = -0.5, vjust = -0.5)
```

```
histi
```

##BOXPLOT##

```
boxplot(RP~LM, main="Raíz principal",col="GRAY")  
boxplot(RL,main="Raíz lateral",col=c("gray",696969),pch=c(1,18),axes=F);axis(2,tck=-.03,labels=round(z,digits=2),at=z,las=1)  
boxplot(RA,main="Raices adventicias",pch=c(1,18),col=c(778899,6969))
```

##ACP#

```
fviz_screplot(acpz,barfill="light gray", barcolor = "light gray", addlabels = TRUE,geom="bar",ylab="Porcentaje de variacion explicada",xlab="Componentes Principales",main="Gráfico de sedimentación")+  
  geom_line(color="#9966ff",size=1)+ geom_point(color="#9966ff", size= 2)
```

```
require(ggbiplot)
```

```
ggbiplot(acpz, var.axes =F, choices=1:2,scale=0, pc.biplot= T)+  
  theme(plot.title = element_text(hjust = 0.5,size = 15, face="bold"),  
        panel.background = element_rect(fill = "#333333",colour = "#333333",size = 0.5, linetype = "solid"),
```

```
        panel.grid.major = element_line(size = 1, linetype = 'solid',colour = "#666666"),  
        panel.grid.minor = element_line(size = 1, linetype = 'solid',colour = "#666666"))+  
  labs(title="Componentes de la raíz de Arabidopsis thaliana",colour="Raíz",hjust = 0.5)+  
  geom_vline(xintercept=0, color="white",linetype = "dashed")+geom_hline(yintercept=0,  
  color="white",linetype = "dashed")+
```

```
  geom_point(color = colores,size =4.5, shape=18)+geom_text(aes(label=LM),hjust=0.5, vjust=-1.6,  
  size=2, color=colores)
```

##GRÁFICA DE PASTEL##

```
pie3D(germ,labels=lab,explode=0.1,main="Líneas MAGIC germinadas", col=c("#333333","#9999ff"))
```

##GRAFICA TIPO MANHATTAN##

******ARGUMENTOS PARA EMPEZAR******

```
raiz$l2 <- as.factor(raiz$l2)  
labels <- c(na.omit(levels(raiz$l2)[1:153]), "M.h.san")
```

******COLORES******

```
co1<-  
c("#ffcdd2","#f8bbd0","#e1bee7","#d1c4e9","#c5cae9","#bbdefb","#b3e5fc","#b2ebf2","#b2dfdb","#c8e6c9",  
  "#dcedc8","#f0f4c3")
```

```
co2<-  
c("#fff9c4","#ffecb3","#ffe0b2","#ffccbc","#d7ccc8","#ef9a9a","#f48fb1","#ce93d8","#b39ddb","#9fa8da",  
  "#90caf9","#81d4fa")
```

```
co3<-  
c("#80deea","#80cbc4","#a5d6a7","#c5e1a5","#e6ee9c","#fff59d","#ffe082","#ffcc80","#ffab91","#bcaaa4",  
  "#e57373","#f06292")
```

```
co4<-  
c("#ba68c8","#9575cd","#7986cb","#64b5f6","#4fc3f7","#4dd0e1","#4db6ac","#81c784","#aed581","#dce75",  
  "#fff176","#ffd54f")
```

```
co5<-  
c("#ffb74d","#ff8a65","#a1887f","#f44336","#e91e63","#9c27b0","#673ab7","#3f51b5","#2196f3","#03a9f4",  
  "#00bcd4","#009688")
```

```
co6<-  
c("#4caf50","#8bc34a","#cddc39","#ffeb3b","#ffc107","#ff9800","#ff5722","#795548","#d32f2f","#c2185b",  
  "#7b1fa2","#512da8")
```

```
co7<-  
c("#303f9f","#1976d2","#0288d1","#0097a7","#00796b","#388e3c","#689f38","#afb42b","#fbc02d","#ffa000",  
  "#f57c00","#e64a19")
```

```
co8<-  
c("#5d4037","#c62828","#ad1457","#6a1b9a","#4527a0","#283593","#1565c0","#0277bd","#00838f","#00695c",  
  "#2e7d32","#558b2f")
```

```

co9<-
c("#9e9d24", "#f9a825", "#ff8f00", "#ef6c00", "#d84315", "#795548", "#b71c1c", "#880e4f", "#4a148c", "#311b92", "#1a237e", "#0d47a1")
co10<-
c("#01579b", "#006064", "#1b5e20", "#33691e", "#827717", "#f57f17", "#ff6f00", "#e65100", "#bf360c", "#5d4037", "#7b241c", "#943126")
co13<-
c("#633974", "#5b2c6f", "#1a5276", "#21618c", "#117864", "#0e6655", "#1e8449", "#239b56", "#7d6608", "#9c640c", "#935116", "#873600");co14<-c("#ba4a00", "#a93226", "#4e342e", "#641e16");co11<-c(co13,co14)
coa<-c("#ffebee", "#fce4ec", "#f3e5f5", "#ede7f6", "#e8eaf6", "#e3f2fd", "#e1f5fe");cob<-
c("#e0f7fa", "#e0f2f1", "#e8f5e9", "#f1f8e9", "#f9fbe7", "#fffde7", "#fff8e1", "#fff3e0", "#fbe9e7", "#efebee");co12<-c(coa,cob)
colores<-c(co12,co1,co2,co3,co4,co4,co6,co7,co8,co9,co10,co11)
****INDIVIDUOS****
ind_summary <- function(x) {
m <- unname(quantile(x, na.rm = 1))
return(c(y=m[5],ymin=m[2],ymax=m[4]))
}

****BARRAS DE RANGOS INTERCUARTÍLICOS (Q1 a Q3)****
raiz_summary <- function(x) {
m <- unname(quantile(x, na.rm = 1))
return(c(y=m[3],ymin=m[2],ymax=m[4]))
}

****DATOS ATÍPICOS****
raiz_outliers <- function(x, y) {
out.raiz <- data.frame()
for(i in 1:nlevels(x$lm2)) {
outtex <- which(x[x$lm2==levels(x$lm2)[i],y] %in% boxplot.stats(x[x$lm2==levels(x$lm2)[i],y))$out)
if(length(outtex)==0) {
in.raiz <- data.frame(var=NA, lm2=levels(x$lm2)[i])
} else {
in.raiz <- data.frame(var=x[x$lm2==levels(x$lm2)[i],y][outtex], lm2=levels(x$lm2)[i])
}
}
out.raiz <- rbind(out.raiz, in.raiz)
}
out.raiz <- rbind(out.raiz, in.raiz)
ret.df <- na.omit(out.raiz)
ret.df <- ret.df[!duplicated(ret.df),]
ret.df$lm2 <- factor(ret.df$lm2, levels=levels(x$lm2))
return(ret.df)
}

****CARGA DE DATOS PARA ggplot2****
RP.plot<- raiz%>%ggplot(aes(x=lm2, y=rp2, color=lm2))+geom_blank()+
stat_summary(fun.data=raiz_summary)+

****ASPECTOS VISUALES****
scale_color_manual(labels=labels, values=colores)+
theme(plot.margin=unit(rep(0.05, times=4), "lines"), panel.spacing=unit(rep(0.05, times=4), "lines"),
axis.title.x = element_blank(), axis.text.x = element_blank(), axis.ticks.x = element_blank(),
panel.border = element_rect(color="black", fill=NA, size=1),
strip.background=element_rect(color="black", size=1), legend.position = "none",
axis.title.y = element_text(size=10, face="bold"),axis.text.y = element_text(size= 8,
family="serif"),
panel.background = element_rect(fill = "#333333",colour = "#333333",size = 0.5, linetype =
"solid"),
panel.grid.major = element_line(size = 0.5, linetype = 'solid',colour = "#666666"),

```

```

        panel.grid.minor = element_line(size = 0.25, linetype = 'solid', colour =
"#666666"))+labs(y="Longitud RP")+
***Valores atípicos a graficar, es importante poner en aes(x, y) los nombres de las columnas del
resultado de la función "raiz_outliers()", los cuales ya están colocados en este caso***
geom_point(data=raiz_outliers(x=raiz, y="rp2"), aes(x=lm2, y=var), size=1)+
        scale_y_log10()
****DEMÁS VARIABLES****
IN.plot<- raiz%>%ggplot(aes(x=lm2, y=individuos, color=lm2))+geom_blank()+
        stat_summary(fun.data=ind_summary,size = 2.5, geom = "point")+
        scale_color_manual(labels=labels, values=colores)+
        theme(plot.margin=unit(rep(0.05, times=4), "lines"), panel.spacing=unit(rep(0.05, times=4), "lines"),
axis.title.x = element_blank(), axis.text.x = element_blank(), axis.ticks.x = element_blank(),
        panel.border = element_rect(color="black", fill=NA, size=1),
strip.background=element_rect(color="black", size=1), legend.position = "none",
axis.title.y = element_text(size=10, face="bold"),axis.text.y = element_text(size= 8,
family="serif"),
        panel.background = element_rect(fill = "#333333",colour = "#333333",size = 0.5, linetype =
"solid"),
        panel.grid.major = element_line(size = 0.5, linetype = 'solid',colour = "#666666"),
        panel.grid.minor = element_line(size = 0.25, linetype = 'solid',colour =
"#666666"))+labs(y="Individuos")
NRL.plot<- raiz%>%ggplot(aes(x=lm2, y=rln, color=lm2))+geom_blank()+
        stat_summary(fun.data=ind_summary,size = 2.5, geom = "point")+
        scale_color_manual(labels=labels, values=colores)+
        theme(plot.margin=unit(rep(0.05, times=4), "lines"), panel.spacing=unit(rep(0.05, times=4), "lines"),
axis.title.x = element_blank(), axis.text.x = element_blank(), axis.ticks.x = element_blank(),
        panel.border = element_rect(color="black", fill=NA, size=1),
strip.background=element_rect(color="black", size=1), legend.position = "none",
axis.title.y = element_text(size=10, face="bold"),axis.text.y = element_text(size= 8,
family="serif"),
        panel.background = element_rect(fill = "#333333",colour = "#333333",size = 0.5, linetype =
"solid"),
        panel.grid.major = element_line(size = 0.5, linetype = 'solid',colour = "#666666"),
        panel.grid.minor = element_line(size = 0.25, linetype = 'solid',colour =
"#666666"))+labs(y="Núm.RL")
RL.plot<- raiz%>%ggplot(aes(x=lm2, y=rl2, color=lm2))+geom_blank()+
        stat_summary(fun.data=raiz_summary)+
        scale_color_manual(labels=labels, values=colores)+
        theme(plot.margin=unit(rep(0.05, times=4), "lines"), panel.spacing=unit(rep(0.05, times=4), "lines"),
axis.title.x = element_blank(), axis.text.x = element_blank(), axis.ticks.x = element_blank(),
        panel.border = element_rect(color="black", fill=NA, size=1),
strip.background=element_rect(color="black", size=1), legend.position = "none",
axis.title.y = element_text(size=10, face="bold"),axis.text.y = element_text(size= 8,
family="serif"),
        panel.background = element_rect(fill = "#333333",colour = "#333333",size = 0.5, linetype =
"solid"),
        panel.grid.major = element_line(size = 0.5, linetype = 'solid',colour = "#666666"),
        panel.grid.minor = element_line(size = 0.25, linetype = 'solid',colour =
"#666666"))+labs(y="Longitud RL")+
        geom_point(data=raiz_outliers(x=raiz, y="rl2"), aes(x=lm2, y=var), size=1)+
        scale_y_log10()
NRA.plot<- raiz%>%ggplot(aes(x=lm2, y=ran, color=lm2))+geom_blank()+
        stat_summary(fun.data=raiz_summary,size = 2.5, geom = "point")+
        scale_color_manual(labels=labels, values=colores)+
        theme(plot.margin=unit(rep(0.05, times=4), "lines"), panel.spacing=unit(rep(0.05, times=4), "lines"),
axis.title.x = element_blank(), axis.text.x = element_blank(), axis.ticks.x = element_blank(),
        panel.border = element_rect(color="black", fill=NA, size=1),

```

```

strip.background=element_rect(color="black", size=1), legend.position = "none",
axis.title.y = element_text(size=10, face="bold"),axis.text.y = element_text(size= 8,
family="serif"),
panel.background = element_rect(fill = "#333333",colour = "#333333",size = 0.5, linetype =
"solid"),
panel.grid.major = element_line(size = 0.5, linetype = 'solid',colour = "#666666"),
panel.grid.minor = element_line(size = 0.25, linetype = 'solid',colour =
"#666666")+labs(y="Núm.RA")
RA.plot<- raiz%>%ggplot(aes(x=lm2, y=ra2, color=lm2))+geom_blank()+
stat_summary(fun.data=ind_summary)+
scale_color_manual(labels=labels, values=colores)+
theme(plot.margin=unit(rep(0.05, times=4), "lines"), panel.spacing=unit(rep(0.05, times=4), "lines"),
panel.border = element_rect(color="black", fill=NA, size=1),
strip.background=element_rect(color="black", size=1), legend.position = "none",
axis.title.y = element_text(size = 8, face="bold"),axis.text.y = element_text(size= 8,
family="serif"),
axis.title.x = element_text(size = 12, face="bold"),axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust
= 1, hjust=5,size= 7, family="serif"),
panel.background = element_rect(fill = "#333333",colour = "#333333",size = 0.5, linetype =
"solid"),
panel.grid.major = element_line(size = 0.5, linetype = 'solid',colour = "#666666"),
panel.grid.minor = element_line(size = 0.25, linetype = 'solid',colour =
"#666666")+labs(x="Líneas Magic", y="Longitud RA")+
geom_point(data=raiz_outliers(x=raiz, y="ra2"), aes(x=lm2, y=var), size=1)+
scale_y_log10()

```

******COMPOSICION DE TODOS LOS GRAFICOS EN UNO SÓLO******

```

fullplot <- cowplot::plot_grid(IN.plot,RP.plot,NRL.plot, RL.plot,NRA.plot, RA.plot, align='v', ncol=1)
fullplot

```

##HEATMAP##

****Transposcion de la DF****

```

razt <- data.frame(t(raz[-1]))
colnames(razt) <- raz[, 1]

```

******PREPARACION DE LA MATRIZ DE DATOS******

```

samp2<-razt[-1,]
mat<-data.matrix(samp2[,1:ncol(samp2)])

```

******NORMALIZACIÓN******

```

normh<-function(x) {(x-min(x))/max(x)-min(x)}
mat.norm<- data.frame(apply(mat,2,normh))
apply(mat.norm,2,min)%>%round(2)
apply(mat.norm,2,mean)%>%round(2)
apply(mat.norm,2,max)%>%round(2)

```

******GRAFICA******

```

pheatmap(mat,cluster_cols = F,cluster_rows = F,angle_col=90,fontsize_col=7,fontsize_row =
10,scale="column",color =
colorRampPalette(c("#01392F", "#4DB6AC", "#B2DFDB", "#FFFDD", "#B8AAFF", "#6B6BFF", "#1E1E57")
)(100))

```

##GRÁFICA DE CORRELACIÓN#

```

colfunc<-colorRampPalette(c("#8E8EFF", "#D2D2FD", "#333333"))
corrplot(copt, is.corr=FALSE,tl.srt = 0,tl.col = "#9966ff",tl.cex = 1 ,cl.pos = "b",cl.cex= 0.7,col= (colfunc(100)))

```