

# OBSERVACIONES CARIOLÓGICAS EN *VICIA AMPHICARPA SENSU LATO*

por

F. JAVIER TARDÍO PATO<sup>1</sup>, PILAR GARCÍA GONZALO<sup>1</sup> & JESÚS M. ORTIZ MARCIDE<sup>2</sup>

## Resumen

TARDÍO PATO, F.J., P. GARCÍA GONZALO & J.M. ORTIZ MARCIDE (1998). Observaciones cariológicas en *Vicia amphicarpa* sensu lato. *Anales Jard. Bot. Madrid* 56(2): 261-268.

Se estudian cariológicamente 24 poblaciones anficárpicas silvestres pertenecientes al grupo *Vicia sativa*, de distinta procedencia (19 españolas, cuatro de Siria y una de Turquía). Se encuentran diferencias en los números cromosómicos y en los cariótipos. Diecinueve poblaciones presentan 14 cromosomas y cariótipo como el observado por otros autores, constituido por un pequeño cromosoma metacéntrico y seis acrocéntricos, uno de ellos con satélite. Éstas corresponden a *V. amphicarpa* Dorthes. Las otras cinco, con  $2n = 12$  y cariótipo con tres cromosomas grandes, uno de ellos submetacéntrico, otro con satélite, y otros tres mucho más pequeños, corresponden a *V. angustifolia* subsp. *pseudoangustifolia* (Rouy) Tardío. Esta anterior se propone como combinación nueva. Por lo tanto, dentro de *Vicia* existen, al menos, dos táxones anficárpicas claramente diferenciados, tanto en su morfología externa como en el cariótipo.

Palabras clave: *Vicia amphicarpa*, *V. angustifolia*, *V. sativa*, cariótipos, taxonomía.

## Abstract

TARDÍO PATO, F.J., P. GARCÍA GONZALO & J.M. ORTIZ MARCIDE (1998). Karyological studies in *Vicia amphicarpa* sensu lato. *Anales Jard. Bot. Madrid* 56(2): 261-268 (in Spanish).

Cytological studies were carried out on twenty four amphicarpic wild populations of *Vicia sativa* group from different sites (19 from Spain, 4 from Syria and 1 from Turkey). Morphologically, 19 accessions can be attributed to taxon *V. amphicarpa* Dorthes and 5 to *V. angustifolia* subsp. *pseudoangustifolia* (Rouy) Tardío, *comb. nov.* In our studies, these two taxa show different chromosome numbers, *V. amphicarpa* Dorthes, has 14 chromosomes, while *V. angustifolia* subsp. *pseudoangustifolia* has only 12. Furthermore, the form of the chromosomes in the karyotypes of both taxa is quite different. The chromosome number and the morphology of the karyotype found in the first taxon agree with most of previous reports on *V. amphicarpa*, with a very characteristic short metacentric and six acrocentric chromosomes, one of them satellited. However, the second taxon has a very different karyotype with three large chromosomes, one of them submetacentric and another satellited, plus another three chromosomes which are significantly smaller. Therefore, we can conclude that within the genus *Vicia*, at least two amphicarpic taxa exist, clearly differentiated, both in morphological and karyotypical characteristics.

Key words: *Vicia amphicarpa*, *V. angustifolia*, *V. sativa*, karyotypes, taxonomy.

<sup>1</sup> Instituto Madrileño de Investigación Agraria y Alimentaria. Finca "El Encín". Apartado 127. E-28.800 Alcalá de Henares (Madrid).

<sup>2</sup> Departamento de Biología Vegetal, E. T. S. de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid. Ciudad Universitaria, s/n. E-28040 Madrid.

## INTRODUCCIÓN

*Vicia amphicarpa* fue descrita por DORTHESES en 1789. Dicha especie está constituida por plantas muy parecidas a *V. sativa*, que producen legumbres subterráneas además de las aéreas; es decir, presentan el fenómeno denominado anficarpia. Posteriormente ROUY (1899) reconoce dos formas o variedades dentro de este taxon: una primera con los folíolos de las hojas superiores oblongo-cuneiformes y emarginados (var. *pseudosativa*) y otra con folíolos de las hojas superiores estrechamente lineares (var. *pseudoangustifolia*). Esta última variedad había sido considerada por ALEFELD en 1862 como *V. angustifolia* var. *amphicarpa*.

El grupo *V. sativa*, en el que se incluye *V. amphicarpa*, es taxonómicamente muy complejo, con pocos caracteres diferenciales entre los distintos táxones. Además, las diferentes especies ocupan más o menos los mismos hábitats y muchas de ellas presentan una distribución simpátrica. Algunos autores (HANELT & METTIN, 1989; POTOKINA, 1997) reconocen hasta siete especies dentro de este grupo: *V. sativa*, *V. angustifolia*, *V. cordata*, *V. macrocarpa*, *V. amphicarpa*, *V. incisa* y *V. pilosa*. Otros prefieren englobarlas en una única especie, *V. sativa*, con subespecies o variedades (BALL, 1968; MAXTED, 1995), basándose en que los caracteres diferenciales tienen una variación continua y las poblaciones frecuentemente se solapan.

La enorme variabilidad que se encuentra entre las especies del grupo, tanto morfológica como cariológica y ecológica, es debido probablemente a que se trata de un típico ejemplo de enjambre de microespecies simpátricas que, aunque en general se reproducen por autogamia, no están completamente aisladas genéticamente, por lo que están en continua evolución y producen descendencias difícilmente distinguibles fenotípicamente (HANELT & METTIN, 1989).

El grupo *V. sativa* L. también ha sido estudiado en múltiples ocasiones cariológicamente, bien en su totalidad (METTIN & HANELT, 1964) o solo algunos táxones (HOLLINGS & STACE, 1974). Se han encontrado tres núme-

ros cromosómicos distintos:  $2n = 10, 12, 14$ . Algunos autores encuentran correlación entre caracteres morfológicos y cariotipo (METTIN & HANELT, 1964), mientras que otros (HOLLINGS & STACE, 1974; LADIZINSKY, 1978) describen una gran variabilidad cariotípica dentro de un mismo taxon, e incluso un mismo cariotipo que se presenta en distintos táxones. GIL (1986) advierte ciertas coincidencias en los cariotipos encontrados por los diferentes autores, pero cree que éstos no coinciden en la determinación del taxon correspondiente.

También dentro de *V. amphicarpa* se han descrito tres números cromosómicos distintos:  $2n = 10$  (SVESCHNIKOVA, 1940; Yamamoto, 1963, citado por HOLLINGS & STACE, 1974),  $2n = 12$  (COUTINHO, 1940; FRAHM-LELIVELD, 1957) y  $2n = 14$ , número somático más frecuentemente encontrado en estudios recientes (METTIN & HANELT, 1964; PLITMANN, 1973; HOLLINGS & STACE, 1974; LADIZINSKY, 1978).

METTIN & HANELT (1964) observan 14 cromosomas en *V. amphicarpa*, en una única población procedente de Israel. Suponen en su trabajo que los recuentos anteriores se refieren a razas de otros táxones del grupo que poseen flores y frutos subterráneos. Esto significa que su concepto de *V. amphicarpa* es mucho más estricto que el tradicional, pues no lo basan solo en la presencia de flores y legumbres subterráneas, sino también en otros caracteres morfológicos y cariotípicos. Admiten, pues, la existencia de variantes anficárpicas dentro de otros táxones del grupo, como *V. angustifolia* (incluida *V. segetalis*), *V. sativa* y *V. cordata*.

PLITMANN (1973) realizó recuentos en muchas poblaciones de Palestina, Irán y Turquía, siempre con el resultado de  $2n = 14$ . Atribuye las discrepancias con recuentos anteriores a una identificación errónea del material, dada la gran variabilidad de los distintos táxones del grupo *V. sativa*, para él subespecies, con caracteres diagnósticos que se solapan, y tendencia a producir tallos basales a partir de yemas cotiledonares. Por ello no se puede estar seguro de una correcta identificación, a menos que se observen los verdaderos tallos subterráneos.

HOLLINGS & STACE (1974) estudian dos poblaciones de *V. amphicarpa* procedentes de Turquía y encuentran igualmente  $2n = 14$ . Según ellos, solo *V. amphicarpa* desarrolla tallos subterráneos con flores y legumbres bien diferenciadas. Pero en *V. sativa s.str.* ( $2n = 12$ ), en *V. segetalis* ( $2n = 12$ ) y en *V. cordata* ( $2n = 10$ ) también se pueden formar ramas laterales cortas con flores cleistógamas y legumbres con pocas semillas cerca del suelo, probablemente ocasionadas por las condiciones de crecimiento. Dichos autores dicen haber recolectado material de *V. angustifolia* en Ibiza con tallos subterráneos y flores cleistógamas, por lo que concluyen, al igual que HANELT & METTIN, que la anficarpia puede presentarse en varios táxones del grupo.

LADIZINSKY (1978) analiza 20 poblaciones de *V. amphicarpa* procedentes de Israel y obtiene  $2n = 14$  con un único cariotipo que coincide con el descrito por todos los autores citados anteriormente, así como con el de YAMAMOTO (1977). Éste se caracteriza por un pequeño cromosoma casi metacéntrico (I) y otros seis cromosomas acrocéntricos, uno de ellos con satélite (II).

A la vista de las discrepancias existentes respecto al número cromosómico y al cariotipo de *V. amphicarpa*, dentro de un trabajo más amplio sobre dicho taxon (TARDÍO, 1997), se planteó la necesidad de llevar a cabo un estudio cariológico en las diferentes poblaciones.



Fig. 1.—Cariótipos de *Vicia amphicarpa* según diversos autores.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio ha sido realizado a partir de semillas de 24 poblaciones silvestres de vezas anficárpicas (19 españolas, cuatro de Siria y una de Turquía) y, como testigos, una

población de *V. angustifolia* subsp. *segetalis* y dos cultivares de *V. sativa s.str.* Corresponden a material estudiado morfológicamente (TARDÍO, 1997) y debidamente determinado (tabla 1).

Para desinfectar las semillas se sumergieron en etanol al 70 % durante 1 minuto, y después en una disolución al 2 % de lejía comercial (hipoclorito sódico al 50 %) durante 30 segundos, lavándolas finalmente tres veces con agua estéril. Después se escarificaron y se pusieron a germinar en placas Petri en estufa a 24 °C durante 24 horas, pasándose posteriormente a nevera 48 horas.

Se cortaron las raicillas con una longitud de 1-1,5 cm y se les dio un pretratamiento en frío a una temperatura de 0 °C durante unas 24 horas. Inmediatamente después se fijaron en una solución de Carnoy (alcohol etílico absoluto y ácido acético glacial en proporción 3:1), conservándose en frigorífico durante un tiempo mínimo de fijación de 6 ó 7 días.

Tras realizar una hidrólisis con HCl 1N durante 12 minutos en baño caliente a 60 °C se procedió al aplastamiento del ápice de las raicillas en una gota de ácido acético al 45 %, realizando finalmente las observaciones en un microscopio Zeiss con contraste de fases.

#### RESULTADOS

En la tabla 1 se exponen los números cromosómicos diploides obtenidos en las distintas poblaciones de vezas anficárpicas, indicando además su procedencia e identificación. Éstos son  $2n = 14$ , en la mayoría de las poblaciones estudiadas (79 %), y  $2n = 12$ , en el resto (21 %), todas ellas pertenecientes al taxon *V. angustifolia* subsp. *pseudoangustifolia*.

En la tabla 2 se indican los resultados de los recuentos de dos cultivares de *V. sativa* y de una población de *V. angustifolia* subsp. *segetalis*.

Los dos táxones anficárpicas difieren en el número de cromosomas y en la forma y tamaño relativo de éstos. Según se observa en las placas metafásicas de las distintas poblaciones (figs. 3, 4), aparecen dos cariotipos diferentes, cuyos ideogramas se representan en la figura 2.

TABLA 1  
RECIENTOS CROMOSOMÁTICOS DE LOS TÁXONES ANFICÁRPCOS

Taxon	Población n.º	Localidad	2n
<i>Vicia amphicarpa</i>	VA1	Uleila del Campo (Al), España	14
	VA4	Puerto de las Palomas (Ca), España	14
	VA5	Villaluenga de Rosario (Ca), España	14
	VA6	Sierra del Espadán (Cs), España	14
	VA7	Chóvar (Cs), España	14
	VA9	Sacedoncillo (Cu), España	14
	VA10	Puebla de Don Fadrique (Gr), España	14
	VA11	Huésacar (Gr), España	14
	VA13	De Atienza a Sigüenza (Gu), España	14
	VA14	Chiloeches (Gu), España	14
	VA15	Morón de la Frontera (Se), España	14
	VA17	Malpica de Tajo (To), España	14
	VA18	Játiva (V), España	14
	VA20	Caravaca de la Cruz (Mu), España	14
	SI1	De Homs a Palmira, (Homs) Siria	14
	SI2	Furqlus (Homs), Siria	14
	SI7	Derat Qaq (Halab) Siria	14
	SI21	Saboora (Damasco) Siria	14
	TU3*	Sur de Yucelen (Urfa), Turquía	14
	<i>Vicia angustifolia</i> subsp. <i>pseudoangustifolia</i>	VA3	Peñón de Zaframagón (Ca), España
VA8		Sierra de Cabra (Co), España	12
VA12		Puerto de la Ragua (Gr), España	12
VA16		Espinoso del Rey (To), España	12
VA21		San Vicente de Alcántara (Ba), España	12

TABLA 2  
NÚMEROS CROMOSOMÁTICOS DE LOS TÁXONES NO ANFICÁRPCOS

Taxon	Población n.º	Localidad / Nombre del cultivar	2n
<i>Vicia sativa</i>	T1	Gravesa 81 (España)	12
	T2	Urgelba 36-2 (España)	12
<i>Vicia angustifolia</i> subsp. <i>segetalis</i>	TU3	Sur de Yucelen (Urfa), Turquía	12

Para la numeración de los cromosomas se ha seguido el criterio de COUTINHO (1940), según el cual I es el metacéntrico o submetacéntrico, II es el acrocéntrico con satélite, numerándose el resto de los acrocéntricos o subacrocéntricos en orden de longitud decreciente.

El cariótipo  $n = 7$  está constituido por un cromosoma metacéntrico muy pequeño y seis cromosomas acrocéntricos, de los cuales dos son ligeramente más grandes que el resto. Aunque en muchos casos no fue posible detectar el

satélite de II, seguramente debido al pequeño tamaño de los cromosomas, en lo demás puede

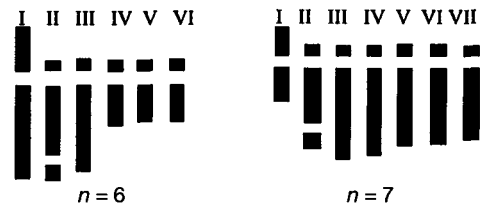


Fig. 2.—Ideogramas de los cariótipos encontrados.

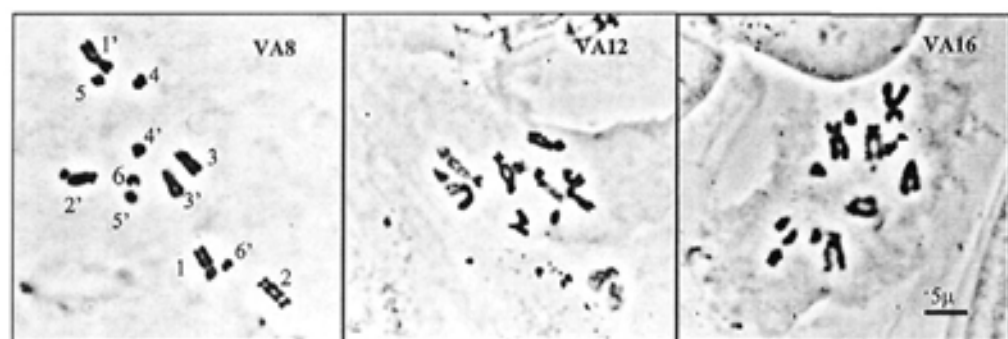


Fig. 3.—Cromosomas de tres poblaciones de *Vicia angustifolia* subsp. *pseudoangustifolia* ( $2n = 12$ ). Las poblaciones se pueden identificar en la tabla 1.

asimilarse al cariotipo observado por la mayoría de los autores en *V. amphicarpa*.

Sin embargo, el cariotipo  $n = 6$  está constituido por tres cromosomas grandes y tres pequeños. De los grandes, I es submetacéntrico y en II se aprecia perfectamente el satélite, posiblemente por su mayor tamaño.

Las muestras testigo de *V. sativa* s.str. y

*V. angustifolia* subsp. *segetalis* resultaron tener 12 cromosomas, lo que coincide con la mayoría de las referencias bibliográficas.

En algunas de las microfotografías de las placas metafásicas se han numerado los cromosomas; en otras se señalan aquellos más característicos, como el metacéntrico o el que porta un satélite (figs. 3, 4, 5).

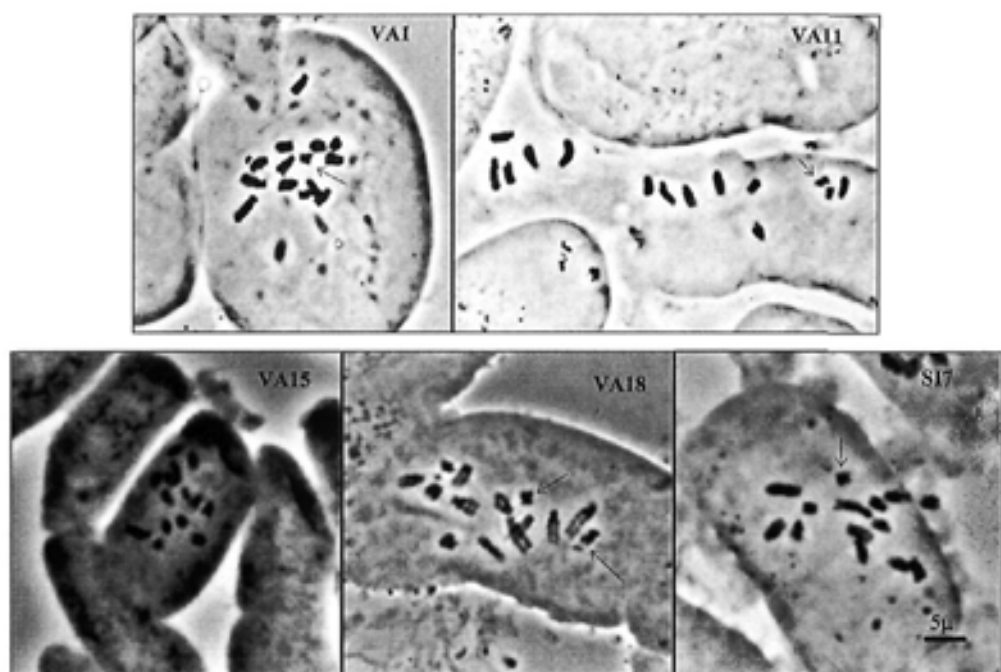


Fig. 4.—Cromosomas de cinco poblaciones de *Vicia amphicarpa* s.str. ( $2n = 14$ ). Las flechas señalan, cuando es posible, algún cromosoma característico, como el metacéntrico o el que porta un satélite. Las poblaciones se pueden identificar en la tabla 1.

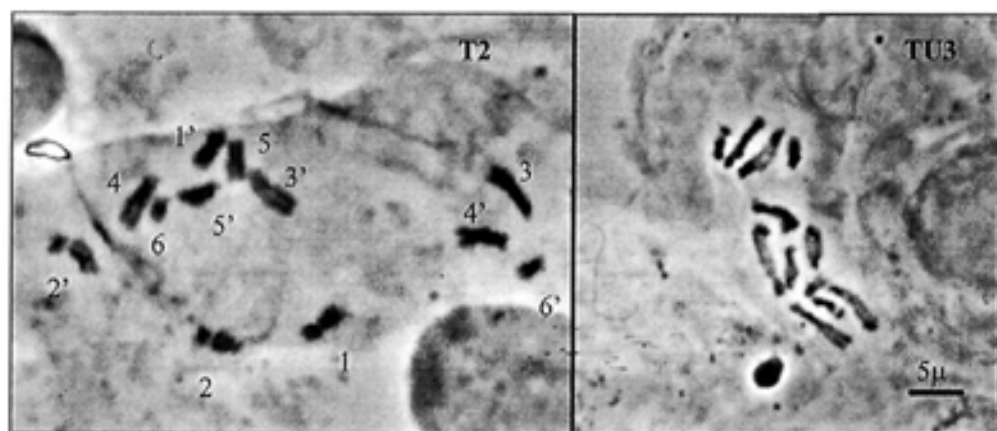


Fig. 5.—Cromosomas de dos taxones no anficárpicos ( $2n = 12$ ). T2 corresponde a *Vicia sativa* s.str. y TU3 a *V. angustifolia* subsp. *segetalis*.

Como conclusión, dado el número cromosómico diferente ( $2n = 12$ ) y su cariotipo característico, además de los resultados obtenidos en los estudios morfológicos realizados previamente (TARDÍO, 1997), pendientes de publicación, proponemos la siguiente combinación:

***Vicia angustifolia* subsp. *pseudoangustifolia* (Rouy) Tardío, comb. nov.**

*V. communis* var. *pseudoangustifolia* Rouy, Fl. France 5: 214 (1899) [basiôn.]

#### DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos confirman la existencia de los números cromosómicos  $2n = 12$  y  $14$  en *V. amphicarpa* s.l.

La mayor parte de los recuentos publicados daban como resultado  $2n = 14$ . Nosotros hemos encontrado este número cromosómico en el 79 % de las poblaciones estudiadas, y el cariotipo de dichas poblaciones puede asimilarse al que publican otros autores.

Sin embargo, el cariotipo con 12 cromosomas, encontrado en el 21 % de las poblaciones, todas procedentes de España, corresponde a *V. angustifolia* subsp. *pseudoangustifolia*. Este mismo número fue encontrado por COUTINHO en 1940 y por FRAHM-LELIVELD en 1957. Se desconoce si las muestras em-

pleadas por dichos autores correspondían a este mismo taxon, pues el primero reconoce que utilizó semillas procedentes del Jardín Botánico de Copenhague y no realizó identificación alguna, y la segunda únicamente indica que empleó una muestra donada por el Jardín Botánico de Zúrich. El cariotipo dado por COUTINHO difiere del nuestro en los brazos largos de los cromosomas IV, V y VI, que son de mayor tamaño relativo. El dibujo de FRAHM-LELIVELD, aunque no es suficientemente claro, podría servir para identificar su cariotipo con el nuestro. HOLLINGS & STACE encontraron, en una población de *V. angustifolia* procedente de Inglaterra, otro cariotipo más parecido, aunque también con los cromosomas citados de mayor tamaño.

Las poblaciones de *V. angustifolia* subsp. *pseudoangustifolia* han sido, como ya hemos dicho, al igual que el resto de las poblaciones, sembradas y estudiadas morfológicamente, presentando siempre y con claridad estolones con flores y frutos subterráneos, por lo que pertenecen a *V. amphicarpa*, si esta especie se definiera exclusivamente por este carácter. Por lo tanto, hay que descartar una identificación errónea del material, como expresaba PLITMANN (1973), para todos aquellos recuentos distintos de  $2n = 14$ .

En todas las muestras de Oriente Próximo hemos observado 14 cromosomas. Basándo-

TABLA 3

## DIFERENCIAS MORFOLÓGICAS Y CARIOTÍPICAS ENTRE LOS DOS TÁXONES ANFICÁRPCOS

<i>Vicia angustifolia</i> subsp. <i>pseudoangustifolia</i>	<i>Vicia amphicarpa</i> s.str.
Órganos en general de menor tamaño.	Órganos en general de mayor tamaño, especialmente hojas y flores.
Hojas superiores (nudos cercanos a la primera flor) muy estrechas y una marcada heterofilia entre éstas y las hojas de los primeros nudos.	Heterofilia entre hojas superiores e inferiores poco patente.
Flores con la uña del estandarte relativamente corta.	Uña del estandarte larga y estrecha, que ocupa en torno al 50 % del total del estandarte.
$2n = 12$	$2n = 14$

nos en esto, en que todos los trabajos que obtenían ese número cromosómico usaron material procedente de Oriente Próximo, y en un estudio bibliográfico y de material de herbario sobre la distribución de *V. amphicarpa* s.l. (TARDÍO, 1997), se sugiere que *V. angustifolia* subsp. *pseudoangustifolia* se encuentra únicamente en la región mediterránea occidental: Marruecos, España, Francia, Italia.

También estamos de acuerdo con METTIN & HANELT (1964) y HOLLINGS & STACE (1974), que aseguran la existencia de razas anficárpcas en otros táxones del grupo. Aunque nosotros no hemos encontrado ningún cariotipo con 10 cromosomas, por analogía con lo aquí analizado y por lo que se refiere en la bibliografía, podría tratarse de plantas que, además de la posesión de las flores y frutos subterráneos, muestren un fenotipo externo propio de *V. cordata*.

Por último, este cariotipo de 12 cromosomas hallado en las poblaciones "angustifolias" también parece contradecir la correlación que citaban HOLLINGS & STACE entre la pérdida o acortamiento del cromosoma I y la presencia de flores subterráneas, ya que en nuestro cariotipo el cromosoma I, el submetacéntrico, es uno de los más largos.

Como conclusión general se puede decir que dentro del género *Vicia* existen, al menos, dos táxones anficárpcos claramente diferenciados, tanto en su morfología externa como en el cariotipo. Sus características se resumen en la tabla 3.

## AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestra gratitud al Dr. Higinio Pascual, con quien se realizó la recolección de la gran mayoría de las poblaciones españolas estudiadas, dentro de un proyecto de investigación financiado por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias; al Dr. Nigel Maxted, por habernos proporcionado el material procedente de Siria y Turquía, así como a D. José Luis Ceresuela, que cedió el material de la población VA20.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEFELD, F. (1862). Über die amphicarpen Viciéen. *Bot. Zeitung* 20: 362-363.
- BALL, P.W. (1968). *Vicia* L. In: T.G. Tutin & al. (eds.), *Flora Europaea* 2: 129-136. University Press. Cambridge.
- COUTINHO, L.A. (1940). Raças cariológicas na *Vicia sativa* L. *Agron. Lusit.* 2: 379-403.
- DORTHEs, M. (1789). Sur une espèce de vesce qu'on a confondu avec le *Lathyrus amphicarpos* de Linné. *Observ. Phys.* 35: 131.
- FRAHM-LELIVELD, J.A. (1957). Observations cytologiques sur quelques légumineuses tropicales et subtropicales. *Rev. Cytol. Biog. Veg.* 18: 273-287.
- GIL, J. (1986). *Taxonomía y genética de caracteres de interés agronómico en Vicia sativa* L. Tesis doctoral. E. T. S. de Ingenieros Agrónomos y Montes, Universidad de Córdoba.
- HANELT P. & D. METTIN (1989). Biosystematics of the genus *Vicia* L. (Leguminosae). *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 20: 199-223.
- HOLLINGS, E. & C.A. STACE (1974). Karyotype variation and evolution in the *Vicia sativa* aggregate. *New Phytol.* 73: 195-208.
- LADZINSKY, G. (1978). Chromosomal polymorphism in wild populations of *Vicia sativa* L. *Caryologia* 31: 233-241.

- MAXTED, N. (1995). *An ecogeographical study of Vicia subgenus Vicia*. International Plant Genetic Resources Institute. Roma, Italy.
- METTIN, D. & P. HANELT (1964). Cytosystematische Untersuchungen in der Artengruppe um *Vicia sativa* L. I. *Kulturpflanze* 12: 163-225.
- PLITMANN, U. (1973). Biological Flora of Israel 4. *Vicia sativa* subsp. *amphicarpa* (Dorth.) Ascher. & Graebn. *Israel J. Bot.* 22: 178-194.
- POTOKINA, E.K. (1997). *Vicia sativa* L. aggregate (Fabaceae) in the flora of former USSR. *Genetic Resources and Crop Evolution* 44: 199-209.
- ROUY, G. (1899). *Flore de France* 5. Paris.
- SVESCHNIKOVA, I.N. (1940). Cytogenetical analysis of heterosis in hybrids of *Vicia*. *J. Hered.* 31: 349-360.
- TARDÍO, F.J. (1997). *Ecología, caracterización y evaluación agronómica del taxon Vicia amphicarpa Dorthes (Leguminosae)*. Tesis doctoral. E. T. S. de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid.
- YAMAMOTO, K. (1977). On the interspecific hybrid between *Vicia amphicarpa* and *V. sativa*. *Tech. Bull. Fac. Agric. Kagawa Univ.* 28: 23-31.

Editado por Ramón Morales

Aceptado para publicación: 4-V-1998