

COMPATIBILIDAD REPRODUCTIVA Y HABILIDAD DE TRANSFERENCIA DE GENES EN *Lotus corniculatus* L.

REPRODUCTIVE COMPATIBILITY AND INTROGRESSION HABILITY IN *Lotus corniculatus* L.

Gabino García de los Santos^{1*} y Jeffrey J. Steiner²

¹ Programa de Semillas, Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 Carr. México-Texcoco, C.P. 56230 Montecillo, Texcoco, Edo. de México. Tels: 01 (595) 952-0263 y 952-0200 Ext. 1555. Correo electrónico: garciag@colpos.mx ² National Forage Seed Production Research Center, USDA-ARS, 3430 Sw Campus Way. Corvallis, OR. USA. 97331-7102.

* Autor responsable

RESUMEN

El trébol “pata de pájaro” (*Lotus corniculatus* L.) es una leguminosa forrajera perenne ampliamente distribuida en Europa, Asia Menor, Norte de África y Norte y Sudamérica. Debido a que la información sobre el comportamiento reproductivo entre genotipos geográfica y ecológicamente diversos es escasa, esta investigación se hizo para caracterizar la facilidad de transferencia de genes de 27 colectas de trébol pata de pájaro con dos probadores genéticamente diversos y para determinar la relación entre la compatibilidad reproductiva de las cruzas de genotipos exóticos, con base en cruzas bidireccionales. Con un diseño en dialélico entre ocho genotipos diversos, se determinó el éxito reproductivo o incompatibilidad de las cruzas mediante el porcentaje de vainas formadas y la viabilidad del polen de la generación F₁. Se encontró que las vainas formadas por autofecundación y la viabilidad del polen no se correlacionaron, pero mostraron un amplio intervalo de diferencias. Se identificaron cruzas que al ser compatibles pueden servir de puente para realizar cruzamientos específicos de interés y facilitar el uso de aquellos genotipos que en un sentido resultaron incompatibles. Aun cuando *L. corniculatus* L. es morfológicamente diverso, el germoplasma exótico puede ser aprovechado con los métodos conocidos de mejoramiento genético convencional.

Palabras clave: *Lotus corniculatus* L., diversidad genética, transferencia de genes, germoplasma exótico.

SUMMARY

Birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) is a widely distributed polymorphic perennial forage legume species found in temperate regions of Europe, Asia Minor, North Africa, and North and South America. Because of the information about the reproductive compatibility among genetically and ecologically diverse genotypes is scant, this research was conducted to characterize the ease of introgression of 27 birdsfoot trefoil genotypes into two genetically diverse hybridization testers, and to determine if the cross compatibility among exotic genotypes is related to their genetic background. The study was done using bidirectional crosses with one domestic and some exotic genotype testers, and a diallele crossing matrix of eight genotypes, to determine cross-compatibility among exotic germplasm. Reproductive success and level of incompatibility was measured as percentages of pod set and pollen viability. The self pod set and pollen viability percentages of the genotypes were not correlated, but exhibited a wide range of differences. Some specific crosses were able to bridge any combination of genotypes otherwise incompatible. Even though birdsfoot

trefoil is morphologically diverse, exotic germplasm can be utilized by conventional breeding methods.

Index words: *Lotus corniculatus* L., genetic diversity, introgression ability, exotic germoplasm.

INTRODUCCIÓN

El trébol “pata de pájaro” (*Lotus corniculatus* L.) es una leguminosa forrajera perenne que no produce timpanismo en el ganado cuando lo consume en fresco, y tiene otros atributos valiosos que la ubican como una opción para la producción de forraje en otras regiones templadas de Europa, Asia Menor, Norte de África, América del Sur y Norte, Australia y Nueva Zelanda (Marten *et al.*, 1987; Beuselinck y Grant, 1995; Beuselinck *et al.*, 1996).

Los parientes silvestres de los cultivos domesticados son una fuente invaluable de genes. Sin embargo, esta diversidad con frecuencia no puede ser fácilmente incorporada en las variedades convencionales ya adaptadas (Hallauer, 1978; Paterson *et al.*, 1991); esto se debe, entre muchas otras causas, a la existencia de mecanismos genéticos que mantienen el aislamiento entre los diversos complejos de germoplasma.

Aunque existe amplia variabilidad genética en *L. corniculatus* L. (Chrtová-Zertová, 1973), los pocos cultivares mejorados que existen se han obtenido de una base genética muy estrecha (Steiner y Pocklemba, 1994). Para aprovechar la diversidad genética es necesario determinar el grado de compatibilidad reproductiva entre las colectas disponibles, e identificar posibles rutas de transferencia de genes de importancia económica en el germoplasma exótico y que no han sido aprovechados en el mejoramiento genético de esta especie.

Las barreras reproductivas representan serias dificultades cuando se usa germoplasma exótico en el desarrollo de cultivares mejorados. Por ello, la identificación de cruza específicas que sirvan de puente para la transferencia de características valiosas, permitirá mejorar materiales genéticos de trébol pata de pájaro, especialmente donde la incompatibilidad genotípica impide la hibridación exitosa (Negri *et al.*, 1989). Existe poca información acerca de la asociación entre los diferentes tipos de descriptores, que bien pudiera ser usada para caracterizar de manera más completa las colectas de *L. corniculatus* L.

El entendimiento de las asociaciones específicas entre las características genéticas y los descriptores ambientales pueden ser importantes para utilizar mejor la variación intraespecífica disponible en las colecciones de germoplasma (Beuselink y Steiner, 1992). Las clasificaciones de germoplasma existentes se basan en un escaso número de características vegetativas, y el entendimiento relacionado con los orígenes geográficos es muy limitado (Brown, 1989, Steiner, 1993).

El conocimiento acerca de la fertilidad y la conducta del cruzamiento de los genotipos de trébol pata de pájaro es escaso, de modo que se conoce poco acerca de las barreras genéticas que existen entre genotipos de *L. corniculatus* L., y de las bases genéticas de los caracteres taxonómicos (Negri *et al.*, 1989). Tampoco se han estudiado las diferencias entre el grado de parentesco de las distintas colectas y su congruencia con la compatibilidad reproductiva, información que es requerida para caracterizar con más precisión las colecciones de esta especie en los bancos de germoplasma y facilitar su uso como recurso genético.

Los objetivos de esta investigación fueron caracterizar la facilidad de transferencia de genes entre 28 genotipos silvestres y uno domesticado de *L. corniculatus* L., y determinar si la compatibilidad del cruzamiento entre genotipos exóticos se relaciona con sus antecedentes genéticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético

La investigación se realizó en las instalaciones del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), en el Centro Nacional de Producción de Semillas Forrajeras (NFSPRC) en Corvallis, Oregon, E.E.U.U., ubicado a 43.25 LN y 123.25 LW, y cuyo clima es oceánico con clasificación M242 (Bailey, 1989).

Se utilizaron 28 genotipos exóticos originarios del viejo mundo, más uno de uso común en Norte América. Todos ellos provienen de la colección nacional de plantas (Cuadro

1), y fueron seleccionados con base en la diversidad ecológica de los sitios de colección. Se utilizó semilla original que se obtuvo en la Estación de Introducción de Plantas, del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA-ARS), en Pullman, WA, E.E.U.U.

Las semillas se escarificaron con nitrógeno líquido, y se germinaron a 20 °C en cajas de plástico que contenían papel filtro como sustrato. Las plántulas de ocho días de edad se inocularon con una mezcla comercial de la cepa de *Rhizobium loti* proporcionada por el USDA-Agricultural Research Service, se transplantaron en macetas de un litro de capacidad y se mantuvieron en invernadero en condiciones de riego. Se seleccionaron al azar quince plantas de cada genotipo, de las que se obtuvieron brotes vegetativos para asegurar suficiente número de individuos y flores suficientes para hacer los cruzamientos con los probadores indicados en el Cuadro 1. Las plantas se fertilizaron dos veces al año con 3 g por maceta de una mezcla comercial de NPK, y las plagas y enfermedades se controlaron según fue necesario para mantener el crecimiento activo hasta la etapa de floración.

Evaluación de la capacidad reproductiva

El polen se recolectó con palillos de madera, desinfectados con alcohol 70% entre cada cruza (Williams, 1980). El porcentaje de autofecundación de los genotipos se estimó en al menos 15 florecillas por genotipo; para asegurar la autofecundación las florecillas se frotaron presionándolas ligeramente (Seaney, 1962; Seaney y Henson, 1970). La madurez, ocurrió a los 30 días después de la polinización, aproximadamente; las vainas se cosecharon y trillaron manualmente.

En los genotipos parentales y sus cruza F_1 , se evaluó la viabilidad del polen durante la etapa de anthesis, en cinco plantas por genotipo y en las cuales se colectaron al azar al menos ocho inflorescencias bien desarrolladas. El polen colectado se colocó sobre un portaobjetos, se tiñó con una mezcla de glicerol 50 % y agua 50 % y acetocarmín (1 g/100 mL); después de colocar el cubreobjetos, se selló con barniz transparente. La confiabilidad de la técnica se verificó al compararla con la técnica de germinación de polen *in vitro* (Kariya, 1989), en la que se usó una mezcla de sacarosa 20 %, agar 1 % y 20 mg L⁻¹ de ácido bórico. Ambos métodos tuvieron un coeficiente de correlación de 0.66 ($P \leq 0.001$); se observó que el polen no germinó en ausencia de ácido bórico.

La capacidad reproductiva se determinó mediante las variables: porcentaje de vainas formadas (PVF), número de semillas por vaina (NSV), longitud de vaina (LV), y porcentaje de polen viable en la F_1 (PPV).

Cuadro 1. Relación de los 29 genotipos de *L. corniculatus* L. utilizados en el estudio, país de origen y características climáticas.

Colecta	País	Clave	Altitud (msnm)	Precip. (mm)	Temp. media anual (°C)
PI 325379	Ukrania	UKR	60	452	8.3
PI 369278	Rusia	RUS	3120	388	0.7
PI 31276	Marruecos	MOR [†]	1680	770	11.4
PI 180171	Checoslovaquia	CZE	460	581	6.9
PI 227512 Irán	IRA1	1980	298	15.3	
PI 234670	Francia	FRA1	90	696	10.5
PI 234811 ^{††}	Suiza	SWI [†]	1580	1075	-1.8
PI 235525 Francia	FRA2 [†]	30	146	19.0	
PI 251143 Macedonia	MAC	910	496	5.4	
PI 260268	Etiopía	ETH [†]	2113	685	16.8
PI 260692 Italia	ITA1	300	949	13.5	
PI 267060	Polonia	POL	90	484	7.9
PI 290717 Reino Unido	UK	90	645	9.7	
PI 93-94	Georgia	GEO2	800	1695	-0.1
PI 315082 Kasakstan	KAZ	370	245	4.3	
PI 315454	Rusia	RUS1	100	466	3.6
PI 319021	España	SPA	700	909	8.2
PI 319822	Noruega	NOR1	910	515	0.6
PI 319823	Noruega	NOR2 [†]	760	2532	1.3
PI 325369	Rusia	RUS2 [†]	30	267	9.8
PI 464682	Turkía	TUR [†]	1290	333	7.8
PI 384882 Irán	IRA2	910	842	13.4	
PI 419228	Grecia	GRE1	460	513	14.5
PI 419233	Grecia	GRE2	150	580	13.1
PI 430546	Rusia	RUS4	150	533	3.7
PI 93-21	Georgia	GEO1	900	637	2.8
PI 485601	Italia	ITA2	60	751	12.6
PI 494653	Rumania	ROM	910	525	6.2
NC-83 ^{††}	USA ^{†††}	USA [†]	200	53	5.3

[†] Progenitores seleccionados para el estudio de cruas dialélicas

^{††} Genotipos utilizados como probadores.

^{†††} Colecta domesticada de uso común en Norteamérica.

Habilidad de transferencia de genes

La facilidad de transferencia de genes entre los genotipos se estimó en las cruas recíprocas de los probadores NC-83(USA) y PI 234811 (SWI) con los 27 genotipos exóticos restantes (Cuadro 1). El probador NC-83 es de hábito erecto y posee la hoja más ancha, características típicas de los cultivares norteamericanos, mientras que PI 234811 morfológicamente se asemeja a las colectas de *L. alpinus* L. cuya hoja es más pequeña.

En cada crua recíproca se usaron como mínimo 15 flores; las cruas se hicieron por la mañana sin emascular, de uno a tres días antes de la dehiscencia del polen, excepto en el genotipo ETH que es casi autógamo. Cuando ETH se usó como progenitor femenino, las flores se emascularon dejando intactos el estandarte y el ala (Seaney, 1962).

Compatibilidad entre genotipos exóticos

Para estimar el nivel de compatibilidad que pudiera existir entre los genotipos exóticos, del grupo inicial de 29 genotipos se seleccionaron con base en su diversidad genética y ecológica sólo los siguientes: USA, SWI, MOR, FRA2, ETH, TUR, RUS2 y NOR2 (Cuadro 1); estos ocho genotipos provienen de sitios geográficos distantes, y poseen características fenotípicas contrastantes en morfología de planta que las hacen idóneas para evaluar el grado de compatibilidad entre ellos. Se hicieron cruas dialélicas, planta a planta entre los genotipos, y los cruzamientos recíprocos se formaron en al menos 80 flores por crua, con el método antes descrito.

Análisis estadístico

Se hizo un análisis de varianza para determinar los efectos de: genotipos, dirección de la crua, y su interacción con la capacidad reproductiva. La prueba de Fisher LSD

($P \leq 0.05$) se usó para la comparación de las medias (Snedecor y Cochran, 1980).

Las relaciones entre la magnitud del éxito reproductivo con las características ecológicas de los sitios de colección de los genotipos, se determinaron mediante la correlación de Pearson (Snedecor y Cochran, 1980).

Finalmente, se construyeron matrices de similaridad para los ocho genotipos del dialélico, tomando en cuenta las distancias reproductivas medidas como: compatibilidad, viabilidad de polen, formación de vainas y longitud de vaina, distancias genéticas y distancias morfológicas (Systat, 1992). La congruencia entre estas matrices generadas de los diferentes conjuntos de caracteres se evaluó mediante el comando MXCOMP del programa NTSYS versión 1.8 (Rohlf, 1993).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de genotipos parentales

Todos los genotipos tuvieron porcentajes de viabilidad de polen mayor de 70 % (Figura 1), excepto MOR, SW1, GEO1 e ITA2, lo cual se atribuye a que son híbridos de *L. corniculatus L.*, porque presentan características morfológicas un tanto diferentes al resto de los genotipos. En autofecundación, el porcentaje de polen viable osciló de 94 % en ETH a 0 % en 14 de los 29 genotipos. La mayor producción de polen viable del genotipo ETH se explica en función de su origen genético, ya que proviene de una familia de colectas que constituyen la única especie conocida de genotipos tetraploides de trébol pata de pájaro (Steiner y Poklemba, 1994), especie que por lo general es más vigorosa.

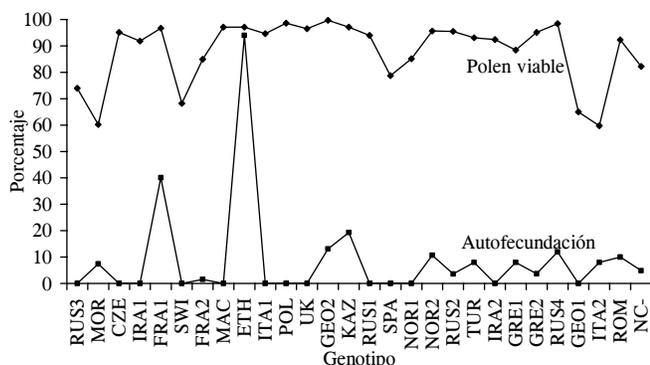


Figura 1. Caracterización de 29 genotipos de *L. corniculatus L.*, por la producción de polen viable y el grado de autofecundación.

El rango de autocompatibilidad de los genotipos fue mayor que el informado por McDonald (1946), debido a

que el género *Lotus* está compuesto por materiales fenotípica y genotípicamente muy variables (Chrtková-Zertová, 1973); es posible que algunos de los genotipos usados sean híbridos y, por tanto, también sean resultado de combinaciones específicas de variedades. No se encontró relación entre el porcentaje de vainas autofecundadas y viabilidad de polen ($r = 0.20$; $P \leq 0.32$), excepto en ETH que es un genotipo casi autógamo (Seaney, 1962).

Habilidad de transferencia de genes entre colectas exóticas y los probadores USA y SWI.

En las cruzas entre probadores y germoplasma exótico hubo diferencias en el porcentaje de formación de vainas (PVF) entre ambos probadores; el probador SWI, en promedio, formó mayor porcentaje de vainas que USA (41.0 y 24.7 %, respectivamente), aunque los porcentajes de polen viable en la F_1 (PPV) fueron muy similares (69.9 y 70.1 %) (Cuadro 2). En ambos probadores también hubo diferencias en función de la dirección de cruce; cuando los probadores fungieron como hembras se formó mayor porcentaje de vainas ($28.9 > 20.5$ y $54.4 > 27.6$ %) y de polen viable en la F_1 ($84.0 > 56.3$ y $75.2 > 64.6$ %). En general, los coeficientes de variación fueron muy similares en los dos probadores, aunque ligeramente más bajos en SWI.

Cuadro 2. Comportamiento reproductivo promedio de los cruzamientos entre los probadores y los 27 genotipos exóticos.

Probador	Variable	Valores			
		Mínimo	Máximo	Promedio	Coef. de variación (%)
USA	PVF-H	0.0	63.6	28.9	3.5
	PVF-M	0.0	83.7	20.5	6.1
	—				
	\bar{x}	0.0	73.6	24.7	4.8
	PPV-H	0.0	98.0	84.0	1.8
	PPV-M	0.0	98.1	56.3	4.2
SWI	—				
	\bar{x}	0.0	98.0	70.1	3.0
	PVF-H	23.5	87.5	54.4	1.6
	PVF-M	0.0	73.3	27.6	4.5
	—				
	\bar{x}	11.7	80.4	41.0	3.0
SWI	PPV-H	0.0	93.0	75.2	1.2
	PPV-M	0.0	97.8	64.6	3.3
	—				
	\bar{x}	0.0	95.4	69.9	2.2

H = Hembra; M = Macho; PVF = Porcentaje de vainas formadas; PPV = Porcentaje de polen viable en la F_1 .

Al comparar los efectos en la dirección de cruce dentro de cada probador (Cuadro 3), se detectó que en el probador USA sólo hubo diferencias significativas en el porcentaje de polen viable en la F_1 ($P \leq 0.01$), mientras que el probador SWI se comportó mejor como hembra al formar mayor porcentaje de vaina ($P \leq 0.0004$). Entre los dos probadores hubo diferencias significativas en el porcentaje

de formación de vainas cuando ambos se utilizaron como hembras, como ya había sido señalado antes.

Cuadro 3. Comparación de comportamiento de los dos probadores en función de la dirección de la cruce.

Comparación	Valor de t	Probabilidad
U S A		
PVF-H vs PVF-M	1.12	0.2738
PPV-H vs PPV-M	2.53**	0.0179
S W I		
PVF-H vs PVF-M	4.11***	0.0004
PPV-H vs PPV-M	1.14	0.2661
USA vs SWI		
PVF-H vs PVF-H	5.12***	0.0001
PVF-M vs PVF-M	1.76	0.0893
PPV-H vs PPV-H	1.33	0.1963
PPV-M vs PPV-M	0.76	0.4519

H = Hembra; M = Macho; PVF = Porcentaje de vainas formadas; PPV = Porcentaje de polen viable en la F₁.

, *: Valores significativos a 0.01 y 0.001 de probabilidad, respectivamente.

En cuanto a la compatibilidad de los probadores USA y SWI con los 27 genotipos exóticos, se identificaron dos formas de incompatibilidad. La primera relacionada con la formación de vainas, donde algunas cruces no formaron ninguna; este comportamiento parece tener relación con la dirección de la cruce, pues cuando el probador USA se usó como hembra hubo producción de vainas en todas las cruces, excepto en la cruce con GEO1, pero cuando se usó como macho, diez genotipos mostraron incompatibilidad (CZE, FRA2, POL, UK, KAZ, RUS1, SPA, RUS3, IRA2 y GRE2). En el caso del probador SWI usado como hembra, todos los genotipos fueron compatibles, mientras que cuando se usó como macho seis mostraron incompatibilidad (CZE, UK, KAZ, SPA, RUS4 y ROM). Sin embargo, en forma selectiva ambos probadores mostraron tener alta compatibilidad como polinizadores, como fue el caso del probador USA con NOR2 e ITA1 (con 83.7 y 80.0 % de vainas formadas, respectivamente), y el probador SWI con GEO2 e ITA1 (con 70.6 y 73.3 % de vainas, respectivamente) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Compatibilidad de cruces entre los 27 genotipos exóticos y los probadores USA y SWI como hembra (H) y como macho (M), en *L. corniculatus* L.

Colecta	Clave	USA				SWI			
		PVF		PPV		PVF		PPV	
		H	M	H	M	H	M	H	M
PI 31276	MOR	17.9	23.1	92.7	94.7	53.8	23.2	49.2	94.8
PI 180171	CZE	45.4	0.0	92.9	0.0	43.7	0.0	56.8	0.0
PI 227512	IRA1	63.6	30.0	95.2	95.7	50.0	42.1	0.0	89.9
PI 234670	FRA1	10.0	20.0	95.4	83.5	40.0	50.0	89.2	93.0
PI 235525	FRA2	33.3	0.0	73.5	0.0	59.8	1.9	60.2	96.1
PI 251143	MAC	54.5	10.0	96.1	96.9	62.5	38.9	80.8	96.2
PI 260268	ETH	9.3	2.5	0.0	0.0	75.0	5.0	54.1	0.0
PI 260692	ITA1	63.6	8.3	95.7	97.8	73.3	11.1	81.4	93.0
PI 267060	POL	20.0	0.0	95.9	0.0	73.3	20.0	86.3	96.3
PI 290717	UK	58.3	0.0	97.6	0.0	25.0	0.0	87.7	0.0
PI 93-94	GEO2	27.3	30.0	97.8	95.4	44.4	70.6	77.7	97.8
PI 315082	KAZ	11.0	0.0	94.3	0.0	73.3	0.0	89.6	0.0
PI 315454	RUS1	23.1	0.0	96.1	0.0	73.3	11.1	88.2	90.9
PI 319021	SPA	27.3	0.0	94.2	0.0	85.5	0.0	68.1	0.0
PI 319822	NOR1	30.0	30.0	96.1	96.4	73.3	60.0	79.4	96.4
PI 319823	NOR2	6.2	83.7	98.0	98.1	51.9	69.5	88.4	96.9
PI 325369	RUS2	3.6	48.1	93.7	97.2	43.1	55.5	93.0	97.0
PI 325379	UKR	7.7	30.0	96.0	96.2	23.5	5.5	78.6	0.0
PI 369278	RUS3	25.0	0.0	94.7	0.0	75.0	50.0	82.2	96.2
PI 464682	TUR	43.6	7.0	94.5	91.3	60.0	27.7	76.8	79.2
PI 384882	IRA2	58.3	0.0	92.3	0.0	60.0	40.0	74.8	94.6
PI 419228	GRE1	50.0	30.0	95.7	97.5	60.0	11.8	74.9	91.0
PI 419233	GRE2	50.0	0.0	97.3	0.0	27.8	26.7	62.0	96.1
PI 430546	RUS4	27.3	20.0	97.5	96.3	38.9	0.0	72.4	0.0
PI 93-21	GEO1	0.0	70.0	0.0	93.4	25.0	52.9	81.1	72.4
PI 485601	ITA2	6.2	80.0	94.8	96.3	35.7	73.3	83.3	75.4
PI 494653	ROM	9.1	30.0	0.0	94.8	60.0	0.0	83.1	0.0

PVF = Porcentaje de vaina formada; PPV = Porcentaje de polen viable en la F₁.

La segunda forma de incompatibilidad resultó de combinaciones de cruza, que aunque formaron vainas al actuar como hembra o como macho, no se produjo polen viable en la F₁ (Cuadro 4). Algunos ejemplos de ello ocurrieron al utilizar el probador USA como hembra con los genotipos ETH y ROM como macho; y en el caso del probador SWI, también como hembra, con UK, KAZ, SPA, RUS4 y ROM como machos.

El hecho de que los genotipos exóticos no hayan mostrado diferencias en la dirección del cruzamiento para la mayoría de los caracteres reproductivos, al ser cruzados con el probador USA, parece indicar que si se desea transferir algún carácter de materiales silvestres, la formación de vainas está garantizada sin importar la dirección de la cruza. En general, se logró un alto grado de éxito reproductivo (vaina formada) usando ambos probadores como hembras, con 96 y 100 %, respectivamente (Cuadro 4). En contraste, cuando estos probadores fungieron como macho, no en todas las cruza se tuvo éxito (63 y 78 % para USA y SWI, respectivamente). Estos resultados indican que las barreras de incompatibilidad que existen entre los genotipos exóticos y los probadores pueden ser superadas, pero se requieren estudios que determinen la dirección adecuada de las cruza específicas para asegurar la formación de híbridos. Respuestas similares podrían obtenerse con diferentes probadores, pero que cuando se desee hacer transferencia de genes de especies silvestres a genotipos cultivados es importante seleccionar progenitores compatibles.

Cuadro 5. Medias de compatibilidad de cruza como progenitor femenino en el dialélico entre las ocho colectas de *L. corniculatus* L.

Colecta	PVF (%)	LV (mm)	NSV	PPV (%)
NOR2	68.7a	26.3a	12.6ab	90.1a
SWI	58.1ab	22.7ab	15.9a	78.0ab
RUS2	50.9b	22.9ab	9.3bc	91.3a
MOR	28.1cd	19.4bc	8.6bc	85.5a
USA	21.6cd	20.3bc	11.3ab	78.0ab
TUR	15.7de	15.0bc	7.6cd	84.1 ^a
ETH	12.4de	24.1ab	9.9bc	81.0a
FRA	1.6f	5.9d	4.6d	64.3bc

PVF = Porcentaje de vaina formada; LV = Longitud de vaina; NSV = Número de semillas por vaina; PPV = Porcentaje de polen viable F₁.

La caracterización de las formas de compatibilidad en las colectas y la apropiada identificación de las variantes que existen en los genotipos compatibles, representa la posibilidad de usar genotipos específicas en los cruzamientos durante los programas de mejoramiento genético para la incorporación de caracteres únicos en trébol pata de pájaro (O'Donoghue y Grant, 1988). Por ejemplo, si algunas características del genotipo ETH fueran deseables (Cuadro 4), el probador USA no sería el adecuado, debido a que en la cruza la progenie sería estéril (0 % de viabilidad de polen) y el porcentaje de vainas formadas sería bajo

(<10%), sin importar la dirección de la cruza. Por otra parte, si el probador SWI se usara como hembra la cruza sería muy exitosa al cruzarse con el genotipo ETH, ya que se obtendría 75 % de vainas, y el polen sería fértil en 54 % de la F₁ resultante. Las cruza que resultaron con altos niveles de compatibilidad podrían explicarse en términos de homología de cromosomas, y las relaciones entre cariotipo y compatibilidad de la cruza necesitan determinarse con estudios adicionales para evaluar el efecto de la F₁ sobre el éxito reproductivo en cruza específicas (Grant *et al.*, 1962).

Compatibilidad entre genotipos diversos

Aunque estadísticamente no hubo efectos de las cruza sobre la viabilidad del polen de la F₁ (P<0.91), los genotipos y la dirección de la cruza interactuaron y presentaron diferencias en el porcentaje de vainas formadas, longitud de la vaina y el número de semillas por vaina (P<0.0001, 0.0001 y 0.05, respectivamente). Los genotipos NOR2, SWI y RUS2 mostraron la mayor capacidad de cruzamiento expresada en porcentaje de vainas formadas, y el genotipo FRA la menor, cuando se utilizaron como progenitores femeninos (Cuadro 4). En cambio, los genotipos TUR y FRA, tuvieron la mayor expresión para dicho carácter como progenitores masculinos (41.7 y 43.2 %, respectivamente) (Cuadro 6). La dirección de la cruza no tuvo efecto en la formación de vaina de los genotipos MOR, USA y ETH.

Cuadro 6. Medias de compatibilidad de cruza como progenitor masculino en el dialélico entre las ocho colectas de *L. corniculatus* L.

Colecta	PVF (%)	LV (mm)	NSV	PPV (%)
NOR2	21.8bc	20.1a	10.5a	76.5a
SWI	31.3ab	22.4a	11.7a	79.3a
RUS2	26.8bc	19.8a	9.7a	76.2a
MOR	31.7ab	17.6a	8.2a	73.4a
USA	32.5ab	20.6a	10.3a	67.2ab
TUR	41.7a	19.8a	10.1a	79.1a
ETH	23.8bc	13.1ab	6.4ab	42.1bc
FRA	43.2a	22.9a	12.7a	42.6bc

PVF = Porcentaje de vaina formada; LV = Longitud de vaina; NSV = Número de semillas por vaina; PPV = Porcentaje de polen viable F₁.

El genotipo ETH tuvo un bajo porcentaje de viabilidad de polen en la F₁, en comparación con el resto de genotipos.

CONCLUSIONES

Los 29 genotipos parentales mostraron un rango amplio de respuestas en vainas formadas por autofecundación y porcentaje de polen viable.

En todas las cruzas donde estuvieron presentes los probadores USA y SWI hubo diferentes grados de incompatibilidad, expresada ésta por la no formación de vainas o por la inhabilidad para producir progenie con polen viable.

Se identificaron genotipos parentales que pueden servir para hacer cruzas de interés en este germoplasma, en casos específicos donde algunos progenitores mostraron incompatibilidad.

La identificación de patrones diferentes de comportamiento reproductivo en los 29 genotipos utilizados, marca la pauta para su manejo como recurso genético potencial en estudios futuros.

BIBLIOGRAFÍA

- Bailey R G (1989)** Explanatory supplement to ecoregions map of the continents. *Environ. Conserv.* 16:302-310
- Beuselinck P R, J J Steiner (1992)** A proposed framework for identifying, quantifying, and utilizing plant germplasm resources. *Field Crops Res.* 29:261-272.
- _____, **W F Grant (1995)** Birdfoot trefoil. *In: An Introduction to Grassland Agriculture*, R F Barnes, B P Goplen, J E Baylor (eds). Forages 5th Ed. Vol.1:Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa. pp:237-248.
- _____, **B Li, J J Steiner (1996)** Rhizomatous *Lotus corniculatus* L.: I. Taxonomic and cytological study. *Crop Sci.* 36:179-185.
- Brown A H D (1989)** Core collections: a practical approach to genetic resources management. *Genome* 31:818-824.
- Chrtková-Zertová A (1973)** A monographic study of *Lotus corniculatus* L. I Central and Northern Europe. *Rozpravy Ceskoslovenske Akademie Ved.* 83:1-94.
- Grant W F, M R Bullen, D A Nettancourt (1962)** The cytogenetics of *Lotus*. I. Embryo-cultured interspecific diploid hybrids closely related to *L. corniculatus*. *Can. J. Genet. Cytol.* 4:105-128.
- Hallauer A R (1978)** Potential of exotic germplasm for maize improvement. *In: Maize Breeding and Genetics*. D.B. Walden (ed) John Wiley & Sons, New York, N.Y. pp: 229-247.
- Kariya K (1989)** Sterility caused by cooling treatment at the flowering stage in rice plants. *Japan J. Crop Sci.* 58:96-102.
- Marten G C, F R Ehle, E A Ristau (1987)** Performance and photosensitization of cattle related to forage quality of four legumes. *Crop Sci.* 27:138-145.
- MacDonald M A (1946)** Birdfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) Its characteristics and potentialities as a forage legume. *Cornell Agric. Exp. Stn. Memo* 261. 182 p.
- Negri V, B Romano, F Ferranti (1989)** Male sterility in birdfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.). *Sex Plant Reprod.* 2:150-153.
- O'Donoghue L S, W F Grant (1988)** New sources of indehiscence for birdfoot trefoil, *Lotus corniculatus* (Fabaceae) produced by interspecific hybridization. *Genome* 30:459-468.
- Paterson A H, S D Tanksley, M S Sorrells (1991)** DNA markers in plant improvement. *Adv. Agron.* 46:39-90.
- Rohlf F J (1993)** NTSYS-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 1.80 Applied Biostatistics Inc., N.Y. 125 p.
- Seaney R R (1962)** Evaluation of methods for self- and cross-pollinating birdfoot trefoil, *Lotus corniculatus* L. *Crop Sci.* 2:81-82.
- Seaney R R, P R Henson (1970)** Birdfoot trefoil. *Adv. Agron.* 22:119-157.
- Snedecor G W, W G Cochran (1980)** Statistical Methods. Iowa State University Press. Ames, IA. 145 p.
- Steiner J J (1993)** Electrophoretic techniques for evaluating forage germplasms. *International Herbage Seed Production Newsletter* No. 19. 25 p.
- _____, **C J Poklemba (1994)** *Lotus corniculatus* L. classification by seed globulin polypeptides and relationships to accession pedigrees and geographic origin. *Crop Sci.* 34:255-260.
- Systat (1992)** Systat: Statistics, Version 5.2 Edition. Systat, Inc., Evanston, IL. 98 p.
- Williams P H (1980)** Bee-sticks, an aid in pollinating Cruciferae. *Hort Sci.* 15:802-803.