

MICROSPOROGENESIS DE TRES VARIEDADES DE *Cicer Arietinum* L. Y DE SUS HIBRIDOS

Por Edgar Larrea Reynoso¹ y Aristeo Acosta Carreón

Rama de Genética, Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.

Sinopsis

Se estableció de un modo claro y convincente un número haploide de 8 para las variedades *Cicer arietinum* var. *macrocarpum*, *C. arietinum* var. *vulgare* y *C. arietinum* var. *fuscum*, el cual, de acuerdo con la información disponible, no estaba bien definido. No se encontraron aberraciones cromosómicas ni anomalías meióticas, tanto en las especies como en los híbridos estudiados, que pudiesen ser la causa de la dificultad para obtener los híbridos entre las variedades botánicas estudiadas.

Summary

A haploid number of 8 was definitively and clearly established for the varieties of *Cicer arietinum* var. *macrocarpum*, *C. arietinum* var. *vulgare* and *C. arietinum* var. *fuscum*, which according to the available information was not clearly defined. No chromosome variation or meiotic abnormalities were found either in the varieties of the hybrids studied, which could be responsible for obtaining the hybrids between the varieties mentioned.

Introducción

Los dos tipos de garbanzo que se siembran en México se conocen con los nombres vulgares de Garbanzo Porquero (Fig. 1-C) y Garbanza (Fig. 1-A). El primer tipo se siembra en la región conocida con el nombre de El Bajío y la principal área de cultivo del segundo tipo se localiza en el estado de Sinaloa.

El garbanzo del tipo Porquero se usa principalmente como una fuente de proteínas en la preparación de alimentos para cerdos y aves; la garbanza se emplea en la alimentación humana.

Esta leguminosa de grano estuvo al margen de los programas de investigación hasta el año de 1961, cuando el Departamento de Frijol y Soya del INIA y el Dr. Alfredo Campos T., del Colegio de Postgraduados de la ENA, la incluyeron dentro de sus programas de investigación.

Considerando la importancia que ha revestido la roya o chahuixtle (*Uromyces ciceris* — *arictinus* Juez et Boy), especialmente a partir del invierno 1962-1963, cuando se presentó una fuerte epifitía en la región garbancera de San Luis Potosí, habiéndose diseminado desde entonces esta enfermedad a otras regiones del país, se empezó a trabajar en la obtención de nuevas variedades por medio de hibridaciones. Al tratar de hacer los cruzamientos entre variedades de la misma especie, se encontró que era muy difícil obtener híbridos, lo cual sugirió que el problema

1. Dirección actual: Encargado del Programa de Frijol y Soya en el Campo Experimental de Río Bravo. Apartado Postal 172. Río Bravo. Tamps.

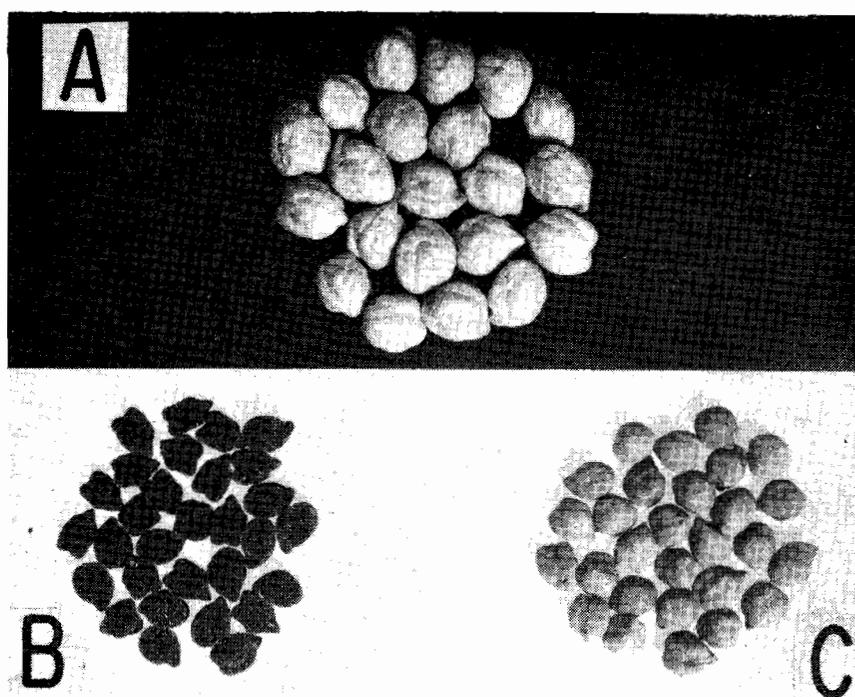


Figura 1. Semillas de garbanzo: A, *macrocarpum*; B, *vulgare*; C, *fuscum* (foto cortesía INIA).

podría deberse a la diferencia que, según la literatura, existía en el número de cromosomas.

Con el objeto de obtener información sobre este problema en particular se decidió estudiar la microsporogénesis en las tres variedades que se habían utilizado en el programa inicial de cruzamientos (Garbanzo Porquero, Garbanza y Garbanzo Negro), así como en los pocos híbridos que se obtuvieron al hacer los cruzamientos en los dos sentidos.

Revisión de literatura

El garbanzo se cultiva en el Mediterráneo y en la India desde la más remota antigüedad. (Laumont, 1956). Colón introdujo el cultivo del garbanzo en América en su segundo viaje (Carré, 1954).

Vavilov (1951) considera cinco centros o regiones de origen para *Cicer arietinum* L.: Centro II, India; Centro III, Asia Central; Centro IV, Cercano Oriente; Centro V, Mediterráneo y Centro VI, Abisinia.

Vavilov (1929), en un estudio exhaustivo del género *Cicer*, indica que éste tiene 22 especies. Burkart (1952), hizo una clasificación de las variedades botánicas de *Cicer arietinum* L. Tomando en cuenta las características botánicas des-

critas en ese estudio, las variedades que se siembran en México quedarían clasificadas como sigue:

Garbanzo Porquero, como variedad botánica *fuscum*

Garbanza, como variedad botánica *macrocarpum*

Un resumen sobre los genomios encontrados por diferentes investigadores en el género *Cicer*, indica como números básicos $x = 7$ y $x = 8$ (Darlington, 1958). Entre los trabajos citológicos de algunos investigadores que han trabajado con *Cicer arietinum* L. (Meenakshi, 1960), Dixie sugirió inicialmente para esta leguminosa un número cromosómico de $2n = 14$; Iyengar, en cambio, encontró en un estudio de 30 variedades de garbanzo, un número uniforme de $2n = 16$ cromosomas; por otro lado, Avudulov confirma los números cromosómicos encontrados por Iyengar, (Meenakshi, 1960). Harold A. Seen (1938a), citado por Burkart (1952), indica que el género *Cicer* tiene normalmente $n = 7$ cromosomas.

M a t e r i a l e s

El presente trabajo se llevó a cabo con las siguientes variedades y cruza de *Cicer arietinum* L. procedentes de selecciones individuales efectuadas en el Centro de Investigaciones de El Bajío:

Las plantas de la variedad *macrocarpum* Jaub et Spach, poseen un sistema caulinar muy abierto, plantas de 50-60 cm de altura, flores grandes de color blanco, semillas grandes de color blanco, ciclo vegetativo de 140-150 días; se le conoce vulgarmente con el nombre de Garbanza, variedad que se prefiere en la alimentación humana por su bajo contenido de fibra, aspecto y buen sabor.

Las plantas de la variedad *vulgare* Jaub et Spach, tienen un hábito de crecimiento erecto, 30-40 cm de altura, flores pequeñas de color violáceo, semillas pequeñas de color negro, ciclo vegetativo de 100-110 días.

Las plantas de la variedad *fuscum* Alef, tienen hábito de crecimiento erecto, de 40-60 cm de altura, flores de color violáceo y de tamaño intermedio entre *macrocarpum* y *vulgare*, semillas de color castaño rojizo y tamaño mediano, ciclo vegetativo de 130-140 días; vulgarmente se conoce a esta variedad con el nombre de Garbanzo Porquero. Su utilización es específica para la alimentación animal.

Se puede considerar que el garbanzo es una planta 100% autógama en la región de El Bajío, ya que no hay evidencias de cruzamientos naturales. Las cruza empleadas en las observaciones citológicas efectuadas en el presente trabajo se muestran en el Cuadro 1.

M é t o d o s

El presente trabajo se llevó a cabo en varias etapas, como se indica a continuación:

CUADRO 1

Variedades de Cicer arietinum L. utilizadas en hibridaciones

Variedades que intervinieron en las cruzas	Número de semillas obtenidas (*)
<i>macrocarpum</i> x <i>vulgare</i>	4
<i>vulgare</i> x <i>macrocarpum</i>	20
<i>fuscum</i> x <i>vulgare</i>	16
<i>vulgare</i> x <i>fuscum</i>	23
<i>macrocarpum</i> x <i>fuscum</i>	8
<i>fuscum</i> x <i>macrocarpum</i>	8
	—
Total	79

(*) Semillas obtenidas de 1000 cruzamientos.

- 1) Selección individual de plantas en cada una de las variedades estudiadas. (Trabajo realizado en el CIAB durante el invierno de 1963-1964).
- 2) Cruzamiento en ambos sentidos y en todas las combinaciones posibles de las líneas escogidas. (Trabajo hecho en el CIAB durante el invierno de 1964-1965).
- 3) Obtención de botones florales de las líneas seleccionadas para observar los meycitos. (Trabajo efectuado en Chapingo, durante el invierno de 1965-1966).
- 4) Obtención de la generación de la planta F₁ (Chapingo, invierno 1965-1966).
- 5) Observación de la microsporogénesis en la generación de la planta F₁. (Chapingo, verano de 1966).
- 6) Obtención de la semilla procedente de la planta F₁ (Chapingo, verano a invierno de 1966).

Resultados

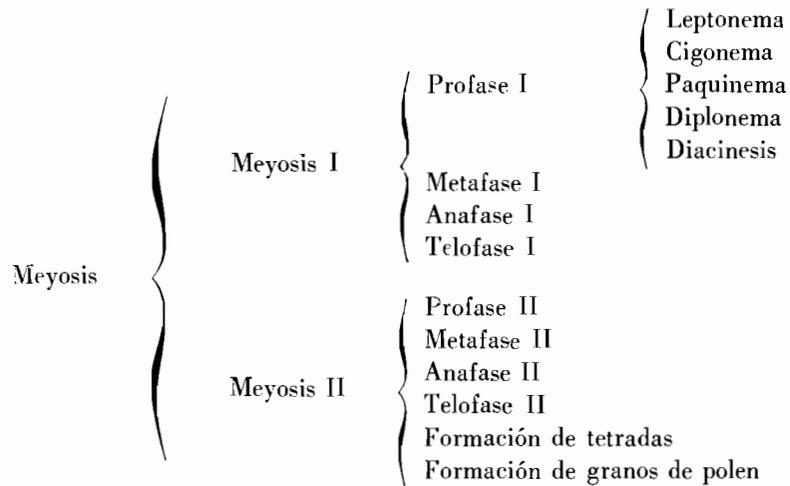
El tamaño de las yemas florales que presentaron figuras meióticas varió en cada una de las variedades botánicas; en general puede decirse que en los tipos de garbanzo Negro y Porquero los botones florales ideales fueron los que medían de 1.5 a 2 mm de longitud y que en el caso de la Carbanza los botones con más células meióticas tenían una longitud de 2 a 2.5 mm. Las anteras de la variedad *Cicer arietinum* var. *vulgare* fueron las más pequeñas, siguiendo en tamaño ascendente las de la variedad *C. arietinum* var. *fuscum* y después las de la variedad *C. arietinum* var. *macrocarpum*.

Las anteras de las variedades de sus cruzas presentaron un número elevado de meycitos; tanto en las variedades como en sus cruzas se observó que la meiosis

mostraba fases distintas en las anteras de la misma flor, pues mientras los meycitos de unas anteras se encontraban en profase, otras anteras presentaban formación de tetradas, lo cual puede indicar que el proceso no está sincronizado en todas las anteras.

En observaciones preliminares se encontró que los meycitos de las variedades estudiadas mostraban diferentes grados de resistencia a las presiones ejercidas sobre las células (colocadas entre un portaobjeto y un cubreobjeto), para tratar de separar en éstas los cromosomas, especialmente en metafase I y anafase I. La variedad *fuscum* fue la que presentó mayor dificultad, la variedad *macrocarpum* presentó una resistencia media y la variedad *vulgare* requirió menor presión para separar los cromosomas.

Las fases de la meiosis que se observaron, fueron las siguientes:



Complementos cromosómicos encontrados: El número haploide de cromosomas encontrado en todas las variedades, fue: $n = 8$, (Figura 2, Nos.: 5, 6, 1f, 1h, 2g y 2h).

D i s c u s i ó n

Como la revisión de la literatura indica que el número básico de cromosomas en el género *Cicer* puede ser: $x = 7$, ó $x = 8$, se pensó que esta disparidad en el número de cromosomas podía ser la causa del bajo porcentaje de híbridos obtenidos al hacer cruzamientos artificiales. Al analizar la microsporogénesis en las variedades botánicas antes citadas, se encontró el siguiente número haploide de cromosomas:

- C. arietinum* var. *fuscum* $n = 8$
- C. arietinum* var. *macrocarpum* $n = 8$
- C. arietinum* var. *vulgare* $n = 8$

Además, la microsporogénesis en las tres variedades señaladas no presentó anomalías detectables en ninguna de sus fases. Estos resultados coinciden con los estudios de mitosis llevados a cabo independientemente por Iyengar y Avudulov (citado por Meenakshi, *et al*, 1960), y además no se encontró ningún caso donde el número haploide fuera de $n = 7$, tal como lo han reportado Darlington y Janaki (citados por Burkart 1952).

Como ya se mencionó, no existe disparidad entre los complementos cromosómicos de las variedades: *Cicer arietinum* var. *juscum*, *C. arietinum* var. *macrocarpum* y *C. arietinum* var. *vulgare*; consecuentemente y de acuerdo con lo observado, la meiosis de las cruzas: *macrocarpum* X *vulgare*; *vulgare* X *macrocarpum*; *juscum* X *vulgare*; *vulgare* X *juscum*; *macrocarpum* X *juscum* y *juscum* X *macrocarpum*, se desarrolló de una manera normal en todas sus fases (Fig. 2 Nos.: 3-D, 5-E, 6-E, 1-C, 1-D y 2-E).

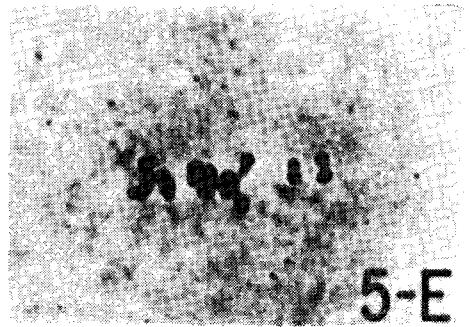
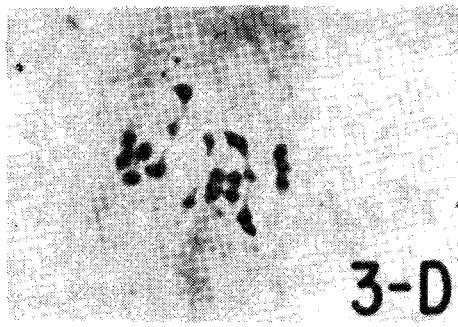
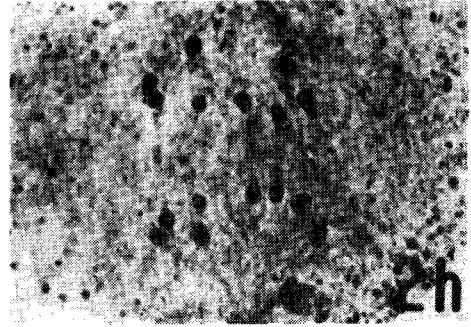
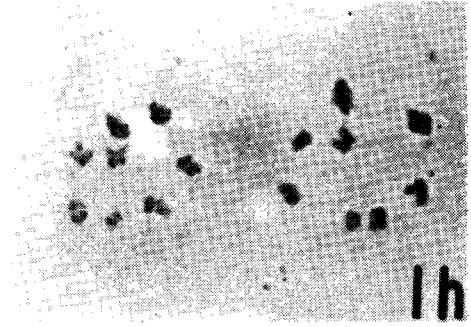
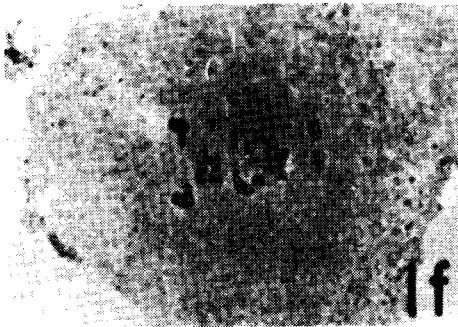
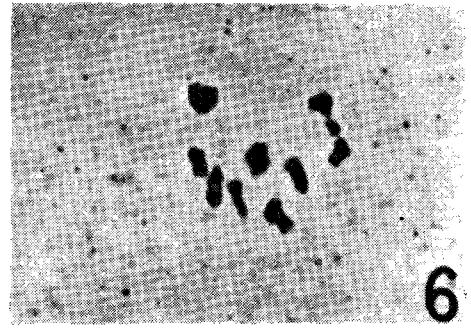
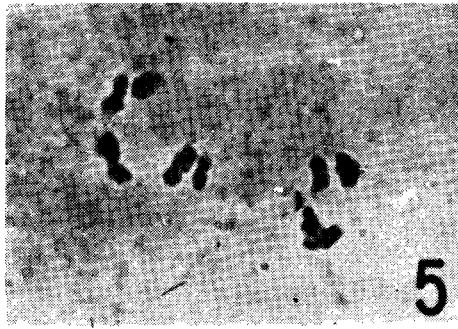
Considerando que el número haploide de cromosomas es igual en todas las variedades botánicas, que no se observaron anomalías cromosómicas en éstas, y tomando en cuenta que la microsporogénesis se lleva a cabo en forma normal, tanto en los progenitores como en todos los híbridos, es muy probable que la dificultad para hacer cruzamientos intervarietales se deba a otras causas, entre las cuales se sugieren las siguientes: En cada una de las variedades estudiadas no se conoce con exactitud el momento y período de receptividad del estigma y la duración de la viabilidad del polen, con lo cual se estaría en posibilidad de determinar el momento más apropiado para hacer las emasculaciones y polinizaciones artificiales.

El hecho de que en las anteras de una misma flor no se lleve a cabo simultáneamente la microsporogénesis, sugiere que al momento de polinizar artificialmente, muchos granos de polen pueden no haber llegado todavía a su madurez fisiológica normal y otros haber pasado esta etapa, lo cual traería como consecuencia que el porcentaje de polen apto para fecundar sería muy bajo.

Según los resultados del Cuadro 1, el número de híbridos obtenidos en la craza *C. arietinum vulgare* X *C. arietinum macrocarpum* fue más alto que en la craza recíproca. Esto indica que la longitud del tubo polínico de *C. arietinum vulgare* puede quizá ser menor que la longitud del estilo de *C. arietinum macrocarpum*; por tal razón pudiera ser que el porcentaje de fecundación haya resultado más alto al usar a *C. arietinum vulgare* como progenitor femenino. La misma situación pudo haberse presentado al cruzar *C. arietinum vulgare* X *C. arietinum juscum*. En la craza de *C. arietinum juscum* X *C. arietinum macrocarpum* y en la recíproca, el número de híbridos obtenidos fue similar, pero en un porcentaje muy bajo, al igual que en los otros casos. Esto puede deberse, probablemente, a problemas de incompatibilidad, cuyo origen es quizás extracromosómico.

En algunos casos se observó que después de hacer los cruzamientos intervarietales había fecundación y se empezaban a desarrollar los frutos, pero siendo aún muy jóvenes morían; lo cual sugiere un caso de inviabilidad híbrida.

La resolución del problema precisa de mayor investigación sobre cada uno de los puntos que se han señalado y otros relacionados tal vez con la incompatibilidad genética y taxonomía del género *Cicer*, a fin de descubrir las verdaderas causas que dificultan la obtención de híbridos intervarietales.



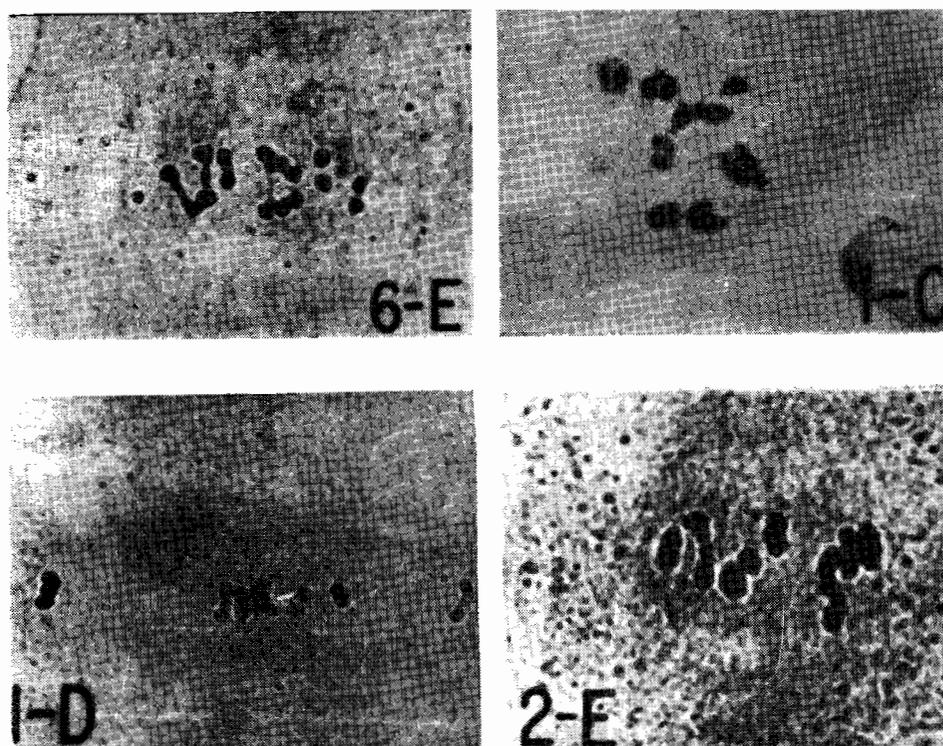


Figura 2: 5) Diacinesis de la variedad botánica *fuscum* (porquero) en la cual algunos cromosomas muestran sus cromátidas unidas por quiasmas terminales (3 561X). 6) Metafase I (*fuscum*), mostrando claramente ocho bivalentes, uno abierto (3 561X). 1f) Metafase I de la variedad *macrocarpum* (garbanza) mostrando ocho bivalentes (3 561X). 1h) Telofase I de la variedad *macrocarpum*, en la cual cada díada muestra claramente su estructura doble (4 450X). 2g) Metafase I de la variedad botánica *vulgare*, en la cual se pueden ver claramente ocho bivalentes (4450X). 2h) Anafase I de la variedad *vulgare*, donde se nota claramente la separación y emigración de las ocho díadas hacia cada polo (3561X). 3-D) Metafase I en la F₁ de la cruce *macrocarpum* X *fuscum*, en la cual se muestran claramente ocho bivalentes (4450X). 5-E) Metafase I en la F₁ de la cruce *vulgare* X *macrocarpum*, en donde se pueden observar claramente ocho bivalentes (4 450X). 6-E) Metafase I en la F₁ de la cruce *macrocarpum* X *vulgare*, mostrando con toda claridad ocho bivalentes abiertos (4 450X). 1-C) Diacinesis en la F₁ de la cruce *Cicer arietinum fuscum* X *C. a. vulgare*, mostrando los pares de cromosomas donde las cromátidas están unidas por quiasmas (4450X). 1-D) Metafase I en la F₁ de la cruce *C. a. fuscum* X *C. a. vulgare*, en donde se pueden observar ocho bivalentes (1 425X). 2-E) Metafase I en la F₁ de la cruce *C. a. vulgare* X *C. a. fuscum*, en la cual pueden observarse claramente los ocho bivalentes (4 450X). (NOTA: Todos los aumentos son aproximados).

Conclusiones

Se pudo comprobar que el número haploide de cromosomas en las variedades botánicas *Cicer arietinum* var. *fuscum*, *C. arietinum* var. *macrocarpum* y *C. arietinum* var. *vulgare*, es de $n = 8$.

Todas las fases de la microsporogénesis, tanto en las variedades citadas como en sus híbridos (generación F_1), se llevaron a cabo en una forma normal. No se observaron univalentes, translocaciones, inversiones o alguna otra aberración cromosómica detectable.

Como no existe diferencia numérica en el complemento cromosómico de las variedades botánicas estudiadas en la especie *Cicer arietinum* L., y considerando que sus híbridos F_1 producen semillas normalmente, se sugiere que la dificultad para obtener híbridos artificialmente puede atribuirse entre otras cosas a ciertos casos de incompatibilidad o inviabilidad híbrida.

Tomando en cuenta que las flores más pequeñas tienen estilos más cortos que las flores grandes, se sugiere usar a las primeras como progenitor femenino, en cruzamientos intervarietales, cuando la dificultad para lograr la fecundación dependa de la longitud del tubo polínico y del estilo.

Es necesario investigar con más detalle las causas que dificultan los cruzamientos intervarietales en esta especie, para poder lograr mayores y más firmes avances en el mejoramiento del garbanzo.

Referencias citadas

- BURKART, A. (1952). *Las leguminosas argentinas, silvestres y cultivadas*. 2a. Ed. ACME Agency, Soc. de Resp. Ltd., Buenos Aires, Argentina.
- DARLINGTON, C. D. & A. P. WYLIE. (1955). *Chromosome atlas of flowering plants*. George Allen and Unwin, Ltd. London.
- GARRE, L. A. (1954). *Manual de Agricultura. Técnica de la producción vegetal*. Salvat Editores, S. A. Barcelona, Madrid.
- LAUMONT, P. et A. CHEVASSUS. (1956). *Note sur l'amélioration du pois chiche en Algérie*. Annales de L'Institut Agricole D'Algérie. Alger.
- MATEO-BOX, J. M. (1961). *Leguminosas de grano*. 1a. Ed. Salvat Editores, S. A. Barcelona, Madrid. 550 p.
- MEENAKSHI, G. and M. K. SUBRAMANIAM. (1960). *Tandem satellites in Cicer arietinum L.* Indian Institute of Science, Bengalores.
- POPOV, M. G. (1929). (1929). *The genus Cicer and its species*. Bull. appl. Bot. Gen and Plant Breed. 21 (1): 3-239.
- VAVILOV, N. L. (1951). *The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants*. Chronica Botánica, Waltham, Mass.