

17. Ciencia, Tecnología e Innovación

**Premejoramiento de *Arachis hypogaea*: Desarrollo de materiales a partir de cruzamientos interespecíficos recíprocos entre especies con genoma B del género *Arachis* L. y análisis del comportamiento meiótico de la F1**

Vandecaveye, Melina; García, Alejandra; Lavia, Graciela;  
[melivande10@gmail.com](mailto:melivande10@gmail.com); [alevanina.g23@gmail.com](mailto:alevanina.g23@gmail.com); [graciela.lavia@yahoo.com.ar](mailto:graciela.lavia@yahoo.com.ar)

Universidad Nacional del Nordeste

Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agrimensura

Universidad Nacional del Nordeste

---

**Resumen**

Los objetivos de este trabajo fueron: Desarrollar materiales a partir de especies con genoma B (*Arachis ipaënsis* y *A. williamsii*) mediante cruzamientos interespecíficos recíprocos para incorporar a planes de mejoramiento del maní cultivado / *Arachis hypogaea* y determinar la homología genómica entre las especies parentales, mediante la evaluación del comportamiento meiótico de los híbridos F1. Los cruzamientos fueron realizados en invernáculo durante el período de floración de las plantas mediante la castración de las flores de los progenitores femeninos durante la tarde, y a la mañana siguiente, la polinización de las mismas. Luego de la cosecha de los frutos se evaluaron los resultados de los cruzamientos para cada progenitor femenino y se realizó además la caracterización morfológica de frutos y semillas. La germinación de las semillas permitió la obtención de plántulas F1. La identificación de los híbridos fue realizada mediante el cálculo de la viabilidad del polen y el análisis del comportamiento meiótico de los híbridos F1 determinó la homología genómica entre las especies parentales.

Los cruzamientos realizados permitieron la obtención de híbridos interespecíficos recíprocos. El análisis de las células madres del polen en diacinesis reveló la presencia de 65,7% células con 10II (10 bivalentes), constituyendo una evidencia de la alta homología genómica entre estas especies de *Arachis*. Además se reveló la presencia de irregularidades desde Profase I a Telofase II que darían lugar a la formación de microsporas aneuploides, explicando la disminución de la viabilidad de polen. Estos materiales diploides obtenidos son promisorios para planes de mejoramiento genético del maní cultivado.

## Introducción

El género *Arachis* comprende 82 especies nativas de América del Sur distribuidas en nueve secciones taxonómicas. Dentro de la sección *Arachis*, las especies presentan diferentes tipos genómicos, A, B, D, F, G y K. El maní cultivado (*Arachis hypogaea* L.) es una de las leguminosas comestibles más cultivada a nivel mundial, y según el Ministerio de Agroindustria de la Nación, Argentina es uno de los principales productores/exportadores con una producción de 609 mil toneladas anuales. A pesar del potencial productivo del maní y el posicionamiento actual de Argentina como productor/exportador, su cultivo se encuentra poco desarrollado debido a la susceptibilidad del cultígeno a múltiples factores bióticos y abióticos relacionados fundamentalmente a la estrecha base genética de los cultivares (Raina *et al.*, 2001) y a la baja utilización de los recursos genéticos para su mejoramiento. Los parientes silvestres de *A. hypogaea*, con tolerancia a múltiples estreses, constituyen fuentes irremplazables de diversidad genética para el mejoramiento del cultígeno, sin embargo su utilización está limitada por incompatibilidad de cruzamientos. Harlan & de Wet (1971) propusieron el concepto de pool génico (PG) para definir las relaciones entre los cultivos y las especies afines que podrían ser útiles a los mejoradores y genetistas que aspiran a utilizar estos recursos genéticos en mejoramiento del cultivo.

Estos autores asignaron varios recursos genéticos a los tres PG basándose en la facilidad de hibridación con la especie cultivada en estudio: pool génico primario (PG-1), secundario (PG-2) y terciario (PG-3). PG-1 incluye germoplasma que puede ser fácilmente hibridado, por ej. cultivares, razas locales, germoplasma elite. PG-2 contiene especies que pueden ser cruzados con PG-1 sin mayores inconvenientes en la fertilidad de la F1, de modo que la transferencia de genes desde especies del PG-2 hacia cultivares es posible. PG-3 es el grupo más alejado de las especies cultivadas, por lo que híbridos entre especies de los PG-1 y PG-3 frecuentemente requieren técnicas de rescate de embriones. *Arachis ipaënsis* Krapov. & W.C. Gregory con constitución genómica BB (Robledo & Seijo, 2010) es considerado uno de los progenitores más probables de *A. hypogaea*, AABB (Seijo *et al.*, 2004, 2007) presenta resistencia a la mancha foliar tardía, (*Cercosporidium personatum* Berk. & M.A. Curtis Deighton), y a la roya del maní (*Puccinia arachidis* Speg.) (Pande & Rao, 2001). Por otra parte, *A. williamsii* Krapov. & W.C. Gregory, también BB, es resistente a *Cylindrocladium parasiticum* Crous, M.J. Wingfield & Alfenas (Tallury *et al.*, 2011), hongo que afecta en mayor medida la parte subterránea del cultivo. Las resistencias presentes en estas especies serían de interés para ser incorporadas al maní cultivado. Una estrategia muy

utilizada es el premejoramiento, es decir, transferencia o introgresión de genes desde fuentes de germoplasma no adaptado a materiales mejorados, por lo que la identificación de una especie con alta homología con el genoma B de *A. hypogaea* es relevante para el éxito de los programas de mejora donde se realiza introgresión (Cunha *et al.*, 2008). El análisis del apareamiento de los cromosomas en la meiosis de híbridos interespecíficos es una metodología muy utilizada (Fernández & Arbo, 2000) para medir el grado de homología entre los genomas parentales, por lo que, si se detecta formación de bivalentes (II) y el híbrido es fértil, se puede inferir que existe homología genómica entre las especies cruzadas. Por otro lado, las irregularidades meióticas observadas en el híbrido serían una estimación de las diferencias génicas y/o estructurales que poseen las entidades progenitoras (Poggio *et al.*, 2010).

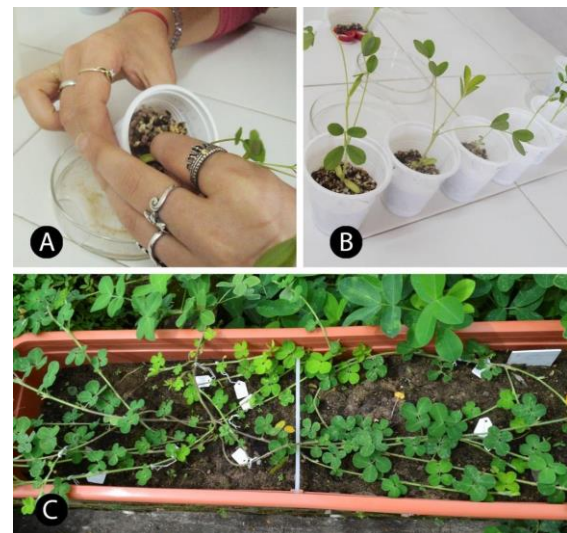
### Objetivos

Teniendo en cuenta lo planteado en las líneas anteriores, en esta tesina se propuso desarrollar nuevos materiales (híbridos interespecíficos) mediante la realización de cruzamientos interespecíficos recíprocos entre *A. ipaënsis* y *A. williamsii* que puedan ser incorporados a programas de mejoramiento, y además analizar el comportamiento meiótico de la progenie

híbrida F1 obtenida a fin de determinar el grado de homología genómica existente entre las entidades.

### Materiales y Métodos

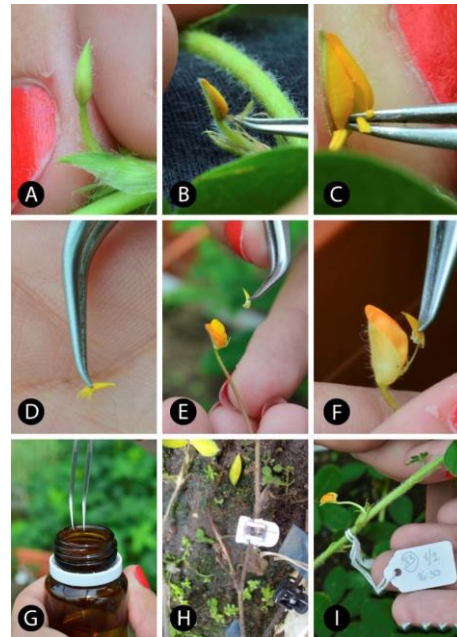
Las especies parentales utilizadas fueron: *A. ipaënsis* y *A. williamsii*, obtenidas de la colección de germoplasma del IBONE. Para la obtención de plantas de las especies parentales, se colocaron semillas en germinadores, luego de la germinación las plántulas fueron trasplantadas a macetas aptas para llevar a cabo los cruzamientos (Fig. 1).



**Figura 1. Germinación y trasplante de individuos parentales.** A y B. Crecimiento de plántulas en frascos individuales con vermiculita; C. Trasplante de individuos a macetas aptas para los cruzamientos en el invernáculo de *Arachis*.

Los cruzamientos se realizaron en el periodo de floración de las plantas, que incluyen los meses de noviembre a abril y consistieron en: castración de las flores del parental femenino en el estado de botón floral y polinización de las flores castradas con granos de polen del

parental masculino (Fig. 2). La castración se realizó en una serie de pasos que inició con la eliminación del sépalo libre de la flor, la separación de los pétalos hasta encontrar la quilla que envuelve al androceo y gineceo, la eliminación de la misma para liberar las estructuras reproductoras y, por último, la extracción de los cuatro estambres y estaminodios que rodean al gineceo. Finalmente el gineceo fue colocado en su posición original y los pétalos acomodados de la misma forma que se encontraban en el botón sin castrar. La polinización de las flores castradas se realizó entre las 7:00 y 10:00 hs de la mañana siguiente. Estas flores, tanto cerradas como abiertas, fueron polinizadas colocando la quilla proveniente de los progenitores masculinos (conteniendo en su interior el polen) sobre el estilo y estigma con la ayuda de una pinza (Fig. 3; A-F). Los cruzamientos realizados fueron identificados con etiquetas referenciadas con número de cruzamiento y fecha de polinización; los clavos (i.e. estructura formada por la elongación de la base del ovario luego de la fecundación, que lleva en su extremo el o los óvulos fecundados) fueron marcados con broches de plástico sobre la rama que antecedió a cada uno (Fig. 3; G-I).



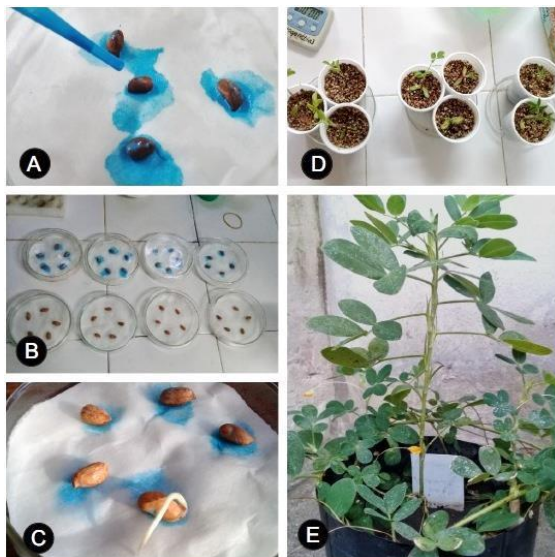
**Figura 2. Castración y polinización de individuos parentales.** A. Botón floral del parental femenino día antes de su apertura; B. Remoción del sépalo de la flor; C. Extracción de estambres y estaminodios; D. Quilla proveniente del progenitor masculino, conteniendo el polen; E y F. Inserción de la quilla sobre estigma del botón castrado; G. Esterilización de la pinza utilizada; H. Marcado de los clavos elongados provenientes de los cruzamientos; I. Etiquetado de los las flores polinizadas indicando fecha y número de cruzamiento.

Luego del período de fructificación y culminación del ciclo anual de las plantas, que incluyeron los meses de junio-julio del 2017, se procedió a la cosecha volteando las macetas con tierra y buscando los frutos de forma manual o de ser necesario tamizando la tierra con un tamizador de pie. Los frutos fueron identificados teniendo en cuenta la especie progenitora femenina utilizada en el cruzamiento (*Arachis ipaënsis* o *A. williamsii*) y conservados en el Banco de Germoplasma del Instituto de Botánica del



Nordeste hasta su utilización y análisis en el laboratorio. Se analizó el número de: cruzamientos realizados, clavos producidos, frutos cosechados, semillas por fruto y total de semillas producidas, y se calculó el porcentaje de fructificación. Se realizó además la caracterización morfológica de los frutos y las semillas, (largo y ancho en mm, peso en gr y textura del epicarpio).

En el mes de agosto, se colocaron en germinadores individuales 20 semillas de cada cruzamiento recíproco. (Fig. 3) La identificación de los individuos híbridos se realizó mediante el análisis de la viabilidad del polen, considerando que los híbridos intragenómicos muestran valores de viabilidad del polen entre el 25 % y el 70 % (Burow *et al.*, 2009).

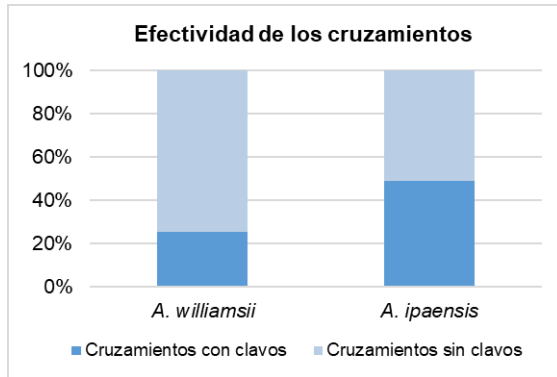


**Figura 3.** Obtención de plántulas híbridas. **A.** Semillas desinfectadas con fungicida; **B.** Germinadores mantenidos en condiciones favorables; **C.** Semillas germinadas; **D.** Plántulas obtenidas en frascos individuales con vermiculita; **E.** Trasplante a macetas definitivas.

Para detectar el grado de homología entre las especies cruzadas se analizó el comportamiento meiótico de 3 individuos por cada combinación híbrida. Los preparados cromosómicos se realizaron a partir de las anteras de botones florales jóvenes, frescos o fijados en alcohol: ácido acético (3:1), se colorearon con orceína lacto-propiónica y se analizaron con microscopio óptico. Para determinar la viabilidad del polen se utilizó la técnica de carmín-glicerina 1:1. Se realizaron preparados con tres botones florales maduros para cada individuo, a partir de las 4 anteras grandes de cada botón y se consideraron viables los granos de polen que presentaron el citoplasma uniformemente teñido. Finalmente, para cada muestra analizada, la viabilidad del polen se calculó como el porcentaje promedio de granos viables/total de granos de polen analizados.

### Resultados y Discusión

Se realizaron un total de 377 castraciones de los parentales femeninos y 352 cruzamientos. Sólo el 34,94% de los cruzamientos realizados produjeron clavos. Se cosecharon un total de 53 frutos en la maceta del parental femenino *A. williamsii*, mientras que fueron 74 los hallados en la maceta del parental femenino *A. ipaënsis*. El porcentaje de fructificación fue de 22,7 % para *A. williamsii* y 41,8 % para *A. ipaënsis* y el porcentaje medio de éxito de los cruzamientos fue de 48,74% (Fig. 4)



**Figura 4. Eficiencia en la producción de clavos en ambas especies parentales.**

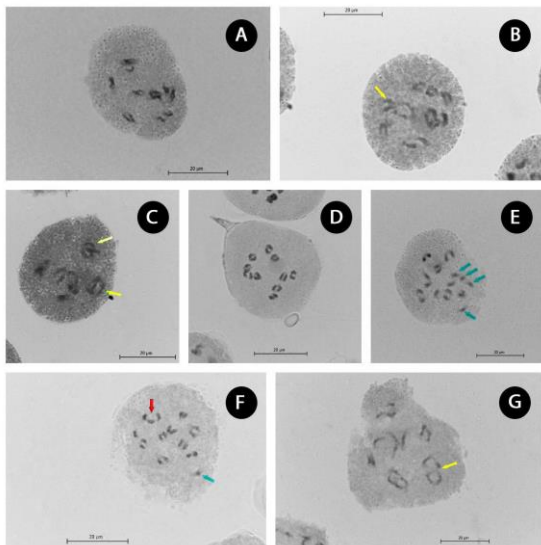
Se ha demostrado que en cruzamientos intergenómicos el porcentaje de éxito de los cruzamientos es menor, variando de 20,9% (García, 2015) a 20,83% (Favero *et al.*, 2006), por lo que el porcentaje hallado en el presente trabajo constituye una evidencia de la homología genómica entre las especies estudiadas. El mayor número de clavos producidos cuando *A. ipaensis* actuó como parental femenino demostraría que esta especie es más eficiente como madre. Así mismo, en cuanto a las características morfológicas estudiadas, los frutos híbridos presentaron mayor longitud y ancho que los frutos parentales y cuando se utilizó a *A. ipaensis* como parental femenino los valores fueron mayores en las tres variables, misma relación observada en las semillas producto de los cruzamientos *A. ipaensis* x *A. duranensis* (García, 2015). Tras la germinación de las semillas se obtuvieron 10 plantas de *A. ipaensis* x *A. williamsii* y 12 del cruzamiento recíproco. El análisis de la viabilidad del polen demostró que se obtuvieron 14 plantas híbridas, mientras que las

restantes resultaron ser producto de autofecundación. La viabilidad del polen de los individuos autopolinizados osciló entre 90% y 97,3%, por lo que, teniendo en cuenta el criterio utilizado para la identificación, fueron descartados de los análisis.

El análisis del comportamiento meiótico se realizó en 3 individuos híbridos producto de los cruzamientos *A. ipaensis* x *A. williamsii* y 3 individuos producto del cruzamiento recíproco. Dicho análisis incluyó el comportamiento meiótico desde profase I hasta telofase II y las asociaciones cromosómicas halladas en metafase I. En individuos pertenecientes a ambos cruzamientos se observó la formación de 10 II en metafase I como configuración más predominante, con valores que oscilaron entre 8,40 a 9,93. Sin embargo fue posible observar otras configuraciones como: 3IV + 4II, 2IV + 6II, 1IV + 8II, 9II + 2I, 8II + 4I y 8II+1III+1I (Fig. 5).

Los datos disponibles en *Arachis* sobre apareamientos cromosómicos en meiosis muestran que la formación de bivalentes en las metafases de los híbridos intragenómicos es generalmente superior al 9,5 (de los 10 previstos), mientras que en híbridos intergenómicos, es inferior a 7,5 (Tallury *et al.*, 2005). Por lo tanto, el número de bivalentes formados en la F1 del cruzamiento entre *A. ipaensis* y *A. williamsii* y su recíproco refleja valores esperados para una F1 intragenómica, lo

que evidencia que estas especies presentan homología cromosómica.

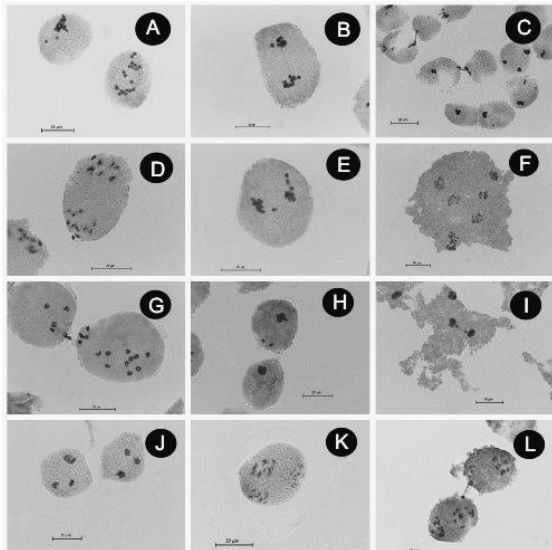


**Figura 5. Asociaciones cromosómicas halladas en diacinesis y metafase I de los individuos híbridos, A-C:** A. *ipaënsis* x *A. williamsii*; **D-G:** recíproco. **A:** 10II; **B:** 1IV + 8II; **C:** 2IV + 6II; **D:** 10 II; **E:** 8II + 4I; **F:** 8II + 1III + 1I; **G:** 1IV + 8II. Flecha amarilla: tetraivalentes; flecha roja: trivalente; flechas celestes: univalentes.

El análisis del comportamiento cromosómico de 1679 CMPs observadas desde Metafase I hasta Telofase II reveló un promedio de 43,9% de células con irregularidades meióticas. La comprensión del comportamiento meiótico tanto de las especies seleccionadas para los programas de mejoramiento, como de los híbridos intra o interespecíficos acrecienta las posibilidades de cruzamientos exitosos (Martins *et al.*, 2010), y el desarrollo de materiales promisorios para programas de mejoramiento. Las irregularidades que más frecuentemente se han detectado fueron: cromosomas fuera de placas en Metafase I y II, cromosomas fuera de núcleos telofásicos, núcleos

desbalanceados en la segunda división meiótica y citomixis en la mayoría de las fases. Además, se han encontrado puentes anafásicos y residuales, cromosomas rezagados y con segregación precoz, husos tripolares, núcleos de restitución, micronúcleos, múltiples núcleos de diferentes tamaños, entre otros (Fig. 6). Estas irregularidades llevan a la generación de gametos desbalanceados lo que afectaría la viabilidad del polen (Adamowski *et al.*, 2005). En trabajos de hibridación de *A. ipaënsis* x *A. duranensis*, los resultados obtenidos evidencian que las irregularidades meióticas consistentes en la persistencia de puentes y la formación de husos tripolares serían los mecanismos meióticos involucrados en la formación de los gametos no reducidos (García, 2015). Esto concuerda con la ocurrencia de macrogranos  $2n$  detectados en nuestros análisis, y posibilidad de que éstos podrían tener su origen a partir de las diversas aberraciones halladas. Otras anomalías observadas fueron la presencia de micronúcleos en Profase II y Telofase II, cromosomas precoces y rezagados en la meiosis I y cromosomas no integrados a las placas ecuatoriales. Estas irregularidades darían lugar a núcleos desbalanceados y en consecuencia llevarían a la formación de granos de polen no viables.





**Figura 6.** Irregularidades meióticas halladas en CMPs en los individuos híbridos, A-F: *A. ipaënsis* x *A. williamsii*; G-L: recíproco. A: Metafase I con cromosomas fuera de placa y Anafase I con rezagados; B: Anafase I con puente; C: Citomixis en Metafase I; D: Profase II con núcleos desbalanceados; E: Metafase II con cromosomas fuera de placa; F: Telofase II con 7 núcleos; G: Citomixis en diacinesis; H: Metafase I con cromosomas fuera de placa; I: Telofase I con puente; J: Telofase II con núcleo de restitución; K: Profase II con núcleo de restitución; L: Profase II con citomixis + núcleo desbalanceado.

Las muestras analizadas de los individuos producto de los cruzamientos presentaron una alta viabilidad del polen, variando entre 62,6 y 72 %. Esto concuerda con la alta producción de granos viables de diferentes tamaños; los mismos fueron identificados como granos coloreados de tamaño normal (55,14-64,96%), macrogranos 2n (0,26-2,44%) y granos de tamaño reducido (4,18-8,52%) (Tabla 1 y Fig.7 A, C y D).

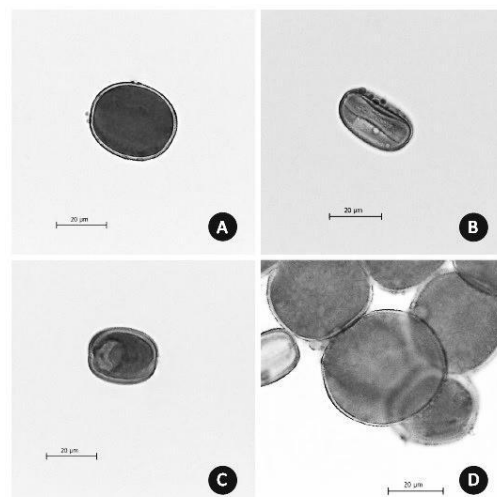
Además, todos los individuos híbridos analizados fueron productores de gametos no reducidos, se observaron macrogranos

2n (para los cuales se consideró un rango de tamaño entre 43,5 y 51,9µm), pero no se hallaron macrogranos 4n (tamaño superior a 52µm) en estos individuos. A pesar de que la variedad de irregularidades encontradas en los individuos, la viabilidad del polen en ambos casos no se vio alterada significativamente

**Tabla 1.** Tipos morfológicos y viabilidad de los granos de polen de 6 individuos híbridos de *A. ipaënsis* x *A. williamsii* y su recíproco.

Individuo	n	VIABLES %				NO VIABLES %	Viab. %
		No	Ma2n	Ma4n	Tr		
1	2623	61,72	2,44	-	5,37	30,47	69,53
2	2793	55,14	1,90	-	5,58	37,38	62,62
3	2540	64,96	0,98	-	6,06	28	72
4	2723	59,09	0,26	-	7,27	33,38	66,62
5	2847	58,90	1,23	-	4,18	35,69	64,31
6	2640	60,15	0,83	-	8,52	30,50	69,50

Abreviaturas: n= número de granos de polen analizados por individuo híbrido, No= granos de polen normales, Ma= macrogranos, Tr = granos de polen de tamaño reducido, Viab.= Viabilidad del Polen.



**Figura 7.** Tipos morfológicos de granos de polen observados en los híbridos analizados. A: grano de polen normal; B: grano de polen inviable; C: grano de polen de tamaño reducido; D: macrograno 2n.



## Conclusiones

Los cruzamientos realizados entre *A. ipaënsis* y *A. williamsii* permitieron el desarrollo de materiales diploides con elevada formación de bivalentes y alta viabilidad del polen, siendo estos materiales promisorios para planes de mejoramiento genético de maní cultivado. El análisis del comportamiento meiótico de los híbridos obtenidos, así como el estudio de la viabilidad de los granos de polen evidencian que *A. ipaënsis* y *A. williamsii* presentan genomas homólogos y se confirma para ambas especies la constitución genómica BB. Por último, las irregularidades observadas desde Profase I a Telofase II darían lugar a la formación de microsporas aneuploides, responsables de la disminución de la viabilidad del polen, así como la presencia de puentes anafásicos, remanentes y los husos tripolares serían responsables de la formación de gametos 2n.

## Bibliografía

- Adamowski, E.; M. Suely; A.B. Mendes; L.A. Rocha & J.F. Montenegro. 2005. Chromosome number and meiotic behavior of some *Paspalum* accessions. *Genetic and Molecular Biology*; 4: 773-780.

- Burow, M.D.; C.E. Simpson; M.W. Faries; J.L. Starr & A. Paterson. 2009. Molecular biogeographic study of recently described B- and A-genome *Arachis* species, also

providing new insights into the origins of cultivated peanut. *Genome*; 52: 107-119.

- Cunha, F.; P.M. Nobile; A.A. Hoshino & M.C. Moretzsohn. 2008. Genetic relationships among *Arachis hypogaea* L. (AABB) and diploid *Arachis* species with AA and BB genomes. *Genetics Resources Crop Evolution*; 55: 15-20.

- Favero, A.P.; C.E. Simpson; J.F.M. Valls & N.A. Vello. 2006. Study of the evolution of cultivated peanut through crossability studies among *Arachis ipaënsis*, *A. duranensis*, and *A. hypogaea*. *Crop Science*; 46: 1546-155.

- Fernández, A. & M. M. Arbo. 2000. Relaciones genómicas entre dos especies hexaploides de *Turnera*, *T. orientalis* y *T. velutina*, y una diploide *T. grandiflora* (Turneraceae, Serie *Turnera*). *Bonplandia*; 10: 181-187.

- García, A.V.; A.M. Ortiz & G.I. Lavia. 2015. Análisis meiótico del híbrido interespecífico entre las especies progenitoras diploides más probables de *Arachis hypogaea* (Fabaceae). XXI Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas - SGCyT (UNNE), Ctes, Argentina.

- Harlan, J.R. & J.M. de Wet. 1971. Toward a Rational Classification of Cultivated Plants. *Taxon*; 20: 509-517.

- Martins, K.C., T.N. Pereira; S.A. Souza & F.R. Costa. 2010. Meiose e viabilidade

polínica em acessos de *Capsicum annum* e *Capsicum baccatum*. *Ciência Rural*; 40: 1746-1751.

- Pande, S. & J.N. Rao. 2001. Resistance of wild *Arachis* species to late leaf spot and rust in greenhouse trials. *Plant Disease*; 85: 851-855.

- Poggio, L.; G. González; M.R. Ferrari; A.M. García; A. Wulff; E. Greizerstein; P. Tomás & G. Schrauf. 2010. Aportes de la citogenética al estudio de genomas vegetales. En: *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II*. 379-388. 648.

- Raina, S.N.; V. Rani; T. Kojima; Y. Ogihara; K.P. Singh & R.M. Devarumath. 2001. RAPD and ISSR fingerprints as useful genetic markers for analysis of genetic diversity, varietal identification, and phylogenetic relationships in peanut (*Arachis hypogaea*) cultivars and wild species. *Genome*; 44: 763-772.

- Robledo, G. & J.G. Seijo. 2010. Species relationships among the wild B genome of *Arachis* species (section *Arachis*) based on FISH mapping of rDNA loci and heterochromatin detection: A new proposal for genome arrangement. *Theoretic and Applied Genetics*; 121: 1033-1046.

- Seijo, J.G.; G.I. Lavia; A. Fernández; A. Krapovickas; D. Ducasse & E.A. Moscone. 2004. Physical mapping of 5S and 18S-25S rRNA genes evidences that *Arachis duranensis* and *A. ipaensis* are the wild

diploid species involved in the origin of *A. hypogaea* (Leguminosae). *American Journal Botany*; 91: 1294-1303.

- Seijo, J.G.; G.I. Lavia; A. Fernández; A. Krapovickas; D. Ducasse; D.J. Bertoli & E.A. Moscone. 2007. Genomic relationships between the cultivated peanut (*Arachis hypogaea*, Leguminosae) and its close relatives revealed by double GISH. *American Journal Botany*; 94: 1963-1971.

- Tallury, S.P.; J. Hollowell & T.G. Isleib. 2011. Greenhouse evaluation of section *Arachis* wild species for *Sclerotinia* blight and CBR resistance. *American Peanut Research and Education Society*; 43: 69.

- Tallury, S.P.; K.W. Hilu; S.R. Milla; S.A. Friend; M. Alsaghir; H.T. Stalker & D. Quandt. 2005. Genomic affinities in *Arachis* section *Arachis* (Fabaceae): molecular and cytogenetic evidence. *Theoretical and Applied Genetics*; 111: 1229-1237.

### Financiamiento

Beca otorgada por el Consejo Interdisciplinario Nacional (CIN)-Estímulos a las Vocaciones Científicas.













