

COMPARACIÓN ENTRE CLASIFICACIONES BASADAS EN LA VARIACIÓN AGRONÓMICA E ISOENZIMÁTICA EN *PISUM SATIVUM*

M. Varela, J. Hernández
Dpto. Biología Vegetal,
Universidad de Santiago
de Compostela, Lugo
España

J. M. Amurrio
Area de Genética
Universidad de Santiago
de Compostela, Lugo
España

A. M. de Ron
Misión Biológica de
Galicia
CSIC.
Pontevedra - España

Abstract

Comparison between classifications based on agronomic and isozymatic variation in *Pisum sativum*

The collect of pea germplasm from Northwest of Iberian Peninsula began in 1987 at the Misión Biológica de Galicia. Forty-six lines originated from twelve landraces were classified under two points of view: in the basis of agronomic characters like plant morphology, yield, grain quality and precocity and in the basis of biochemistry characters, using six isozymes, by electrophoresis in starch gel. Final classifications were represented by means of a dendrograme. The analysis method used in both cases were the UPGMA.

There is not much diversity in the isozyme variation analysis. The most useful isozyme marker was GOT. In the agronomic characters classification, ten groups and in the basis of biochemistry characters, seven groups. The differences observed between both classifications are discussed.

Key words: Pea, diversity, isozyme, variation, germplasm.

Resumen

La recolección de germoplasma de guisante del noroeste de la Península Ibérica comenzó en 1987 en la Misión Biológica de Galicia del Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Un total de 46 líneas procedentes de este material autóctono se clasificaron bajo dos puntos de vista: a partir de caracteres agronómicos relativos a la arquitectura de la planta, rendimiento, calidad del grano y precocidad y a partir de caracteres bioquímicos, utilizando como marcadores 6 loci isoenzimáticos, mediante una electroforesis en gel de almidón. Las clasificaciones finales se representaron mediante dendrogramas. El método usado en ambos casos es el UPGMA.

En el análisis de la variación isoenzimática, se observa poca variabilidad. La isoenzima que presenta mayor variación y que tiene más utilidad como marcador es GOT (Glutamato Oxalacetato Transaminasa). En la clasificación a partir de caracteres agronómicos se obtienen 10 grupos y a partir de caracteres bioquímicos, 7. Se discuten las diferencias observadas entre ambas.

Palabras clave: Guisante, diversidad, isoenzima, variación, germoplasma.

1.- Introducción

Durante los últimos años, la Misión Biológica de Galicia - CSIC ha desarrollado un programa de prospección de variedades locales de guisante (*Pisum sativum*) cultivadas en el noroeste de la Península Ibérica (Ron et al., 1993). Con esto se pretende, por una parte conservar la diversidad genética existente frente a la notable erosión que esta especie sufre en la actualidad; por otra, la evaluación y clasificación del material autóctono para la integración en los programas de mejora.

El objetivo de este trabajo es la caracterización de 46 líneas procedentes de 12 poblaciones locales mediante métodos numéricos, a partir de caracteres morfológicos y fisiológicos y a partir de caracteres bioquímicos. Esto permitirá comparar los resultados obtenidos utilizando dos clasificaciones distintas. Además, la caracterización bioquímica permitirá conocer el grado de homogeneidad dentro de cada línea.

2.- Material y métodos

Durante el año 1996, se evaluaron 46 líneas pertenecientes a 12 poblaciones locales (tabla 1) que fueron seleccionadas por su adaptación a condiciones de rusticidad y óptimo rendimiento. Esta evaluación se realizó por un estudio de la descendencia.

Se sembraron 15 semillas procedentes de cada una de las líneas seleccionadas. La unidad experimental fue de 46 surcos con 15 plantas por surco espaciadas 25 cm entre plantas y 80 cm entre surcos. De los resultados de la evaluación, se han elegido como base para la clasificación agronómica caracteres de precocidad, determinada por el inicio y fin de la floración, características morfológicas de la planta: longitud total (cm) y área foliar (cm²); componentes de rendimiento: granos por vaina, abortos por vaina y masa del grano; cualidades físicas de la vaina: longitud (cm); calidad física del grano: diámetro de semilla (mm) y contenido en proteína.

En cuanto a la caracterización electroforética, se han estudiado seis sistemas isoenzimáticos (GOT: Glutamato Oxalacetato Transaminasa, PGI: Fosfoglucoisomerasa y SOD: Superóxido Dismutasa, ACP:Ácido fosfatasa, PEX: Peroxidasa, DIA: Diaforasa). Se emplearon las técnicas estándar de electroforesis en gel de almidón, puesta a punto en la MBG y descrita por Catty y Jackson (1988) y Chippindale (1989). En su adaptación al género *Pisum* se siguieron los procedimientos empleados por Przyblyszka et al. (1985) y Cooke (1983). Los caracteres bioquímicos permiten conocer el grado de homogeneidad entre las líneas. El método de agrupamiento empleado en ambas clasificaciones es el UPGMA (Unweighted Pair-Group Method, Arithmetic Average), utilizando para el cálculo de distancias el coeficiente de la distancia Euclídea en los caracteres agronómicos y el coeficiente NEI72 para los bioquímicos; los resultados obtenidos se representaron mediante un dendrograma

3. Resultados

Para poder interpretar los resultados de la electroforesis, previamente a la clasificación fueron transformados de forma que a cada uno de los fenotipos observados se le adjudican unos valores (100, 98, 96) según su movilidad en el gel. Estos valores se traducen en frecuencias. La tabla II muestra el número de líneas y los distintos fenotipos que aparecen en el revelado.

En el análisis de la variación isoenzimática, de las 46 líneas evaluadas la isoenzima que

presenta mayor variación es GOT, por tanto es la que resulta más interesante como marcador para estas líneas. Para PGI y SOD muchas líneas presentan el mismo fenotipo en el revelado. Como ejemplo, 40 líneas presentan una sola banda para SOD₂, que es SOD₂ 100. En el revelado de PGI, 41 líneas presentan la banda 100 para PGI₂. No se observa variación para las isoenzimas PEX, ACP, y DIA, por tanto no son útiles como marcadores de variabilidad para estas líneas.

La clasificación realizada a partir de los resultados obtenidos en la electroforesis (figura 1) muestra mediante un dendrograma las relaciones existentes entre las líneas. En función de éstas se han establecido 7 grupos. El grupo de mayor tamaño es el V, que incluye 26 líneas pertenecientes a las poblaciones 16, 40, 62, 84, 119, 128, 164, 165 y 136.

Los resultados obtenidos a partir de la clasificación basada en caracteres agronómicos se representaron mediante un dendrograma (figura 2). Se han establecido 11 grupos. El mayor es el grupo I que incluye 20 líneas. De todos ellos son interesantes el grupo IV, que incluye las líneas que presentan los valores más bajos de superficie foliar; el Grupo VIII, al que pertenece la línea de menor porte; el Grupo I, ya que algunas de sus líneas presentan los valores más altos de contenido en proteína y el Grupo VII, que presenta valores altos de rendimiento (figura 3).

4. Discusión

Tras el análisis de los resultados obtenidos, se observa que la clasificación a partir de los caracteres agronómicos y a partir de los sistemas isoenzimáticos muestra diferencias. Esto es lógico cuando se utilizan distintos criterios en el agrupamiento de las líneas. Souza y Sorrells (1991) clasificaron 70 poblaciones de avena (*Avena sativa*) usando caracteres agronómicos cuantitativos por una parte y datos de frecuencias isoenzimáticas por otra, comprobando que los grupos resultantes eran totalmente diferentes.

Parece lógico pensar que las líneas de una misma población deberían reunirse en un mismo grupo, ya que en principio la distancia genética entre ellos debería ser menor. Sin embargo, esto sólo sucede para algunas líneas. En la clasificación a partir de los caracteres agronómicos se observa que las líneas que pertenecen a una misma población aparecen más próximas que en el caso de que la clasificación se realice a partir de resultados electroforéticos. Como ejemplo, 5 líneas de PSM-0119 pertenecen todas al grupo II y las pertenecientes a PSM-0016 y PSM-0040 se incluyen en el grupo I. En otros casos, como en la población PSM-0062, se observa cierta variabilidad. Un motivo podría ser la elección de caracteres para detectar las diferencias entre los individuos. Algunos taxonomistas fundamentan la elección en la cantidad de atributos, indicando que lo más idóneo es que se a el número más alto posible (Vanderborgh y Depiereux, 1987). En la práctica, la principal limitación es que un número alto de atributos implican más tiempo y espacio. Para solventar esto, otros afirman que es necesaria la elección de los caracteres que se van a emplear, si se pretende clasificar en grupos con unos objetivos y usos concretos (Amurrio et al. 1991, 1994; Souza y Sorrells, 1991).

Por lo que se refiere a los sistemas enzimáticos la dispersión es mucho mayor, por lo que el empleo de un mayor número de ellos proporcionaría mayor información acerca de las líneas y posiblemente acercarían más las pertenecientes a una misma población.

Referencias

- Amurrio, J. M., A. M. de Ron, P. Casquero. 1991. Practical importance of numerical taxonomy as a useful tool in the classification of pea landraces for their different uses. *An. Aula Dei* 20(3-4):7-15.
- Amurrio, J. M., A. M. de Ron, A. Zeven. 1994. Numerical taxonomy of pea landraces based on quantitative and qualitative characters. *Euphytica* (en prensa).
- Catty, J. P.; Jackson, T. 1988. Starch gel electrophoresis of isozymes. Laboratory Manual. School of Biological Sciences. University of Birmingham.
- Chippindale, P. 1989. A high pH discontinuous buffer system for resolution of isozymes in starch gel electrophoresis. *Stain Technology*. Vol.64 nº 2.
- Cooke, R. J. 1983. The characteristics of *Pisum sativum*L. (partim) (Field Pea) cultivars by sodium dodecyl sulphate- polyacrylamide gel electrophoresis. *J. National Institute of Agricultural Botany* 16: 213-220
- Przybylska, J.; E. Kozubek; S. Blixt. 1985. Comparative study of seed proteins in the genus *Pisum* IX. Electrophoretic albumin variant characteristic of *P. Fulvum*. *Genética Polónica* 26:197-201
- Ron, A. M. de, J. M. Amurrio, P. Casquero. 1993. Documentation of *Pisum sativum* collections based on quantitative traits. International Symposium and World Congress on the Preservation and Conservation of Natural History Collections. Dirección General de Bellas Artes y Archivos. Ministerio de Agricultura, Madrid. España.
- Souza, E.; E. Sorrells. 1991. Relationships among 70 North American Oat Germplasms: I. Cluster Analysis using Quantitative Characters. *Crop Science*. 31: 599-605
- Souza, E.; E. Sorrells. 1991. Relationships among 70 North American Oat Germplasms: II. Cluster Analysis using Qualitative Characters. *Crop Science*. 31: 605-612
- Vanderborgh, T; E. Depiereux. 1987. A procedure of data analysis for the study of infraespecific diversity of plants with reference to *Phaseolus vulgaris* L. *Biom. Praxim.* 27: 113-125

ANEXO

Tabla 1: líneas y población a la que pertenecen

NÚMERO DE LÍNEAS	POBLACIÓN	PROCEDENCIA
4	PSM-0010*	Poio (Pontevedra)
6	PSM-0016	Moaña (Pontevedra)
10	PSM-0040	Monforte (Lugo)
2	PSM-0061	Cenlle (Orense)
7	PSM-0062	Laracha (La Coruña)
2	PSM-0084	Tagarabuena (Zamora)
5	PSM-0119	Vila Real (Portugal)
2	PSM-0128	Forcarey (Pontevedra)
3	PSM-0164	Río Seco (Palencia)
4	PSM-0165	Geras de Gordón (León)
1	PSM-0176	Salamanca

*Código de procedencia:

PSM: abreviatura del género *Pisum*

0010: población a la que pertenece la planta. Hace referencia al orden de entrada de esa población en la colección de la Misión Biológica de Galicia

Tabla 2 : Fenotipos observados y número de líneas

Isoenzimas	Número de líneas
GOT1-100	32
GOT1-98	25
GOT2-100	36
GOT2-98	31
PGI1-100	39
PGI1-98	10
PGI1-96	1
PGI2-100	41
PGI2-98	5
SOD1-100	37
SOD1-98	10
SOD2-100	42
SOD2-98	2

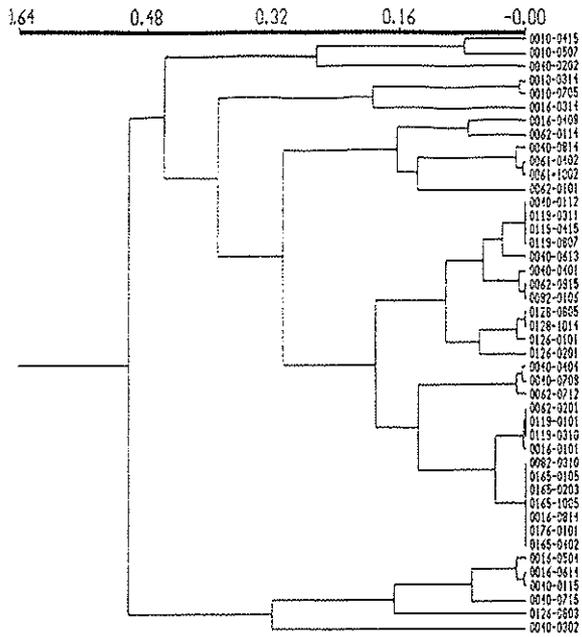


Figura 1: Clasificación a partir de caracteres bioquímicos-

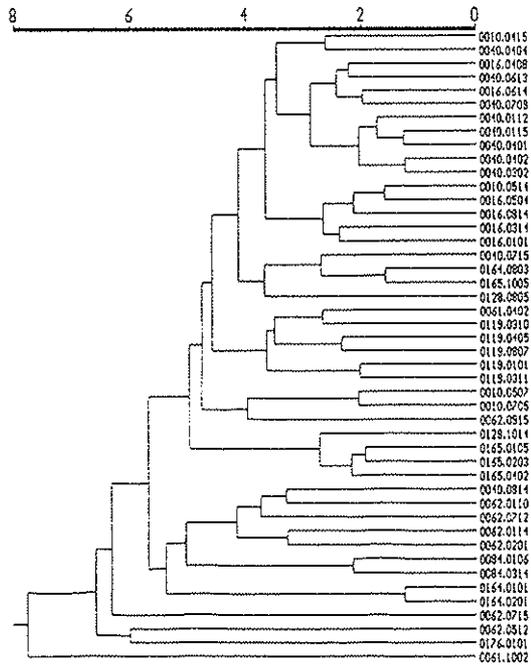


Figura 2: Clasificación a partir de caracteres agronómicos

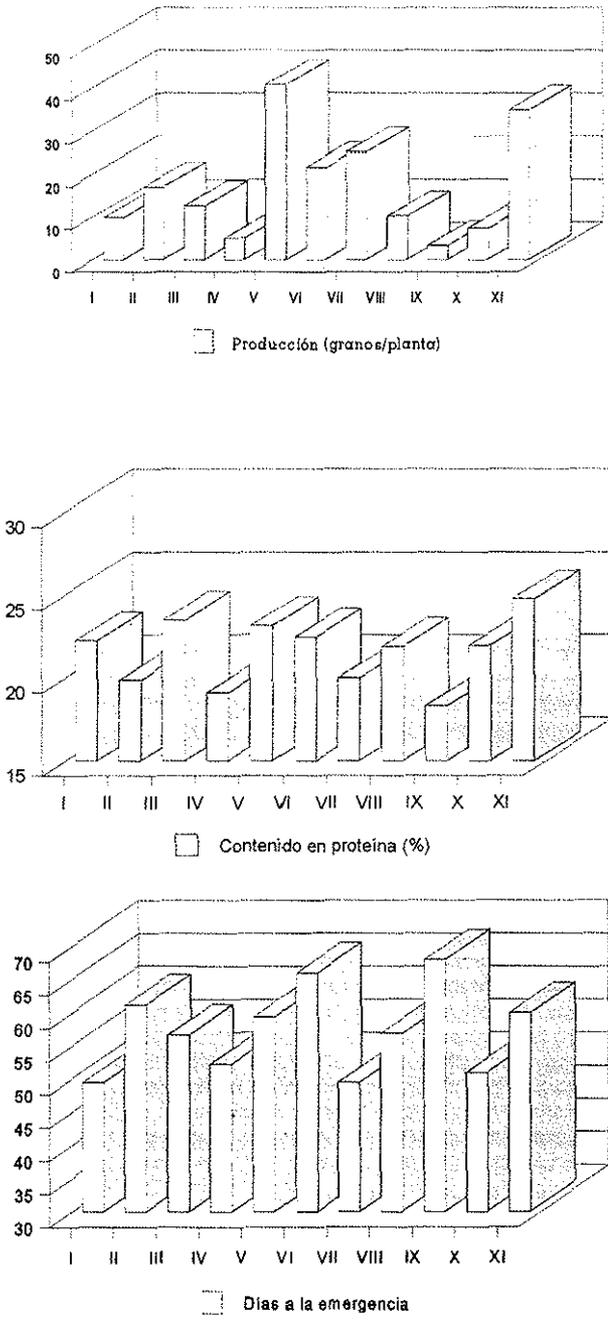


Figura 3: Producción , contenido en proteína y precocidad en la emergencia. Media de los grupos.