



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLAS DE HIDALGO**

**FACULTAD DE BIOLOGIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**Caracterización citotaxonómica de algunas especies del
genero *Vicia* (Leguminosae)**

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

EN CONSERVACION Y MANEJO DE RECURSOS NATURALES

PRESENTA:

HUGO ALEJANDRO FARIAS CHAGOYA

DIRECTOR DE TESIS:

DR. MIGUEL MARTINEZ TRUJILLO

Morelia, Mich. Diciembre de 2006.



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la facultad de Biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por darme la oportunidad de continuar con mis estudios de Posgrado.

Muy especialmente al Dr. Miguel Martínez Trujillo, por el apoyo brindado en la realización de este trabajo,

A la mesa tutorial, MC. Javier Madrigal Sánchez, Dra. Sabina Irene Lara Cabrera, Dr. Miguel Martínez Trujillo y MC. Juan Manuel Ortega Rodríguez por las sugerencias y correcciones al proyecto y a la tesis.

Al Dr. Javier Ponce Saavedra, por la asesoría en el análisis estadístico de la tesis.

DEDICATORIA

A mi esposa María de Lourdes Ballesteros Almanza

A mis hijos:

Silvia Alejandra, Nancy Adriana, Jania Halmarit, Hugo Francisco y Antonio Roberto

A mis Padres

A mis Hermanos

A mis Amigos

A mis Alumnos

CONTENIDO

CONTENIDO	i
INDICE DE CUADROS	iii
INDICE DE FIGURAS	iv
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	3
3. ANTECEDENTES	5
3.1. Origen y distribución	6
3.2. Descripción de los cultivares	7
3.3. Uso común y alternativas	12
3.4. Clasificación	12
3.5. Cariotipos	15
3.6. El cariotipo y su evolución	21
4. OBJETIVOS	25
5. MATERIALES Y METODOLOGIA	26
5.1. Material biológico	26
5.2. Germinación de las semillas	26
5.2.1 Pretratamiento	26
5.2.2. Fijación	27
5.2.3. Hidrólisis – Tinción	27
5.2.4. Aplastado	27
5.2.5. Observación de los campos	27
5.3. Análisis citogenético	28

6. RESULTADOS -----	32
6.1. Preparaciones mitóticas y números cromosómicos -----	32
6.2. Caracterización cromosómica de los cultivares -----	33
6.2.1. <i>Vicia sativa</i> L. (vicia común) -----	33
6.2.2. <i>Vicia sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Aneto -----	35
6.2.3. <i>Vicia sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Hifa -----	37
6.2.4. <i>Vicia sativa</i> ssp. <i>sativa</i> L. cv. Alba Beck -----	39
6.2.5. <i>Vicia dasycarpa</i> Ten. -----	41
6.2.6. <i>Vicia benghalensis</i> L. -----	43
6.2.7. <i>Vicia villosa</i> Roth. -----	45
6.2.8. <i>Vicia disperma</i> DC. -----	47
6.3. Análisis comparativo de los ocho taxa del genero <i>Vicia</i>. (Leguminosae). -	49
6.3.1. Número cromosómico y número básico -----	49
6.3.2. Longitud Total del Genomio (LTG) -----	50
6.3.3. Tamaño absoluto -----	52
6.3.4. Tamaño relativo -----	53
6.3.5. Relación de brazos, Fórmula cromosómica y Número fundamental. -----	54
6.3.6. Constricción secundaria. -----	56
6.3.7. Índice de Asimetría -----	57
6.4. Relaciones filogenéticas y taxonómicas de los ocho taxa del genero <i>Vicia</i>. -----	59
7. DISCUSION -----	63
8. CONCLUSIONES -----	69
9. LITERATURA CITADA -----	70

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación cromosómica de acuerdo a la posición del centrómero -----	29
Cuadro 2. Cariotipo de <i>Vicia sativa</i> L. (Vicia común).-----	34
Cuadro 3. Cariotipo de <i>Vicia sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Aneto.-----	36
Cuadro 4. Cariotipo de <i>Vicia sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Hifa. -----	38
Cuadro 5. Cariotipo de <i>Vicia sativa</i> ssp. <i>Sativa</i> L. cv. Alba Beck.-----	40
Cuadro 6. Cariotipo de <i>Vicia dasycarpa</i> Ten.-----	42
Cuadro 7. Cariotipo de <i>Vicia benghalensis</i> L. -----	44
Cuadro 8. Cariotipo de <i>Vicia villosa</i> Roth. -----	46
Cuadro 9. Cariotipo de <i>Vicia disperma</i> DC. -----	48
Cuadro 10. Número cromosómico y número básico de los cultivares del género <i>Vicia</i> .-----	49
Cuadro 11. Longitud total del genomio (LTG), análisis de varianza y Error estándar de los ocho taxa del genero <i>Vicia</i> .-----	50
Cuadro 12. Tamaño absoluto de los ocho taxa del genero <i>Vicia</i> .-----	53
Cuadro 13. Tamaño relativo de los cromosomas de los ocho taxa del genero <i>Vicia</i> -----	53
Cuadro 14. Relación de brazos, Fórmula cromosómica y Número fundamental de los ocho taxa del género <i>Vicia</i> . -----	54
Cuadro 15. Longitud y localización de la constricción secundaria en los ocho taxa del genero <i>Vicia</i> . -----	57
Cuadro 16. Índice de Asimetría de los ocho taxa del genero <i>Vicia</i> .-----	58
Cuadro 17. Matriz de similitud para análisis de distancias filogenéticas, de los ocho taxa del genero <i>Vicia</i> . -----	59
Cuadro 18. Valores de disimilitud, coeficiente cofenético (r) y probabilidad (p). -----	61
Cuadro 19. Valores del análisis de componentes principales, de los ocho taxa del género <i>Vicia</i> . -----	62

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fotografías de <i>Vicia sativa</i> . -----	7
Figura 2. Fotografías de <i>Vicia benghalensis</i> .-----	8
Figura 3. Fotografías de <i>Vicia dasycarpa</i> .-----	9
Figura 4. Fotografías de <i>Vicia villosa</i> . -----	10
Figura 5. Fotografías de <i>Vicia disperma</i> . -----	11
Figura 6. Fotomicrografía de los cromosomas y cariograma de <i>Vicia sativa</i> . -----	33
Figura 7. Idiograma cromosómico de <i>Vicia sativa</i> L. (Vicia común). -----	34
Figura 8. Fotomicrografía de los cromosomas y el cariograma de <i>Vicia sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Aneto.-----	35
Figura 9. Idiograma de <i>Vicia sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Aneto. -----	36
Figura 10. Fotomicrografía de los cromosomas y cariograma de <i>Vicia sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Hifa.-----	37
Figura 11. Idiograma de <i>Vicia sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Hifa. -----	38
Figura 12. Fotomicrografía de los cromosomas y cariograma de <i>Vicia sativa</i> ssp. <i>sativa</i> L. cv. Alba Beck.-----	39
Figura 13. Idiograma de <i>Vicia sativa</i> ssp. <i>sativa</i> L. cv. Alba Beck. -----	40
Figura 14. Fotomicrografía de los cromosomas y cariograma de <i>Vicia dasycarpa</i> -----	41
Figura 15. Idiograma de <i>Vicia dasycarpa</i> Ten. -----	42
Figura 16. Fotomicrografía de los cromosomas y cariograma de <i>Vicia benghalensis</i> . -----	43
Figura 17. Idiograma de <i>Vicia benghalensis</i> L.-----	44
Figura 18. Fotomicrografía de los cromosomas y cariograma de <i>Vicia villosa</i> . -----	45
Figura 19. Idiograma de <i>Vicia villosa</i> Roth.-----	46
Figura 20. Fotomicrografía de los cromosomas y cariograma de <i>Vicia disperma</i> DC. -----	47
Figura 21. Idiograma de <i>Vicia disperma</i> DC. -----	48
Figura 22. Longitud total del genomio en los ocho taxa del genero <i>Vicia</i> . -----	51
Figura 23. comparación de medias, prueba de Tukey para los ocho taxa del genero <i>Vicia</i> . ----	51
Figura 24. Idiogramas comparativos de <i>Vicia sativa</i> y sus cultivares. -----	55
Figura 25. Idiogramas comparativos de <i>Vicia dasycarpa</i> , <i>V. benghalensis</i> , <i>V. villosa</i> , y <i>V.</i> <i>disperma</i> . -----	56

Figura 26. Índice de asimetría de los ocho taxa del genero *Vicia*.-----58

Figura 27. Fenograma de UPGMA de los ocho taxa del genero *Vicia*.-----60

Figura 28. Grafica del análisis de Componentes principales PCA, de los ocho taxa del género *Vicia*. -----61

1. RESUMEN

En el presente trabajo se llevó a cabo el análisis de cromosomas mitóticos en 5 especies del género *vicia* (*Vicia sativa*; *V. dasycarpa*; *V. benghalensis*; *V. villosa* y *V. disperma*) y tres cultivares (*V. sativa* cultivares Aneto, Hifa y Alba).

El estudio cromosómico permitió separar a las especies analizadas, en dos subgéneros (***Vicia* y *Cracca***), los taxa que pertenecen al subgénero *Vicia* (*Vicia sativa* y sus cultivares), tienen un número cromosómico de $2n=12$, además presentan un cariotipo asimétrico, con cromosomas metacéntricos, subtelocéntricos, acrocéntricos y telocéntricos, mientras que las especies del subgénero *Cracca* presenta un número cromosómico de $2n=14$ con cariotipos más simétricos, ya que presentan únicamente cromosomas metacéntricos y submetacéntricos.

El análisis morfométrico de los cromosomas muestra que los cariotipos de las especies del subgénero *Vicia* son asimétricos, encontrando cromosomas metacéntricos (16.6%), subtelocéntricos (50%), acrocéntricos (16.6%) y Telocéntricos (16.6%). mientras que los cariotipos de las especies del subgénero *Cracca* presenta solo cromosomas metacéntricos (28%) y submetacéntricos (72%), siendo cariotipos más simétricos. Todas las especies presentan una constricción secundaria aproximadamente del mismo tamaño, sin embargo varía dentro de cada una de las especies, encontrándose desde el cromosoma 1 hasta el cromosoma 4.

Mediante las características cromosómicas se construyó una matriz de datos de similitud, obteniéndose un fenograma, el análisis de los clusters permitió establecer la divergencia evolutiva de las especies y cultivares. Además se calculó el índice de asimetría en los taxa, encontrando los valores más bajos en el subgénero *Cracca* con un promedio de 0.41 para el índice intracromosómico (A1) y de 0.17 para el índice intercromosómico (A2), considerándose cariotipos más primitivos, mientras que los promedios para las especies del subgénero *Vicia*, fueron de 0.77 para el índice intracromosómico (A1) y de 0.25 en el índice intercromosómico (A2), considerándose como cariotipos más especializados.

SUMMARY

Mitotic chromosomes of five species (*Vicia sativa*, *Vicia dasycarpa*, *Vicia benghalensis*, *Vicia villosa* and *Vicia disperma*) and three cultivars of *sativa* specie (*V. sativa* cultivars Aneto, Hifa and Alba) of genus *Vicia* were studied.

The karyotype analyses showed a total length genome of 22.12 μ m and absolute length ranges from 2.37 μ m to 4.81 μ m. These data allow separation of two groups, belonging to *Vicia* and *Cracca* subgenera. The taxa of *Vicia* subgenera (*Vicia sativa* and his cultivars), have $2n = 12$, while the taxa belonging to *Cracca* subgenera (*Vicia dasycarpa*, *Vicia benghalensis*, *Vicia villosa* and *Vicia disperma*) have $2n = 14$ chromosomic number.

Morphometric chromosome analyses showed asymmetric karyotypes in the *Vicia* subgenera, being metacentric (16.6%), subtelocentric (50%), acrocentric (16.6%), and Telocentric (16.6%) chromosomes, while the karyotypes of *Cracca* subgenera species are symmetrical with metacentric (28%), and submetacentric (72%). All species have a secondary constriction of the same size approximately, and variable position.

Using chromosome data exclusively, a matrix was made for a cluster analyses, which allowed to establish evolutive divergence between both subgenera. Asymmetry index (A1 and A2) was calculated for all species, founding for the *Cracca* subgenera species the smaller average values, 0.41 for A1, and 0.17 for A2. while the average in *Vicia* subgenera was 0.77 for A1 and 0.25 for A2, considering *Vicia* as a more specialized karyotype than *Cracca* subgenera.

2. INTRODUCCION

Uno de los aspectos más sobresalientes de la Naturaleza, es la inmensa diversidad de individuos biológicos (**De Robertis et al. 1963**). La variabilidad natural en las plantas ha desempeñado una función muy importante para el hombre, ya que le permitió a través del tiempo seleccionar y cultivar aquellas especies con características útiles para satisfacer sus principales necesidades, dando lugar al proceso conocido como domesticación.

Esta selección y cultivo de plantas ha permanecido relativamente constante a través del tiempo, atendiendo a la facilidad de cultivo, mayor rendimiento, calidad apropiada, resistencia a plagas y enfermedades, además de otras características.

La necesidad de explorar nuevos territorios trajo consigo la dispersión e introducción de grupos numerosos de plantas del viejo mundo a los diferentes continentes, destacándose principalmente, aquellas que les representaban al hombre una fuente importante de alimentación, usos medicinales, forrajeros y forestales (**MAG 1999**).

Dentro de las especies introducidas destacan por su gran número las leguminosas, mismas que en la actualidad juegan un papel importante en los cultivos de temporal en México, debido a su alto potencial fijador de nitrógeno, lo que favorece el aporte de nutrientes al suelo. Las variedades de leguminosas utilizadas en cultivos de temporal, han permitido mantener y mejorar la productividad de los suelos, principalmente en los sistemas tradicionales.

En la agricultura tradicional y en particular en las zonas de temporal de Michoacán, los agricultores conservan la fertilidad del suelo enriqueciéndolo con el uso de leguminosas, principalmente aquellas del género *Vicia*, utilizándolas mediante la rotación de cultivos, ya que estas especies aumentan los niveles de nitrógeno del suelo.

Las vicias son cultivadas en zonas frías que toleran suelos ácidos y pedregosos; se utilizan como cultivos trampa, en el manejo y control de plagas en EUA y como

restauradores de suelos erosionados y lixiviados en Europa. así como cultivos alternos para la obtención de forraje (**MAG 1999**).

En el sistema de rotación, se alternan los cultivos sobre la base de la cantidad y el tipo de materia orgánica que cada uno de ellos incorpora al suelo; no obstante la importancia económica que representa, el cultivo de las especies del género *Vicia* en México, la superficie sembrada disminuye año con año y una de las causas, es la falta de variedades mejoradas y semillas de buena calidad (**Steward et al., 1970; Munz, 1968**).

Sin embargo, este género al igual que muchos otros que incluyen plantas cultivadas, es muy variable morfológicamente y la taxonomía formal se complica por las condiciones de domesticación (**Harlan y de Wet, 1971**).

En los últimos años, la genética y la biología molecular se han desarrollado como una poderosa metodología, mediante la cual se pueden hacer análisis taxonómicos, descartando algunas de las limitaciones de la taxonomía tradicional (**Orozco et al., 1994**).

Los estudios citogenéticos permiten conocer y determinar los patrones cromosómicos que siguen los organismos como mecanismos de la diversidad genética, su evolución, así como para establecer posiciones taxonómicas de las especies y como base para la realización de programas de fitomejoramiento (**Palomino, 1985**).

En el presente trabajo, se realizó la caracterización cromosómica de especies de *Vicia*, a través del análisis comparativo de sus cariotipos, con el fin de aportar datos para establecer las relaciones taxonómicas, filogenéticas y los posibles procesos de especiación en este grupo.

3. ANTECEDENTES

Las leguminosas son un grupo diverso en la naturaleza y han tenido un papel preponderante en el curso del desarrollo de la humanidad, cultivándose desde hace aproximadamente 5000 años; su importancia radica en el potencial fijador de nitrógeno en los cultivos tradicionales, así como por los distintos usos que se les ha dado a través del tiempo. Actualmente más de 30 especies de leguminosas forman parte de la dieta alimenticia del hombre, destacando entre ellas por su alto contenido proteico la Soya (*Glycine max* L.) (Turner, 1977).

La familia **Leguminosae** comprende más de 500 géneros y aproximadamente 13,000 especies y miles de variedades distribuidas en todo el mundo, por lo que es una de las familias más grandes de las plantas con flores (Altamirano, 1997).

En esta familia se encuentra el género *Vicia* L., que comprende entre 180 y 210 especies distribuidas en todo el mundo, principalmente en la zona templada del Hemisferio Boreal (Hanelt y Mettin, 1989). Son plantas herbáceas, algunas adventicias, anuales o bianuales, por lo común trepadoras, provistas de zarcillos, rara vez suberectas. Hojas compuestas, pinnadas, con el raquis generalmente terminado en zarcillo simple o ramificado. Flores sésiles, solitarias o en grupos, dispuestas en racimos axilares, de colores blanco, azul, violeta o amarillo. Fruto seco aplanado dehiscente, con dos valvas y de dos a numerosas semillas. (Turner, 1977; Hermann, 1960).

En México, las leguminosas están representadas aproximadamente por 120 géneros, de los cuales se desconoce el número cromosómico de 17 %, por lo que se han iniciado estudios citogenéticos tendientes a contribuir con nueva información taxonómica y la posible descripción de nuevas especies, en relación con los posibles caminos de especiación del grupo (Altamirano, *op. cit.*).

3.1. Origen y distribución

Aproximadamente 25 especies son nativas de Estados Unidos de América, aunque las especies comerciales son nativas de Europa y de los territorios asiáticos adyacentes; son abundantes en la Cuenca del Mediterráneo (**Hughes et al., 1978**). Las especies y cultivares que se estudiaron en este trabajo, tienen su origen en el viejo continente (Europa), todas localizadas en la zona del mediterráneo, sin embargo, actualmente se distribuyen en diferentes partes del mundo, introducidas principalmente como forraje y abono verde (**Turner 1977**).

En México se han encontrado las especies *Vicia sativa*, *V. americana*, *V. humilis*, *V. mexicana* y *V. pulchella*, en los siguientes localidades: Estado de México (Tepeapulco, Chalco, Amecameca, Texcoco, Teotihuacan, Tlalmanalco, de Villa Nicolás Romero a Tlalpan), Estado de Hidalgo (Pachuca), desde Nuevo México y Arizona a Chiapas. (**Rzedowski et al., 1981**).

En Michoacán, se ha registrado en cultivos de temporal en la parte oriental de la entidad, principalmente *Vicia sativa* (**Farías & Martínez, 1995**); al Sur de Cuto del Porvenir, en Tiripetío, Indaparapeo, San Miguel del Monte, Cerro Pico Azul (Mpio. de Morelia), San José de la Cumbre (Mpio. de Charo), al norte de Pamatácuaro, Mpio. de Los Reyes; Patámban, Mpio. de Tangancícuaro, en la localidad de Santiago Undameo (Mpio. de Morelia), y en los alrededores, (**Altamirano, 1997**)

Los nombres comunes para las plantas del género *Vicia* L. son los de veza, ebo, janamargo, canamargo, arvejilla, algarroba, arveja y haba, dependiendo de la localidad (**Martínez, 1979**).

3.2. Descripción de los cultivares

Vicia sativa L. (Vicia común)

Planta anual trepadora, tallo delgado, hojas paripinadas con el raquis terminado en zarcillos; flores de 2-3 cm de longitud, dispuestas en pequeños grupos axilares, color violeta a púrpura (Fig. 1 A, B y C), blancas en la variedad Alba (Fig. 1 D). Cáliz con el tubo de 7 a 8 mm de largo por 3 a 4 mm de ancho, corolas azules; vainas aplanadas castañas o pajizas de 4 hasta 7 cm de longitud y 5 mm de ancho, semillas subglobosas de 2.5 mm (vicia común y cv. Alba Beck), hasta 5 mm de diámetro (ssp. macrocarpa, cultivares Aneto e Hifa), de color negruzco (Marzocca, 1976; Sanchez, 1979; Rzedowski *et al.*, 1981; Steward *et al.*, 1970; Rydberg, 1971; Munz, 1968) (fig. 1 E y F). Vegeta desde el invierno, florece en primavera y principios de verano (Marzocca 1976; Abrol, 1990).



Figura 1. Fotografías de *Vicia sativa*, vicia común (A) cv. Hifa (B), cv. Aneto (C), cv. Alba (D), semillas de *Vicia sativa* (E y F).

fotos: Kulak, Plants database, usda. gov.

***Vicia benghalensis* L. (Arveja roja).**

Hierba anual o bienal, trepadora, perenne, vellosa, con pelos de 0.5–1.5 mm, erectos, a veces rojizos. Tallos de 20-80 cm, procumbentes, angulosos. Hojas paripinnadas de 35-103 mm subdentadas, con 6–11 pares de folíolos, terminadas en zarcillo ramificado. Folíolos elípticos u oblongo-elípticos, con nervación pinnado-reticulada. (Fig. 2 B). Inflorescencias pedunculadas, con 4-15 flores púrpura o violeta con el extremo oscuro, pétalos con lámina más corta que la uña (Fig. 2 A). Cáliz 6-10.5 mm, zigomorfo, subcilíndrico. Fruto pubescente de 15-35 mm, oblongo, comprimido, estipitado, densamente viloso, con 2-5 semillas (Fig. 2 C). Semillas de 3.5-5.5 mm elipsoidales u oblongo-elipsoidales, comprimidas, lisas, de color pardo oscuro a negro, aterciopeladas, con una prominencia en forma de cicatriz de color blanco; hilo 2.2-2.7 mm, de 1/6-1/4 del contorno de la semilla (Fig. 2 D). (Polunin, 1977; Bayley, 1976; Munz, 1968).



Figura 2. Fotografías de *Vicia benghalensis*. Flores (A), Tallo (B), Fruto (C), Semillas (D).

Fotos: J. Montegut, Crops science.

***Vicia dasycarpa* Ten.** (Vicia de invierno).

Hierba anual, trepadora, glabra o esparcidamente pubescente, con pelos de 0.5 mm., tallos hasta de 70 cm (Fig. 3 C), procumbentes, angulosos. Hojas de 30-70 mm, pecioladas o subdentadas, con 4-9 pares de folíolos, terminadas en zarcillo ramificado (Fig. 3 B); estípulas 5-9 de 1-1.5 mm, lanceoladas, folíolos de 7-27 y 1.5-6 mm, elípticos u oblongo-elípticos, con nerviación pinnado-reticulada. Inflorescencias pedunculadas, con 13-23 flores; pedúnculo 4-14.5 cm, cáliz 4.5-6.5 mm, pétalos púrpura, azul, violeta o blanquecinos (Fig. 3 A), algo más claros en la base; estandarte emarginado, con la lámina un poco más corta que la uña, púrpura o azul violeta, con venas más oscuras. Fruto 25-30 x 8-10 mm, oblongo-elíptico, muy comprimido, estipitado, glabro, con 2-5 semillas; estípite 3-4 mm. Semillas 4 mm, esferoidales, lisas, de color pardo oscuro; hilo de 1.9 mm (Steward *et al.*, 1970; Munz, 1968).

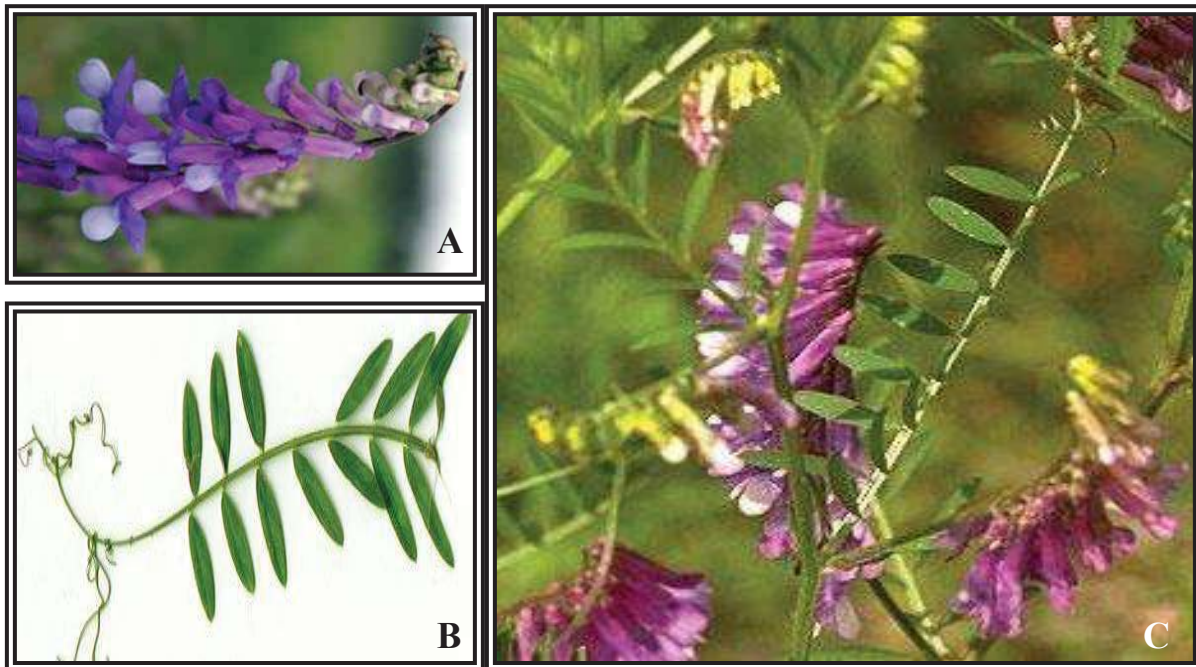


Figura 3. Fotografías de *Vicia dasycarpa*. Flores (A), Foliolos y zarcillos (B), Tallo (C).

fotos: William S. Justice, Plants database.

***Vicia villosa* Roth** (vicia vellosa o peluda)

Planta anual o bienal con tallo extensamente vellosa, mide desde 90 a 210 cm, hojas pinnadas, estrechamente oblongas a linear lanceoladas, multifolioladas, que terminan en zarcillos. Foliolos pubescentes, elípticos a lanceolados (Fig. 4 B). Inflorescencias de 20 a 30 racimos largos de color azul a violeta, flores de 12 a 20 mm, cáliz irregular, vellosa (Fig. 4 A), vaina de 2 a 3 cm de longitud (Fig. 4 C). Semillas negras a grisáceas, esféricas, de hilo corto (Fig. 4 D). Se cultivan principalmente en invierno (Steward *et al.*, 1970; Munz, 1968).

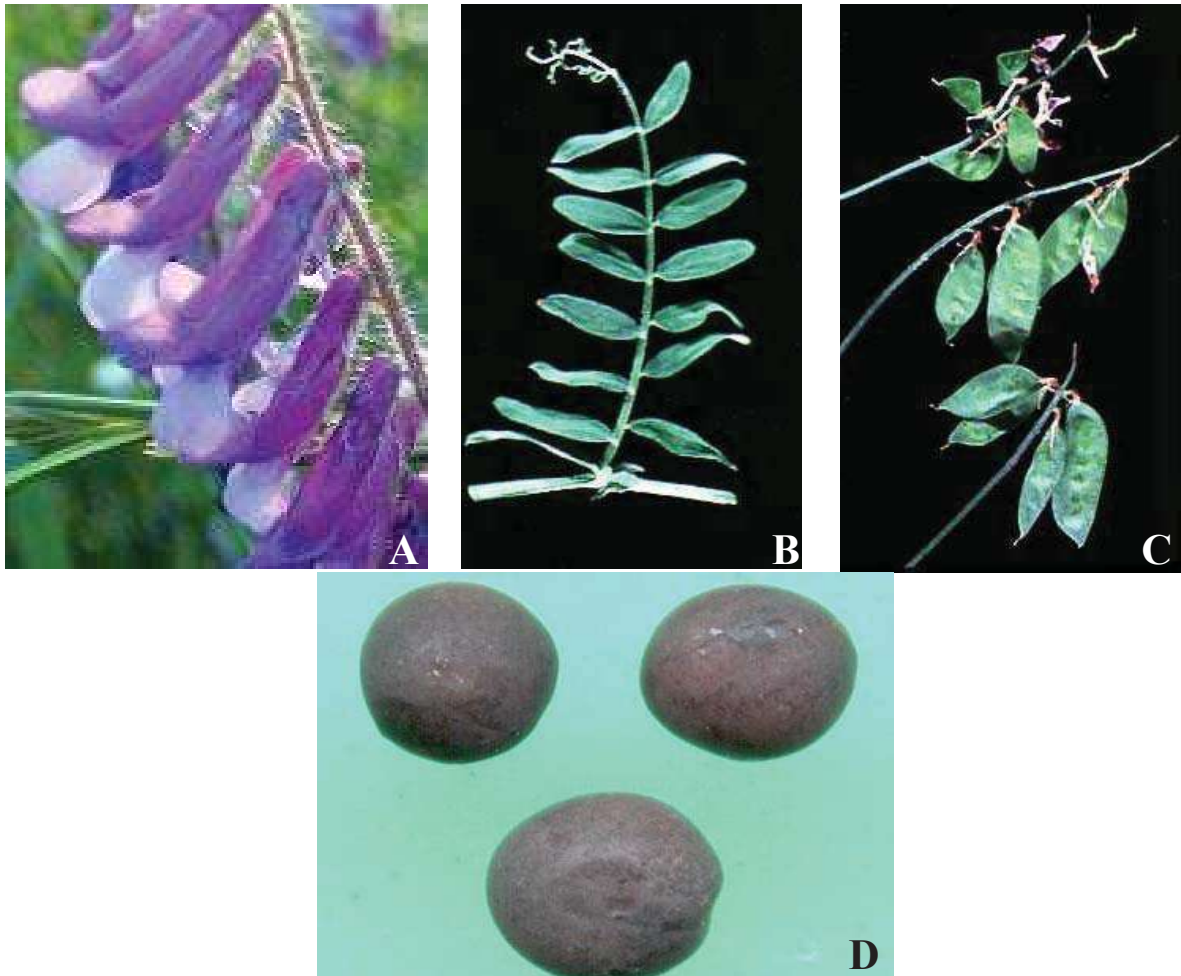


Figura 4. Fotografías de *Vicia villosa*. Flores (A), Foliolos (B), Vainas (C), y Semillas (D).

fotos: Dr. Harriet Gruber

Vicia disperma DC. (pequeña vicia francesa)

Planta anual pilosa, de 20 a 60 cm de longitud, foliolos linear-oblongos, mucronados, de 8 a 10 pares (Fig. 5 B). Pedúnculos más cortos que las hojas, flores azuladas de 4-5mm de longitud (Fig. 5 A). Cáliz dentado, vainas de 12 a 16 mm. oblongas (Fig.5 C), con dos semillas pequeñas de color negro (Fig.5 D). Nativa de la región del Mediterráneo (**Hermann, 1960**).

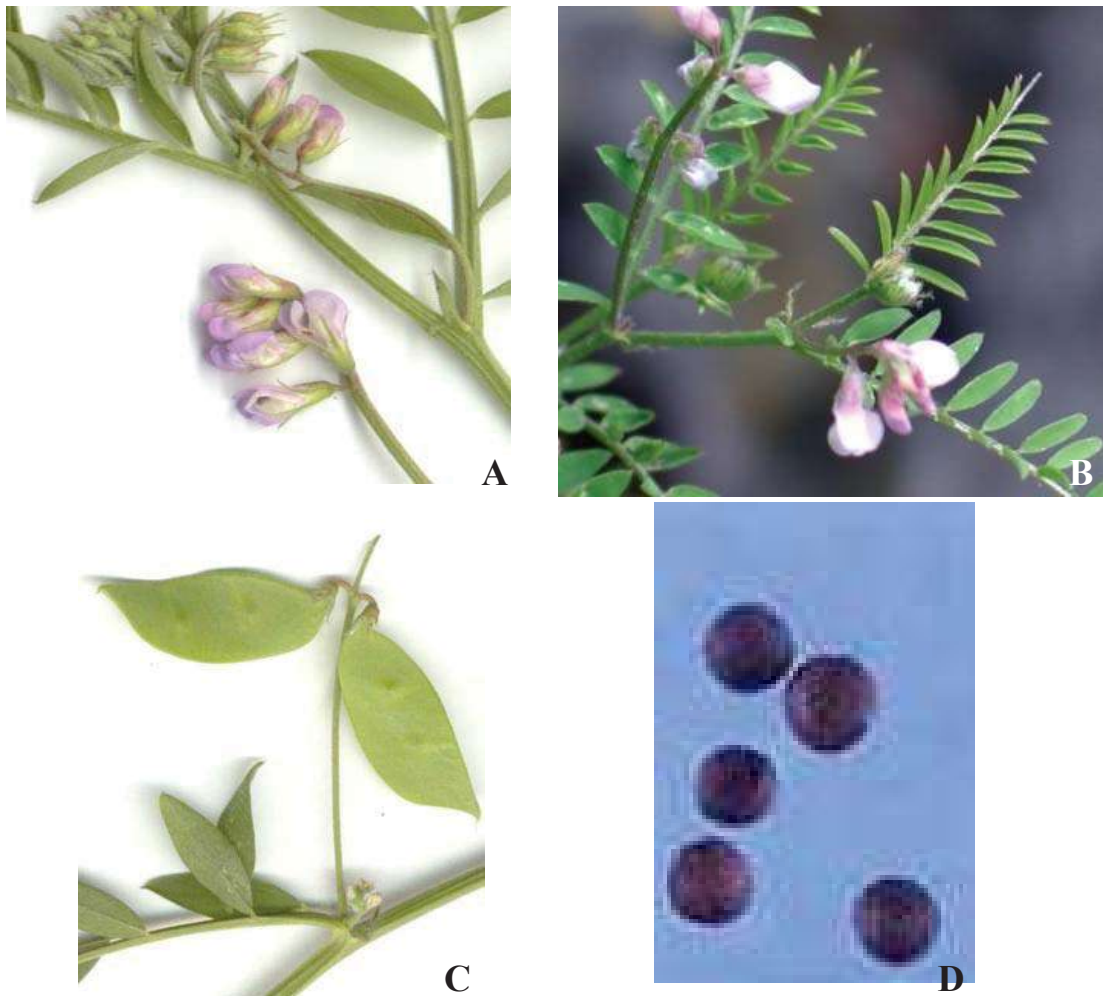


Figura 5. Fotografías de *Vicia disperma*. Flores (A), Foliolos (B), Vainas (C), y Semillas (D). **Fotos: Markku Savela, Plants database.**

3.3. Uso común y alternativas

En la agricultura tradicional y en particular en las zonas de temporal, los agricultores conservan y enriquecen la fertilidad del suelo, incluyendo leguminosas en sus patrones de asociación en cultivos, manteniendo ciclos cerrados de nutrientes, energía y agua (Altieri, 1995).

El genero *Vicia* ha tenido una importancia económica considerable, ya que al menos dos especies (*Vicia faba* y *Vicia ervilia*), pertenecen a las primeras plantas domesticadas del mundo, son características del complejo alimenticio de plantas del Neolítico tardío. *Vicia faba* aún sigue siendo una de las legumbres de mayor cultivo en las diferentes partes del mundo (Hanelt y Mettin, 1989).

En la actualidad, el genero *Vicia* incluye algunos grupos de granos comestibles menores y más de una docena de plantas forrajeras, entre ellas la más importante es la *Vicia* común (*Vicia sativa*), cultivada en muchos países del viejo y el nuevo mundo (Hanelt y Mettin, 1989). Son plantas que se utilizan como forraje para el ganado bovino, en Europa suele plantarse en los terraplenes de las carreteras para evitar el arrastre de tierra por las lluvias, también se utilizan para la recuperación de zonas erosionadas, tales como cárcavas, evitando el deslave y/o eutroficación de mantos acuíferos por efecto del arrastre pluvial (Altieri, 1995).

3.4. Clasificación

Cuando los botánicos tratan de clasificar plantas cultivadas, se pueden esperar resultados muy erráticos, donde las categorías más importantes para la clasificación de plantas no cultivadas son Familia, género y especie, mientras que las categorías infraespecíficas son especialmente utilizadas en plantas cultivadas (Harlan, 1992).

El género *Vicia*, pertenece a la Tribu Vicieae (Leguminosae – Papilionoideae), la cual comprende también a los géneros *Lathyrus*, *Lens* y *Pisum*, y el estrechamente relacionado *Vavilovia* (**Kupicha, 1977**).

La clasificación taxonómica del género *Vicia* es la siguiente (**Cronquist, 1986**):

Reino: PLANTAE
División: MAGNOLIOPHYTA
Subdivisión: ANGIOSPERMAE
Clase: MAGNOLIOPSIDA
Subclase: ROSIDAE
Orden: ROSALES
Familia: FABACEAE
Subfamilia: FABACEAE
Tribu: VICIEAS
Género: *Vicia*

Especies en este estudio: *Vicia sativa* L. (vicia común) (**Hermann, 1960**).

Vicia sativa L.

V. sativa ssp. *macrocarpa* Moris cv. Hifa

V. sativa ssp. *macrocarpa* Moris cv. Aneto

V. sativa ssp. *sativa* L. cv. Alba Beck.

V. benghalensis L., *V. dasycarpa* Ten., *V. villosa* Roth., *V. disperma* DC., (**Hermann, 1960**).

Hanelt y Mettin (1989), agrupan a las especies dentro de dos grandes subgéneros, ambos con secciones numerosas:

Subgénero *Cracca* (Dumort): Comprende entre 140 a 160 de las especies del género *Vicia*, se caracteriza por la posesión de caracteres primitivos o menos derivados (la mayoría de especies perennes y de varios hábitos, racimos con muchas flores, flores en pedúnculos). Las secciones más grandes de este subgénero son: *Vicilla*, *Cassubicae*, *Ervilia*, *Subvillosa*, *Cracca* y *Australes*.

Subgénero *Vicia*: Cuenta con 40 a 50 especies, las cuales son casi exclusivamente anuales y muy raramente perennes, es un grupo monofilético, con algunos caracteres sinapomórficos, menos variable que el subgénero *Cracca*. Las secciones principales de este subgénero son: *Vicia*, *Hipechusa*, *Faba* y *Peregrinae*.

La clasificación de las plantas cultivadas, es diferente de las no cultivadas, hay un código interno de nomenclatura y contienen más formas variantes que los grupos silvestres del mismo tamaño, y las relaciones geográficas entre ellas son más complejas, debido a las condiciones de domesticación, que es un proceso evolutivo que opera bajo la influencia de la actividad humana y es difícil separar los pasos iniciales de ésta, tanto de las formas silvestres como de las cultivadas, de tal manera que la taxonomía formal en ocasiones es insuficiente para la correcta clasificación de las plantas cultivadas (**Harlan, 1992; Harlan y de Wet, 1971**). La citogenética se ha desarrollado como una eficiente metodología, mediante la cual se pueden hacer análisis taxonómicos, descartando algunas de las limitaciones de la taxonomía tradicional (**Orozco et al., 1994**).

Más recientemente se han introducido técnicas que permiten identificar los cromosomas homólogos de cariotipos de la misma especie, tales como Bando de cromatina (Q, C, R y G). e inclusive, para determinar secuencias específicas en fragmentos de cromosomas por el método de Hibridación *in situ* y Fluorescencia (FISH), (**Badaeva y Amosova, 2002**).

3.5. Cariotipos

La asociación de la mayor parte del material genético, en conjuntos lineales o grupos de ligamiento, es la revelación más significativa que afecta a la herencia y a la evolución de los seres vivos. Cada uno de estos grupos se encuentra provisto de estructuras con capacidad autorreproductora, de los cuales depende el desarrollo, el crecimiento, la evolución y los fenómenos hereditarios, como son los **cromosomas (García, 1988)**.

Los organismos presentan un conjunto de características definidas, que permiten reconocer su dotación cromosómica; son propias de cada especie y se identifican por el número, el tamaño, la morfología y se define como **cariotipo. (Jackson, 1971; Brown, 1972)**. Para su reconocimiento, es importante definir ciertas características, como son las siguientes: Número cromosómico, tamaño absoluto, tamaño relativo, relación de brazos, longitud total del genoma, constricciones secundarias e índice de asimetría.

Las características del cariotipo son constantes para las especies y pueden utilizarse, al igual que la morfología externa, para su clasificación taxonómica. El análisis comparativo de los cariotipos, puede mostrar las diferencias entre las especies y también puede dar indicios de cómo surgieron estas diferencias en el curso de la evolución, lo cual permite detectar interrelaciones entre las distintas categorías taxonómicas **(García, 1988)**.

Los estudios citogenéticos son utilizados para inferir relaciones filogenéticas y taxonómicas entre las especies, debido a que las alteraciones cromosómicas están relacionadas con el proceso evolutivo y la formación de especies y éstas no pueden ser ignoradas en la clasificación taxonómica **(Altamirano, 1997; Molero et al., 2002)**.

Los análisis citogenéticos son útiles al taxónomo y al biólogo evolucionista, ya que los habilita para detectar las diferencias entre los taxa y para conocer sus patrones de divergencia. Al fitomejorador le es útil para llevar a cabo la manipulación de los genotipos y para seleccionar especies de altos rendimientos **(Kenton, 1986)**.

Las características de los cromosomas y su comportamiento en mitosis y meiosis, muestran la diversidad de mecanismos citológicos que han surgido en el curso de la evolución de los seres vivos; mediante estos análisis en el género *Vriesea* y *Aechmea* (Bromeliaceae), se encontraron segregaciones anormales durante el comportamiento meiótico, tales como univalentes, lo que provoca una baja viabilidad del polen (**Palma-Silva y Dos Santos, 2004**).

Se analiza la variación numérica y estructural de los cariotipos de poblaciones de una misma especie (citotipo), o de especies emparentadas. Esta información ha sido relevante, para comprender el papel que juegan los rearrreglos cromosómicos en la evolución y especiación de las plantas (**Palomino, 1986**). Existen estudios en el género *Zostera*, los cuales sugieren que en base a la morfología cromosómica, se distinguen géneros y subgéneros (**Kuo, 2001**).

También son auxiliares para desarrollar métodos de mejoramiento genético mediante cruzamientos interespecíficos y aún intergenéricos, para la transferencia de características deseables entre géneros y entre especies (**Cortés, 1989**). Como referencia se tiene el estudio en el género *Artocarpus* (Moraceae), en el cual se detectaron híbridos interespecíficos con diferentes niveles de ploidía (**Ragone, 2001**).

Estos estudios en plantas, complementados con otras áreas (Taxonomía, Palinología y Etnobotánica, entre otros), sentarán las bases para integrar estudios biosistemáticos y contribuirán a la evaluación de los recursos fitogenéticos actuales y potenciales, en la elaboración de monografías, floras regionales y en el conocimiento de la flora mexicana (**Palomino, 1991**).

Número cromosómico

Los estudios de los cromosomas en la metafase, han mostrado que el número y la estructura de los mismos, es característico para cada especie de organismos (**Dubinín, 1981**),

En estudios realizados en la familia **Leguminosae**, se ha determinado que tiene un número cromosómico básico de $x = 7$, estableciéndose en su evolución un valor de $x = 14$, el cual en algunas tribus ha venido modificándose a través de subsecuentes aneuploidias reduccionales a bajos números diploides (**Palomino, 1981**).

Existe una considerable variación en el contenido de ADN nuclear haploide y los números básicos de cromosomas de $2n = 10, 12$ y 14 entre las especies de *Vicia* (**Raina y Narayan, 1984**), los cuales hacen del género, un interesante modelo para explicar la evolución del cariotipo (**Altamirano, 1997**).

Desde 1931 se tienen registros de números cromosómicos para varias de las especies, variedades y cultivares del género *Vicia*, registrándose de 1982 a 1991 para *Vicia sativa* y sus diferentes variedades con número cromosómico de $2n = 12$ (**Beyazoglu y Hayirlioglu, 1991; Farías y Martínez, 1995; Goldblatt y Johnson, 1994; Farías y Martínez, 1995; Van Loon y Van Setten, 1982; Zhu et al., 1985, en Altamirano, 1997**).

Para *Vicia dasycarpa* Ten. se registra un número cromosómico de $2n = 14$, (**Schwesnikova, 1968; Kuta, 1980; Raina y Ress, 1983; Raina y Bisht, 1988; Goldblatt y Johnson 1994, en Farías y Martínez, 1995**).

Para las especies de *Vicia villosa* Roth, *V. benghalensis* L. **Goldblatt y Johnson, 1994; Van Loon y Van Setten, 1982; Zhu et al., 1985**, registran un número cromosómico de $2n = 14$ (**Farías y Martínez, 1995**). Lo mismo se registra para *Vicia disperma* ($2n = 14$) (**Heitz, 1931**).

Tamaño absoluto

El tamaño absoluto es la relación entre la longitud y diámetro del total y para cada uno de los cromosomas expresados en micras. El tamaño de los cromosomas, por lo general, es constante e importante en la individualización de cada uno de los miembros del complejo (**De Robertis et al., 1963**).

La longitud individual de los cromosomas metafásicos es variable; la cual varía de menos de una micra hasta más de treinta y el diámetro de un cromosoma varía desde fracciones de una micra hasta casi dos micras (**García, 1988**).

Longitud total del genomio

La longitud total del genomio es la sumatoria de las longitudes totales de los cromosomas del juego haploide. Reportes de numerosas mediciones de cromosomas somáticos en metafase, revelan que el genero *Vicia* presenta un tamaño que varía desde 20 μ m hasta 60 μ m (**Hanelt and Mettin, 1970**).

Es importante mencionar que existe confusión en la literatura, respecto al termino tamaño del genoma y el valor C, sin embargo, en un estricto sentido, el tamaño del genoma se refiere a la masa de un solo complemento de cromosomas, mientras que los valores 1C y 2C se refieren al contenido nuclear de ADN de tejidos gaméticos y somáticos respectivamente (**Husband, 2004**).

Para el genero *Vicia* en general se registran valores 1C desde 2.0 pg. hasta 13.9 pg., (**Bennett y Smith, 1976; Chooi, 1971**).

Específicamente *Vicia sativa* tiene un valor 1C de 2-3 pg. (**Navratilova et al., 2003**). No se tienen reportes para las otras especies y cultivares, analizados en el presente estudio.

Tamaño relativo

El tamaño relativo es la relación que guarda la longitud de un cromosoma particular con respecto a la de los demás miembros del complejo y respecto a la longitud total del juego de cromosomas (genomio). Esta es una característica constante y permite la identificación y clasificación del complejo cromosómico (**García, 1988**).

Relación de brazos

La morfología cromosómica se determina principalmente por la posición del centrómero (cinetocoro o constricción primaria), el cual se caracteriza por ser constante y constituye el marcador más utilizado en la identificación y determinación morfológica de los cromosomas; además separa al cromosoma en dos regiones o brazos y su localización; puede ser expresada en términos de la relación de brazos (índice centromérico), la cual se estima mediante el cociente de la longitud del brazo más largo entre la longitud del brazo más corto (**García, 1988**).

Los cromosomas se clasifican, con respecto a la posición del centrómero en seis grupos (**Levan, et al., 1964**):

Metacéntrico	(M)
metacéntricos	(m)
Submetacéntricos	(sm)
Subtelocéntricos	(st)
Acrocéntricos	(t)
Telocéntricos	(T)

Una vez obtenida la relación de brazos y por consecuencia la posición centromérica del genoma, los cromosomas se arreglan en orden decreciente respecto al tamaño y posición del centrómero y se numeran progresivamente. De tal forma, que el número uno corresponde al par más largo de cromosomas metacéntricos, siguiéndole posteriormente los

submetacéntricos y así sucesivamente, hasta terminar con el par más pequeño de los telocéntricos (**Farias, 1996**).

Satélites y constricciones secundarias

Una estructura particular que puede ser usada en los estudios citogenéticos y es muy útil para marcar ciertos cromosomas y para establecer los diferentes citotipos, es el satélite. Es un segmento largo o corto de un brazo, separado del resto por una constricción delgada, la cual puede ser corta como la del centrómero o larga como un filamento y se localiza entre el centrómero y el telómero. El satélite se encuentra por lo general sobre el brazo corto y en un solo par de cromosomas del juego, aunque pueden existir excepciones para ambos aspectos (**García, 1988**). Estudios en el género *Mikania* (Compositae), sugieren que estos satélites pueden utilizarse como marcadores citológicos para el rango de género (**Ruas et al., 1997**).

En algunos organismos, la constricción secundaria puede ser adyacente al centrómero, a través de una inversión o translocación, por lo que puede ser difícil reconocerla (**Alberts et al., 1994**). En plantas y animales superiores, el tamaño entero de la constricción secundaria, puede ser sinónimo con el organizador nucleolar (**Jackson, 1971**).

Índice de asimetría

Levitzky (1931) desarrolló el concepto de simetría-asimetría, seguido por **Stebbins (1958)**. La simetría de un cariotipo, es la condición en la cual todos los cromosomas son aproximadamente del mismo tamaño y poseen un centrómero medio (metacéntrico) o submedio (submetacéntrico), puede alterarse por cambios de posición del centrómero, de central (metacéntricos); subterminal (acrocéntricos) o terminal (telocéntricos), o por acumulación de diferencias en el tamaño relativo entre cromosomas, por translocaciones no recíprocas, de tal manera que el cariotipo sea más heterogéneo. Estas tendencias pueden ser o no simultáneas (**García, 1988**).

El concepto de simetría-asimetría es complementado con el concepto de número fundamental y pueden establecer los posibles mecanismos de evolución cromosómica, debido a que por los cambios en el número fundamental de brazos, posiblemente ocurran cambios en simetría afectando el número básico (x) de cromosomas (**García, 1988**).

La asimetría es un término empleado en estudios de evolución cromosómica, para ayudar en la definición de las tendencias o patrones de evolución; además, es utilizado para referirse a las diferencias en tamaño y de relación de brazos, entre cromosomas no homólogos de un genomio.

3.6. El cariotipo y su evolución

Todas las características fenotípicas de los organismos, dadas por el material genético localizado fundamentalmente en los cromosomas, están sujetas a la selección natural. La selección natural actúa principalmente en el cariotipo y consecuentemente en el comportamiento de los cromosomas, durante la división celular. Como resultado de los diferentes procesos evolutivos a que han sido sometidos los organismos, han provocado que las características cromosómicas puedan variar de especie a especie y aún en variedades (**Cortés, 1989**).

Los cambios cromosómicos que producen y alteran el linaje entre los organismos, son de gran significancia evolutiva (**Haniford, 1992**).

La observación de que la mayoría de las especies cercanamente relacionadas, son diferentes en sus cromosomas, lo que ha dado lugar al intento de estimar la función de los cambios cromosómicos en el proceso de especiación (**Parker et al., 1988**).

La presencia de fusiones del centrómero, favorece la continuidad del total de brazos mayores o número fundamental, aún cuando el número de cromosomas ($2n$) sea alterado. Este proceso posiblemente sea la causa de los varios números básicos, observados

en las diferentes series poliploides características de las plantas superiores. La conversión de cromosomas metacéntricos a acrocéntricos, puede reducir el número fundamental del cariotipo (**Jackson, 1971**).

La evolución del cariotipo, no sólo implica cambios en el número de los cromosomas (aneuploide y poliploide), sino eventos cromosómicos como intercambios, deleciones, inversiones, translocaciones y fenómenos Robertsonianos de fusión y fisión céntrica (**Farías, 1989**), las cuales pueden modificar tanto la morfología cromosómica como al complemento diploide, produciendo formas cromosómicas distintas, que actúan como barreras de aislamiento reproductivo entre poblaciones, favoreciendo así la especiación (**García, 1985**).

El 70% de las angiospermas han experimentado uno o mas episodios de poliploidía en su pasado evolutivo, y muchas semillas son de origen poliploide, incluyendo al maíz, trigo y algodón. El mecanismo por el cual la poliploidía contribuye a una nueva variación, aún no está bien entendido, en parte por que ésta involucra numerosos fenómenos genéticos y epigenéticos (**Soltis et al., 2004**).

En plantas superiores, se aprecia que la evolución cromosómica ha sido básicamente por cambios en el nivel de ploidía, ya que la mayor parte de las plantas útiles al hombre son poliploides, sin embargo, existen algunos géneros de plantas, en los cuales la evolución cromosómica ha sido tanto en nivel de ploidía, como en cambios de estructura (**Jackson, 1971**).

Müller (1938) formuló dos reglas sobre la estructura y mecánica de los cromosomas, para explicar los cambios:

- 1.- Todo rearrreglo cromosómico viable, requiere de dos rompimientos.
- 2.- Los cromosomas rearrreglados, deben tener dos telómeros y un centrómero para ser mecánicamente estables.

Estas dos reglas denotan perfectamente, que la cromatina es rearmada y no perdida (**Altamirano, 1997**).

Los cambios en la morfología del genoma, han sido frecuentemente relacionados con la evolución de las plantas superiores (**Romero, 1986**). Además existen tendencias predominantes en las angiospermas, hacia el incremento de la asimetría del cariotipo (**Stebbins, 1958**).

Existen cinco factores, relacionados con la evolución del cariotipo (**Jackson, 1971**):

Primero: Debe existir un ambiente celular, que conduzca a un rompimiento del cromosoma.

Segundo: Los puntos del rompimiento, deben ocurrir en posiciones no funcionales.

Tercero: Los rearrreglos cromosómicos deben ser de tal forma, que puedan sobrevivir los rigores de la mitosis y meiosis.

Cuarto: Los rearrreglos deben llevar consigo un complejo de genes adaptativos, o deben ser capaces de compensar las propiedades no adaptativas, mediante algún mecanismo especial que asegure su transmisión.

Quinto: El nuevo sistema debe ser de tal manera, que existan probabilidades razonables de sobrevivencia (**Jackson, 1971**).

Aunque el cambio estructural sea exitoso al sobrevivir a la primera meiosis, el cromosoma reorganizado y por ende el genoma, deben aún competir con el cariotipo original en los estados iniciales (**Dobzhansky, 1970**).

Los estudios citogenéticos son útiles al taxónomo y al biólogo evolucionista, ya que permite determinar la variación genética y sus causas, mediante el análisis de los cariotipos de poblaciones de una misma especie (citotipo), o de especies emparentadas; esta información ha sido relevante para comprender la importancia de los rearrreglos cromosómicos, en la evolución y la especiación de las plantas (**Palomino, 1985**).

Los estudios sobre evolución en cromosomas de plantas o animales, tratan de conocer las tendencias y el grado de los cambios sufridos en estas estructuras (**García, 1988**).

Las principales teorías que sustentan la evolución de los cariotipos fueron establecidas desde **1931 por Levitzky** y sustentadas por **Stebbins (1958)**, quienes mediante estudios citogenéticos, deducen que existe un paralelismo de cariotipos más simétricos como caracteres primitivos y cariotipos asimétricos, con formas especializadas o más evolucionadas (**Romero, 1986; Lavania et al., 1999**).

Jackson (1971) y Jones (1977), coinciden en señalar que existe una tendencia hacia la reducción del número de cromosomas en cariotipos más avanzados, pero al mismo tiempo la relacionan con un aumento en la cantidad de material genético (**Lavania et al., 1999**).

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Hacer la caracterización cromosómica y determinar las posibles relaciones taxonómicas de ocho taxa del género *Vicia* (Leguminosae).

4.2. OBJETIVOS PARTICULARES

Realizar los estudios cromosómicos de ocho cultivares del género *Vicia*, procedentes de diferentes localidades.

Realizar el análisis comparativo entre los diferentes taxa del género.

Determinar las posibles relaciones filogenéticas entre los taxa, con base en su cariotipo.

5. MATERIALES Y METODOLOGIA

5.1. Material biológico

Se utilizaron semillas de ocho cultivares del género *Vicia*. Son semillas comerciales y fueron obtenidas en diferentes localidades:

Especies: *Vicia sativa* L. (vicia común) (Tiripetò, Mich. México)

Vicia sativa L.

V. sativa ssp. *macrocarpa* Moris cv. Hifa (Francia)

V. sativa ssp. *macrocarpa* Moris cv. Aneto (Francia)

V. sativa ssp. *sativa* L. cv. Alba, Beck (Fresno, Cal. EUA)

Vicia benghalensis L. (Fresno, Cal. EUA)

Vicia dasycarpa Ten. (Fresno, Cal. EUA)

Vicia villosa Roth (Celaya, Gto. México)

Vicia sp. (Texcoco, Edo. de Mèx. México)

5.2. Germinación de las semillas

Para la determinación de las características citogenéticas, se utilizaron ápices de raíces de las plantas en estudio, obtenidas de la siembra de semillas en cajas de petri con algodón humedecido como sustrato, por un tiempo de 3 ó 4 días, para disponer de raíces de buen tamaño (2 - 3 cm de longitud aproximadamente), las cuales se cortaron y se trataron como se explica a continuación:

5.2.1 Pretratamiento

Una vez obtenidos los ápices radicales se llevó a cabo el pretratamiento, el cual es de carácter químico; consistió en colocar los ápices en una solución acuosa de 8-hidroxiquinoleína 0.002 M, a temperatura de 4° C, a la luz del día durante 5 horas.

5.2.2. Fijación

Se colocaron las raíces en el fijador ácido Farmer ó Alcohol Acético (alcohol etílico absoluto y ácido acético glacial en proporción 3:1 v/v respectivamente), por un tiempo de 24 horas.

5.2.3. Hidrólisis - Tinción

Los ápices radicales fueron tratados con la técnica de coloración cromosómica de Feulgen, la cual se basa, en la reacción de Schiff para grupos aldehído (**García, 1988; Farías, 1994**).

5.2.4. Aplastado

Se colocaron los ápices radicales sobre un porta-objetos limpio y se les cortó la parte terminal (1.0 mm o menos), se les agregó una ó dos gotas de aceto-carmín, se calentaron ligeramente sobre un mechero de alcohol y se dejaron enfriar; posteriormente se cubrió la preparación con un cubre-objetos limpio y sobre este un papel filtro (para absorber el exceso de colorante), procediéndose a realizar el aplastado con la yema del dedo pulgar, se presionó ligeramente evitando movimiento laterales.

5.2.5. Observación de los campos

Una vez obtenidos al menos 10 campos con los cromosomas bien separados, se procedió a su observación, para lo cual se utilizó un microscopio óptico marca Leitz, con el objetivo de 100 x y equipado con una cámara marca Cannon. Se tomaron fotomicrografías para su posterior análisis y caracterización cromosómica.

5.3. Análisis citogenético

La identificación de las características citogenéticas y medición de éstas, se realizó mediante un minucioso análisis comparativo de las fotomicrografías de mayor calidad y con mejor acortamiento de los cromosomas, con el apoyo de la platina micrométrica.

Numero y morfología cromosómica:

El número y la morfología de los cromosomas, se estimó mediante la observación directa de los cromosomas en el microscopio y las fotomicrografías, además de reconocer los pares de homólogos.

Longitud total del Genomio:

Se define por la sumatoria de las longitudes totales de los cromosomas del juego haploide.

$$LTG = \Sigma LTC$$

En donde LTC = Longitud total del cromosoma

Tamaño absoluto o Longitud total del cromosoma:

Se realizó mediante la sumatoria del Brazo largo y el Brazo corto (LTC= BL + BC).

Tamaño relativo:

Es la proporción que ocupa cada cromosoma dentro del genomio y se define por la ecuación de Brown (1972):

$TRC = \frac{100 (LTC)}{LTG}$

Donde LTC = Longitud total del cromosoma

LTG = Longitud total del genomio o juego haploide

Relación de brazos e índice centromérico:

La clasificación cromosómica por la posición del centrómero se hizo de acuerdo a la nomenclatura de Levan *et al.*, (1964), y se calcula con la relación de brazos (Cuadro 1).

$$RB = \text{Brazo Largo (BL)} / \text{Brazo Corto (BC)}$$

Formula cromosómica y Número fundamental:

Se obtuvo la fórmula cromosómica y el número fundamental de cada uno de los cariotipos, basándose en el total de brazos mayores de los cromosomas, dos por cada cromosoma metacéntrico y uno por cada acro- y telocéntrico (**Matthey, 1945**)

POSICION	REL. DE BRAZOS	CLASIFICACION
Punto medio	1.0	M metacéntrico
Región media	1.0 – 1.7	m metacéntrico
Región submedia	1.7 – 3.0	sm submetacéntrico
Región subterminal	3.0 – 7.0	st subtlocéntrico
Región terminal	7.0 - &	t acrocéntrico
Punto terminal	&	T telocéntrico

Cuadro 1. Clasificación cromosómica de acuerdo a la posición del centrómero (**Levan et al., 1964**).

Índice de asimetría:

La estimación de la simetría de los cariotipos se realizó por medio de dos parámetros numéricos: A_1 y A_2 (**Romero Zarco, 1986**). Con el primer índice (A_1) se determinó la asimetría intracromosómica y su cálculo se hizo mediante la siguiente fórmula:

$$A_1 = 1 - \frac{\sum b_i}{n}$$

Donde: A_1 = Índice intracromosómico de asimetría.

b_i = Tamaño promedio de los brazos cortos de cada par de cromosoma.

B_1 = Tamaño promedio de los brazos largos de cada par de cromosomas homólogos.

n = Número de pares de cromosomas homólogos.

Con el segundo índice (A_2) se determinó la asimetría intercromosómica, debido a la relación entre el largo de los cromosomas y se estima usando el Coeficiente de Dispersión de Pearson.

$$A_2 = S / \bar{X}$$

Donde: A_2 = Índice intercromosómico de asimetría

S = Desviación estándar (ó típica)

X = Media del cariotipo (medida de la longitud de los cromosomas).

Debido al uso de S en lugar de la varianza, este índice es independiente del tamaño de los cromosomas y no tiene unidad de medida.

Por medio del uso de estos dos índices y su representación gráfica simultánea en dos coordenadas (**Romero Zarco, 1986**), se puede realizar una comparación de variaciones numéricas continuas de los diferentes cariotipos. Lo cual permite detectar y comparar pequeños y paulatinos cambios en la evolución del cariotipo.

Cariograma e Idiograma:

Se hizo la representación visual y gráfica de los cromosomas en fotomicrografías y fueron representados en barras diagramáticos, que indican las características cromosómicas.

El análisis estadístico se realizó mediante el paquete estadístico **JMP versión 3.2.2 de SAS Institute, Inc. (1989-1997)**. Los parámetros de las medias fueron comparados por el Análisis de Varianza de una vía (**ANOVA**) y se hizo la diferenciación de cada par de medias por la prueba de Tukey.

Posteriormente se realizó un cluster para examinar la similitud del cariotipo entre las especies y cultivares, se construyó una matriz de 8 OTUs (Unidades Taxonómicas Operacionales), por 8 variables. Esta matriz fue estandarizada mediante el programa **NTSYS-PC 1.8** desarrollado por **Rohlf (1994)**.

Se calculó la distancia media taxonómica y se generó un Fenograma, el cual fue realizado por el Método de Agrupamiento de Pares sin Peso (**UPGMA**), la distorsión del fenograma se midió usando el coeficiente cofenético de correlación (**r**).

Usando la misma matriz se realizó un Análisis de Componentes Principales (**PCA**), mediante el Paquete Estadístico Multi-Variado (**MVSP**), **versión 3.01 de Kovach Computing Service, 1998**.

6. RESULTADOS

6.1. Preparaciones mitóticas y números cromosómicos

Las semillas de los ocho cultivares fueron germinadas y procesadas mediante el pretratamiento, una posterior fijación y la tinción, esta última se realizó con el método de Feulgen (**García, 1988; Farías y Martínez, 1995**), adaptado y modificado para cada uno de los cultivares.

La caracterización en el género *Vicia*, se llevó a cabo mediante la descripción detallada de los cariotipos de cada uno de los ocho cultivares y posteriormente se realizó el análisis cromosómico comparativo de los mismos. Esto se obtuvo del promedio de por lo menos diez campos citológicos de cada uno de ellos, en metafase mitótica y en ápices radicales obtenidos de semillas germinadas.

Para el análisis citológico, se escogieron aquellas preparaciones con los cromosomas bien separados, que permitieron la descripción completa de cada uno de los parámetros analizados.

El análisis cromosómico realizado en el presente estudio, muestra un número diploide de $2n = 12$ y 14 para este género y un número básico de $X = 6$ y 7 , lo cual concuerda con la mayoría de los investigadores para el género (**Palomino, 1981; Raina y Narayan, 1984; Hanelt y Mettin, 1989; Meric et al. 1999; Navratilova et al., 2003**).

6.2. Caracterización cromosómica de los cultivares

6.2.1. *Vicia sativa* L. (vicia común)

Vicia sativa L. presentó un número cromosómico de $2n = 12$, con un número básico de $X = 6$ (Fig. 6) (Cuadro 2), lo que coincide con lo registrado (Van Loon y Van Setten, 1982; Zhu *et al.*, 1985; Beyazoglu y Hayirlioglu, 1991; Goldblatt y Johnson, 1994; Farías & Martínez, 1995). La longitud total del genomio es de $21.49 \mu\text{m}$ con una desviación estándar de 1.77 , los cromosomas presentaron una longitud que varía desde $1.97 \mu\text{m}$ hasta $4.7 \mu\text{m}$ y un número fundamental de 14 . Su fórmula cromosómica es $FC = 1m + 3st + 1t + 1T$, Lo que corresponde a un cromosoma metacéntrico, tres subtlocéntricos, un acrocéntrico y un telocéntrico (Fig. 7), con una constricción secundaria de $1.22 \mu\text{m}$ en el cromosoma número 3 (Cuadro 2).

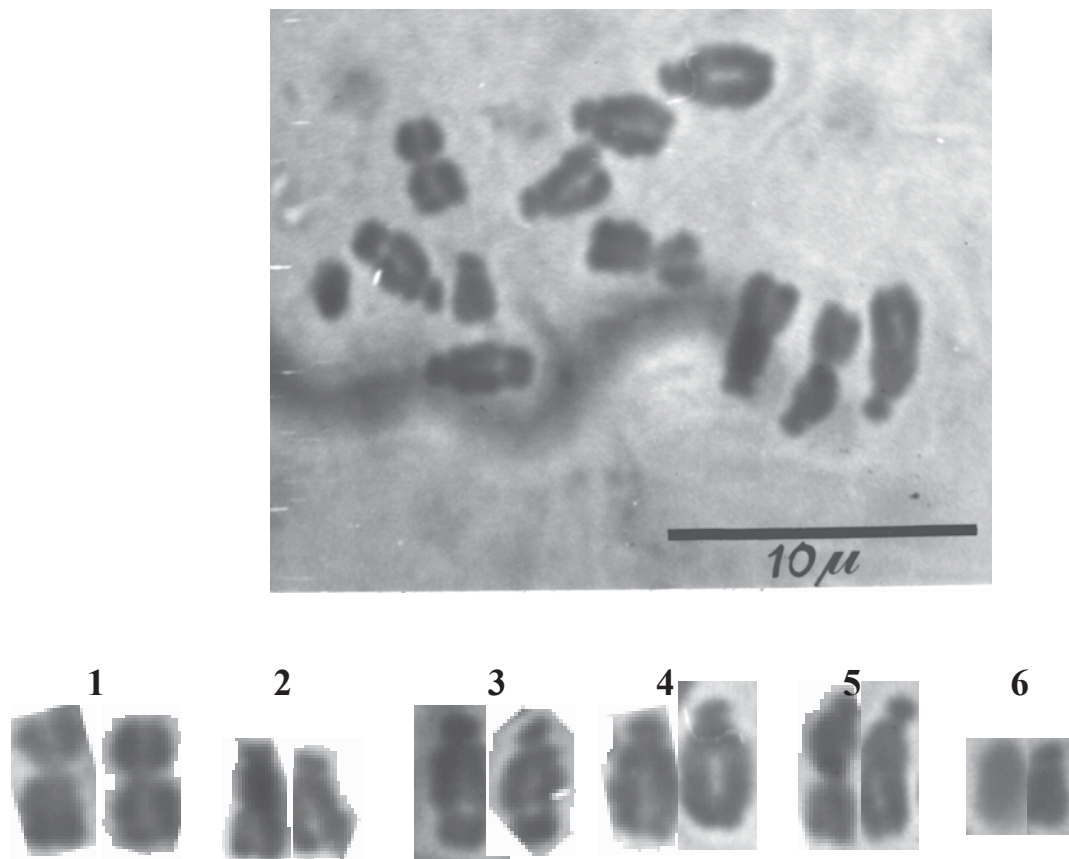


Figura 6. Fotomicrografía de los cromosomas y cariograma de *Vicia sativa* (se indica la numeración de cada par cromosómico).

<i>Vicia sativa</i> L. (vicia común)						
Cromosoma	Long. Total + DS	Long Relativa	Brazo Corto	Brazo Largo	Rel de Brazos	Clasificación
1	3.56 ± 0.03	16.57	1.41	2.15	1.52	m
2	4.17 ± 0.05	19.4	0.58	3.59	6.18	st
*3	3.8 ± 0.01	17.68	0.58	3.22	5.55	st
4	3.29 ± 0.02	15.31	0.54	2.75	5.09	st
5	4.7 ± 0.04	21.87	0.56	4.14	7.39	t
6	1.97 ± 0.02	9.17		1.97		T
		100				
		4.32DS				
Total	21.49	2n= 12	x = 6	nf = 14	Fc = 1m + 3st + 1t + 1T	
*constricción secundaria = 1.22µm			Cromosoma N° 3			

Cuadro 2. Cariotipo de *Vicia sativa* L. (Vicia común).

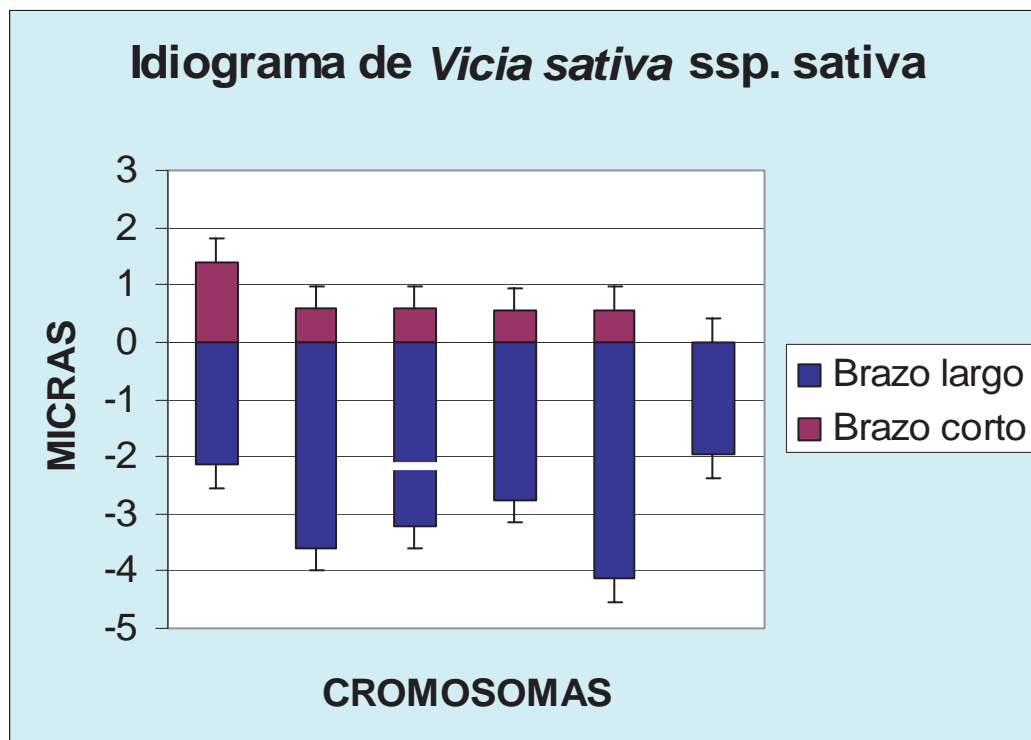


Figura 7. Idiograma cromosómico de *Vicia sativa* L. (Vicia común).

6.2.2. *Vicia sativa* ssp. *macrocarpa* Moris cv. Aneto

El cultivar Aneto presentó un número cromosómico de $2n = 12$, con un número básico de $X = 6$ (Fig. 8). Una longitud total del genomio de $19.18 \mu\text{m}$ y una desviación estándar de 1.56 , los cromosomas presentaron una longitud que varía de $1.81 \mu\text{m}$ hasta $4.14 \mu\text{m}$ y un número fundamental de 14. Su fórmula cromosómica es $FC = 1m + 3st + 1t + 1T$, un cromosoma metacéntrico, tres subtlocéntricos, un acrocéntrico y un telocéntrico (Fig. 9), con una constricción secundaria de $1.02 \mu\text{m}$ en el cromosoma número 2 (Cuadro 3).

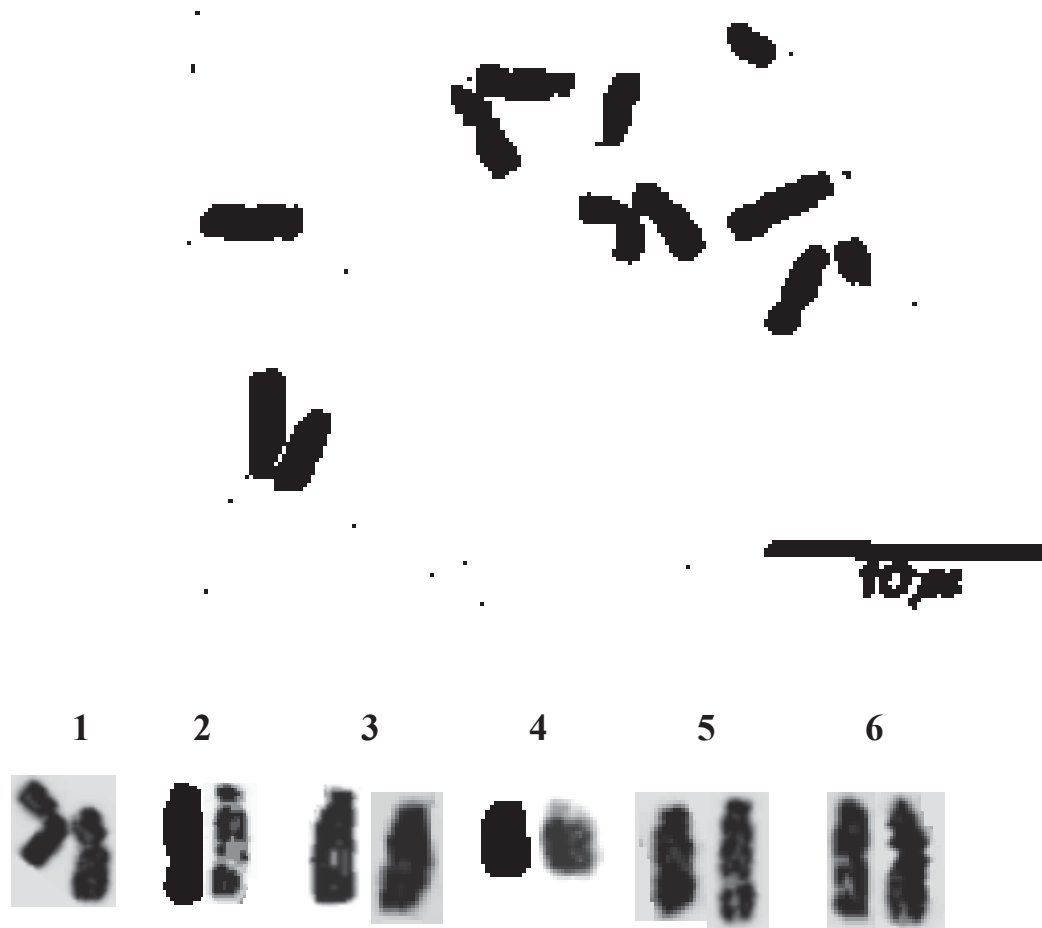


Figura 8. Fotomicrografía de los cromosomas y el cariograma de *Vicia sativa* ssp. *macrocarpa* Moris cv. Aneto (se indica la numeración de cada par cromosómico).

<i>Vicia sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> , Moris, cv. Aneto (Francia)						
Cromosoma	Long. Total + DS	Long Relativa	Brazo Corto	Brazo Largo	Rel de Brazos	Clasificación
1	3.23 ± 0.04	16.85	1.271	1.961	1.543	m
*2	3.29 ± 0.02	17.18	0.49	2.805	5.715	st
3	2.68 ± 0.02	13.99	0.488	2.195	4.495	st
4	1.81 ± 0.05	9.47	0.383	1.434	3.746	st
5	4.01 ± 0.01	20.90	0.488	3.522	7.211	t
6	4.14 ± 0.03	21.61		4.146		T
		100				
		4.5DS				
Total	19.183	2n= 12	x = 6	nf = 14	Fc = 1m + 3st + 1t + 1T	
*constriccion secundaria = 1.02µm.			Cromosoma N° 2			

Cuadro 3. Cariotipo de *Vicia sativa* ssp. *macrocarpa* Moris cv. Aneto.

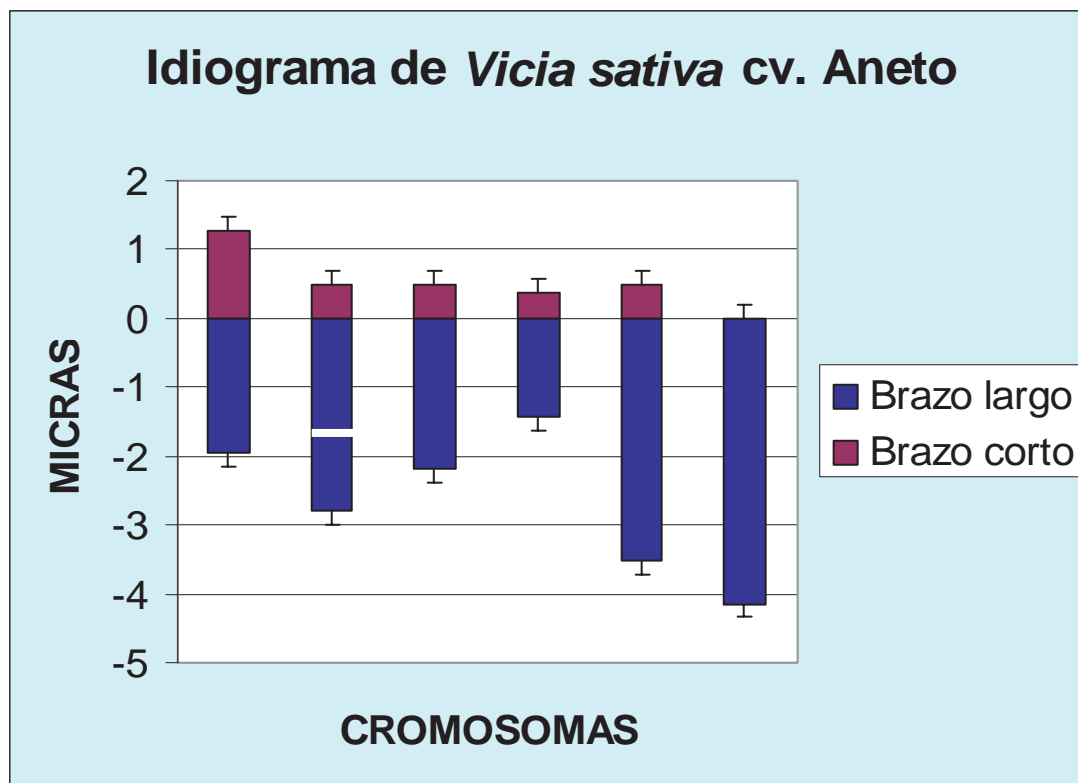


Figura 9. Idiograma de *Vicia sativa* ssp. *macrocarpa* Moris cv. Aneto.

6.2.3. *Vicia sativa* ssp. *macrocarpa* Moris cv. Hifa

El cultivar Hifa presentó un número cromosómico de $2n = 12$, con un número básico de $X = 6$ (Fig. 10). Una longitud total del genomio de $20.69 \mu\text{m}$ y una desviación estándar de 1.44 , los cromosomas presentaron una longitud que varía de $1.99 \mu\text{m}$ hasta $4.42 \mu\text{m}$ y un número fundamental de 14 . la fórmula cromosómica es $FC = 1m + 3st + 1t + 1T$, lo que corresponde a un cromosoma metacéntrico, tres subtelocéntricos, un acrocéntrico y un telocéntrico (Fig. 11), con una constricción secundaria de $0.954 \mu\text{m}$ en el cromosoma número 2 (Cuadro 4).

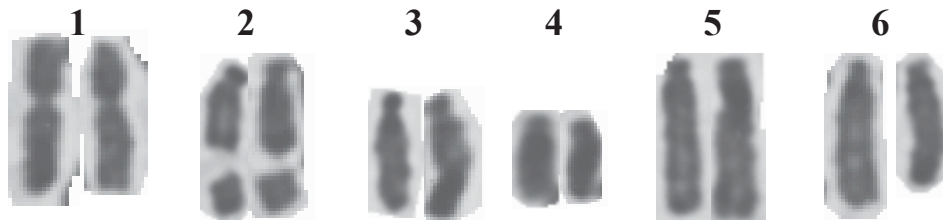
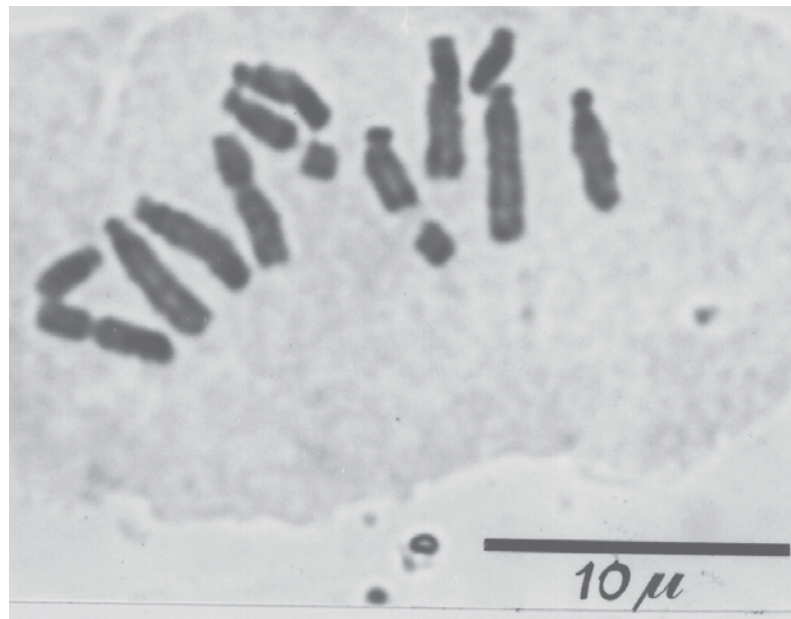


Figura 10. Fotomicrografía de los cromosomas y cariograma de *Vicia sativa* ssp. *macrocarpa* Moris cv. Hifa (se indica la numeración de cada par cromosómico).

<i>Vicia sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Hifa						
Cromosoma	Long. total + DS	Long Relativa	Brazo Corto	Brazo Largo	Rel de Brazos	Clasificación
1	3.71 + 0.03	17.93	1.5	2.21	1.47	m
*2	3.33 + 0.06	16.09	0.488	2.849	5.838	st
3	3.28 + 0.03	15.85	0.488	2.793	5.723	st
4	1.99 + 0.02	9.63	0.488	1.51	3.094	st
5	4.42 + 0.01	21.36	0.485	3.937	8.118	t
6	3.96 + 0.02	19.14		3.963		T
		100				
		4.0DS				
Total	20.69	2n= 12	x = 6	nf = 14	Fc = 1m + 3st + 1t + 1T	
*constriccion secundaria = 0.954µm			Cromosoma N° 2			

Cuadro 4. Cariotipo de *Vicia sativa* ssp. *macrocarpa* Moris cv. Hifa.

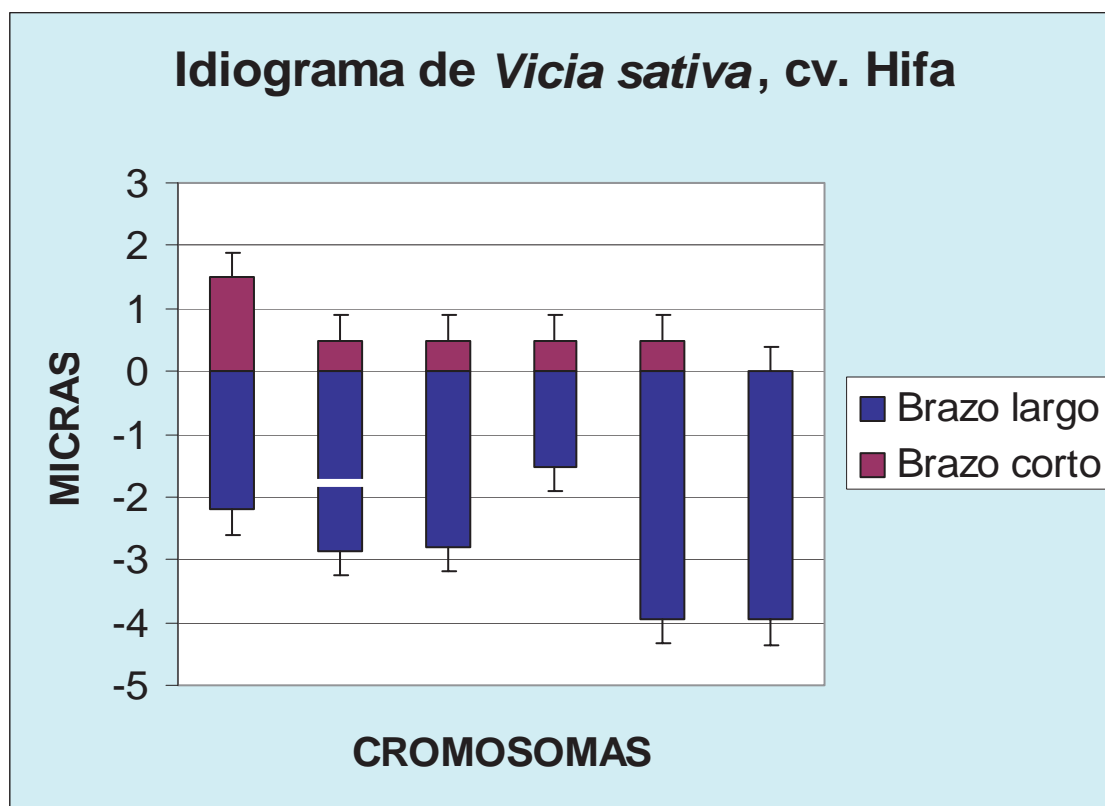


Figura 11. Idiograma de *Vicia sativa* ssp. *macrocarpa* Moris cv. Hifa.

6.2.4. *Vicia sativa* ssp. *sativa* L. cv. Alba Beck

El cultivar Alba presentó un número cromosómico de $2n = 12$, con un número básico de $X = 6$ (Fig. 12). Una longitud total del genomio de $18.95 \mu\text{m}$ y una desviación estándar de 1.40 , los cromosomas presentaron una longitud que varía de $1.78 \mu\text{m}$ hasta $3.94 \mu\text{m}$ y un número fundamental de 14 . La fórmula cromosómica es $FC = 1m + 3st + 1t + 1T$, es decir, un cromosoma metacéntrico, tres subtelocéntricos, un acrocéntrico y un telocéntrico (Fig. 13), con una constricción secundaria de $1.08 \mu\text{m}$ en el cromosoma número 3 (Cuadro 5).

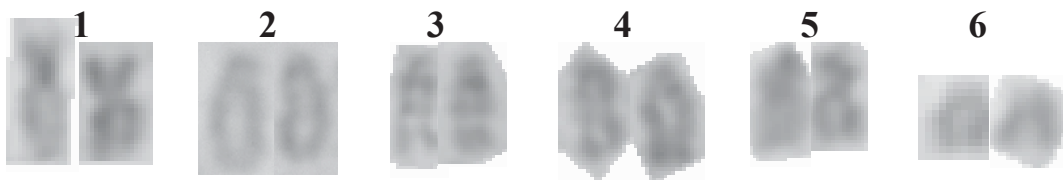
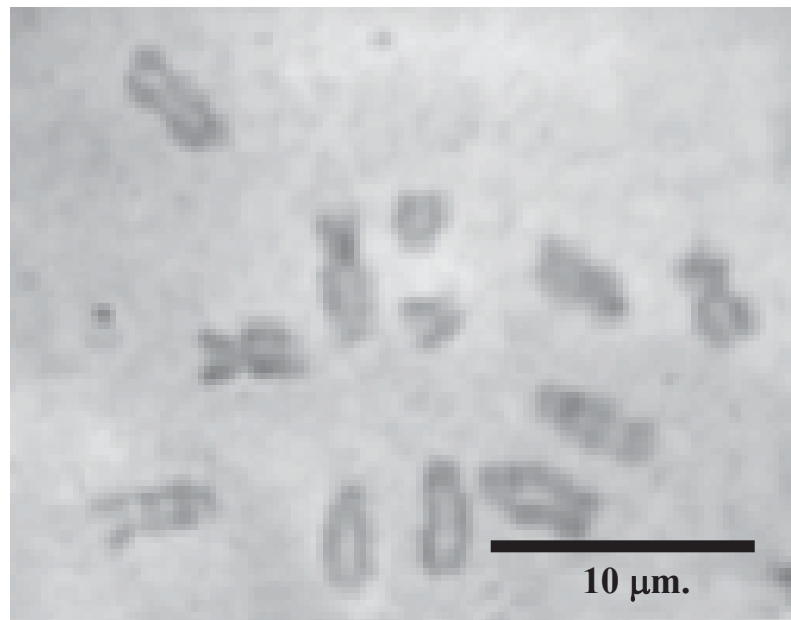


Figura 12. Fotomicrografía de los cromosomas y cariograma de *Vicia sativa* ssp. *sativa* L. cv. Alba Beck (se indica la numeración de cada par cromosómico).

<i>Vicia sativa ssp sativa</i> L. cv. Alba Beck. (EUA)						
Cromosoma	Long. Total + DS	Long Relativa	Brazo Corto	Brazo Largo	Rel de Brazos	Clasificación
1	3.84 + 0.02	20.28	1.50	2.34	1.56253333	m
2	3.32 + 0.04	17.48	0.44	2.88	6.57142857	st
*3	3.11 + 0.05	16.39	0.41	2.70	6.64533596	st
4	2.96 + 0.03	15.67	0.44	2.53	5.78582857	st
5	3.94 + 0.03	20.78	0.41	3.53	8.69136106	t
6	1.78 + 0.02	9.40	0.00	1.78		T
		100				
		4.11DS				
Total	18.95	2n= 12	x = 6	nf = 14	Fc = 1m + 3st + 1t + 1T	
*constriccion secundaria = 1.08µm			Cromosoma N° 3			

Cuadro 5. Cariotipo de *Vicia sativa ssp. sativa* L. cv. Alba Beck.

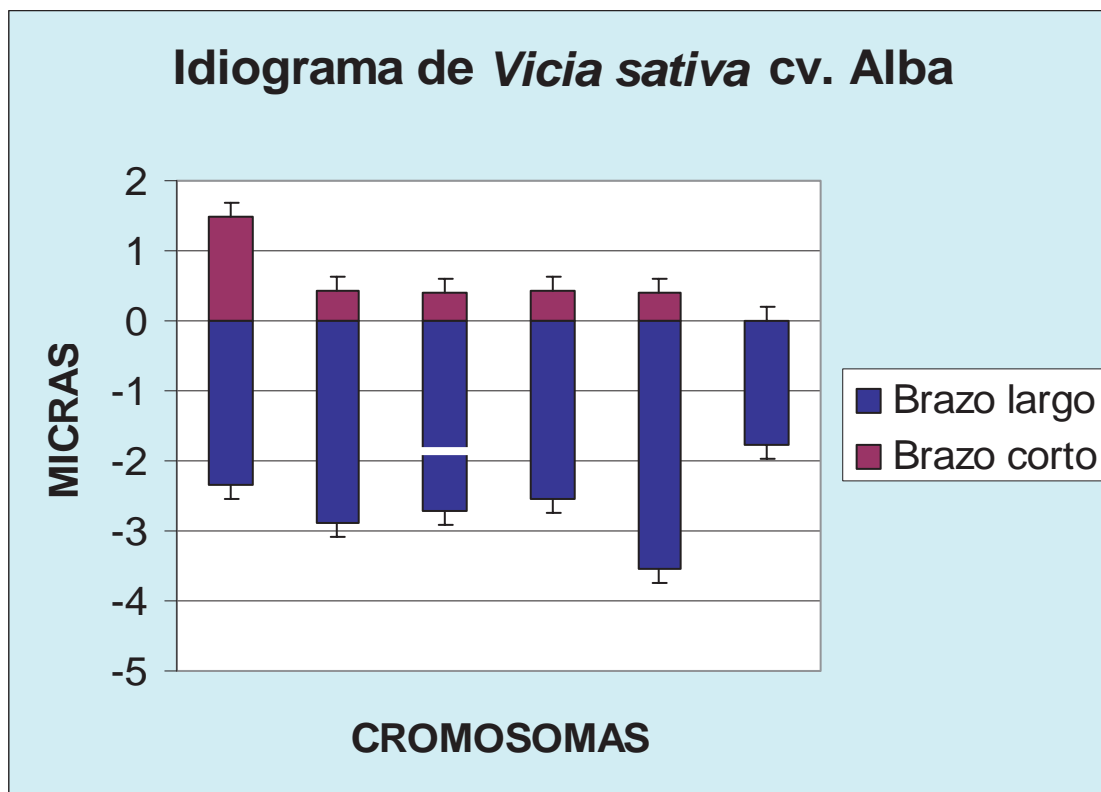


Figura 13. Idiograma de *Vicia sativa ssp. sativa* L. cv. Alba Beck.

6.2.5. *Vicia dasycarpa* Ten.

Vicia dasycarpa presentó un número cromosómico de $2n = 14$, lo que coincide con los números registrados (Turner, 1977; Goldblatt y Johnson, 1991-2001), con un número básico de $X = 7$ (Fig. 14). Una longitud total del genomio de $24.34 \mu\text{m}$ y una desviación estándar de 1.58 , los cromosomas presentaron una longitud que varía de $2.65 \mu\text{m}$ hasta $4.20 \mu\text{m}$, un número fundamental de 28 ; su fórmula cromosómica es $FC = 1m + 6sm$, lo que corresponde a un cromosoma metacéntrico y seis submetacéntricos (Fig 15), con una constricción secundaria de $0.909 \mu\text{m}$ en el cromosoma número 1 (Cuadro 6).

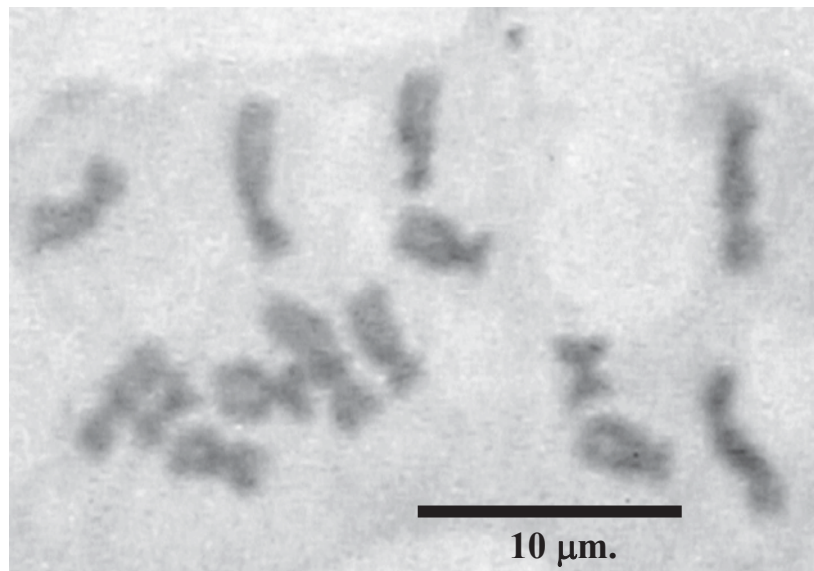


Figura 14. Fotomicrografía de los cromosomas y cariograma de *Vicia dasycarpa*. (se indica la numeración de cada par cromosómico).

<i>Vicia dasycarpa</i> Ten.						
Cromosoma	Long. Total ± DS	Long Relativa	Brazo Corto	Brazo Largo	Rel de Brazos	Clasificación
*1	2.65 ± 0.02	10.89	1.386	1.265	0.912	m
2	4.21 ± 0.03	17.27	1.089	3.117	1.804	sm
3	3.96 ± 0.04	16.28	1.12	2.843	1.981	sm
4	3.67 ± 0.02	15.08	1.064	2.609	1.909	sm
5	3.48 ± 0.05	14.31	1.198	2.287	2.452	sm
6	3.48 ± 0.04	14.27	1.165	2.309	2.538	sm
7	2.89 ± 0.03	11.90	1.033	1.864	2.863	sm
		100				
		2.26DS				
Total	24.34	2n= 14	x = 7	nf = 28	Fc = 1m + 6sm	
*constricción secundaria = 0.909µm			Cromosoma N° 1			

Cuadro 6. Cariotipo de *Vicia dasycarpa* Ten.

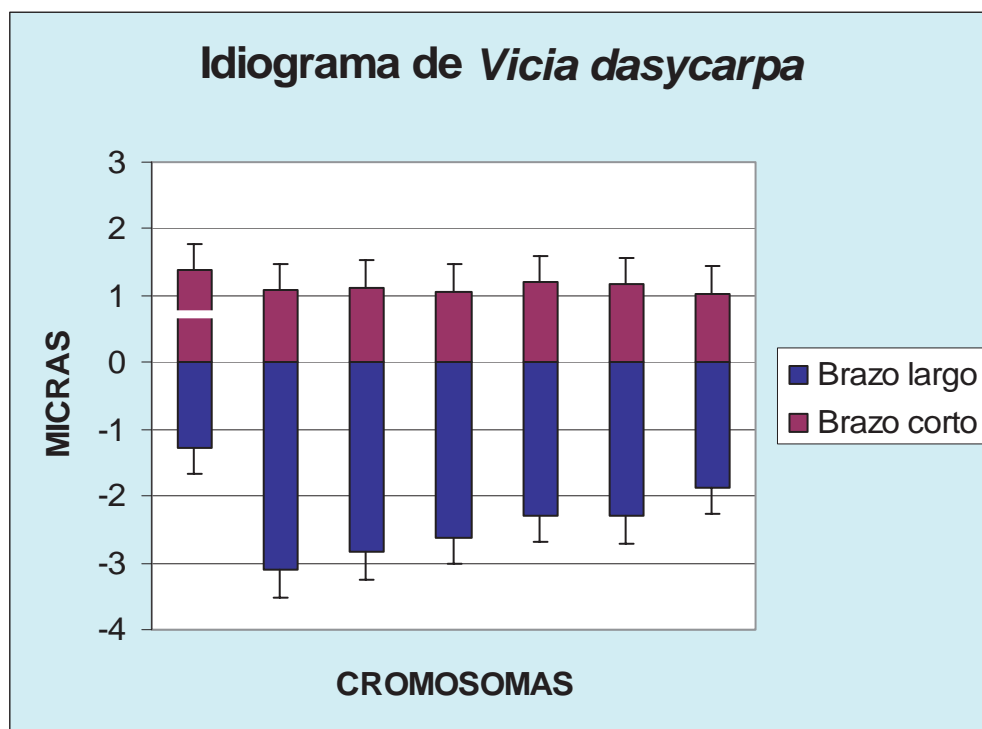


Figura 15. Idiograma de *Vicia dasycarpa* Ten.

6.2.6. *Vicia benghalensis* L.

Vicia benghalensis presentó un número cromosómico de $2n = 14$, que coincide con el número registrado para esta especie (Turner, 1977 ; Goldblatt y Jonson 1991-2001), con un número básico de $X = 7$ (Fig. 16). La longitud total del genomio de $26.25 \mu\text{m}$ y una desviación estándar de 0.89 , los cromosomas presentaron una longitud que varía de $2.37 \mu\text{m}$ hasta $4.81 \mu\text{m}$, el número fundamental de 28 . La fórmula cromosómica es $FC = 2m + 5sm$, con dos cromosomas metacéntricos y 5 submetacéntricos (Fig. 17), una constricción secundaria de $1.035 \mu\text{m}$ en el cromosoma número 2 (Cuadro 7).

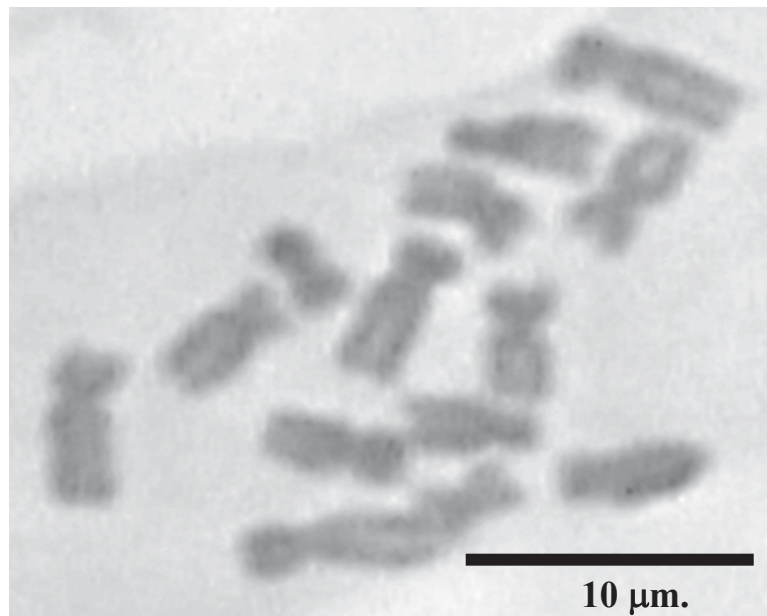


Figura 16. Fotomicrografía de los cromosomas y cariograma de *Vicia benghalensis*. (se indica la numeración de cada par cromosómico).

<i>Vicia benghalensis</i> L.						
Cromosoma	Long. Total	Long Relativa	Brazo Corto	Brazo Largo	Rel de Brazos	Clasificación
1	3.43 ± 0.02	13.02	1.271	2.148	0.831	m
*2	2.37 ± 0.04	9.01	1.292	1.074	1.69	m
3	4.81 ± 0.05	18.34	1.571	3.244	1.896	sm
4	4.41 ± 0.04	16.81	1.375	3.039	2.05	sm
5	3.91 ± 0.04	14.92	1.349	2.569	1.905	sm
6	3.67 ± 0.02	14.01	1.205	2.471	2.21	sm
7	3.65 ± 0.03	13.89	1.259	2.388	2.064	sm
		100				
		2.97DS				
Total	26.25	2n= 14	x = 7	nf = 28	Fc = 2m + 5sm	
*constriccion secundaria = 1.035µm.			Cromosoma N° 2			

Cuadro 7. Cariotipo de *Vicia benghalensis* L.

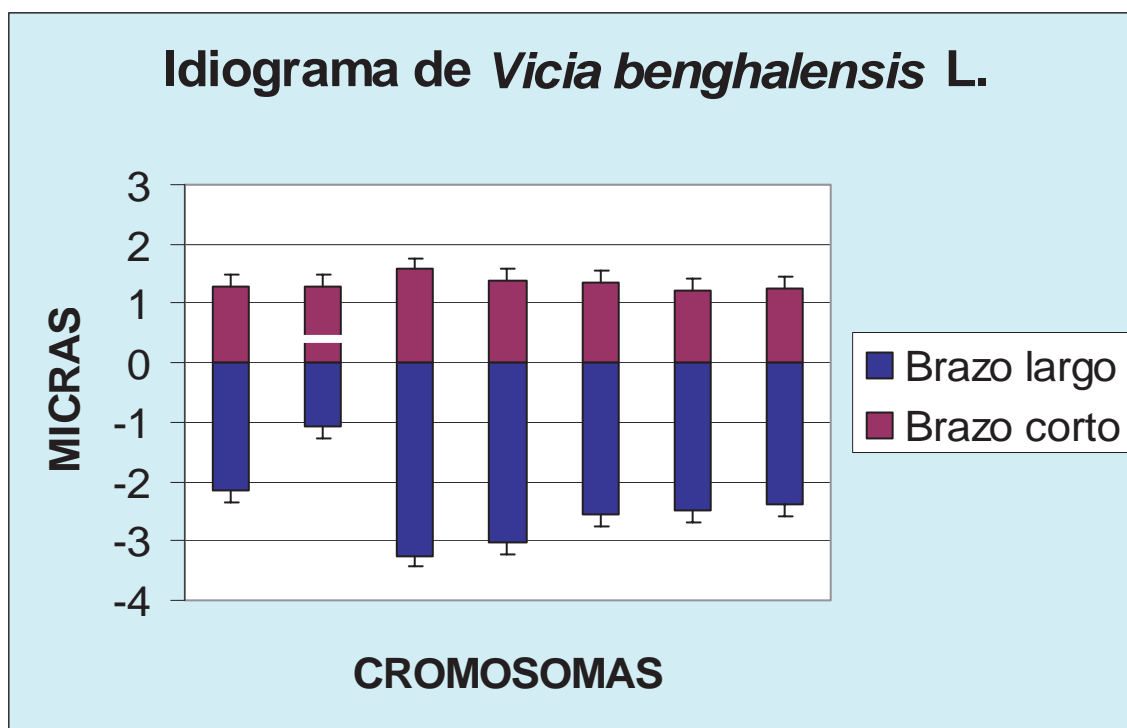


Figura 17. Idiograma de *Vicia benghalensis* L.

6.2.7. *Vicia villosa* Roth.

Vicia villosa presentó un número cromosómico de $2n = 14$, mismo que coincide con lo registrado (Turner, 1977 ; Goldblatt y Johnson, 1991-2001), con un número básico de $X = 7$ (Fig. 18). Una longitud total del genomio de $25.0 \mu\text{m}$ y una desviación estándar de 1.11 , los cromosomas presentaron una longitud que varía de $2.94 \mu\text{m}$ hasta $4.23 \mu\text{m}$, con un número fundamental de 28 . La fórmula cromosómica es $FC = 2m + 5sm$, correspondiendo a dos cromosomas metacéntricos y 5 submetacéntricos (Fig.19), con una constricción secundaria de $1.0 \mu\text{m}$ en el cromosoma número 4 (Cuadro 8).

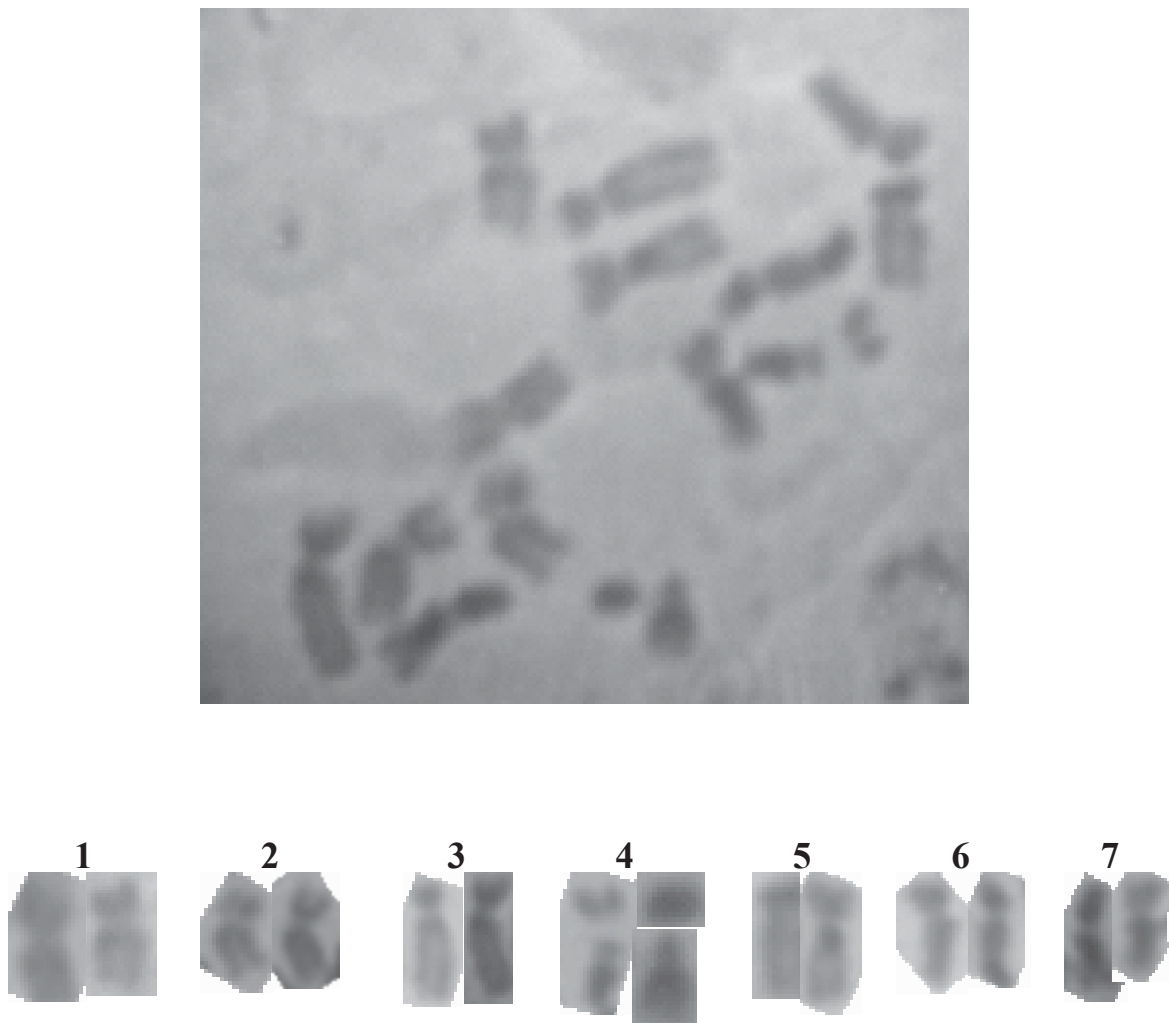


Figura 18. Fotomicrografía de los cromosomas y cariograma de *Vicia villosa* (se indica la numeración de cada par cromosómico).

<i>Vicia villosa</i> Roth.						
Cromosoma	Long. Total	Long Relativa	Brazo Corto	Brazo Largo	Rel de Brazos	Clasificación
1	3.4 ± 0.04	13.6	1.34	2.06	1.537	m
2	2.94 ± 0.02	11.76	1.09	1.85	1.697	m
3	4.23 ± 0.03	16.92	1.19	3.04	2.554	sm
*4	3.99 ± 0.02	15.96	1.45	2.54	1.751	sm
5	3.85 ± 0.03	15.4	1.15	2.70	2.347	sm
6	3.41 ± 0.05	13.64	1.14	2.27	1.991	sm
7	3.18 ± 0.04	12.72	1.01	2.17	2.148	sm
		100				
		1.85DS				
Total	25.0	2n = 14	x = 7	nf = 28	Fc = 2m + 5sm	
*Constricción secundaria = 1.0µm.			Cromosoma N° 4			

Cuadro 8. Cariotipo de *Vicia villosa* Roth.

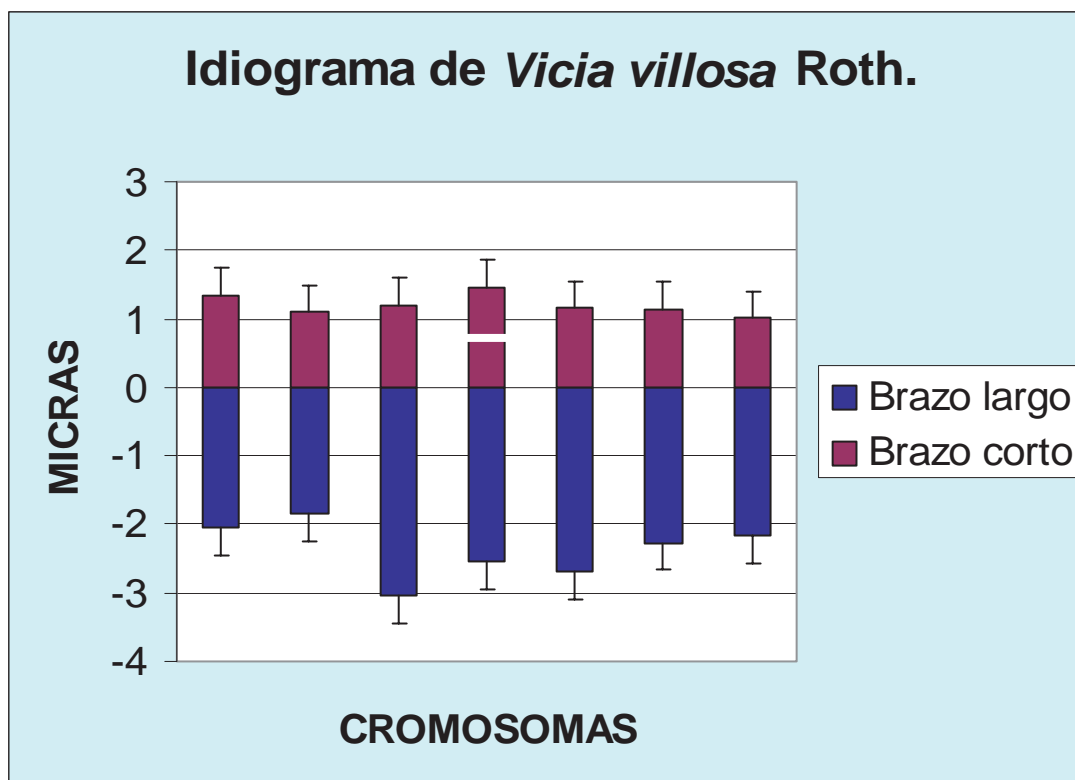


Figura 19. Idiograma de *Vicia villosa* Roth.

6.2.8. *Vicia disperma* DC.

Vicia disperma presentó un número cromosómico de $2n = 14$, coincidiendo con lo registrado (Hermann, 1960), con un número básico de $X = 7$ (Fig. 20). La longitud total del genomio de $21.08 \mu\text{m}$ y una desviación estándar de 1.25 , los cromosomas presentaron una longitud que varía de $2.89 \mu\text{m}$ hasta $3.76 \mu\text{m}$, un número fundamental de 28. Su fórmula cromosómica es $FC = 3m + 4sm$, lo que corresponde a tres cromosomas metacéntricos y 4 submetacéntricos (Fig. 21), con una constricción secundaria de $1.0 \mu\text{m}$ en el cromosoma número 2 (Cuadro 9).

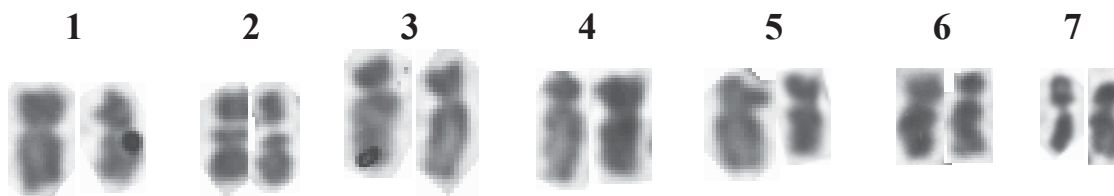
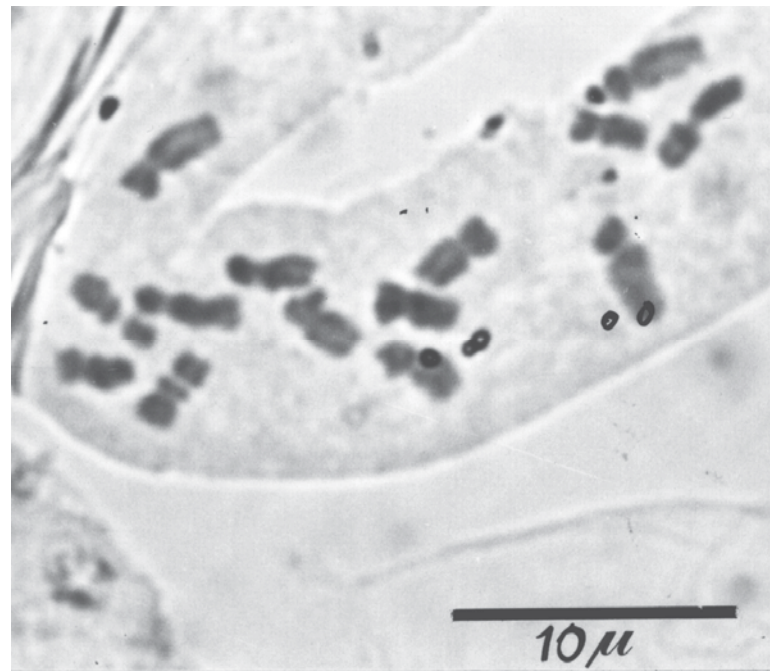


Figura 20. Fotomicrografía de los cromosomas y cariograma de *Vicia disperma* DC. (se indica la numeración de cada par cromosómico).

<i>Vicia disperma</i> DC.						
Cromosoma	Long. Total + DS	Long Relativa	Brazo Corto	Brazo Largo	Rel de Brazos	Clasificación
1	2.89 ± 0.02	13.71	1.195	1.695	1.695	m
*2	2.78 ± 0.03	13.18	1.734	1.044	0.6	m
3	2.77 ± 0.04	13.13	1.025	1.744	1.7	m
4	3.76 ± 0.01	17.82	1.074	2.683	2.498	sm
5	3.31 ± 0.02	15.73	0.939	2.378	2.532	sm
6	3.13 ± 0.02	14.86	1.098	2.036	2.765	sm
7	2.44 ± 0.03	11.57	0.854	1.585	1.855	sm
		100				
		2.04 DS				
Total	21.08	2n= 14	x = 7	nf = 28	Fc = 3m + 4sm	
*constriccion secundaria = 1.0µm			Cromosoma N° 2			

Cuadro 9. Cariotipo de *Vicia disperma* DC.

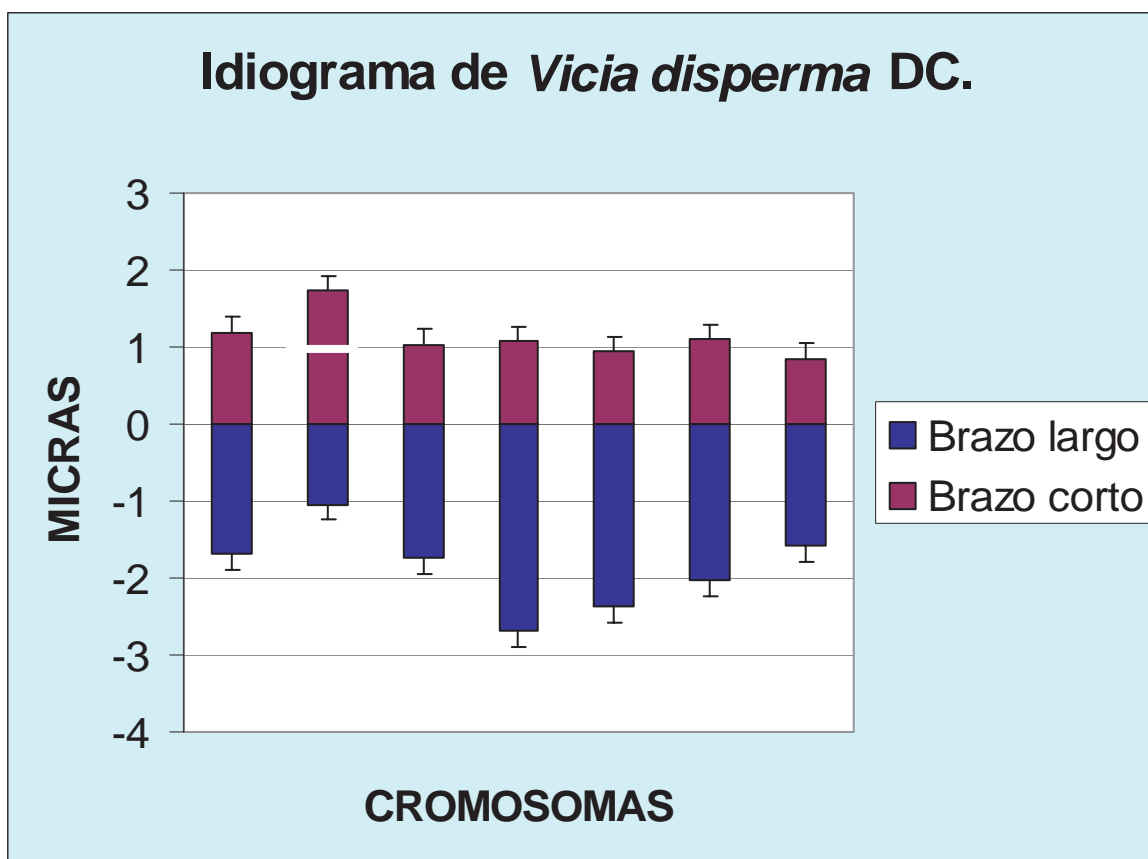


Figura 21. Idiograma de *Vicia disperma* DC.

6.3. Análisis comparativo de los ocho taxa del género *Vicia*. (Leguminosae).

En el presente trabajo se realizó un estudio comparativo de los ocho cultivares, con respecto a las características que definen al cariotipo, como son: Número cromosómico, Número básico, longitud total del genomio (LTG), tamaño absoluto (LTC), tamaño relativo (TRC), relación de brazos y por último el Índice de Asimetría.

6.3.1. Número Cromosómico y número básico.

El número cromosómico observado en los ocho taxa del género fue de $2n = 12$ para *Vicia sativa* y sus tres cultivares (Aneto, Hifa y Alba) y de $2n = 14$ para las especies *V. dasycarpa*, *V. benghalensis*, *V. villosa* y *V. disperma*. Por lo tanto el número básico para *V. sativa* y sus cultivares es de $X = 6$ y de $X = 7$ para las especies *V. dasycarpa*, *V. benghalensis*, *V. villosa* y *V. disperma* (Cuadro 10); estos resultados coinciden con los registrados para este género (Palomino, 1981; Raina y Narayan, 1984).

Especie	Numero cromosómico 2n	Numero básico (X)
<i>Vicia sativa</i> L. (vicia común)	12	6
<i>V. sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Aneto	12	6
<i>V. sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Hifa	12	6
<i>V. sativa</i> ssp. <i>sativa</i> L. cv. Alba Beck	12	6
<i>Vicia dasycarpa</i> Ten.	14	7
<i>Vicia benghalensis</i> L.	14	7
<i>Vicia villosa</i> Roth	14	7
<i>Vicia disperma</i> DC.	14	7

Cuadro 10. Número cromosómico y número básico de los cultivares del género *Vicia*.

6.3.2. Longitud Total del Genomio (LTG)

La longitud total del genomio para cada uno de los taxa, se obtuvo mediante la sumatoria de cada uno los pares del genomio, realizándose el análisis de al menos 10 células para cada cultivar, encontrándose una variación que va desde **18.95 μ m** hasta **26.25 μ m** (Cuadro 11) (Figura 22).

El parámetro de longitud media de los cariotipos, se estimó mediante el análisis de varianza de una vía (ANOVA), posteriormente se realizó la prueba de variación de Tukey para comparar las diferencias entre cada par de medias. Los resultados mostraron que sí hay diferencia significativa entre las medias de *Vicia sativa* y sus cultivares, y las especies de *Vicia dasycarpa*, *Vicia benghalensis* y *Vicia villosa*, no así con *Vicia disperma* (Figura 23). Se encontró una longitud media que varía de **18.95 μ m hasta 26.25 μ m** y un error estándar de **0.457 a 0.646** (Cuadro 11).

Espece	LTG Longitud media Prueba de Tukey (μ m)	Error Estándar
<i>Vicia sativa</i> L. (vicia común)	21.49b	0.45744
<i>V. sativa</i> ssp. macrocarpa, Moris, cv. Aneto	19.18b	0.64692
<i>V. sativa</i> ssp. macrocarpa, Moris, cv. Hifa	20.69b	0.59055
<i>V. sativa</i> ssp. sativa L. cv. Alba, Beck	18.95b	0.51143
<i>Vicia dasycarpa</i> Ten	24.34a	0.45744
<i>Vicia benghalensis</i> L.	26.25a	0.45744
<i>Vicia villosa</i> Roth	25.0a	0.54675
<i>Vicia disperma</i> DC.	21.08b	0.64692

F (ANOVA) ($\alpha = 0.05$)

Los valores de la columna Longitud Media con la misma letra, indica que no existe diferencia significativa.

Cuadro 11. Longitud total del genomio (LTG), análisis de varianza y Error estándar de los ocho taxa del género *Vicia*.

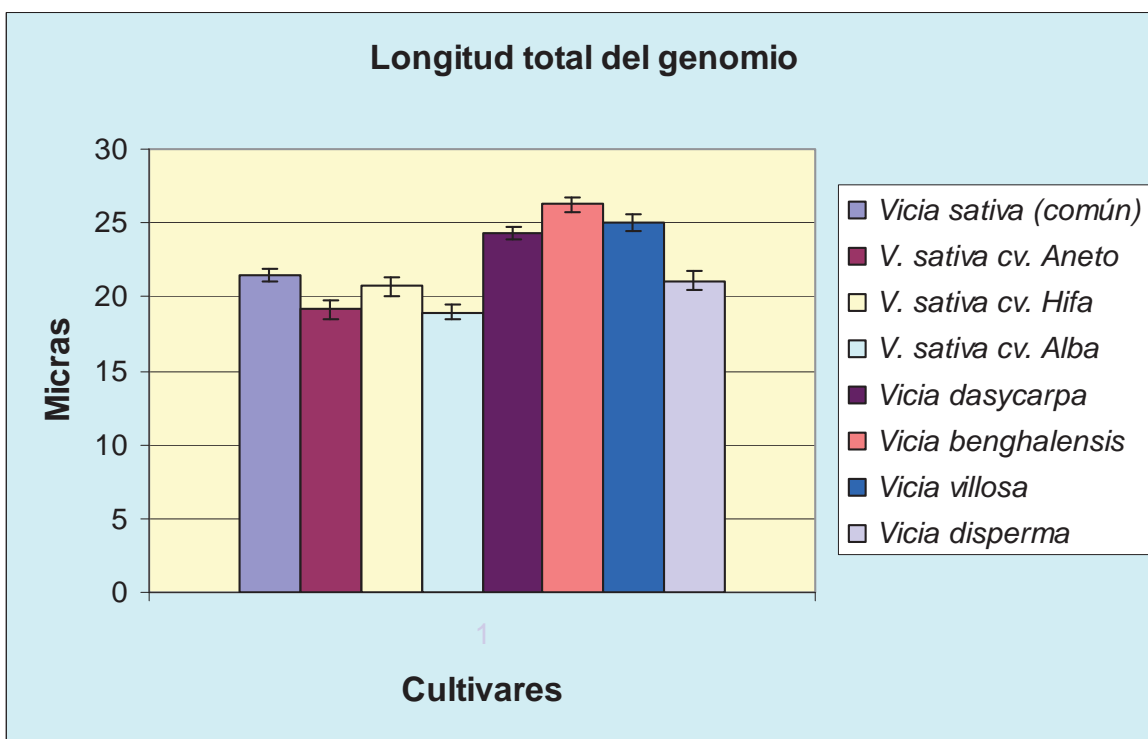


Figura 22. Longitud total del genomio en los ocho taxa del genero *Vicia*.

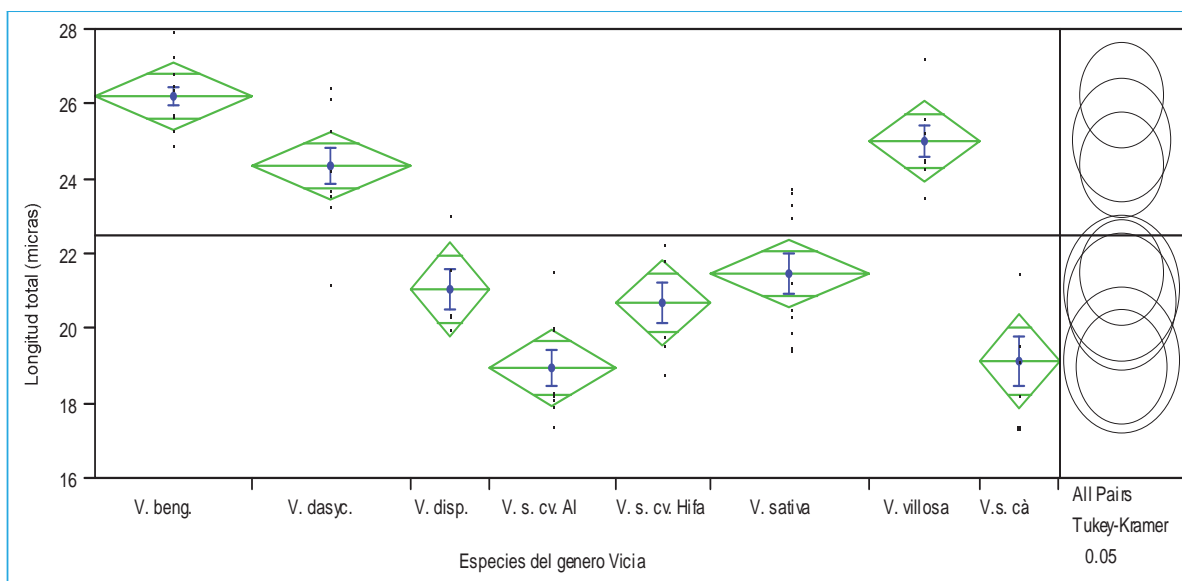


Figura 23. comparación de cada par de medias, prueba de Tukey-Kramer para los ocho taxa del género *Vicia*.

6.3.3. Tamaño absoluto

El tamaño absoluto, se obtuvo mediante la sumatoria de la longitud de ambos brazos cromosómicos (Brazo corto y Brazo largo).

El análisis comparativo de cada uno de los cromosomas, muestra que el cromosoma 1 fue de mayor tamaño en el cultivar Alba de **3.84 μm** y el de menor longitud en la especie ***V. dasycarpa* con 2.65 μm** , con una media de 3.34 μm y un rango de 1,19 μm . (Cuadro 12).

El cromosoma 2 presentó una longitud media de 3.3 μm . siendo de mayor tamaño en *V. dasycarpa* con una longitud de **4.21 μm** y el de menor tamaño con **2.37 μm** en *V. benghalensis*, con rango de 1.84 μm (Cuadro 12).

El cromosoma 3 fue de mayor longitud en *V. benghalensis* y de menor longitud en el cultivar Aneto, con **4.81 μm** y **2.68 μm** respectivamente, con longitud media de 3.58 μm y rango de 2.13 μm (Cuadro 12).

El cromosoma 4 se encontró de igual manera que en el cromosoma anterior, con una longitud de **4.41 μm** en *V. benghalensis*, de 1.81 μm . para el cultivar Aneto, longitud media de 3.23 μm y rango de 2.60 μm El cromosoma 5 fue de mayor longitud en *Vicia sativa*, con longitud de 4.7 μm , mientras que el de menor tamaño se encontró en *Vicia disperma* con 3.31 μm , la longitud media fue de 3.95 μm y el rango de 1.39 μm (Cuadro 12).

El cromosoma 6 fue de mayor longitud en *V. sativa* cultivar Aneto con 4.14 μm y de menor tamaño en el cultivar Alba con 1.78 μm con una media de 3.19 μm y rango de 2.36 μm . Y el cromosoma 7 de mayor tamaño se encontró en *V. benghalensis*, con longitud de 3.65 μm y el de menor tamaño en *V. disperma*, con longitud de 2.44 μm , con longitud media de 3.04 μm y rango de 1.21 μm (Cuadro 12).

TAMAÑO ABSOLUTO			cromosomas						
			1	2	3	4	5	6	7
<i>Vicia sativa</i> L. (vicia común)			3.56 + 0.03	4.17 + 0.05	3.8 + 0.01	3.29 + 0.02	4.7 + 0.04	1.97 + 0.02	
<i>V. sativa</i> ssp. macrocarpa, Moris, cv. Aneto			3.23 + 0.04	3.29 + 0.02	2.68 + 0.02	1.81 + 0.05	4.01 + 0.01	4.14 + 0.03	
<i>V. sativa</i> ssp. macrocarpa, Moris, cv. Hifa			3.71 + 0.03	3.33 + 0.06	3.28 + 0.03	1.99 + 0.02	4.42 + 0.01	3.96 + 0.02	
<i>V. sativa</i> ssp. sativa L. cv. Alba, Beck			3.84 + 0.02	3.32 + 0.04	3.11 + 0.05	2.96 + 0.03	3.94 + 0.03	1.78 + 0.02	
<i>Vicia dasycarpa</i> Ten			2.65 + 0.02	4.21 + 0.03	3.96 + 0.04	3.67 + 0.02	3.48 + 0.05	3.48 + 0.04	2.89 + 0.03
<i>Vicia benghalensis</i> L.			3.43 + 0.02	2.37 + 0.04	4.81 + 0.05	4.41 + 0.04	3.91 + 0.04	3.67 + 0.02	3.65 + 0.03
<i>Vicia villosa</i> Roth			3.4 + 0.04	2.94 + 0.02	4.23 + 0.03	3.99 + 0.02	3.85 + 0.03	3.41 + 0.05	3.18 + 0.04
<i>Vicia disperma</i> DC.			2.89 + 0.02	2.78 + 0.03	2.77 + 0.04	3.76 + 0.01	3.31 + 0.02	3.13 + 0.02	2.44 + 0.03
	Media		3.34	3.30	3.58	3.23	3.95	3.19	3.04
	Rango		1.19	1.84	2.13	2.6	1.39	2.36	1.21

Cuadro 12. Tamaño absoluto de los ocho taxa del género *Vicia*.

6.3.4. Tamaño relativo

El tamaño relativo de los cromosomas, se estimó en base al porcentaje que ocupa cada uno de ellos en el cariotipo, encontrando una longitud relativa media de **16.67 %** para *Vicia sativa* y sus cultivares, mientras que para *V. dasycarpa* fue de **14.68%**, de **14.35%** para *V. benghalensis*, de **14.55%** para *V. villosa* y de **14.74%** para *V. disperma* (Cuadro 13).

Tamaño Relativo	cromosomas							%	Media
	1	2	3	4	5	6	7		
<i>Vicia sativa</i> L. (vicia común)	16.57	19.4	17.68	15.31	21.87	9.17		100	16.67
<i>V. sativa</i> ssp. macrocarpa, Moris, cv. Aneto	16.85	17.18	13.99	9.472	20.9	21.61		100	16.67
<i>V. sativa</i> ssp. macrocarpa, Moris, cv. Hifa	17.93	16.09	15.85	9.618	21.36	19.14		100	16.67
<i>V. sativa</i> ssp. sativa L. cv. Alba, Beck	20.28	17.48	16.39	15.67	20.78	9.4		100	16.67
<i>Vicia dasycarpa</i> Ten	10.89	17.27	16.28	15.08	14.31	14.27	11.90	100	14.68
<i>Vicia benghalensis</i> L.	13.02	9.01	18.34	16.81	14.92	14	13.89	100	14.35
<i>Vicia villosa</i> Roth	13.6	11.76	16.92	15.96	15.4	13.64	12.72	100	14.55
<i>Vicia disperma</i> DC.	13.70	13.18	13.13	17.82	15.73	14.86	11.56	100	14.74

Cuadro 13. Tamaño relativo de los cromosomas de los ocho taxa del género *Vicia*.

6.3.5. Relación de brazos, Fórmula cromosómica y Número fundamental.

La morfología cromosómica se determinó por la posición del centrómero, el cual es el marcador más importante en la clasificación de los cariotipos; este parámetro se estimó mediante el cociente de la longitud del brazo largo entre la longitud del brazo corto.

Es importante mencionar que la clasificación se realizó de acuerdo a la nomenclatura de Levan *et al.* (1964). Una vez que se llevó a cabo la clasificación, se dedujeron la fórmula cromosómica y el número fundamental.

Respecto a los cariotipos se encontró que *Vicia sativa* y sus tres cultivares presentaron cariotipos asimétricos, ya que se encontraron cromosomas con el centrómero en la posición media (metacéntricos m) hasta aquellos con el centrómero en la posición terminal (telocéntricos T), sin embargo, es importante resaltar que en los 4 taxa se conservó un mismo citotipo, ya que en todos ellos se encontró la misma fórmula cromosómica (1 metacéntrico, 3 subtlocéntricos, 1 acrocéntrico y 1 telocéntrico) aún cuando el tamaño de los cromosomas en cada una de ellas es variable (Figura 24. A, B, C y D) (Cuadro 14).

Relación de brazos	Cromosomas							Formula cromosómica	Numero fundamental
	1	2	3	4	5	6	7		
<i>Vicia sativa</i> L. (vicia común)	1.52	6.18	5.55	5.09	7.39	0		1m + 3st + 1t + 1T	14
<i>V. sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Aneto	1.54	5.71	4.49	3.74	7.21	0		1m + 3st + 1t + 1T	14
<i>V. sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Hifa	1.47	5.83	5.72	3.09	8.11	0		1m + 3st + 1t + 1T	14
<i>V. sativa</i> ssp. <i>sativa</i> L. cv. Alba Beck	1.56	6.57	6.64	5.78	8.69	0		1m + 3st + 1t + 1T	14
<i>Vicia dasycarpa</i> Ten.	0.91	1.80	1.98	1.90	2.45	2.53	2.86	1m + 6sm	28
<i>Vicia benghalensis</i> L.	0.83	1.69	1.89	2.05	1.90	2.21	2.06	2m + 5sm	28
<i>Vicia villosa</i> Roth	1.537	1.697	2.554	1.751	2.347	1.991	2.148	2m + 5sm	28
<i>Vicia disperma</i> DC.	1.69	0.6	1.7	2.49	2.53	2.76	1.85	3m + 4sm	28

Cuadro 14. Relación de brazos, Fórmula cromosómica y Número fundamental de los ocho taxa del género *Vicia*.

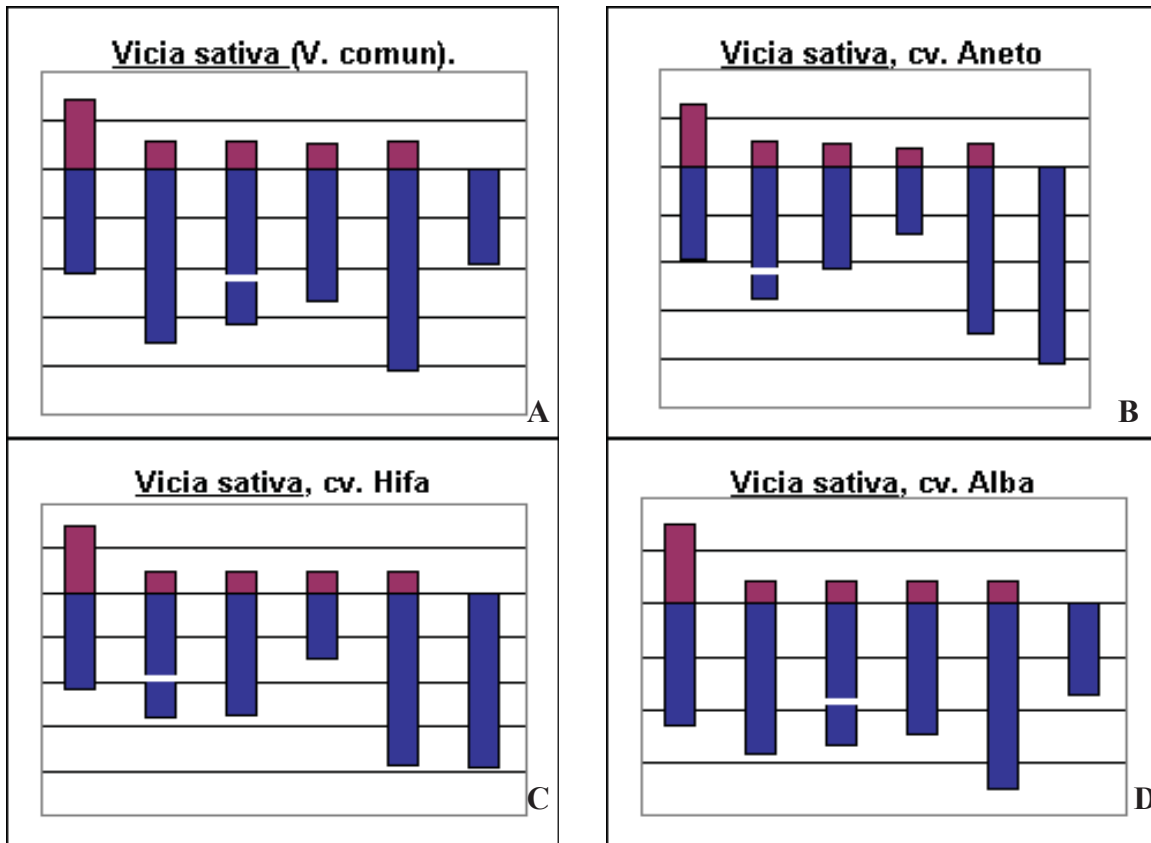


Figura 24 (A, B, C, y D). Idiogramas comparativos de *Vicia sativa* y sus cultivares, representando relación de brazos, fórmula cromosómica y constricción secundaria.

En las especies *V. dasycarpa*, *V. benghalensis*, *V. villosa* y *V. disperma* se encuentran cariotipos más simétricos, con fórmulas cromosómicas que sólo incluyen cromosomas con el centrómero en la región media (m) y submedia (sm), observándose 1 metacéntrico y 6 submetacéntricos para *Vicia dasycarpa*; 2 metacéntricos y 5 submetacéntricos para *Vicia benghalensis* y *Vicia villosa*, y por último, 3 metacéntricos y 4 submetacéntricos para *Vicia disperma* (Figura 25. A, B, C y D)(Cuadro 14).

Estas observaciones concuerdan con el número fundamental encontrado en los taxa, ya que en aquellos cariotipos más simétricos se encontró un número fundamental de 28, como es el caso de las especies *V. dasycarpa*, *V. benghalensis*, *V. villosa* y *V. disperma*, no así en el caso de *Vicia sativa* y los cultivares Aneto, Hifa y Alba, en donde se encontró un número fundamental de 14 (Cuadro 14).

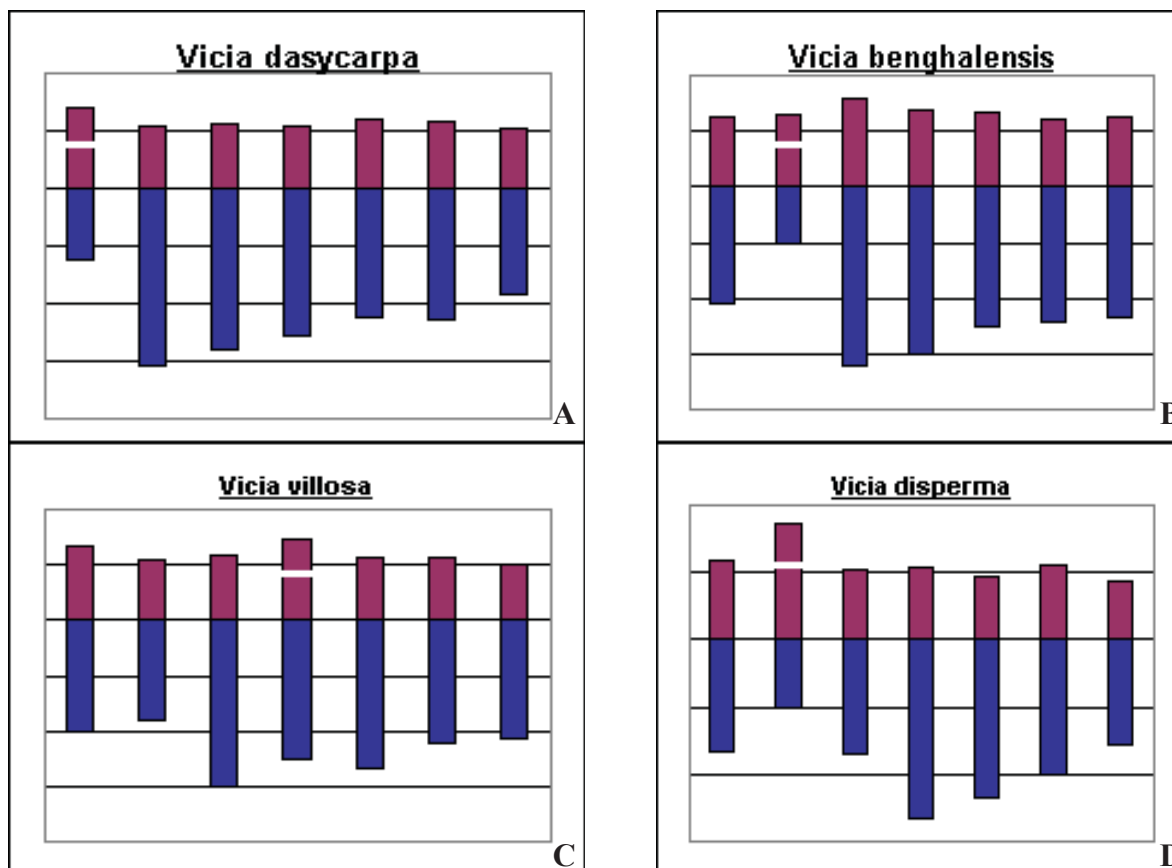


Figura 25. Idiogramas comparativos de *Vicia dasycarpa* (A), *V. benghalensis* (B), *V. villosa* (C) y *V. disperma* (D), representando relación de brazos, fórmula cromosómica y constricción secundaria.

6.3.6. Constricción secundaria.

El estudio cariotípico reveló la presencia de constricciones secundarias en los ocho taxa del género, sin embargo, esta característica se observó en diferentes cromosomas, en diferente posición y con una longitud variable (Cuadro 15). En *Vicia sativa* y el cultivar Alba, la constricción se observó en el brazo largo del cromosoma 3, mientras que en los cultivares Aneto e Hifa se observó en el brazo largo del cromosoma 2 (Figura 24 A, B, C y D) (Cuadro 15). En la especie *Vicia dasycarpa* se observó en el brazo corto del cromosoma 1 (Figura 25 A), mientras que en *Vicia benghalensis* y *Vicia disperma* se localizó en el brazo corto del cromosoma 2 (Figura 25 B y D), en *Vicia villosa* se encontró en el brazo

corto del cromosoma 4 (Figura 25 C). La longitud de las constricciones tuvo una variación muy pequeña, ya que el valor mínimo fue de $0.90\mu\text{m}$ y el máximo de $1.22\mu\text{m}$, lo que representa un rango de $0.32\mu\text{m}$ (Cuadro 15).

Especie	Longitud	Localización
<i>Vicia sativa</i> L. (vicia común)	1.22 μm .	Brazo largo Cromosoma N° 3
<i>V. sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Aneto	1.02 μm .	Brazo largo Cromosoma N° 2
<i>V. sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Hifa	0.954 μm .	Brazo largo Cromosoma N° 2
<i>V. sativa</i> ssp. <i>sativa</i> L. cv. Alba Beck	1.08 μm .	Brazo largo Cromosoma N° 3
<i>Vicia dasycarpa</i> Ten.	0.909 μm .	Brazo corto Cromosoma N° 1
<i>Vicia benghalensis</i> L.	1.035 μm .	Brazo corto Cromosoma N° 2
<i>Vicia villosa</i> Roth	1.00 μm .	Brazo corto Cromosoma N° 4
<i>Vicia disperma</i> DC.	1.003 μm .	Brazo corto Cromosoma N° 2

Cuadro 15. Longitud y localización de la constricción secundaria en los ocho taxa del genero *Vicia*.

6.3.7. Índice de Asimetría

El índice de asimetría se estimó por medio de los parámetros numéricos A_1 y A_2 , propuesto por **Romero (1986)**. Con el primero (A_1) se determinó la asimetría intracromosómica y con el segundo (A_2), se determinó la asimetría intercromosómica.

Los valores observados para el índice intracromosómico en los diferentes taxa, varía desde **0.3104** (*Vicia disperma*) hasta **0.7949** (*V. sativa*, cultivar Alba). Respecto al índice intercromosómico, el valor más bajo se encontró en *Vicia villosa*, siendo este de **0.1300** y el más alto en *Vicia sativa* cultivar Aneto, con un valor de **0.2705** (Cuadro 16).

Una vez que se tienen estos dos índices, se hizo la representación gráfica simultánea en dos coordenadas, para realizar la comparación de las variaciones numéricas

continuas de los diferentes cariotipos. Esto permite detectar y comparar pequeños y paulatinos cambios en la evolución del cariotipo (Romero, 1986) (Figura 26).

Especies	A1	A2
<i>Vicia sativa</i> L. (vicia común)	0.7784	0.2597
<i>V. sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Aneto	0.7582	0.2705
<i>V. sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Hifa	0.7548	0.2406
<i>V. sativa</i> ssp. <i>sativa</i> L. cv. Alba Beck	0.7949	0.2467
<i>Vicia dasycarpa</i> Ten.	0.4529	0.1585
<i>Vicia benghalensis</i> L.	0.3897	0.2077
<i>Vicia villosa</i> Roth	0.4863	0.1300
<i>Vicia disperma</i> DC.	0.3104	0.1434

Cuadro 16. Índice de Asimetría de los ocho taxa del género *Vicia*.

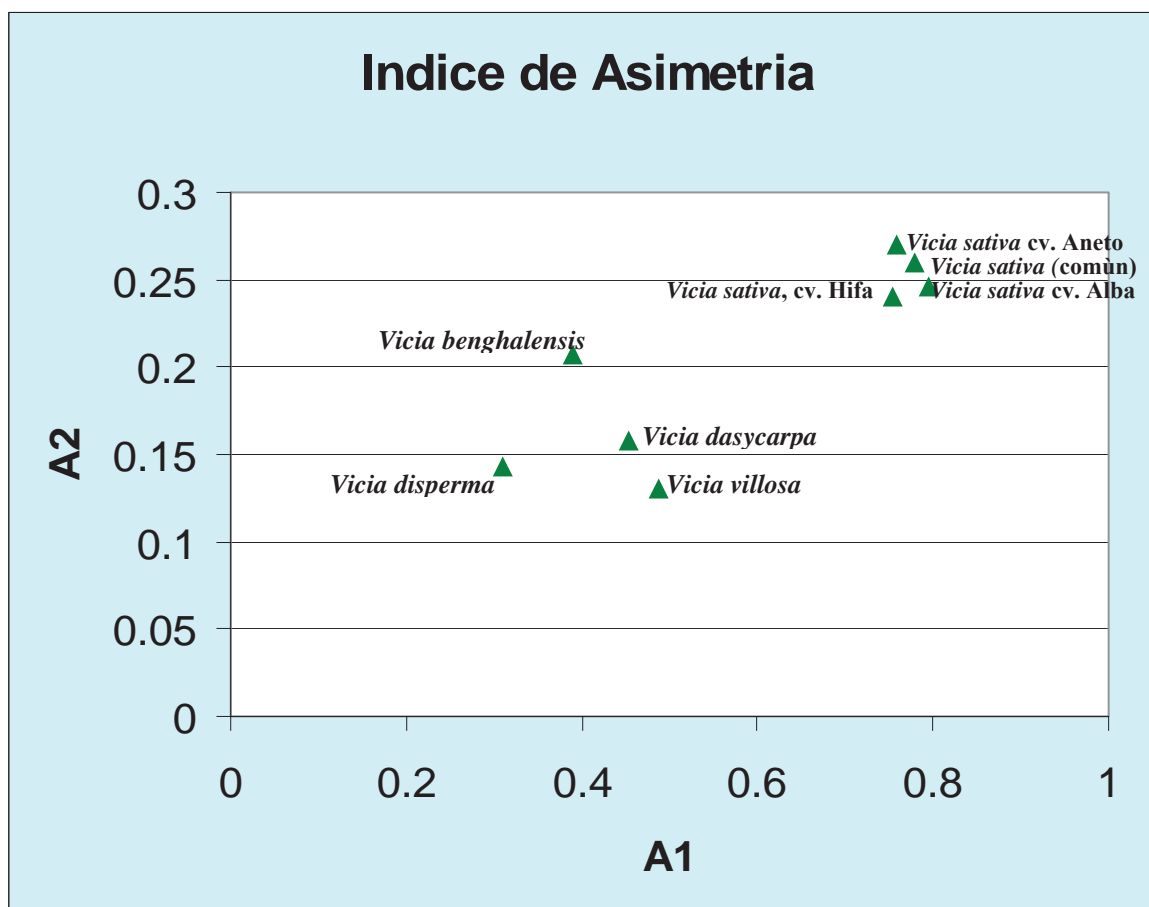


Figura 26. Índice de asimetría de los ocho taxa del género *Vicia*.

6.4. Relaciones filogenéticas y taxonómicas de los ocho taxa del genero *Vicia*.

Las características cariotípicas permiten distinguir o diferenciar a las especies, de esta manera, la variación cromosómica, aunque a veces no es muy grande, está acompañada de una divergencia evolutiva de los taxa estudiados, es un fenómeno general de los reinos animal y vegetal, al mismo tiempo, las similitudes pueden indicar relaciones entre los taxa (Goodspeed, 1954; Rieseberg, 2001).

Con los resultados del análisis cromosómico comparativo de los taxa del género, se construyó una matriz de datos de similitud, utilizando parámetros que pudieran generar información, para establecer las posibles relaciones filogenéticas y taxonómicas de los taxa estudiados (Cuadro 17).

Especies	N.C	(X)	L. T. G.	R. T. Abs.	R. T. R.	R. Rel. de B.	A1	A2
<i>Vicia sativa</i> L. (vicia común)	12	6	21.49	2.73	12.7	5.87	0.778	0.259
<i>V. sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Aneto	12	6	19.18	2.33	12.14	5.67	0.758	0.27
<i>V. sativa</i> ssp. <i>macrocarpa</i> Moris cv. Hifa	12	6	20.69	2.43	11.74	6.64	0.754	0.24
<i>V. sativa</i> ssp. <i>sativa</i> L. cv. Alba Beck	12	6	18.95	2.16	11.38	7.13	0.795	0.246
<i>Vicia dasycarpa</i> Ten.	14	7	24.34	1.56	6.38	1.95	0.453	0.158
<i>Vicia benghalensis</i> L.	14	7	26.25	2.44	9.33	1.38	0.389	0.207
<i>Vicia villosa</i> Roth	14	7	25	1.29	5.16	1.02	0.486	0.13
<i>Vicia disperma</i> DC.	14	7	21.08	1.32	6.25	2.16	0.31	0.143

Abreviaturas: N. C. = Número cromosómico, N. F. = Número Fundamental, X = Numero Basico, L. T. G. = Longitud total del genomio, R. T. Abs. = Rango del tamaño absoluto, R. T. R. = Rango del tamaño relativo, R. Rel. de B. = Rango de la relación de brazos, A1 = Índice intracromosómico, A2 = Índice intercromosómico.

Cuadro 17. Matriz de similitud para análisis de distancias filogenéticas, de los ocho taxa del genero *Vicia*.

Por medio del programa NTSYSpc 1.8 (Rohlf, 1994), se realizó el fenograma con el método UPGMA basado en las similitudes cariotípicas (Fig. 27), con una correlación cofenética de $r = 0.8812$, lo que indica un buen ajuste entre el valor cofenético de la matriz y el promedio de la matriz de distancia euclidiana o taxonómica; los valores de similitud o disimilitud entre las especies varía entre 1.49 hasta 8.87 (Cuadro18).

Nudo	Grupo 1	Grupo 2	Disimilitud.	Prueba para asociación:
1	V. sativa	V. sativa cv.Hifa	1.498	
2	V. sativa cv.Aneto	V. sativa cv. Alba	1.671	Matriz de correlacion: $r = 0.88127$
3	V. dasycarpa	V. villosa	1.692	
4	Nudo 1	Nudo 2	2.326	Aprox. Mantel t-test: $t = 2.9622$
5	Nudo 3	V. disperma	3.755	
6	Nudo 5	V. benghalensis	4.786	Prob. al azar $Z < \text{obs. } Z: p = 0.9985$
7	Nudo 4	Nudo 6	8.875	

Cuadro 18. Valores de disimilitud, coeficiente cofenético (r) y probabilidad (p).

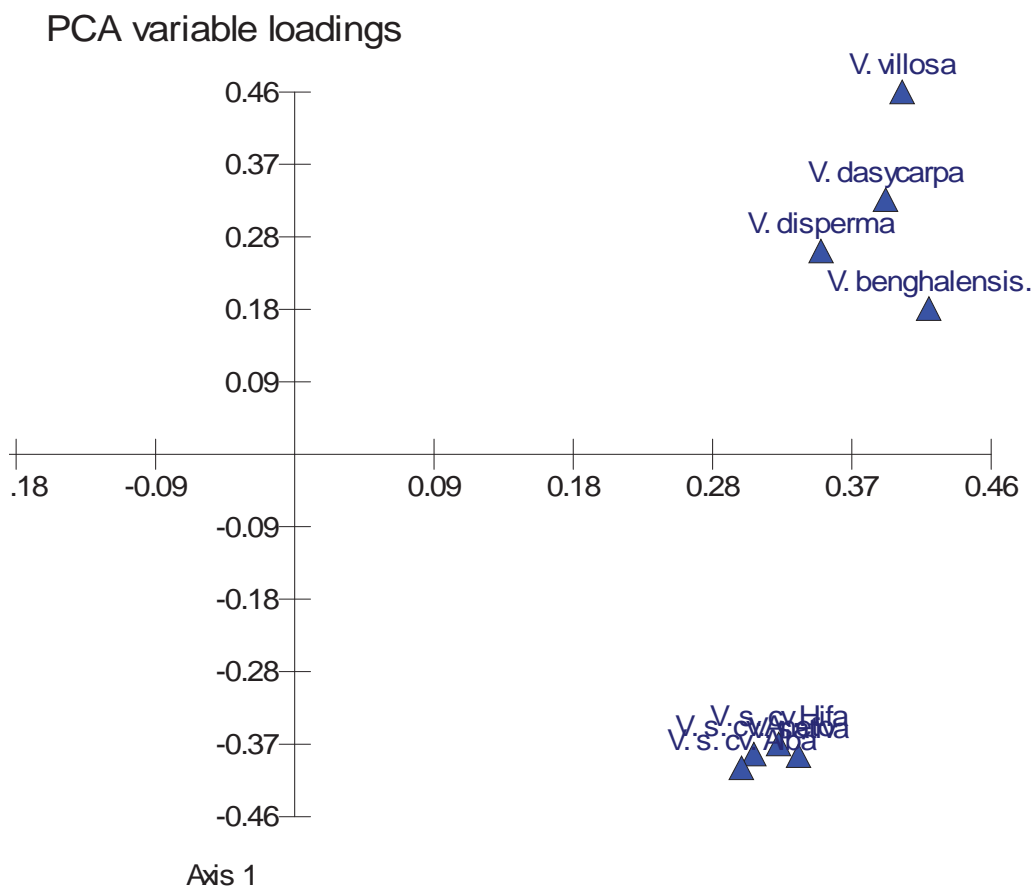


Figura 28. Grafica del análisis de Componentes principales PCA, de los ocho taxa del género *Vicia*.

Los datos de los taxa fueron sometidos a un análisis de componentes principales, con la finalidad de averiguar las características distintivas de cada cariotipo. Los primeros dos componentes suman 99.67% de la variación, la cual se proyecta en una gráfica bidimensional (Fig. 28). El primer componente (96.4%), explica las diferencias en la longitud total del genoma, tamaño absoluto, el número cromosómico y la asimetría del cariotipo de todos los taxa; las especies *V. villosa*, *V. dasycarpa*, *V. disperma* y *V. benghalensis*, se separan de *Vicia sativa* y sus cultivares, ya que cuentan con 14 y 12 cromosomas respectivamente. El segundo componente (3.26%), muestra poca variación en los rangos de tamaño relativo y relación de brazos (Cuadro 19).

Eigenvalores	Eje 1	Eje 2
Eigenvalores	453.960	15.349
Porcentaje	96.414	3.260
Porcentaje acumulado	96.414	99.674
Resultados del PCA		
N. Cromosómico	6.252	0.675
N. Básico	-0.701	0.899
Longitud T. Genoma	16.150	0.737
Rango Tam. Absoluto	-5.525	0.445
Rango Tam. Relativo	2.037	-2.864
Rango Rel. Brazos	-3.727	-1.812
A1	-7.047	0.874
A2	-7.439	1.047

Cuadro 19. Valores del análisis de componentes principales, de los ocho taxa del género *Vicia*.

7. DISCUSION

El genero *Vicia* permitió hacer un análisis comparativo al interior de la especie *Vicia sativa* y sus tres cultivares (Análisis intraespecífico) y por otro lado, el análisis comparativo entre las especies *V. dasycarpa*, *V. benghalensis*, *V. villosa* y *V. disperma* versus *V. sativa* y sus cultivares (Análisis interespecífico).

La caracterización cromosómica muestra que existe una gran similitud respecto del cariotipo entre *Vicia sativa* y sus cultivares, ya que presentaron un número cromosómico de $2n = 12$ y un número básico de $X = 6$ (Altamirano, 1997; Beyazoglu y Hayirlioglu, 1991; Farías y Martínez, 1995; Goldblatt and Johnson, 1994; Farías y Martínez, 1995; Navratilova *et al.*, 2003; Van Loon y Van Setten, 1982; Zhu *et al.*, 1985).

Por otra parte las especies *V. dasycarpa*, *V. benghalensis*, *V. villosa* y *V. disperma* presentan cariotipos muy similares entre si, pero muy diferentes con respecto a *V. sativa* y sus cultivares, ya que tienen un número cromosómico de $2n = 14$, con número básico de $X = 7$, (Heitz, 1931; Schwesnikova, 1968; Kuta, 1980; Van Loon y Van Setten, 1982; Raina y Ress, 1983; Zhu *et al.*, 1985; Raina y Bisht, 1988; Goldblatt y Johnson 1994).

Respecto al número cromosómico dentro del género, las características cromosómicas y fenotípicas sugieren que las especies con 14 cromosomas y un número básico de $X = 7$, son las mas primitivas y que las especies de $2n=12$ y $2n=10$ pueden ser el resultado de la ocurrencia de rearreglos cromosómicos espontáneos, que debieron provocar cambios en su numero básico de cromosomas (Hanelt y Mettin, 1989).

Lo anterior concuerda con los estudios de Jackson (1971) y Jones (1977), quienes mencionan que en organismos superiores existe una tendencia hacia la reducción en el número cromosómico. La reducción en el número cromosómico ha sido explicado en otros organismos como cambios Robertsonianos, en los que una fusión de dos cromosomas del cariotipo ancestral conlleva a la reducción (John, 1975; Jones, 1977; Schubert, 1985).

Respecto a la longitud total del genomio, se observa que la media de la longitud total del genomio para *V. sativa* y sus cultivares varía de **21.49**µm a **18.95**µm y para las especies *V. dasycarpa*, *V. benghalensis*, *V. villosa* y *V. disperma* varía de **21.0**µm hasta **26.25**µm. Estos resultados indican que estadísticamente no hay diferencia significativa entre las medias de *Vicia sativa* y sus cultivares, pero sí existe diferencia significativa entre *Vicia sativa* y las especies *V. dasycarpa*, *V. benghalensis*, y *V. villosa*.

Respecto al tamaño absoluto de los cariotipos, se estimaron las longitudes medias y el rango de cada par cromosómico para encontrar la variabilidad de los mismos entre los ocho taxa; los resultados muestran que los cromosomas 3 y 5 tienen la longitud media más alta, lo que sugiere que son los pares que han ganado más cromatina en el transcurso de la evolución entre estos taxa, mientras que los cromosomas 2, 3, 4 y 6 que presentaron los mayores rangos, son los pares que más modificaciones han sufrido en la evolución entre estos taxa, debido a la pérdida o ganancia de cromatina.

La relación de brazos, determina la morfología y clasificación cromosómica y de estos parámetros, se derivan la fórmula cromosómica y el número fundamental de los cariotipos. La presencia de fusiones del centrómero, favorece la continuidad del total de brazos mayores o número fundamental, aún cuando el número de cromosomas (2n) sea alterado.

Este proceso posiblemente sea la causa de los varios números básicos, observados en las diferentes series poliploides características de las plantas superiores. La conversión de cromosomas metacéntricos a acrocéntricos, puede reducir el número fundamental del cariotipo (**Jackson, 1971**).

En los resultados obtenidos, se observó que el rango de la relación de brazos es muy similar entre *Vicia sativa* y sus cultivares, encontrando valores de **5.87** para *V. sativa*, de **5.67** para el cultivar Aneto, **6.64** para el cultivar Hifa y de **7.13** para el cultivar Alba. Sin embargo, para las especies *V. dasycarpa*, *V. benghalensis*, *V. villosa* y *V. disperma*, los valores son de **1.95**, **1.38**, **1.02** y **2.16** respectivamente.

Estos datos indican que los valores de rango más alto, significan una morfología cromosómica mas variable y en consecuencia mas asimétrica, que en aquellos valores de rangos muy pequeños. Por lo que *V. sativa* y sus cultivares tienen cariotipos más asimétricos que las especies *V. dasycarpa*, *V. benghalensis*, *V. villosa* y *V. disperma*.

El análisis citológico de la relación de brazos en *V. sativa* y sus cultivares, muestra que comparten la misma fórmula cromosómica, observándose cromosomas que varían desde los metacéntricos (**m**) hasta los telocéntricos (**T**), con un número fundamental de **14**, lo que corrobora la asimetría de sus cariotipos (**Farías y Martínez, 1995; Navratilova et al. 2003**).

Respecto a estas características cromosómicas de las especies *V. dasycarpa*, *V. benghalensis*, *V. villosa* y *V. disperma*, no existen registros de su morfología, sin embargo, en el presente estudio se encontró que las cuatro especies solamente presentan cromosomas metacéntricos (**m**) y submetacéntricos (**sm**). Además de un número fundamental de **28**, lo que indica que sus cariotipos son más simétricos que *V. sativa* y sus cultivares.

Las fórmulas cromosómicas deducidas de la relación de brazos indican que *V. sativa* y sus cultivares presentan un mismo citotipo (**1m + 3st + 1t + 1T**), sin embargo, las diferencias principales se basan en pequeñas variaciones morfológicas de los cromosomas, así como en la posición de la constricción secundaria, ya que esta se encuentra en el brazo largo del cromosoma número **3** para *V. sativa* y el cultivar Alba y en el brazo largo del cromosoma número **2** para los cultivares Aneto e Hifa.

Las especies *V. dasycarpa*, *V. benghalensis*, *V. villosa* y *V. disperma*, en contraste con lo observado en *V. sativa* y sus cultivares, tienen fórmulas cromosómicas más simétricas como *V. dasycarpa* (**1m + 6sm**), *V. benghalensis*, y *V. villosa* que comparten el mismo citotipo (**2m + 5sm**) y por último, *V. disperma* que presenta una fórmula más simétrica (**3m + 4sm**).

Es importante mencionar que también en contraste con lo encontrado en *V. sativa* y sus cultivares, la constricción secundaria de estas especies se encuentra en los brazos cortos de sus cromosomas: *V. dasycarpa*, lo presenta en el cromosoma número 1, *V. benghalensis* y *V. disperma* en el cromosoma 2 y *V. villosa* en el cromosoma 4.

Este resultado hace suponer que las diferencias en la morfología del genomio se deben a pequeños y paulatinos cambios, mismos que pueden modificar tanto la morfología cromosómica como al complemento diploide, produciendo formas cromosómicas distintas y favoreciendo así la especiación (Farías, 1989; García, 1985). Este mismo resultado permite confirmar que la cromatina es rearreglada y no perdida (Altamirano, 1997).

Los resultados de los índices de asimetría y la fórmula cromosómica indican que *Vicia sativa* y sus cultivares presentan cariotipos más asimétricos que las especies *V. dasycarpa*, *V. benghalensis*, *V. villosa* y *V. disperma*, estos datos ubican a *Vicia sativa* y sus cultivares dentro del subgénero *Vicia*, sección *Vicia*, la cual tiene un origen monofilético (Hanelt y Mettin, 1989).

En las especies *V. dasycarpa*, *V. benghalensis*, *V. villosa* y *V. disperma*, se encontraron cariotipos más simétricos con la predominancia de cromosomas metacéntricos y submetacéntricos, por lo que colocan a estas especies dentro del subgénero *Cracca* Dumort, (Hanelt y Mettin, 1989; Lavania *et al.*, 1999; Levitzky, 1931; Romero, 1986; Stebbins, 1958).

Estos datos también sugieren que evolutivamente *Vicia sativa* y sus cultivares tienen cariotipos más especializados, ya que las principales teorías que sustentan la evolución de los cariotipos incluyendo al género *Vicia*, deducen que existe un paralelismo de cariotipos más simétricos como caracteres primitivos y cariotipos asimétricos como formas más especializadas (Levitzky, 1931; Stebbins, 1958; Romero, 1986; Hanelt y Mettin, 1989; Lavania *et al.*, 1999).

Con el fenograma obtenido a partir de las características del cariotipo, se intentó el establecimiento de las relaciones taxonómicas entre los ocho taxa del género *Vicia*. Primeramente se observa que *Vicia disperma* y *Vicia benghalensis* son las especies más separadas taxonómicamente del grupo, esto se debe a que presentan una longitud del genomio e índices de asimetría similares, por otro lado *V. disperma* es la especie con el cariotipo más simétrico. Además, considerando que ambas especies presentan la constricción secundaria en el mismo cromosoma (2), las sitúa a ambas especies con un ancestro común y las modificaciones en *V. benghalensis* obedecen a arreglos estructurales que ha sufrido su cariotipo, en el transcurso de su evolución.

En el mismo fenograma se observa que es muy cercano el grado de parentesco entre *Vicia dasycarpa* y *Vicia villosa*, las cuales son continuamente confundidas por sus características fenotípicas, encontrando que no obstante que existe una distancia taxonómica muy cercana entre ambas, presentan una fórmula cromosómica distinta, esto aunado a que la constricción secundaria la presentan en distinto cromosoma, indica que ambos cariotipos sufrieron rearrreglos estructurales y que deben considerarse como especies distintas cromosómicamente. Esto permite sugerir que las constricciones secundarias juegan un papel muy importante en la morfología de los cromosomas para *V. sativa* y sus cultivares, ya que participa en la modificación de la posición centromérica y por consecuencia la relación de brazos.

Por otro lado, no es posible establecer en que momento aparecieron las especies con cariotipos de 12 cromosomas, por lo que se considera que *Vicia sativa* y sus cultivares tienen un origen ancestral diferente al de las otras especies.

El agrupamiento observado en *V. sativa* y sus cultivares, muestran una mayor similitud entre *V. sativa* y el cultivar Hifa, esto se debe a que tienen una longitud total del genoma y relación de brazos similar. Así mismo, el agrupamiento observado en el fenograma de los cultivares Aneto y Alba, se debieron a la longitud del genoma y el rango del tamaño absoluto de sus cromosomas. Sin embargo, si se analiza la posición de la constricción secundaria hacia el interior de la especie, se encuentra que existe mayor

similitud entre *V. sativa* y el cultivar Alba, por presentar la constricción en el cromosoma 3 y por otra parte, entre los cultivares Aneto e Hifa con la constricción en el cromosoma 2, lo cual implica que podría existir un ancestro común para esta especie y sus cultivares, ya que se encuentran a una distancia taxonómica muy cercana y además corrobora lo establecido por Hanelt y Mettin (1989) respecto al origen monofilético del subgénero *Vicia*.

8. CONCLUSIONES

1.- Las especies estudiadas del género *Vicia* se pueden separar en dos grupos principales, con base en sus cariotipos, coincidiendo con los subgéneros *Vicia* y *Cracca*.

2.- Las especies del subgénero *Vicia* (*Vicia sativa*, *Vicia sativa* ssp. *macrocarpa* cv. Aneto e Hifa; *Vicia sativa* ssp. *sativa* cv. Alba), de acuerdo a los estudios en este género, se pueden considerar como más especializadas y provenientes de especies de 14 cromosomas.

3.- Con base a los índices de asimetría, *Vicia sativa* y sus cultivares presentan cariotipos más asimétricos, tal como se demuestra en sus fórmulas cromosómicas, por lo que se pueden considerar más especializadas que las especies del subgénero *Cracca*.

9. LITERATURA CITADA

- ABROL, Y. P. 1990 Nitrogen in higher plants. Research Studies Press, Ltd., Somerset, England. 148 pp.
- ALBERTS, A., D. BRAY, J. LEWIS, M. RAFF, K. ROBERTS, y J. D. WATSON. 1994. Molecular Biology of the cell. Garland Publishing, Inc., New York, U. S. A. 687 pp.
- ALTAMIRANO, H. J. 1997. Estudio cromosómico comparativo en dos especies y dos variedades comerciales del género *Vicia L. (Leguminosae)*. Tesis Profesional. Facultad de Biología-UMSNH. Morelia, Michoacán. México. 57 pp.
- ALTIERI, M. A. 1995. Agroecología : Creando sinergias para una agricultura sostenible. Grupo Interamericano para el Desarrollo Sostenible de la Agricultura y los Recursos Naturales. Economic Botany 4: 86-96.
- BADAEVA, E. D. y A. V. AMOSOVA. 2002. Genome differentiation in *Aegilops*. Evolution of the D-genome cluster. Plant Systematics and Evolution 231 (1-4) : 163-190.
- BAYLEY, L. H. 1976. Manual of Cultivated Plants. Macmillan Publishing Co. Inc. New York. 1116 pp.
- BENNETT, M. D. y J. B. SMITH. 1976. Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B* 274: 227-274.
- BROWN, R. F. 1972. Textbook of cytogenetics. C. V. Mosby Co. Saint Louis. 365 pp.
- CHAVEZ CARVAJAL, M. A. 1996. Estudio florístico y ecológico de plantas *Arvenses* en cultivos de maíz de temporal en el Valle de Morelia, Michoacán, México. Tesis Profesional. Facultad de Biología-UMSNH. Morelia, Michoacán. México. 94 pp.
- CHOOI, W. Y. 1971. Variation in nuclear DNA content in the genus *Vicia*. *Genetics* 68:195-211
- CILER, M. y F. DANE. 1999. Karyological studies on *Vicia sativa L. Subs. incisae (Bieb)*. *Arc. Var. incisa*. *Tr. J. of Botany, Turkey* 23: 63-67.
- CORTES, V. A. 1989. Estudio cromosómico en trece variedades de lenteja *Lens esculenta (Moench)*. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias-UNAM. México, D. F. 62 pp.

CRAWFORD, D. J. y R. T. KIMBALL. 2001. The generic placement of a morphologically enigmatic species in Asteraceae: Evidence from ITS sequences. *Plant Systematics and Evolution* 228 (1-2) : 63-69.

CRONQUIST, A. 1986. *Botánica Básica*. Compañía Editorial Continental, S. A. México. 655 pp.

DE ROBERTIS E. D. P. ; W. NOWINSKI, y F. A. SAEZ. 1963. *General Cytology*. Ed. Saunders C. 470 pp.

DOBZHANSKY, T. 1975 *Genética del Proceso Evolutivo*. 1ª Ed.. Extemporáneos, S. A. México. 464 pp.

DUBININ, N. P. 1981. *Genética general*. Editorial Mir. Moscú, URSS. 480 pp.

FARIAS, C. H. A. 1989. Estudio cromosómico en plantas de origen sexual y un clon de *Rhoeo spathaceae* (Hance). Tesis profesional. Escuela de Biología-UMSNH., Morelia Michoacán. México. 61pp.

FARIAS, C. H. A. 1996 Obtención del cariotipo y su importancia en la taxonomía de las especies . *Boletín Quetzal*. Facultad de Biología- UMSNH. Morelia, Michoacán. México. 5: 22-25.

FARIAS, C. H. A. y M. MARTINEZ. 1995 Estudio cromosómico en *Vicia sativa* (V. común). Memoria. V Encuentro Universitario de Ciencia y Tecnología. UMSNH. Morelia, Michoacán. México. 139 pp.

GARCIA, V. A. 1985. Sistemas Robertsonianos: Su papel en evolución cromosómica en plantas superiores. *Jardín Botánico del Instituto de Biología-UNAM/SOMEFI*. México. pp. 41-53.

GARCIA, V. A. 1988. *Técnicas y procedimientos de citogenética vegetal*. 3ª Edición. Universidad Autónoma Chapingo. México. 198 pp.

GOLDBLATT, P., y D. E. JOHNSON. 2001. Index to plant chromosome numbers 1991-2000. Missouri Botanical Garden. St. Louis, USA.

GOODSPEED, T. H. 1954. The Genus *Nicotiana*. *Chronica Botanica* 24 (2): 125-128.

GUNN, C. R. 1968. The *Vicia Americana* complex. *Iowa State Journal of Science* 42 (3): 171-214.

HANELT, P. y D. METTIN. 1970. Über die systematische Stellung temperater und meridionaler Sippen der Gattung *Vicia* L. *Feddes Rep.* 81:147-61

HANELT, P. y D. METTIN. 1989. Biosystematics of the genus *Vicia* L. (Leguminosae). *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 20: 199-223.

- HANIFORD, D. B. y G. CHACONAS. 1992. Mechanistic aspects of DNA transposition, *Current Opin. Genetic, Dev.* 2 (5): 698-704.
- HARLAN, J. R. y J. M. J. de WET. 1971. Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon* 20: 509-517.
- HARLAN, J. R., 1992. *Crops and Man*. American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc. 2nd ed. USA. 284 pp.
- HERMANN, F. J. 1960. Vetches of the United States. Native, naturalized and cultivated. U. S. Department of Agricultura. *Agricultura Handbook*: 168, 84 pp.
- HUGHES, H. M. 1978. Forrajes: La ciencia de la agricultura en la producción de pastos. 8^a Edición. Compañía Editorial Continental, S.A. México 760 pp.
- HUSBAND, B. C. 2004. Chromosomal variation in plant evolution. *American Journal of Botany* 9 (4) : 621-625
- JACKSON, R. C. 1971. Chromosomes evolution in *Haplopappus gracilis*: A centric transposition race. *Evolution* 27: 243-256
- JOHN, B. and M. FREEMAN. 1975. Causes and consequences of Robertsonian Exchange. *Chromosoma* 52: 123-136.
- KENTON, A. 1986. Importancia de los cromosomas en la especiación y evolución como base para el conocimiento y caracterización de especies vegetales con valor potencial. Seminario Maximino Martínez. Jardín Botánico del Instituto de Biología-UNAM. México. pp.11-36.
- KUO, J. 2001. Chromosome numbers of the Australian Zosteraceae. *Plant Systematics and Evolution* 226 (3-4) : 155-163.
- KUPICHA, F. K. 1977. The delimitation of the tribe Vicieae (Leguminosae) and the relationships of *Cicer* L. *Bot. J. Linn. Soc.* 74:131-62.
- LAVANIA, U. C. y S. SRIVASTAVA. 1999. Quantitative delineation of karyotype variation in *Papaver* as a measure of phylogenetic differentiation and origin. *Current Science* 77 (3): 429-435

- LEVAN, A., K. FREDGA y A. A. SANDBERG. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
- LEVITSKI, G. A. 1931. The karyotype in systematics. *Bulletin of applied Botany and plant-breeding* 27: 220-239.
- MARTINEZ, M. 1979. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. 1ª Edición. Fondo de Cultura Económica. México. 1247 pp.
- MATTHEY, R. 1945. L'evolution de la formule chromosomiale chez les vertebres. *Experientia* 1: 50-78
- MAXTED, N., M. A. CALLIMASSIA y M. D. BENNETT. 1991. Cytotaxonomic studies of eastern Mediterranean *Vicia* species (Leguminosae). *Pl. Syst. Evol.* 177: 221-234.
- MAXTED, N. 1993. A phenetic investigation of *Vicia* L. subgenus *Vicia* (Leguminosae, Vicieae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 111: 155-182.
- MARZOCCA, A. 1976. Manual de Malezas. Tercera Edición. Editorial Hemisferio Sur. Argentina. 564 pp.
- MERIC, C., and D. FERUZAN. 1999. Karyological studies on *Vicia sativa* L. subsp. *Incisa* (Bieb.) Arc. *Var. incisa*. *Tr. J. of Botany* 23: 63-67.
- MOLERO, J. y T. GARNATJE. 2002. Kariological evolution and molecular phylogeny in Macaronesian dendroid spurges (*Euphorbia* subsect. *Pachycladae*). *Plant Systematics and Evolution* 231 (1-4): 109-132.
- MUNZ, A. P. 1968. Supplement to a California Flora. University of California Press. Berkeley at Los Angeles, California. 1681 pp.
- NAVRATILOVA A., P. NEUMANN y J. MACAS. 2003. Karyotype analysis of four *Vicia* species using in situ hybridization with repetitive sequences. *Annals of Botany* 91: 921-926.
- OROZCO, C. G., C. CHALMERS, y K. J. WAUGH. 1994. Detection of genetic diversity and selective gene introgression in coffee using RAPD's markers. *Theor. Appl. Genetic* 87: 934-940
- PALMA-SILVA, C. y D. G. DOS SANTOS. 2004. Chromosome numbers, meiotic behavior and pollen viability of species of *Vriesea* and *Aechmea* genera (Bromeliaceae) native to Rio Grande do Sul, Brazil. *American Journal of Botany* 91 (6) : 804-807.

PALOMINO, H. G. 1979. Los estudios citogenéticos como apoyo al conocimiento de los recursos genéticos . Memorias: Seminario sobre la investigación genética básica en el conocimiento y evaluación de los recursos genéticos. Jardín Botánico del Instituto de Biología-UNAM / Sociedad Mexicana de Fitogenética. pp. 82-95.

PALOMINO H. G. 1985. Los estudios citogenéticos como apoyo al conocimiento de los recursos genéticos Memorias: Seminario sobre la investigación genética básica en el conocimiento y evaluación de los recursos genéticos. Jardín Botánico del Instituto de Biología-UNAM / Sociedad Mexicana de Fitogenética. pp. 82-95.

PARKER, J. S., A. S. WILBY y S. TAYLOR. 1988. Chromosome stability and instability in plants. Kew Chromosome Conference III. London. pp. 131-140.

POLUNIN, O. 1977. Guía de campo de las flores de Europa. 2ª Ed. Barcelona. España. 796 pp.

RAGONE, D. 2001. Chromosome numbers and pollen stainability of three species of Pacific Island Breadfruit (*Artocarpus*, Moraceae). American Journal of Botany 88 (4) 693-696.

RAINA, S. N. y R. K. J. NARAYAN. 1984. Changes in DNA composition in the evolution of *Vicia* species. Theoretical and Applied Genetics 68: 187-192.

ROHLF, F. J. 1994. NTSYS pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis system, version 1.8 Exeter Software, New York. U. S. A.

ROMERO ZARCO, C. 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxón 35 (3): 526-530.

RUAS, C. F. y M. L. R. AGUIARPERECIN. 1997. Chromosome evolution in the genus *Mikania* (Compositae). American Journal of Botany 84 (8): 1156-1163.

RYDBERG, A. P. 1971. Flora of the prairies plains of Central North America. Volumen 1. Dover publications, Inc. New York, N. Y. 473 pp.

RZEDOWSKI, J. 1994 Vegetación de México. 1ª. Edición. Editorial LIMUSA. México. 432 pp.

RZEDOWSKI, J. y G. CALDERON de RZEDOWSKI. 1981. Flora Fanerogámica del Valle de México_ 3ª. Edición. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-Instituto Politécnico Nacional. México. 403 pp.

SANCHEZ SANCHEZ, O. 1980 La flora del Valle de México. 6ª Edición. Editorial Herrero, S. A. México. 519 pp.

SCHUBERT, Y. y R. RIEGER. 1985. A new mechanism for altering chromosome number during karyotype evolution. *Theoretical and Applied Genetics* 70 : 213-221

SEIJO, J. G. y A. FERNANDEZ. 2003. Karyotype analysis and chromosome evolution in South American species of *Lathyrus* (Leguminosae). *American Journal of Botany* 90 (7) : 980-987.

SOLTIS, D. E., P. S. SOLTIS and J. A. TATE. 2004. Advances in the study of polyploidy since plant speciation. *New Phytologist* 161 : 173-191.

STEBBINS, G. L. 1958. *Chromosomal evolution in higher plants*. Edward Arnold Publishers Ltd. London.

STEWART, C. D., y J. M. Conring. 1970. *Manual of the Vascular Plants of Texas*. Volumen 6. Published By Texas Research Fundation. Renner, Texas. 1881 pp.

TURNER B. L. 1977. *The Legumes of Texas*. University of Texas Press. Austin Reprints. Printed in the USA. 284 pp.