

## Tesis de Posgrado

# Prosopis L : caracterización electroforética de sus especies

Burghardt, Alicia Diana

1992

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Burghardt, Alicia Diana. (1992). Prosopis L : caracterización electroforética de sus especies. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_2530\\_Burghardt.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2530_Burghardt.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Burghardt, Alicia Diana. "Prosopis L : caracterización electroforética de sus especies". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1992. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_2530\\_Burghardt.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2530_Burghardt.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y  
NATURALES

**Prosopis L. CARACTERIZACION  
ELECTROFORETICA DE SUS ESPECIES**

Por **ALICIA DIANA BURGHARDT**

Director: Prof. Ing. Agr.  
**Ramón A. Palacios**

*Tesis.*  
*2530*  
*y. 2*

Lugar de Trabajo: Departamento  
de Ciencias Biológicas

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL  
GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS  
BIOLOGICAS

***A mis padres***

***A Eduardo y  
a nuestras Carolina y Leticia***

## AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi gratitud al director de esta Tesis, el Ing. Agr. Ramón Antonio Palacios, quien me inició en el conocimiento de las plantas vasculares, me aconsejó y guió en los viajes de campaña, con quien pude discutir mis resultados, por su constante disposición. Le agradezco la lectura crítica de mis manuscritos, sus valiosas sugerencias y el haberme enriquecido constantemente, no sólo con sus conocimientos científicos sino también por haberme transmitido su amor a nuestra tierra y una firme convicción de la necesidad de preservación de nuestros recursos naturales.

No puedo dejar de agradecer al Dr. Juan H. Hunziker, quien, cuando aún, sin yo pertenecer todavía a su cátedra, me permitió trabajar en sus laboratorios, facilitándome luego, no sólo espacio físico, aparatos y drogas, sino también parte del material de *Prosopis* utilizado en el presente trabajo, y sus más que calificados comentarios y sugerencias.

Un agradecimiento particular para el Dr. Carlos A. Naranjo, por la cesión de parte del material vegetal aquí utilizado, por sus enseñanzas, y por haberme apoyado siempre en los momentos en que más lo necesité. Del mismo modo, quede aquí constancia de mi profunda gratitud a la Dra. Lidia Poggio, pues en el trabajo constante de investigación y docencia, me permitió conocer los diversos campos de la genética evolutiva, me dio valiosísimos consejos, pero por

sobre todas las cosas: supo comprender.

Vaya también mi agradecimiento a todos mis compañeros de trabajo: a aquellos que desde siempre fueron mis enemigos, por fortalecer mi espíritu de lucha, a aquellos que con sus actos y por el absurdo, me enseñaron, a través de los años, el sentido de la Ética; y también a todos los que, desinteresadamente, me brindaron con sinceridad y cariño su ayuda.

A todos aquellos que de una u otra forma me apoyaron, acompañándome, confiando y entendiendo que preferí "el bastón de la experiencia al carro rápido de la fortuna". En especial, mi más profundo agradecimiento al Ing. Agr. Antonio Krapovickas y al Dr. Sol L. Rabasa por ser como son: dos hombres de bien.

Este trabajo fue realizado íntegramente en posesión de cargos docentes ejercidos en el Departamento de Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, perteneciente a la Universidad de Buenos Aires, cuya ayuda financiera, así como también las del CONICET y la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Nación mediante subsidios otorgados a los profesores Juan H. Hunziker, Lidia Poggio y Ramón A. Palacios, también son agradecidas.

Quiero expresar mi eterno agradecimiento a mis padres quienes con su apoyo moral (y en muchos casos material) me acompañaron durante el transcurso de este trabajo como siempre lo hicieron: con cariño y dedicación y por su preocupación y su confianza. A papá, por enseñarme, entre

muchas otras cosas, a amar las plantas y a mamá, por enseñarme a amar el estudio, a los dos, por enseñarme a amar.

No tengo palabras para agradecer a mi esposo, el Dr. Eduardo Félix Lazzarich, porque sin su amor y su incansable ayuda la concreción de esta Tesis no hubiese sido posible, quiero agradecerle por los calurosos días de recolección compartidos, por las largas noches de vigilia entre discusiones y corrección de manuscritos, por su comprensión ante numerosas irregularidades que sufrió nuestra vida en el hogar, especialmente en los últimos tiempos, pero principalmente porque nunca dudó.

Mi gratitud más sincera para nuestras dos pequeñas hijas Carolina María Alicia y Leticia María Eugenia quienes, desde su corta edad, supieron resignar cuidados maternos y horas de juego que indudablemente merecían y que no tuvieron en su totalidad por la realización de este trabajo. Vaya a ellas mi más especial agradecimiento, por alentarme a pesar de las privaciones y por recordarme siempre que "lo que se comienza se debe terminar".

## **INDICE**

Agradecimientos.....	I
Indice.....	IV

### **1. INTRODUCCION GENERAL**

1.1. La Sistemática. Definiciones.....	2
1.2. La Utilización de los Caracteres Químicos con Propósitos Sistemáticos	
1.2.1. Ventajas y Desventajas.....	6
1.2.2. El valor sistemático de los datos obtenidos mediante electroforesis de proteínas.....	10
1.2.3. Las proteínas de semilla como herramienta en estudios sistemáticos.....	13
1.2.3.1. Las proteínas seminales a nivel supraespecífico...15	
1.2.3.2. Las proteínas seminales y la caracterización de especies.....	17
1.2.3.3. Las proteínas, el origen de las especies y su evolución.....	19
1.2.3.4. Las proteínas y la variabilidad intraespecífica...20	
1.3. El género <i>Prosopis</i> L. (Leguminosae, Mimosoideae)	
1.3.1. Características generales y distribución.....	22
1.3.2. Problemas taxonómicos y evolutivos	
1.3.2.1. Límites genéricos.....	23
1.3.2.2. Divisiones infragenéricas: Las secciones.....	24

1.3.2.3. Las relaciones entre taxa: Secciones y series. Las especies: su delimitación, problemas de caracterización y variabilidad intraespecífica.....	26
1.3.2.4. Consideraciones evolutivas.....	30
1.3.3. Por qué el género <i>Prosopis</i> ?.....	31
OBJETIVOS.....	34

## 2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Materiales.....	38
FIGURA N° 1.....	46
FIGURA N° 2.....	47
FIGURA N° 3.....	48
2.2. Métodos	
2.2.1. Técnica electroforética.....	49
2.2.1.1. Preparación de los geles para la corrida.....	49
2.2.1.2. Preparación de las muestras.....	50
Proceso de extracción de las proteínas.....	50
2.2.1.3. Corrida electroforética.....	51
2.2.1.3.1. Precorrida.....	52
2.2.1.3.2. Siembra del material en los geles.....	52
2.2.1.3.3. Corrida.....	52
2.2.1.3.4. Coloración.....	53
2.2.1.4. Determinación de las analogías proteicas.....	56
2.2.2. Cuantificación de la variabilidad y estimación de las relaciones entre poblaciones y especies.....	57



2.2.2.1. Medidas de variabilidad.....	57
2.2.2.1.1. Índice de Polimorfismo.....	58
2.2.2.1.2. Índice de Diversidad de Shannon.....	59
2.2.2.2. Estimación de las relaciones entre poblaciones y especies.....	61

### 3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. El panorama general de las relaciones interespecíficas en el género <i>Prosopis</i> .....	67
TABLA N° 1.....	71
TABLA N° 2.....	77
TABLA N° 3.....	79
FIGURA N° 4.....	80
TABLA N° 4.....	81
FIGURA N° 5.....	82
FIGURA N° 6.....	83
TABLA N° 5.....	84
FIGURA N° 7.....	85
FIGURA N° 8.....	86
3.1.1. Límites genéricos.....	90
FIGURA N° 9.....	92
3.1.2. El caso de <i>Prosopis palmeri</i> .....	93
FIGURA N° 10.....	95
FIGURA N° 11.....	96
3.1.3. Divisiones infragenéricas	
3.1.3.1. Las secciones: Consideraciones generales.....	97

FIGURA N° 12.....	100
3.1.3.2. Sobre la ubicación de <i>P. kuntzei</i> .....	101
3.1.3.3. Las series. Consideraciones generales.....	102
3.1.3.3.1. La sección <i>Strombocarpa</i> .....	103
TABLA N° 6.....	108
FIGURA N° 13.....	108
TABLA N° 7.....	109
FIGURA N° 14.....	109
TABLA N° 8.....	110
FIGURA N° 15.....	110
FIGURA N° 16.....	111
TABLA N° 9.....	112
3.1.3.3.2. La sección <i>Algarobia</i> .....	113
TABLA N° 10.....	117
FIGURA N° 17.....	118
TABLA N° 11.....	119
FIGURA N° 18.....	120
FIGURA N° 19.....	121
FIGURA N° 20.....	122
TABLA N° 12.....	123
3.1.3.3.3. Sobre la serie <i>Denudantes</i> y su nivel de aislamiento.....	124
 3.2. El estudio de las proteínas de semilla aplicado a estudios específicos en el género <i>Prosopis</i>	
3.2.1. La hibridación como proceso especiogénico: <i>Prosopis</i> <i>burkartii</i> .....	126
FIGURA N° 21.....	129

3.2.2. El caso <i>P. flexuosa</i> - <i>P. alpataco</i> .....	130
FIGURA N° 22.....	134
3.2.3. Caracterización electroforética de algunas especies de la serie Denudantes.....	135
FIGURA N° 23.....	138
3.2.4. Utilidad de los análisis electroforéticos de semillas individuales para estudios de variabilidad inter e intrapoblacional.....	139
3.2.4.1. La variabilidad proteica entre especies estrechamente relacionadas	
3.2.4.1.1. Estudio de la variación interespecífica en cuatro especies del Chaco Argentino.....	140
TABLA N° 13.....	147
TABLA N° 14.....	148
TABLA N° 15.....	148
FIGURA N° 24.....	149
FIGURA N° 25.....	150
3.2.4.1.2. Una aproximación al estudio de la variabilidad intraespecífica en las cuatro especies del Chaco.....	151
TABLA N° 16.....	155
TABLA N° 17.....	158
FIGURA N° 26.....	157
FIGURA N° 27.....	158
FIGURA N° 28.....	159
3.2.4.2. Variabilidad intraespecífica en <i>Prosopis ruscifolia</i> .....	160
FIGURA N° 29.....	169

TABLA N° 18.....	170
TABLA N° 19.....	171
TABLA N° 20.....	172
FIGURA N° 30.....	172
TABLA N° 21.....	173
FIGURA N° 31.....	173
FIGURA N° 32.....	174
RESUMEN.....	176
BIBLIOGRAFIA.....	181

**INTRODUCCION**

## 1.1 LA SISTEMÁTICA. DEFINICIONES.

Sistemática y taxonomía son términos que han sido utilizados extensamente en la bibliografía, ya sea como independientes, como subordinados o como sinónimos. No menos controvertida es la definición de especie. Es por ésto, que, en este punto, se hace necesario indicar el sentido con el cual se tratarán ciertos conceptos .

Los antiguos griegos, como Teofrasto y Dioscórides proveyeron las bases para los herbarios medioevales de Europa; la taxonomía de las plantas, que tiene que ver con el reconocimiento, nomenclatura y clasificación de los distintos tipos de plantas, es una actividad básica y muy antigua surgida de la práctica (Walters, 1963) pues el hombre primitivo, de alguna manera, debe haber reconocido y clasificado las plantas, ya como alimenticias, venenosas, curativas, etc; en fin, de acuerdo al propósito para el que le fuesen útiles .

Taxonomía es un término acuñado por A.P. de Candolle en 1813 (Small, 1989), quien se refirió a ese término como a la "teoría de la clasificación aplicada al reino vegetal". Su etimología, o sea, su origen en las palabras griegas orden y regla, hizo que Simpson en 1961 definiera a este término como el estudio teórico de la clasificación, incluyendo sus bases, principios, procedimientos y reglas (Crisci y López Armengol, 1983). Este es, pues, el sentido que aquí le daremos a este término.

Asimismo, siguiendo a Simpson (*op. cit.*), se puede definir a la sistemática como "el estudio científico de los tipos y diversidad de los organismos y de sus interrelaciones".

Las relaciones entre los organismos pueden ser genéticas (incluyendo como tales a las filogenéticas o de parentesco, evolutivas, cronísticas, patrísticas, etc.). El desarrollo del cladismo como filosofía clasificatoria fue mayor entre los zoólogos que entre los botánicos, sin embargo, cada vez más investigadores de la sistemática vegetal se inclinan hacia él, llegando a interpretarse al cladismo como "una de las aproximaciones más objetivas y repetibles para la producción de árboles que reflejen la historia evolutiva de un grupo de organismos" (Crisci y Stuessy, 1980).

Las relaciones fenéticas (o de similitud), indican cuán parecidos son los organismos, no sólo en cuanto a su morfología externa, sino también en otros aspectos tales como la anatomía, fisiología o citología.

Otros tipos de relaciones que pueden analizarse son las geográficas o espaciales y las tróficas (o ecológicas) que incluyen el estudio de las interdependencias (Solbrig, 1970).

Cualquier relación detectable entre organismos o grupos de organismos puede tener relevancia sistemática.

Si se sigue esta línea de pensamiento, se nota, fácilmente que son los taxónomos y no los taxónomos que hacen las diferenciaciones entre disciplinas formales como la sistemática, la evolución o la ecología, ya que, en sentido

amplio, la sistemática es, primariamente , una disciplina comparativa.

Es éste el sentido, que se les dará a los términos taxonomía y sistemática durante el transcurso de este trabajo. Si bien no se puede descartar la posibilidad de la utilización de ambos como sinónimos o de uno reemplazando a otro, dada la numerosísima bibliografía que así los registra.

Con respecto a la definición de especie, cabe mencionar que, ésta dependerá de los propósitos que su delimitación tenga. Heslop-Harrison (1963) indica acertadamente que, esta categoría, a la cual todas las plantas deben ser referidas para los propósitos de nomenclatura y clasificación, no puede ser definida exclusivamente en términos del patrón de variación en un grupo, pero también postula que en un contexto taxonómico, la pregunta a hacerse no sería "qué es una especie" sino: "qué tipo de unidades de variación deben ser, más convenientemente, consideradas especies taxonómicas". El sentido visual del hombre hace que, toda clasificación biológica sea primariamente morfológica. El concepto morfológico de especie (Palacios *et al.*, 1988), también llamado "fenético" (Cronquist, 1988) implica la posibilidad de diferenciación mediante la observación.

¿Debe ser la clasificación un reflejo de las relaciones entre poblaciones?. ¿Debe ser la especie, como unidad fundamental, una unidad genética?. Además del concepto morfológico de especie que se ha desarrollado más arriba, pueden mencionarse las opiniones que distintos autores han



vertido al respecto: Dobzhansky *et al.* (1980) dan una definición de lo que ellos llaman **especie biológica**: Las especies pueden ser definidas como poblaciones mendelianas, o grupos de ellas entre las cuales el flujo génico es posible, o sea, son interfértiles real o potencialmente y se hallan aisladas de otras poblaciones similares por mecanismos de aislamiento reproductivo. Esta definición no es universal ya que no contempla ningún tipo de reproducción asexual, ni puede ser aplicada en el caso de existir apomixis, por lo tanto, este concepto sólo permanece debido a su simplicidad y utilidad en términos evolutivos (Raven, 1985).

Cronquist (1988) define a las **especies** como "los grupos más pequeños que son distintos, consistente y persistentemente y distinguibles por métodos ordinarios"; ésta podría ser considerada una definición **fenética** (o morfológica) de **especie**, que por tal, no deja de ser una definición biológica ya que, una discontinuidad morfológica, para ser persistente, requiere de la existencia de algún tipo de barrera de aislamiento reproductivo.

Turesson (1922) también basa sus **ecotipos**, **ecoespecies** y **cenopecies** en el grado de aislamiento reproductivo, pero, en esta clasificación son consideradas también las relaciones tróficas.

Hennig (1968) en su "Elementos de una Sistemática Filogenética" considera que toda clasificación biológica debe basarse en la filogenia o sea que tiene en cuenta las relaciones cronísticas y patristicas.

En conclusión, un sistema natural es el que reflejaría mejor la naturaleza de los distintos tipos de organismos; y su construcción, si bien requiere, en principio, de una clasificación morfológica, no puede basarse únicamente en ella. Un sistema de éste tipo debería construirse con el mayor número de elementos que las distintas disciplinas pudieran aportar, pues, como ya dijera Aristóteles en *De partibus animalium*: los grupos naturales no pueden ser definidos por una única diferencia, sino que combinan multitud de ellas.

## **1.2 LA UTILIZACION DE LOS CARACTERES QUIMICOS CON PROPOSITOS SISTEMATICOS**

### **1.2.1 Ventajas y desventajas.**

El campo de la sistemática basada en caracteres químicos está aún en sus comienzos y no es fácil predecir el efecto que podrá tener sobre la clasificación de las plantas en un futuro más o menos próximo.

Los caracteres químicos fueron y son cada vez más utilizados con propósitos sistemáticos y clasificatorios. Ya en el siglo pasado, Abbott (1886) señalaba que "...los constituyentes químicos son esencialmente apropiados como base de la clasificación botánica" y que hay una dependencia mutua entre éstos y el cambio en la forma de los vegetales, indicando asimismo que la similitud en uno o más

constituyentes tendría valor como indicadora de plantas igualmente desarrolladas y que se encuentran en el mismo plano evolutivo.

La mayoría de los investigadores en la materia, sin embargo, está hoy de acuerdo en que cualquier sistema de clasificación debe estar basado en datos obtenidos de todos los campos posibles y que el ensamble de esos datos es dificultoso, resultando prácticamente imposible intentar encontrar su significado filético (Harborne y Turner, 1984)

El estudio de las características químicas requiere una metodología mas sofisticada que el estudio de la morfología, anatomía gruesa o aun, la citología, ya que los compuestos químicos no pueden ser observados de la manera tradicional (como se observan los caracteres exomorfológicos), ni pueden ser fijados y guardados como los tejidos o cromosomas (Solbrig, 1970)

Muchas clases de compuestos químicos pueden ser y son utilizados como propiedades taxonómicas y con sentido evolutivo. Esos compuestos se pueden clasificar en:

**1.-Metabolitos de bajo peso molecular:** Compuestos que son elaborados por la célula y que pueden o no ser esenciales en el metabolismo básico (metabolitos primarios y secundarios respectivamente)(Azúcares de distintos tipos, lípidos, compuestos relacionados con la transferencia de energía como el ATP, alcaloides, flavonoides, resinas, pigmentos, etc.).

**2.- Polímeros de alto peso molecular que repiten unidades simples:** Son metabolitos primarios de existencia universal

que muestran poca variación intraespecífica y a nivel de especies relacionadas (almidón y celulosa en plantas y colágeno en animales)

3. **Proteínas:** Cadenas de distintas mezclas de aminoácidos, generalmente de alto peso molecular con función enzimática, estructural o de reserva.

Todo carácter taxonómico es potencialmente importante y ninguno tiene una importancia propia, fijada; cada carácter es tan importante como pruebe ser, en una instancia particular, para definir un grupo que haya sido reconocido sobre las bases de toda la evidencia obtenida (Cronquist, 1957).

Diversos autores han discutido acerca de las ventajas o desventajas del uso de caracteres químicos con propósitos sistemáticos y evolutivos, en relación al uso de caracteres exomorfológicos.

Así, se podría reconocer que, para el estudio de las propiedades químicas de los organismos se requiere en muchos de los casos, de material vivo y equipamiento mas o menos costoso (los que son innecesarios en estudios morfológicos); el tiempo que requiere la realización de la investigación bioquímica es considerablemente mayor que el de la exomorfológica. Además, existen pocos datos moleculares fósiles. Algunos caracteres químicos (como el ADN) no son el foco de las fuerzas selectivas (asumiendo que la selección natural actúa sobre los fenotipos más que sobre los genotipos) lo cual limitaría su utilidad para ciertos

estudios de genética y dinámica de poblaciones.

Sin embargo, las ventajas superan a las desventajas. Los caracteres químicos se pueden describir exactamente en términos de estructura, se pueden determinar los caminos biosintéticos y por tanto, la probable posición en una secuencia evolutiva para un carácter químico; mientras que, el camino biosintético que da origen a los caracteres morfológicos, no se puede determinar efectivamente y las secuencias evolutivas, cuando son propuestas, son altamente subjetivas. En resumen, las bases genéticas para la expresión de los caracteres morfológicos no son tan fácilmente determinadas (si pueden serlo en algún caso) como las de los caracteres químicos, éstos están más íntimamente relacionados al conjunto de genes que conducen a las expresiones morfológicas (ADN - ARN - proteínas - otros productos químicos - expresión exomorfológica) que las características exomorfológicas. Entre otras ventajas, los caracteres químicos discriminatorios pueden ser obtenidos en estadios tempranos del desarrollo, mientras que los caracteres morfológicos discriminatorios, como las flores, no los son. Además, la hibridación y la introgresión, procesos que existen con frecuencia en plantas, pueden ser determinadas con mayor precisión mediante el análisis de caracteres químicos por efectos de adición, complementación y dosaje.

Todo lo antes mencionado ha conducido al extraordinario desarrollo, que se ha dado en los últimos decenios, de distintas técnicas para el estudio de las más diversas características químicas.

### 1.2.2 El valor sistemático de los datos obtenidos mediante electroforesis de proteínas

En el contexto sistemático (taxonómico y filogenético), se han hecho más experimentos con proteínas que con cualquier otro carácter bioquímico. El principal estímulo para utilizar las proteínas es la enorme cantidad de "bits" de información ocultos en sus estructuras; además, la considerable variedad de proteínas presentes universalmente en los tejidos vegetales hace posibles muchas comparaciones de orden diferente (Harborne y Turner, 1984).

Las proteínas son metabolitos primarios, dado que su ausencia es incompatible con la vida. Son, además, productos primarios de los genes; éstos, a través de la transcripción y la traslación, conducen a la formación de proteínas enzimáticas y estructurales.

Las distintas proteínas producidas por un organismo, difieren unas de otras por la composición y secuencia de aminoácidos (su estructura primaria), la cual determina que cada proteína tenga un tamaño característico y una mayor o menor carga electrostática neta según el medio en el que se halle (la cual depende del balance de los aminoácidos básicos y ácidos presentes en la cadena polipeptídica). El polímero

puede adquirir diferentes formas, enrollarse, espiralarse, formar uniones covalentes, puentes de hidrógeno, etc., lo que determina las estructuras secundaria y terciaria de las proteínas. Asimismo, la molécula proteica puede estar compuesta por una o más cadenas, la agregación de subunidades en estos casos constituye la estructura cuaternaria. Las diferencias en tamaño, forma y carga neta pueden ser usadas para separar e identificar diferentes tipos de proteínas.

La secuenciación de aminoácidos de las proteínas es sin duda la herramienta más exacta para los propósitos sistemáticos (Harborne y Turner, 1984), sin embargo, por la dificultad y costo que implica el aislamiento y el tiempo que ocupa la secuenciación, no constituye la más útil herramienta por unidad de tiempo y esfuerzo.

El mapeo peptídico (mediante la hidrólisis parcial de proteínas y electroforesis unidimensional en gel) es menos exacto, pero su costo y dificultad son mucho menores, por lo cual es el más utilizado con propósitos clasificatorios y sistemáticos para medir la divergencia entre taxa (Fontdevila, 1987).

La electroforesis es uno de los métodos experimentales más generalizados para el estudio de las proteínas en sistemática y se basa en la migración diferencial de las moléculas a través de un medio soporte cuando son sometidas a un campo eléctrico. Ya que, en estas condiciones, el desplazamiento de las moléculas dependerá de su carga eléctrica neta y de su forma y tamaño, cambios en aminoácidos

de una proteína, debidos a cambios mutacionales, pueden producir una alteración en su tasa de migración.

Las técnicas electroforéticas fueron utilizadas por primera vez por Tiselius en 1937 para distinguir distintas fracciones de proteínas séricas a través de una solución, bajo la influencia de una corriente eléctrica (Avisé, 1975); de la electroforesis en medio líquido se pasó a la llamada electroforesis de zona, desarrollándose las técnicas en geles de almidón (Smithies, 1955) y de poliacrilamida (Raymond y Weintraub, 1959).

Las especies pueden diferir genéticamente en distintos loci. La individualidad de cada una de ellas podría, por tanto, expresarse de acuerdo a un patrón electroforético específico; debiendo tener en cuenta, para realizar cualquier inferencia acerca de las relaciones sistemáticas o la historia evolutiva de un grupo, las limitaciones que impone la técnica en sí, ya que no todas las sustituciones nucleotídicas producen cambios en las proteínas que puedan ser detectables electroforéticamente. Asimismo, la divergencia calculada por técnicas electroforéticas medirá únicamente, y por defecto, la divergencia génica entre especies; por lo tanto, esta medida se verá afectada según haya sido el mecanismo que les dio origen.

La clasificación es una disciplina empírica y las proteínas son valiosas desde un punto de vista práctico para la caracterización de especies de modo que no sólo contribuyen al desarrollo de los propósitos generales de la



clasificación, sino que los datos obtenidos a partir de su estudio pueden servir para predecir la presencia de complejos génicos correlacionados que determinan características deseables y, así, permitir a los investigadores y mejoradores predecir propiedades valiosas de cultivos maduros mediante el estudio de unas pocas semillas (Smith, 1976).

Finalmente, desde un punto de vista evolutivo y de variación intra e interpoblacional, las proteínas tienen ciertas ventajas con respecto a otras macromoléculas como los ácidos nucleicos, ya que en sus estructuras reflejan más claramente el proceso de la selección natural, el cual opera sobre los fenotipos más que sobre el ADN en sí (Harborne y Turner, 1984).

### **1.2.3 Las proteínas de semilla como herramienta en estudios sistemáticos**

Las proteínas más comunmente utilizadas con propósitos sistemáticos y evolutivos son las de semilla, ya que el perfil electroforético de diferentes fracciones proteicas obtenidas de las semillas por distintos métodos de extracción es conspicuamente una característica estable a nivel específico (Ladizinsky y Hymowitz, 1979).

Diversos investigadores piensan que las proteínas de semilla u otros tejidos en dormición en plantas, representan un reflejo más estable del genoma de una especie dada, que el obtenido de plántulas en desarrollo (Cherry *et al.*, 1969), otro tipo de proteínas de reserva como las del polen parecen

ser menos estables que las de semilla (Harborne y Turner, 1984). Varios trabajos en proteínas del grupo del trigo demuestran que hay una estrecha correlación entre las proteínas de reserva y la constitución genómica (Smith, 1976). Asimismo, Wolff (1980) encuentra que materiales genéticamente idénticos de *Pisum sativum* presentan patrones similares de proteínas de semilla, concluyendo, a partir de sus resultados, que el patrón total de albúminas es más útil para la clasificación y caracterización de especies que el patrón de enzimas, ya que este último es más influenciado por el ambiente. Datta *et al.* (1987), también reconocen por el mismo método, mutantes de *Nigella sativa*.

Algunos autores encontraron que la composición de proteínas seminales es altamente estable y parece ser poco influenciada por fluctuaciones estacionales (Gray *et al.*, 1973) pudiendo utilizarse semillas colectadas en diferentes épocas ya que el perfil proteico no cambia en las semillas maduras de distintas edades (Robinson y Megarrity, 1975 en Ladizinsky y Hymowitz, 1979). González Aguilera *et al.*, (1986) consideran que los patrones proteicos de las semillas constituyen marcadores menos variables que los patrones de enzimas y por lo tanto más valiosos para estimar las variaciones genómicas. Además, si las condiciones electroforéticas se mantienen uniformes, el espectro de proteínas de reserva es menos plástico y está menos afectado por las condiciones ambientales que muchas características exomorfológicas cuantitativas (Hunziker, 1969).

Fue encontrada una buena correlación entre los patrones electroforéticos y la clasificación aceptada en diversos géneros como *Brassica*, *Sinapis* y *Bulnesia* (Vaughan y Waite, 1966; Vaughan y Denford, 1968; Comas *et al.*, 1979)

Todo indicaría, entonces, que, para elucidar o confirmar relaciones entre taxa generadas por los métodos de análisis clásicos, la electroforesis de proteínas seminales representa una técnica valiosa, sin embargo, debe tenerse en cuenta que una proteína puede ser taxonómicamente útil en un grupo y menos en otro y la tasa de cambio de una proteína puede no estar correlacionada con la de otros caracteres taxonómicos (Boulter, 1981). En definitiva, la utilidad de los datos obtenidos por esta técnica dependerá del grado de estabilidad que presenten al rango taxonómico en el cual se está trabajando, y éste debe ser determinado en cada caso.

#### 1.2.3.1 Las proteínas seminales a nivel supraespecífico:

Al menos, por encima del nivel de especie, la clasificación biológica se propone dar una expresión simplificada de las interrelaciones entre organismos (McNeill, 1979).

Los datos obtenidos mediante el estudio electroforético de las proteínas de semilla, constituyen una herramienta particularmente útil para deducir las relaciones sistemáticas en grupos donde la morfología y la citología no proveen datos concluyentes (Panda *et al.*, 1986).

Algunos autores como Avise (1975) y Wolff (1980) consideran que el valor de los datos electroforéticos decrece a medida que disminuyen los valores de similitud y, es cierto que las homologías proteicas se hacen mas difíciles de establecer a medida que crece la divergencia genética, ya que aumentaría la probabilidad que dos bandas con igual movilidad electroforética representasen moléculas proteicas diferentes; además los patrones polipeptídicos se hacen incomparables cuando no poseen bandas en común. La mayoría de las aplicaciones de la técnica electroforética a las proteínas de reserva en plantas, han sido entre grupos de taxa relacionados, a nivel poblacional o de especies relacionadas dentro del mismo género (Ladizinsky y Hymowitz, 1979; Harborne y Turner, 1984).

Sathaiah y Reddy (1985) al estudiar especies de los géneros *Jatropha* y *Ricinus* a la luz de los perfiles proteicos de semilla, encuentran una mayor similitud entre especies relacionadas taxonómicamente, y reafirman, sobre la base de las diferencias proteicas, la identidad de los dos géneros por ellos estudiados. No es tan clara la situación de las especies de *Cajanus* y *Atylosia*, ya que los coeficientes de similitud entre sus especies no muestran una marcada diferencia entre los dos géneros, si bien no se niega su identidad (Ladizinsky y Hamel, 1980)

Generalmente, especies muy relacionadas presentan mayores índices de similitud proteica que aquellas menos relacionadas o sea que presentan más bandas en común en sus perfiles

polipeptídicos; sin embargo, no existe una regla general en la diferenciación de especies con respecto a la divergencia proteica (González Aguilera *et al.*, 1986).

En algunos casos, en donde todas o la mayoría de las especies de un género han sido estudiadas, la conformación jerárquica de las especies analizadas, o sea, las relaciones reflejadas por los patrones polipeptídicos de proteínas de semilla coinciden con la clasificación basada en caracteres exomorfológicos, como es el caso de las especies del género *Bulnesia* donde las ocho especies conforman dos grupos que coinciden con los subgéneros definidos sobre una base morfológica (Comas *et al.*, 1979, 1984; *cfr.* Palacios y Hunziker, 1984). Es interesante notar que estudios comparativos entre los datos de proteínas seminales y los de isoenzimas de hoja en especies del género *Zea*, indican que los datos de proteínas seminales están más estrechamente correlacionados con la sistemática convencional del género, que los resultados de estudios isoenzimáticos; y en general, los resultados de los análisis de proteínas de semilla concuerdan con las clasificaciones basadas en datos morfológicos o anatómicos (Harborne y Turner, 1984).

#### **1.2.3.2 Las proteínas seminales y la caracterización de especies**

La electroforesis de proteínas seminales ha sido utilizada en más de 45 géneros de 13 familias de plantas y los perfiles polipeptídicos obtenidos por diferentes

procedimientos de extracción son esencialmente una característica específica de especie. La estabilidad es una de las principales características de los perfiles de proteínas seminales (Ladizinsky y Hymowitz, 1979).

El perfil electroforético de una especie puede constituir un patrón único, como en *Agropyron* (Hunziker, 1967), *Larrea* (Hunziker, 1971), etc; o puede existir variación en el número de bandas, su intensidad o movilidad. Ladizinsky y Hymowitz (1979) y Harborne y Turner (1984) proveen abundante bibliografía acerca de este tema.

Patrones característicos de especies fueron encontrados por Desborough y Peloquin (1966) en 16 especies de *Solanum*; por González Aguilera *et al.* (1986) en dos especies muy relacionadas de *Narcissus*. Panda *et al.* (1986) señalan a la electroforesis en gel de poliacrilamida de proteínas como una valiosa herramienta para la identificación y delimitación de las especies, encontrando diferencias en los perfiles proteicos de cuatro especies de *Capsicum*.

Por tanto, la electroforesis de proteínas seminales sigue siendo utilizada como herramienta para la caracterización de especies, debiendo tener en cuenta siempre, que el modo de especiación que dio origen a los *taxa* analizados influirá en gran medida en la existencia de patrones característicos y distintivos.

### 1.2.3.3 Las proteínas, el origen de las especies y su evolución

Uno de los criterios básicos para el estudio de las relaciones filogenéticas está dado por el análisis de las homologías a nivel génico, el cual es, a menudo difícil de realizar debido a la existencia de barreras de aislamiento reproductivo. En los últimos años, la electroforesis en geles de poliacrilamida o almidón, como método para el análisis de proteínas e isoenzimas, ha proveído de valiosos datos para la elucidación de los caminos evolutivos seguidos por diferentes grupos de especies. Esta técnica, considerada conjuntamente con la morfología y la citología es de gran utilidad para estudios sistemáticos y evolutivos.

Panda *et al.* (1986), analizando los patrones electroforéticos de proteínas de reserva y calculando los índices de similitud, de afinidad de grupo y valor de aislamiento, concluyen que las especies del género *Capsicum* deben haber tenido un origen polifilético, dado que los índices de similitud no superan en ningún caso el 50%.

Por su parte, Ladizinsky y Hamel (1980) deducen mediante el estudio de las diferencias cualitativas en cuanto a la aparición de bandas en los perfiles electroforéticos de proteínas de semillas de especies de los géneros *Atylosia* y *Cajanus* que las especies de este último tienen un origen polifilético a partir de las de *Atylosia*.

Una de las características típicas de los patrones polipeptídicos obtenidos por electroforesis de proteínas de semilla, es la aditividad de las bandas observadas en los progenitores, en los perfiles de los híbridos o especies de origen híbrido. Yeo y Widler Kiefer (1990) se basan en esta propiedad para determinar el camino evolutivo que dio origen a distintas especies de *Geranium* que constituyen un complejo híbrido poliploide con especies de origen auto y alopoliploide.

Muchos otros investigadores que han utilizado la electroforesis de proteínas seminales para dilucidar el posible origen de especies silvestres y cultivadas no sólo han logrado la caracterización de las especies, sino que también consiguieron determinar los antecesores de alopoliploides de origen conocido o desconocido y el posible origen de varios híbridos interespecíficos; entre ellos pueden contarse a: Johnson y Hall (1965) y Johnson *et al.* (1967) en Triticeae, Cherry *et al.* (1969, 1971) en *Gossypium*, Naranjo y Hunziker (1971) en especies de *Agropyron*, *Hordeum* y *Elymus*, Edmonds y Glidewell (1977) en *Solanum* y otros.

#### **1.2.3.4 Las proteínas y la variabilidad intraespecífica**

Los estudios de variabilidad intraespecífica basados en la electroforesis de proteínas de semilla no son muy abundantes, pocos autores han intentado este tipo de análisis en especies silvestres, encontrándose más análisis de variabilidad intervarietal en especies cultivadas. Pueden citarse: el estudio de Gray *et al* (1973) en el complejo



*Danthonia sericea* donde señalan la importancia que tiene el análisis de la variabilidad intraespecífica en los estudios sistemáticos; el de Wallace y Fairbrothers (1986) en *Opuntia humifusa* quienes no encuentran variación intrapoblacional, pero sí, entre poblaciones. Esta variabilidad entre poblaciones es interpretada por los autores como debida "a pequeños cambios en el genotipo de las poblaciones y fijación genética".

Otro ejemplo de variación interpoblacional en una especie silvestre es el publicado por Comas *et al.* (1984) quienes estudiaron ejemplares procedentes de Argentina y Perú de *Bulnesia retama*, encontrando patrones claramente distinguibles entre las dos procedencias. Existen también ejemplos en los cuales el patrón electroforético fue único y característico de la especie, como es el del análisis de las proteínas seminales en especies de *Agropyron* (Hunziker, 1967).

Estudios en diversas plantas cultivadas como *Pisum* y *Vicia* (Wolff, 1980), *Capsicum* (Panda *et al.*, 1986), *Nigella sativa* (Datta *et al.*, 1987), *Lens culinaris* (Hussain *et al.*, 1989) y otros, indican que, en general existen diferencias génicas entre los cultivares comerciales que pueden ser detectadas electroforéticamente, lo cual, a los fines prácticos representa una gran ayuda a los mejoradores, ya que pueden realizar control de semillas y hasta predecir el potencial de un determinado cultivar sin necesidad de esperar hasta la maduración del cultivo.

### 1.3 EL GÉNERO *Prosopis* L. (LEGUMINOSAE, MIMOSOIDEAE)

#### 1.3.1 Características Generales y distribución

El género *Prosopis* L. es un género muy primitivo dentro de la subfamilia Mimosoideae (Burkart, 1976). Sus representantes son árboles o arbustos de variado tamaño, raramente subarbustos, con espinas o sin ellas. Unas pocas especies son subáfilas con hojas reducidas, paucifolioladas, pero la mayoría de ellas presentan hojas con unos pocos pares de pinas opuestas, folíolos numerosos y, en general, pequeños (salvo en *P. ruscifolia*). El fruto en la mayoría de las especies es una legumbre indehiscente modificada, llamada "lomento drupáceo" (Burkart, 1952).

Este género cuenta con aproximadamente 45 especies distribuidas principalmente en el Continente Americano, pero también se encuentra representado en el sudoeste de Asia y en Africa, de donde parece haber sido originario (Burkart, 1976).

En América, se hallan representadas tres de las cinco secciones reconocidas por Burkart (*op. cit.*), existiendo dos grandes centros disyuntos de dispersión: el Tejano-Mejicano y el Argentino-Paraguayo-Chileno, donde se encuentra la mayoría de las especies (Burkart, 1976).

El territorio argentino es el mayor centro de variación actual del género encontrándose en el mismo, representantes de 27 especies (Hunziker et al., 1986; Palacios et al., 1988).

O sea que un 60% del total de especies del género se hallan cubriendo la mayoría del territorio continental, excepto el sur de la Patagonia y la Provincia de Misiones (Burkart, 1976; Hunziker et al., 1986; Palacios et al., 1988). Trece de las especies que se encuentran en la Argentina son endémicas, constituyendo algunas de ellas endemismos muy restringidos, como *P. argentina* Burk., *P. calingastana* Burk., *P. castellanosi* Burk. y *P. ruizleali* Burk. (Hunziker et al., 1975).

### 1.3.2 Problemas taxonómicos y evolutivos

#### 1.3.2.1 Límites genéricos

El nombre genérico fue acuñado por Linneo, quien, al parecer, conoció sólo una de sus especies *Prosopis cineraria* (*P. spicigera*) la que actualmente es especie tipo del género (Burkart, 1976).

Numerosos autores analizaron la cuestión de los límites genéricos desde el punto de vista morfológico. Los actualmente aceptados en el sistema de Burkart (1940, 1976) son, con pequeñas modificaciones, los enunciados por De Candolle en su Prodrômus (1825) (Burkart, 1976), mantenidos por Bentham (1875). Desde otro punto de vista, Madriñan Polo et al. (1976) con sus estudios de aceites de semilla en especies de los géneros *Prosopis* y *Prosopidastrum* apoyan la concepción *sensu lato* de *Prosopis* ya que, habiendo estudiado especies de este género pertenecientes a las tres secciones

americanas, observaron una cierta uniformidad en el contenido de ácidos grasos en todas ellas , y, a su vez una diferencia significativa (cuali y cuantitativa) en cuanto a la composición acídica de los aceites de semilla con *Prosopidastrum globosum* lo cual constituye una razón más para mantener unidas a las distintas secciones. Sin embargo han habido autores que estuvieron en contra de dicha concepción *sensu lato* del género, como Britton y Rose, quienes, en 1928, definieron tres géneros: *Sopropis* (separando en él a *Prosopis palmeri*, especie considerada actualmente dentro del género *Prosopis* en la sección *Strombocarpa*), *Strombocarpa* y *Neltuma*.

#### 1.3.2.2 Divisiones infragenéricas: Las Secciones

La división infragenérica realizada por Burkart (1976) no contradice la de Bentham (1875), si bien la modifica en parte, agregando, a su vez, una nueva sección monotípica fundada en una especie endémica argentina: *P. argentina*. En el presente trabajo se reconoce el sistema de Burkart (1976) y es el utilizado como base para todas las discusiones. De tal modo que se considera al género *Prosopis* con las cinco divisiones trazadas en la obra antes citada, en la cual Burkart se basa principalmente en la diversificación vegetativa de los apéndices espinosos para delimitar las secciones *Prosopis* y *Anonychium* (de Asia y Africa) y *Strombocarpa*, *Monilicarpa* y *Algarobia* (exclusivamente americanas).

Si bien el único tratamiento integral del género fue el de Burkart (1976), numerosos autores realizaron estudios que resultaron ser valiosos aportes para corroborar la validez de las secciones que él propuso. Así, los estudios de la morfología del grano de polen realizados por Caccavari de Filice (1972) indican diferencias entre especies de la sección Strombocarpa y Algarobia en cuanto al grosor de la exina y la ornamentación. Castro (1989) en su estudio anatómico del leño secundario señala, en general, la separación de las especies de las secciones Algarobia y Strombocarpa basándose en análisis estructurales y ultraestructurales, encontrando que, a este nivel, *P. argentina* comparte los caracteres con casi todas las especies de Algarobia estudiadas, mientras que las de la sección Strombocarpa forman otro grupo. Asimismo, Martínez (1984) encuentra diferencias entre las especies correspondientes a las distintas secciones al estudiar los modelos de arquitectura foliar.

Los resultados obtenidos por métodos bioquímicos son, a este nivel, congruentes con los morfológicos y anatómicos. Si se analizan los resultados de los estudios cromatográficos de aminoácidos (Carman *et al.* 1974) y de compuestos fenólicos realizados por Carman (1973, 1977); Carman y Mabry (1975); Gianinetto *et al.* (1975, 1976 a y b); Bragg *et al.* (1978); Palacios y Bravo (1981), Gitelli *et al.* (1981, 1984) y Naranjo *et al.* (1984), se encuentra que existen diferencias cuali-cuantitativas en cuanto a la composición aminoacídica y fenólica de los extractos foliares (Para una revisión ver

Zallocchi (1988). De igual forma, los ensayos inmunológicos por difusión en gel de agar realizados por Cohen *et al.* (1967) confirman los grandes rasgos de clasificación de Burkart. Los primeros estudios electroforéticos de isoenzimas fueron realizados por Solbrig y Bawa (1975) y Whitmore y Bragg (1979); en el trabajo de Solbrig y Bawa, así como en los de Saidman (1985) y Saidman y Vilardi (1987) se analiza la variación isoenzimática existente entre algunas especies de las secciones Algarobia y Strombocarpa y concluyen que "las diferencias electroforéticas entre las especies de las dos secciones son de tal magnitud que no existe similitud entre las enzimas estudiadas (excepción hecha de SOD)"(Saidman, 1985); conclusiones que apoyan la división infragenérica a tal punto que se propone la elevación de las secciones estudiadas, a subgéneros (Saidman, 1985; Hunziker *et al.*, 1986). En los estudios electroforéticos de proteínas seminales (Burghardt, 1982) también se evidencian, en general, diferencias entre las especies americanas de las tres secciones.

#### **1.3.2.3 Las relaciones entre taxa: Secciones y Series. Las especies: Su delimitación, problemas de caracterización y variabilidad intraespecífica**

La clasificación en secciones propuesta por Burkart en su monografía parece tener, de alguna manera, un significado biológico o sea que las secciones constituirían, a grandes

rasgos, grupos naturales (salvo algunas excepciones) dado que no se han encontrado híbridos interseccionales (Hunziker et al., 1986) y los resultados de la mayoría de los estudios que *a posteriori* se realizaron serían congruentes con dicha clasificación. No ocurre lo mismo con las subdivisiones que definió dentro de cada sección, ya que, entre éstas y los resultados obtenidos tanto a nivel morfológico-anatómico (Martínez, 1984; Castro, 1989), como a nivel bioquímico (Palacios y Bravo, 1981; Saidman, 1985, Burghardt, 1982, Burghardt y Palacios, 1981, 1984, 1990), así como también en la frecuencia hallada de híbridos entre especies de series diferentes (Palacios y Bravo *op.cit.*; Naranjo et al. 1984) parecería haber una serie de discrepancias.

Los problemas de delimitación de las especies en el género, se dan principalmente en ciertos grupos de la sección Algarobia, debido fundamentalmente a las escasas discontinuidades morfológicas y aparición de formas intermedias originadas, presuntamente, por hibridación interespecífica e introgresión. Al parecer, no existen en estos casos, barreras de aislamiento muy desarrolladas entre especies (Palacios y Bravo, 1981; Naranjo et al., 1984; Hunziker et al., 1975, 1977, 1986) aunque éstas, en condiciones naturales, mantienen su identidad, aun en simpatria.

Existen varios problemas taxonómicos de esta índole que están siendo estudiados como ser, el de las cuatro especies que habitan el noreste argentino: *P.alba*, *P.nigra*, *P.*

*hassleri* y *P. ruscifolia*. Estas, están definidas como especies taxonómicas pertenecientes a dos series distintas de la sección Algarobia, sin embargo, existen híbridos naturales fértiles entre ellas (Palacios y Bravo, 1981; Naranjo *et al.*, 1984) y la similitud a nivel cromosómico (Hunziker *et al.*, 1975, 1977) y bioquímico (Palacios y Bravo, 1981; Naranjo *et al.*, 1984; Saidman, 1985; Burghardt y Palacios 1981, 1984, 1990), es tan estrecha que, a la luz de la definición de especie biológica de Mayr (1969), no podrían ser consideradas como tales, sino como semiespecies simpátricas, constituyentes de un singameón (*sensu* Grant, 1981).

Otras dos especies de la misma sección: *P. alpataco* y *P. flexuosa*, pertenecientes a la serie Chilenses, presentan dificultades para su delimitación, habiéndose encontrado zonas donde la intergradación morfológica pareciera borrar todo límite entre ellas. Saidman en 1985, estudiando poblaciones de estas especies provenientes de La Pampa, encontró que la similitud a nivel enzimático se correspondía con la esperable entre poblaciones de una misma especie. Roig (1987) propone un nuevo sistema de clasificación para estas especies, que se contrapone al propuesto por Burkart (1976) señalando la existencia de bioformas distintas (árboles y arbustos) en cada una de las especies y considerando que los ejemplares existentes en La Pampa (determinados como *P. alpataco* y *P. flexuosa*), serían en su totalidad de *P. flexuosa*.



Dentro de la sección *Strombocarpa* los problemas de delimitación son menos frecuentes. Únicamente el par de especies *P. reptans*-*P. strombulifera* parecerían no llegar a ser "buenas especies", habiendo, ya, Burkart (1976) señalado la posibilidad que fuesen subespecies de una misma especie; concordantemente con esa apreciación, Saidman (1985) encuentra escasa diferenciación a nivel enzimático.

La variabilidad intraespecífica en *Prosopis*, no cuenta aún con demasiados estudios. En especies de la sección Algarobia, la autoincompatibilidad (Simpson, 1977; Palacios y Bravo, 1981; Genise *et al.* 1990), el relativamente alto número gamético ( $n = 14$ ) y la frecuencia de quiasmas (1,61-1,65 quiasmas por bivalente en Metafase I) (Hunziker *et al.*, 1975) parecerían ser suficientes para asegurar la variabilidad en las poblaciones naturales de estas especies. Los estudios de Saidman (1985) indican una mayor diversidad genética dentro de especies de la sección Algarobia que la hallada dentro de especies de *Strombocarpa* (probablemente, en algunas de éstas, la propagación vegetativa y/o la autocompatibilidad conduzcan a una depleción de la variabilidad genética).

La especie argentina más estudiada a nivel intraespecífico es *P. ruscifolia*, el "vinal", habiéndose analizado la variación entre procedencias desde el punto de vista ecológico (Morello *et al.*, 1971), morfológico y cromatográfico (Bravo *et al.* 1979) y electroforético (Saidman y Naranjo, 1982; Saidman, 1985; Burghardt y Palacios, 1989).

#### 1.3.2.4 Consideraciones evolutivas

Poco se ha dicho (y menos aún se ha comprobado) acerca del desarrollo evolutivo de la especiación en el género *Prosopis*. Las únicas consideraciones acerca del tema, realizadas por Burkart en su monografía (1976; pág. 225), si bien se basan en caracteres primitivos, especializaciones morfológicas, etc. no dejan de ser elucubraciones que, aún hoy, no han podido ser comprobadas.

La uniformidad cariotípica (Hunziker *et al.*, 1975, 1977), así como la escasa variación a nivel génico encontrada entre especies de la sección Algarobia (medida a través del análisis electroforético de las proteínas) (Burghardt, 1982; Burghardt y Palacios, 1981, 1984; Saidman, 1985; Solbrig y Bawa, 1975), hace difícil aventurar algún posible camino de especiación, pero, la existencia de barreras reproductivas débiles podría conducir a pensar en que la hibridación haya tenido un papel importante en la formación de este grupo de especies.

El único caso en el cual la hibridación interespecífica parece ser el proceso especiogénico más probable y comprobable (dado que existen evidencias acerca de los posibles antecesores), sería el de *P. burkartii*, una especie endémica del norte de Chile que, según Burkart (1976), constituye un biotipo estable, el cual, por su morfología, podría ser de origen híbrido entre *P. strombulifera* y *P. tamarugo*. Algunos estudios se han realizado sobre el tema (Burghardt y Palacios, 1988; Brizuela *et al.*, 1989; Palacios *et al.*, 1991).

### 1.3.3 ¿Por qué el género *Prosopis*?

Si bien las cuestiones planteadas hasta aquí, concernientes a la sistemática del género, serían suficientemente atractivas como para encarar su estudio; no han sido éstas los únicos móviles del presente trabajo.

Varias especies autóctonas son promisorias como productoras de leña y madera, mediante una explotación con mínima inversión (Felker, 1979); otras pueden ser utilizadas como fijadoras de suelo (Burkart, 1952), o como forrajeras ya que se ha comprobado que sus frutos tienen un valor alimenticio semejante al del maíz o la cebada, pudiendo, algunas, ser útiles en la industria alimentaria (F.A.O., 1980; Habit, 1981). Algunas especies están siendo utilizadas para la explotación agroforestal o la forestación o reforestación en diferentes zonas áridas y semiáridas donde existe la amenaza de erosión intensa del suelo por el viento o las lluvias (Burley y Von Carlowitz, 1983; Lamprey, 1983; Karlin y Díaz, 1984; Ben Salem y Palmberg, 1985; Hunziker et al., 1986).

Lamentablemente, en la Argentina (que, como ya se dijo es el mayor centro de variación del género) los montes naturales de *Prosopis* están siendo explotados desaprensivamente, sin realizar ninguna práctica de preservación y mejoramiento. Esta situación está causando la

extinción de extensos bosques que constituyen una parte significativa de nuestra riqueza natural renovable. Es por ésto que, sería de suma importancia la conservación de este recurso genético. Dado el largo período en el que se mantienen viables las semillas, un primer paso podría estar dado por su colección y almacenamiento en condiciones adecuadas.

El paso fundamental en la conservación de las especies del género *Prosopis* es el conocimiento de las mismas, o sea el análisis de sus relaciones genético-ecológicas, su caracterización y delimitación precisas y el estudio de su variabilidad.

Es en este punto donde la sistemática, conjuntamente con la genética pueden realizar su mayor aporte

**OBJETIVOS**

## OBJETIVOS

Con vistas a la conservación del recurso genético que las especies de *Prosopis* L. (Leguminosae-Mimosoideae) constituyen, es necesaria una adecuada caracterización y el conocimiento de su variabilidad.

El objetivo del presente trabajo es contribuir con nuevas evidencias a la caracterización de especies americanas (con especial énfasis en las argentinas) del género. Por medio del análisis de los patrones polipeptídicos de proteínas de semilla obtenidos mediante técnicas electroforéticas, se pretende:

- I. Determinar la aplicabilidad de la técnica mencionada para la caracterización de especies taxonómicas.
- II. Evaluar las posibilidades que, en este grupo, proporciona dicha técnica para la identificación de especies progenitoras de presuntos híbridos.
- III. Contribuir con estos nuevos caracteres a la comprensión de las relaciones entre taxa, o sea ampliar los conocimientos que hasta el momento se tienen sobre el género, en cuanto a su identidad taxonómica y su relación con géneros afines. En definitiva, aportar evidencias que ayuden a comprender el ordenamiento natural de las especies del género.

IV. Analizar la contribución que el análisis electroforético de proteínas de semilla puede realizar para el estudio de la variabilidad inter e intraespecífica

Para lograrlo:

- A. Se realizó el trabajo de recolección a campo, teniendo como objetivos: el obtener las semillas maduras necesarias para los estudios electroforéticos y reconocer posibles interacciones de las especies de *Prosopis* entre sí o con otras comunidades vegetales, contribuyendo así, con otros estudios sistemáticos ya realizados. El trabajo de recolección de semillas fue acompañado por la confección de los respectivos ejemplares de herbario. Los mismos quedaron, bajo el nombre de Ramón A. Palacios et al., depositados en el Herbario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires (BAFC). Se realizaron siete viajes recorriendo el noroeste, noreste y centro del país, las zonas cuyana y mesopotámica y la Patagonia extraandina hasta la ciudad de Trelew (Provincia del Chubut) como límite sur de recolección, abarcando casi en su totalidad, el área del territorio argentino ocupada por las especies del género.
- B. Se llevó a cabo la técnica y se estudiaron los perfiles electroforéticos de proteínas seminales de 27 especies

pertenecientes a las tres secciones representadas en América.

- C. Se analizó comparativamente el perfil electroforético de *Prosopidastrum globosum*, especie perteneciente a un género muy afín a *Prosopis*.
- D. Se aplicaron distintas técnicas numéricas que permitieron evaluar las relaciones entre especies.
- E. En los casos en que el número de individuos coleccionados fue suficiente, se realizaron estudios de variación intraespecífica, confeccionando las muestras con semillas individuales.



MATERIALES Y METODOS

## 2.1 MATERIALES

Se analizó el patrón electroforético de proteínas de reserva en 27 especies americanas de *Prosopis*, habiéndose investigado las tres secciones del género que se hallan representadas en América. El mismo estudio se realizó en una especie del género afín *Prosopidastrum*: *P.globosum*.

A continuación se detallan las especies estudiadas, ubicadas en el sistema taxonómico de Burkart (1976). Cada ejemplar es citado con la localidad donde fue realizada la recolección, las iniciales del colector de los mismos y el número de herbario.

La recolección de los frutos fue realizada conjuntamente con la preparación de ejemplares de herbario. Estos fueron depositados en su mayoría en el Herbario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires (BAFC); con excepción hecha de aquellos ejemplares en que expresamente se indica el herbario donde se encuentran depositados. Se utilizan, para ello, las siglas propuestas por Holmgren et al (1981).

### GNERO *Prosopis* L. emend BURKART

#### *Prosopis* sección STROMBOCARPA

##### Serie Strombocarpae

#### *Prosopis strombulifera* (LAM.) BENTHAM

ARGENTINA: Prov.de Catamarca. Depto.de Tinogasta. Copacabana. Juan H. Hunziker (JHH) 9563. Prov. de San Juan. Depto. Calingasta. Calingasta, Quebrada del Río San Juan, 10 km aguas abajo. Ramón A. Palacios (RAP) 1630. Prov. de

Mendoza. Depto. de San Rafael. Monte Comán, al costado de la ruta a Nancunan. RAP 1603. Prov. de San Luis. Depto. Capital. Salinas del Bebedero, a unos 2 km de la población RAP y Alicia D. Burghardt (ADB) 1732, RAP y ADB 1733. Prov. Córdoba. Depto de Cruz del Eje. Salinas Grandes entre FM y el puesto policial. RAP,ADB et al. 1637

CHILE: Prov. Iquique. La Tirana a La Guaica, km 25 RAP 1590.

**Prosopis reptans BENTHAM**

ARGENTINA: Prov. de Córdoba. Depto. de Cruz del Eje. Serrezuela. RAP, ADB et al. 1635.

**Prosopis torquata (CAVANILLES EX LAGASCA) DC**

ARGENTINA: Prov. de Catamarca. Depto de Belén. 34 km de Belén a Andalgalá. JHH 9571. Depto. de Andalgalá. Cerca de Andalgalá. JHH, Calos A.Naranjo (CAN), RAP 9191. Prov. La Rioja. Depto. Famatina. Famatina. III-1980 JHH s/nº. Prov. de San Luis. Depto. Capital. Camino a Balde (al O de San Luis) Ruta 7. Km 795. RAP y ADB 1730, 1731.

**Prosopis palmeri S.WATSON**

MEJICO: Baja California. Sur. Sierra de la Giganta entre Tinaja del Cajón y la cima de Mesa de Alejo.(al O de San Javier) Annetta Carter (AC) 4275. [Ex UT 271152 ]. Sierra de La Giganta. Extremo E del Valle de los Encinos (Lado SE del Cerro Giganta) AC y Roxana Ferris 4034 [Ex UC, Ex UT 271154].

**Prosopis burkartii MUNOZ**

CHILE: Prov. Iquique. Reserva Nacional Pampa del Tamarugal. Fundo El Refresco. CONAF. RAP 1625, 1574, 1575.

**Serie Cavenicarpae**

**Prosopis ferox GRISKBACH**

ARGENTINA: Prov. Jujuy. Depto. Humahuaca. Humahuaca. Correa y Bacigalupo s/nº [S.I.]. Mocote Legado Rolando Brawn Wilke (RBW) 2, RBW 3, 4.(Abril 1987). Depto. de Tilcara. Juella RBW 1 y 2.(Abril 1987)

*Prosopis tamarugo* F. PHILIPPI

CHILE: Prov. Tarapacá. Pampa del Tamarugal. C. Muñoz s/nº (XII- 1966 [S.I.]). Entre Salar de Pintados y Quillagua JHH 9839. Prov. de Iquique. Fundo El Refresco. Reserva Nacional Pampa del Tamarugal RAP 1576, 1577, 1578, 1579. Prov. de Arica. Quebrada de Camarones, a lo largo del camino RAP 1585.

*Prosopis* sección MONILICARPA*Prosopis argentina* BURKART

ARGENTINA: Prov. Catamarca. Depto Tinogasta. 11 km al sur de Copacabana. JHH 9584.

*Prosopis* sección ALGAROBIA

## Serie Sericanthae

*Prosopis kuntzei* HARMS

ARGENTINA: Prov. de Chaco. Depto. de San Fernando. Resistencia (Muestra masal de diez árboles). Leg. O. Di Iorio

## Serie Ruscifoliae

*Prosopis ruscifolia* GRISKBACH

ARGENTINA: Prov. Formosa. Depto. Patifio. 5 km al N de Posta San Martín 1, RAP 554. Estancia La Primavera RAP 321, 332, 478. 10 km al N de Pozo del Tigre RAP 539, 540. 42 km al N de Pozo del Tigre RAP 550. Area Experimental Plan Vinal RAP 307. Estancia Pozo del Ciervo RAP 334. Ca. 4 km al E de General Güemes RAP, ADB y Patricia S. Hoc (PSH) 811; RAP, ADB, PSH 813; 814; 815; 816. Depto. Pirané. 49 km al E de Colonia Aborigen Bartolomé de las Casas Otto T. Solbrig (OTS) 4268 [G.H.]. Prov. Santiago del Estero: Depto. Ojo de Agua. Antes del Río Saladillo al S de la Ruta 9 Beryl Simpson (BS) 1037-1 [G.H.], 1037-4 [G.H.], 1037-5 [G.H.]. Depto. Copo. Monte Quemado, frente al depósito de locomotoras RAP 571, 572, 573, 576, 577. Depto. General Taboada. Camino de Añatuya a Melero a unos 10 km al NO de Añatuya RAP 511, 513. Depto. Matará. Entre Punitajo y Llajta Manca RAP 518. Entre Matará y Tiun Punco RAP 518, 519, 520, 521. Depto Loreto. Alrededor de 10 km al S de Loreto RAP 829. 14 km al S de Loreto, sobre la ruta RAP 667, 668. 16 km al S de Loreto RAP 669. 26 km al S de Loreto RAP 671. Depto. Avellaneda Ruta 34 entre Herrera y

Lugones RAP,ADB,PSH 835, 836, 837. Depto. Aguirre. Ruta 34, 12 km antes de Pinto (al SE). RAP 945, 946, 947. Prov. del Chaco: Depto. General Güemes. Ruta 95 Unos 20 km al S del Bermejo RAP 489. Ruta 95, 2 km al N de El Asustado RAP 498. Ruta 95, entre Arroyo Nogueira y El Asustado RAP 526, 527. Ruta 95 Poste Teniente Nogueira, entre El Palmar y El Destierro RAP 530, 533, 534. Ruta 95, 3 km al S de Poste Teniente Nogueira RAP 536, 538. Zona limitrofe entre Tucumán y Santiago del Estero (que en adelante llamaremos Tucumán): Prov. Tucumán. Depto Burruyacú. 7 de Abril., 1 km camino a Nueva Esperanza. RAP 661, 662, 663, 664. Prov. Santiago del Estero. Depto de Pellegrini. 16 km al E de 7 de Abril RAP,ADB,PSH 838, 839, 840, 841, 842. Prov. de Salta. Depto de Anta. Camino de Las Lajitas a Bajo del Vinalito, Unos 80 km al E de Las Lajitas. RAP 926. 68 km al E de Las Lajitas hacia Bajo del Vinalito RAP 937, 938.

*Prosopis hassleri* HARMS

ARGENTINA. Prov. Formosa. Depto de Patiño. Ruta 95. Estancia La Primavera: RAP 311, 316, 320, 322, 480. Río Porteño, camino al Cogoik: RAP 462. 17 km al N de Posta San Martín 1: RAP 557, 558. 12 km al N de Posta San Martín 1: RAP 558. Ruta 86, 5 km al E de Cataneo Cue, Río Porteño: RAP 560, 561, 563. Depto. Pilagas. Alrededor de 6 km al E de Espinillo: RAP,ADB,LB 708. Colonia Unión Escuela: RAP,ADB,PSH 796. Depto. Pilcomayo. Ruta Prov. 2, 10 a 15 km del Riacho He He: RAP,ADB,LB 683, 684. Depto. Pirané. Ruta Prov. 23, entre Palo Santo y General Belgrano: RAP,ADB,PSH 802, 805, 807.

**Serie Denudantes**

*Prosopis denudans* BENTHAM

ARGENTINA. Prov. de Río Negro. Depto. Valcheta. Más o menos 20 km de Aguada Cecilio hacia Sierra Pailemán: RAP,ADB 1784. 1 km al N de Sierra Pailemán(Sierra Colorada): RAP,ADB 1785; 1786; 1787. Sierra Pailemán : RAP,ADB 1788; 1789; 1790.

*Prosopis ruizleali* BURKART

ARGENTINA. Prov. de Mendoza Depto. San Rafael. El Sosneado. Lomas de Gendarmería:RAP 1643. El Sosneado, unos 5 km río arriba de Gendarmería RAP 1645. El Sosneado, mas o menos 3 km camino a Las Aucas: RAP,ADB 1755; 1756; 1757; 1758. Depto. Malargüe. Ruta Prov. 222. Valle del Río Salado entre Ruta 40 y Los Molles RAP 1648, 1649, 1650. Bardas Blancas (500 m al S del puente) RAP,ADB 1759. 10 km al S de Bardas Blancas RAP,ADB 1760; 1761; 1762; 1763; 1764. Prov. del Neuquén. Dto. Pehuenches. Barrancas (lomas al S de la población) RAP 1662, 1663, 1664. Mas o menos 1 km al S de

Barrancas RAP,ADB 1769. Entre Barranca de los Loros y El Tril: RAP,ADB 1772.

**Prosopis castellanosi BURKART**

ARGENTINA, Prov. del Neuquén. Depto Añelo. Meseta de los Chihuidas: RAP,ADB 1774; Al filo de la planicie frente al Cerro Rayoso RAP,ADB 1775; 1776.

**Serie Pallidae**

**Prosopis rubriflora HASSLER**

PARAGUAY. Depto. Concepción. Paso Horqueta, poblado próximo al Río Aquidabán. RAP 1681.

**Prosopis pallida (HUMBOLDT & BONPLAND ex WILLDENOW)HBK**

PERU. Majuro. A 400 metros del Hotel de la Borda; a 4 km de Nazca: JHH 10008.

**Prosopis affinis SPRENGEL**

ARGENTINA. Prov. Entre Ríos. Depto. La Paz. 10 km al E de La Paz: CAN 288, 364, 365. Depto. Federación. 5 km al N de Federación CAN 272

**Serie Chilenses**

**Prosopis chilensis (MOLINA)STUNTZ emend. BURKART**

ARGENTINA. Prov. La Rioja. Depto Famatina. Famatina. 1650 m.s.m. JHH 9737

**Prosopis juliflora (SWARTZ) DC**

COLOMBIA. Depto de Magdalena. Rodadero, a 7 km de Santa Marta JHH 10048. 20 km de Santa Marta, muestra masal de distintos árboles: JHH 10046.

**Prosopis nigra (GRISEBACH) HIKRONYMUS**

ARGENTINA, Prov. Formosa: Depto. Patifio. Río Portefio, camino a El Cogoi: RAP 465. Estanislao del Campo, 1 km al oeste de Pozo del Tigre: OTS 4255 [GH]. Comandante Fontana: RAP 473, 487. Depto. Pirané. 49 km al E de Bartolomé de las Casas: OTS 4267 [GH]. Prov. de Santiago del Estero: Depto.

de Copo. Monte quemado: RAP 578. Depto. de Loreto. 10 km al sur de Loreto: RAP,ADB,PSH 830. Prov. del Chaco: Depto. General Güemes. Ruta 95, 2 km al norte de El Asustado: RAP 499. Ruta 95, entre Arroyo Nogueira y El Asustado: RAP 524, 525. Ruta 95, unos 5 km al N de la parada entre Arroyo Nogueira y El Asustado: RAP 528. 2-3 km al sur de Poste Teniente Nogueira: RAP 535. Prov. de Salta: Depto. de Anta. Camino de Las Lajitas a Bajo del Vinalito, a unos 80 km de al E de Las Lajitas: RAP 927. Bañado del Vinalito 91 km al E de Las Lajitas: RAP 928. Bañado del Vinalito: RAP 929, 930. 11 km al E de la parada anterior, Bañado del Vinalito: RAP 931.

**Prosopis caldenia BURKART**

ARGENTINA. Prov. La Pampa. Depto. Utracán. Chacharramendi, ruta provincial Nº 20, a Limay-Mahuida: SEZ 115. Depto. Caleu Caleu. 55 km al norte del Río Colorado, ruta provincial Nº 2: JHH 9758.

**Prosopis flexuosa DC**

ARGENTINA. Prov. Catamarca: Depto Andalgalá. Cuesta de la Chilca, 1250 m.s.m.: JHH,CAN,RAP 9199. Prov. San Juan: Depto. Caucete. Ruta 20 entre Bermejo y Marayes, 13 km al oeste de Marayes: JHH,CAN,RAP 9054. Depto. Valle Fértil: Entre Los Baldecitos y Balde del Rosario: JHH,CAN,RAP 9808. Prov. de Mendoza. Depto Santa Rosa. 1 km al sur de Las Catitas, ruta provincial 153: RAP,ADB 1747. Prov. San Luis. Depto. Pringles. Entre Liborio Luna y Fraga: JHH.CAN.RAP 9054. Depto. Capital. Al oeste de San Luis, camino a Balde, ruta 7, km 795: RAP,ADB 1734.

**Prosopis glandulosa TORREY**

ESTADOS UNIDOS (U.S.A.). Estado de Nuevo Mexico. Las Cruces, Cerro Luna: BS 2215-1 [GH], 2216-1 [GH]. Estado de Texas. Handspeth. Cerro Mc. Nary: BS 2218-1 [GH], 2219-1 [GH].

**Prosopis alpataco R.A. PHILIPPI**

ARGENTINA. Prov. San Luis. Depto. Pringles. Entre Liborio Luna y Pringles: JHH,CAN,RAP 9053. Prov. La Pampa. Depto. Utracán. Chacharramendi: SEZ 108. Prov. Mendoza. Depto. Malargüe. Ruta Prov. 222. Valle del Río Salado, entre la Ruta 40 y Los Molles: RAP 1651, 1652. Malargüe. Camino al Dique: RAP 1653, 1654. Bajo de la Laguna de Llancanelo, ruta provincial 188: RAP 1655, 1656 1657, 1658. El Manzano, valle del río: RAP 1659. Prov. del Neuquén Depto. Pehuenches. Entre

Barrancas y Arroyo Buta-Co: RAP 1665. Entre Buta-Co y Buta Ranquil: RAP 1666. Prov. Río Negro. Depto. Conesa. 25 km al N de General Conesa: JHH,CAN,RAP 8663.

*Prosopis alba* GRISKBACH

ARGENTINA. Prov. Formosa. Depto. Patiño. Estancia "La Primavera": RAP 314, 323, 329, 330. Río Portefío, camino a El Cogoi: RAP 464. 28 km al N de Pozo del Tigre: RAP 548. Area Experimental Bartolomé de las Casas: OTS 4238 [GH]. Ruta 81, 52 km al oeste de Colonia Bartolomé de las Casas: OTS 4247 [GH]. Colonia Unión Escuela: RAP,ADB,PSH 797. Prov. Santiago del Estero. Depto. General Taboada. Ruta Añatuya a Melero, mas o menos 10 km al NO de Añatuya: RAP 512. Depto. Moreno. Ruta Nacional 94. 29 km al E de Quimili: OTS-BS 4273 [GH]. Depto. Matará. Ruta de Suncho Corral a Quimili, mas o menos 10 km al NE de Suncho Corral: RAP 522. Depto. Banda. Entre La Aurora y Antaje: RAP,ADB,PSH 818. Prov. del Chaco. Depto. General Güemes. Ruta 95, unos 25 a 30 km al sur del Río Bermejo: RAP 496. Ruta 95, entre Arroyo Nogueira y El Asustado: RAP 529. Ruta de Castelli a Tres Isletas, aprox. 15 km al S de Castelli. Entrada a la Escuela 622: RAP 920, 922, 923. Depto. Maipú. Ruta 95, Caba Naró: RAP 523. Depto. O'Higgins. Ruta 95, km 1079-1080: RAP 580. Ruta 95, 52 km al N de Villa Angela: OTS-BS 4281 [GH]. Prov. Santa Fe. Depto. General Obligado. Mas o menos 5 km al sur de Tartagal: RAP 677.

*Prosopis velutina* WOOTON

ESTADOS UNIDOS (U.S.A.). Estado de Arizona. Bune Co., camino a Ajo, cerca de Tucson: BS 2227-1 [GH], BS 2229-1 [GH]. MEJICQ. Sonora. Km 557. Santa Ana: BS 2211/1 [GH].

*Prosopis pugionata* BURKART

ARGENTINA. Prov. San Luis: Depto. Capital. Salinas del Bebedero, mas o menos 2 km de la población: RAP,ADB 1736; 1737. Prov. de Mendoza: Depto. La Paz. Entre La Paz y La Dormida, camino al sur del Río Tunuyán: RAP,ADB 1739.

Genero *Prosopidastrum* BURKART

*Prosopidastrum globosum* (GILLIERS ex HOOKER & ARNOTT) BURKART

ARGENTINA. Prov. de Río Negro. Depto. Pichi Mahuida. Ruta 251. Entre Conesa y Río Colorado, km 60-70: RAP,ADB 1803; 1804.



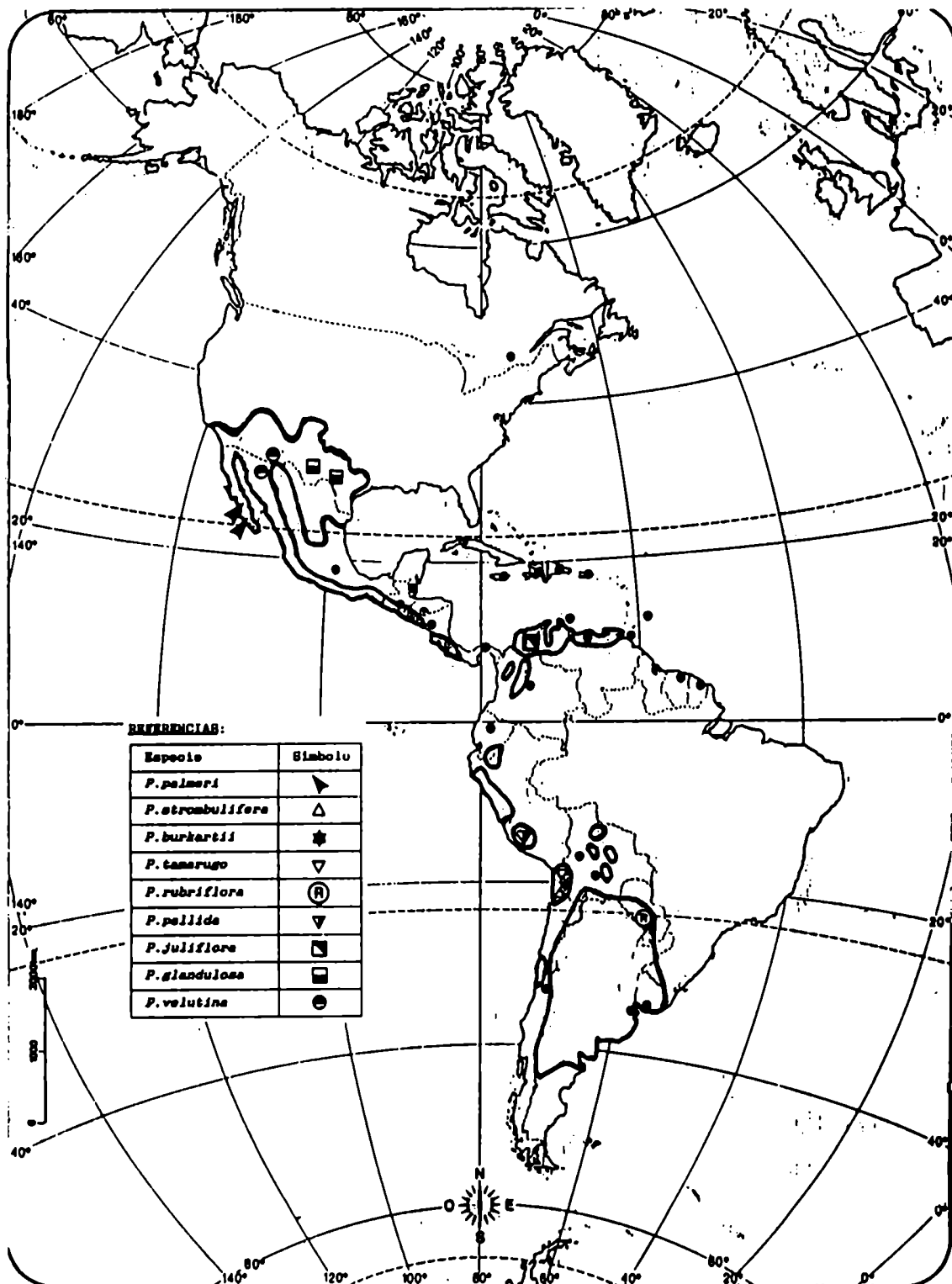
En la Figura Número 1 (Pág. 46) se representa el área de distribución del género en América (Según Simpson, 1977) y se señalan las localidades de recolección de los ejemplares de las especies americanas estudiadas (exceptuándose las argentinas).

En la Figura Número 2 (Pág. 47) se indican los sitios de recolección de los materiales de las especies argentinas estudiadas, exceptuando aquellas representadas en la Figura Número 3.

La Figura Número 3 (Pág. 48) muestra los lugares de colección de los ejemplares correspondientes a cuatro especies del Chaco Argentino: *P.nigra*, *P. alba*, *P.hassleri* y *P.ruscifolia*, cuya variación intraespecífica fue analizada mediante el muestreo de semillas individuales.

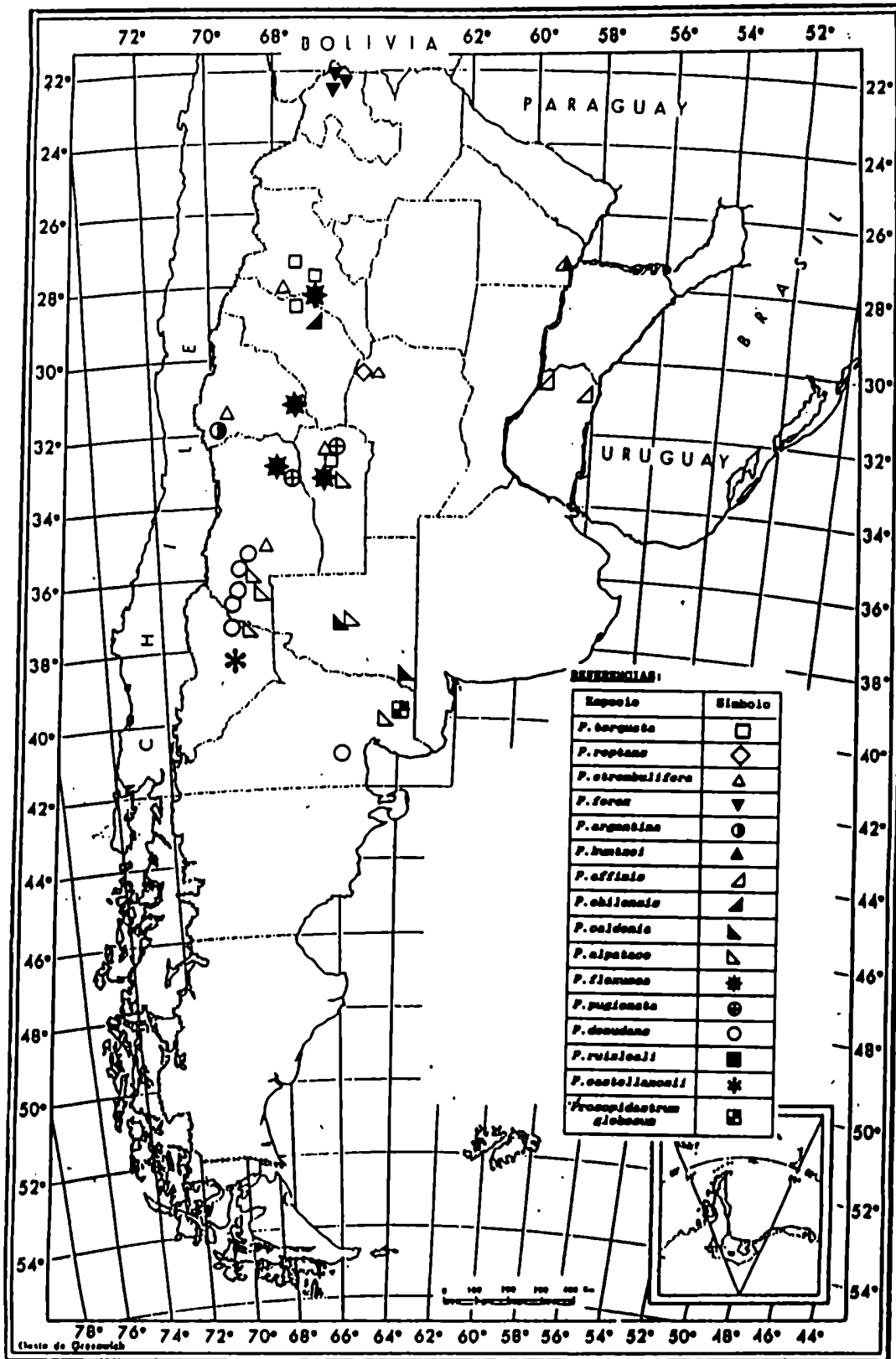
# Figura No 1

Area de distribución del género en América (Según Simpson, 1977). Se señalan las localidades de recolección de las especies americanas estudiadas (exceptuando las argentinas).



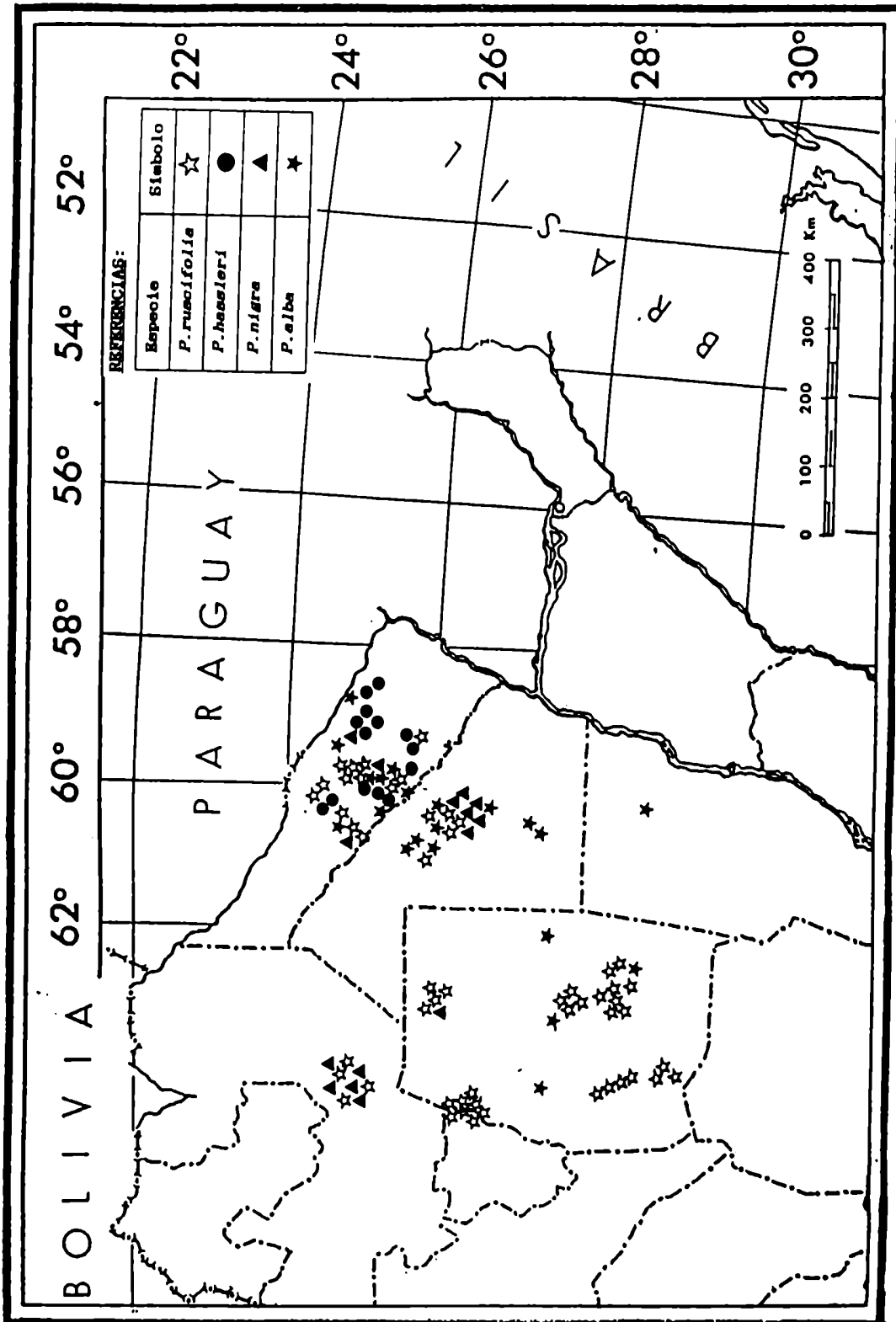
**Figura No 2:**

Sitios de recolección de los ejemplares de especies argentinas (Exceptuando las representadas en la Figura No 3).



**Figura No 3:**

Localidades de recolección de las cuatro especies del Chaco argentino cuya variación intraespecífica fue analizada mediante muestras de semillas individuales.



## 2.2 MÉTODOS

### 2.2.1 TECNICA ELECTROFORETICA:

Se realizó electroforesis horizontal en geles de Poliacrilamida (PAGE) en medio ácido de proteínas de semilla.

#### Soluciones tampón utilizadas

A) Lactato de Aluminio, 0,05 M, pH 3,6

B) Lactato de Aluminio, 0,05 M + Urea 3M

#### 2.2.1.1 Preparación de los geles para la corrida:

Para la realización de la parte experimental correspondiente a la mayoría de los puntos, los geles se realizaron mediante la disolución de poliacrilamida (Cyanogum 41°, SIGMA) en agua destilada para obtener una concentración final de gel del 7% de poliacrilamida.

Hacia el final de la parte experimental que dio lugar a la presente tesis y, ante la imposibilidad de obtener Cyanogum 41°, se realizaron una serie de pruebas con el objeto de determinar el porcentaje de acrilamida: bisacrilamida que produjera un gel con consistencia semejante al realizado con la mezcla comercial de SIGMA. Dichas pruebas consistieron en la confección de geles con Cyanogum 41° y geles con diferentes relaciones de acrilamida: bisacrilamida (manteniendo el porcentaje total T= 7%,) y la corrida simultánea de iguales muestras en los distintos geles. La relación de monómeros que produjo geles de

consistencia comparable, así como también patrones proteicos idénticos, fue de acrilamida: bisacrilamida 19:1.

En todos los casos se utilizó como catalizador TEMED (Tetrametiletildiamina) y como disparador persulfato de amonio.

Una vez ocurrida la polimerización los geles fueron transferidos a cajas plásticas y equilibrados por 48 horas mediante dos lavados consecutivos en solución B.

#### **2.2.1.2 Preparación de las muestras**

Para la consecución de los resultados correspondientes a los Puntos 3.2.4.1 y 3.2.4.2 y en general para todas las especies de la Sección Algarobia se realizaron muestras de semillas individuales. Para aquellas especies cuyas semillas eran mas pequeñas, un número variable debió ser utilizado por muestra, con vistas a obtener un patrón de intensidad comparable. En un principio el criterio seguido fue empírico, mas, luego fue corroborado mediante el peso de las semillas, verificando que se observaban patrones de intensidad comparables cuando las extracciones eran realizadas a partir de muestras de semillas de igual peso; criterio que fue seguido durante todo el trabajo experimental.

#### **Proceso de extracción de las proteínas**

Durante la realización de los Puntos 3.2.4.1 y 3.2.4.2 se procedió de la siguiente forma:

Las semillas fueron molidas en mortero de porcelana. Al polvillo obtenido para cada muestra se le agregaron 0,5 mililitros de la solución B, y se agitó continuamente durante 30 minutos a 4° C mediante la utilización de un agitador magnético. El homogenato resultante se centrifugó a 10.000 R.P.M. durante 30 minutos en centrifuga refrigerada (a 4°C). El sobrenadante obtenido se pasó a un recipiente adaptable a la entrada de un liofilizador.

El procedimiento descrito se repitió por tres veces y se mezclaron los sobrenadantes en cada paso.

Los sobrenadantes fueron liofilizados y el resultante guardado en desecador a 0°C.

En el momento de la siembra se rediluyó con 10 microlitros de solución B.

Para el resto de las especies fue modificado ligeramente el proceso de extracción (previas pruebas con el objeto de comprobar la inequívoca identidad de los patrones electroforéticos obtenidos):

Luego de molidas las semillas, en mortero de porcelana, se les agregaron 0,5 mililitros de la solución B, se dejó por 18 horas a 4° C centrifugándose posteriormente a 10.000 R.P.M. El sobrenadante obtenido fue utilizado directamente para la siembra.

### 2.2.1.3 Corrida electroforética

Los geles fueron sometidos a un campo eléctrico en cubas electroforéticas refrigeradas. El "buffer" de cubas utilizado fue la solución A.

#### **2.2.1.3.1 Precorrida:**

En todos los casos, fue realizada una precorrida previo a la siembra, exponiendo el gel al campo eléctrico durante 30 minutos.

#### **2.2.1.3.2 Siembra del material en los geles:**

Las soluciones muestra fueron absorbidas en rectángulos de papel Whatmann 3 MM de 0,9 cm x 0,3 cm.

En el sistema "buffer" Lactato de Aluminio, todas las fracciones polipeptídicas obtenidas mediante los métodos utilizados (correspondientes en su mayoría a albúminas y globulinas, por tratarse de la fracción acuosa) están cargadas positivamente. En consecuencia, la siembra fue realizada a 3,5 cm del borde correspondiente al ánodo (polo positivo), con ayuda de una espátula.

Se insertó un papel embebido en una solución de azul de bromofenol en el extremo opuesto. Este colorante es de bajo peso molecular y, en agua, presenta un intenso color azul por lo cual fue utilizado como indicador de frente de corrida.

#### **2.2.1.3.3 Corrida:**

La corrida electroforética fue conducida bajo una diferencia de potencial de 20 volts/cm, deteniéndola cuando el frente de bromofenol alcanzaba los 15 centímetros de migración.



#### 2.2.1.3.4 Coloración:

Para los Puntos 3.2.4.1 y 3.2.4.2, se realizó la coloración con Amidoblack (=Amidoschwartz) al dos por mil. Las soluciones colorante, decolorante y diafanizadora se prepararon según los siguientes protocolos:

##### Amidoblack 2 por mil

Agua destilada.....	450 ml
Bicloruro de mercurio.....	20 gramos
Acido acético.....	90 ml
Alcohol metílico.....	450 ml
Amidoblack.....	2 gramos

Calentar el agua destilada y disolver el bicloruro de mercurio a 100°C. Dejar enfriar; agregar el resto de los componentes en el orden indicado. Dejar reposar dos horas y filtrar.

##### Decolorante

	<b>Relación</b>
Agua destilada.....	2000 ml      10
Alcohol metílico.....	800 ml        4
Acido acético.....	200 ml        1

Diafanizador

	<b>Relación</b>
Acido acético.....50 ml	1
Glicerina.....100 ml	2
Agua destilada.....850 ml	17

Obtención de los electroforegramas:

Una vez detenida cada corrida electroforética, se retiraron los rectángulos de papel utilizados para la siembra y el gel se sumergió en la solución colorante durante 30 minutos, al cabo de los cuales se retiró de la solución (la que puede ser reusada numerosas veces) y se inició el proceso de decoloración. Este se realiza mediante sucesivos lavados con solución decolorante.

Cuando el proceso de decoloración concluye, el patrón polipeptídico (electroforegrama) se visualiza como bandas de color azul oscuro, que corresponden a los diversos polipéptidos los cuales han tomado distintas posiciones en el gel, por haber sido sujetos a la diferencia de potencial eléctrico. El electroforegrama así obtenido se fija y conserva en la solución diafanizadora que, a su vez, cumple con el objetivo de aclarar el fondo del gel permitiendo una mejor resolución de las bandas.

El sistema de coloración fue cambiado concomitantemente con el cambio en el proceso de obtención de las muestras. El

Amidoblack fue reemplazado por Azul de Coomassie (Coomassie Blue R, SIGMA), colorante ampliamente utilizado para toda clase de estudios electroforéticos en los que se requiera una coloración general de proteínas y cuya sensibilidad supera a la del utilizado en un principio.

En este caso para la preparación de las soluciones necesarias se siguieron los protocolos que se dan a continuación:

Solución madre de Azul de Coomassie

Coomassie Blue R (SIGMA).....	250 mg
Alcohol metílico.....	50 ml
Acido acético.....	10 ml
Agua destilada.....	40 ml

Solución diluyente

	Relación	
Alcohol metílico.....	200 ml	4
Acido acético.....	50 ml	1
Agua destilada.....	500 ml	10

Decolorante

	Relación	
Alcohol metílico.....	200 ml	4
Acido acético.....	50 ml	1
Agua destilada.....	1000 ml	20

### Obtención de los electroforegramas

Al finalizar las corridas, se sumergieron los geles (a los que previamente se les habían retirado los papeles de siembra) en el colorante, preparado mediante la dilución 1:50 de la solución madre de Coomassie en la diluyente. El tiempo de coloración fue de 18 horas, al cabo de las cuales, el gel fue sumergido en sucesivos lavados de solución decolorante hasta la obtención de máxima nitidez en el patrón de bandas. En este caso las zonas donde se encuentran polipéptidos se colorean azul brillante y coinciden exactamente con las obtenidas mediante la otra técnica.

#### 2.2.1.4 Determinación de las analogías proteicas:

El trabajo de determinación de las analogías proteicas entre los electroforegramas, ya sea para decidir acerca de la identidad de bandas observadas en distintos geles o de aquellas correspondientes a distintas especies, se llevó a cabo mediante diversos criterios. La identificación de una banda polipeptídica y la asignación de su número, debieron ser realizadas luego de exhaustivos análisis de los geles a través de la observación directa y la comparación de las velocidades de migración mediante el cálculo de relaciones de frente o de migración relativa a una banda conocida.

La mezcla de extractos permitió reconocer bandas muy próximas ya que si se trataba de fracciones diferentes, en la corrida de la mezcla se observaron dos bandas. Este método, muy utilizado, es considerado de alto poder resolutivo y de suma utilidad para determinar la identidad de

bandas correspondientes a distintas especies en especial cuando el investigador se encuentra ante la imposibilidad de obtener híbridos artificiales. (Desborough y Peloquin, 1968; Johnson y Thein, 1970; Johnson, 1972; Ladizinsky y Hymowitz, 1979)

### 2.2.2. Cuantificación de la variabilidad y estimación de las relaciones entre poblaciones y especies:

#### 2.2.2.1. Medidas de variabilidad:

Una vez determinadas las homologías proteicas, el cálculo de variabilidad intrapoblacional fue posible sólo en aquellas especies donde las muestras se obtuvieron a partir de semillas individuales y el material analizado constituyó muestras representativas de las distintas procedencias (Puntos 3.2.4.1 y 3.2.4.2).

Para obtener una cuantificación de la variabilidad a nivel de proteínas seminales, se determinó el patrón polipeptídico de cada individuo. Dado que algunas especies de la sección Algarobia como *P. flexuosa*, *P. chilensis*, *P. velutina* (Simpson, 1977) y *P. nigra* (Palacios y Bravo, 1981) serían autoincompatibles y habiéndose encontrado autoincompatibilidad parcial en *P. torquata* (Simpson et al., 1977), se supone que la alogamia prevalece como sistema reproductivo, por lo cual se consideraron semillas diferentes como individuos genotípicamente distintos.

Para los estudios intraespecíficos, un mínimo de 10 semillas por árbol fueron analizadas, y el muestreo se

realizó teniendo en cuenta las mismas pautas seguidas por Saidman (1985).

Para las cuatro especies en las que este tipo de trabajo fue posible, la estimación de la variabilidad se realizó sobre la base de distintos índices (se especifica en el capítulo correspondiente, cuál se utilizó), pero en los diferentes casos la matriz básica de datos estuvo constituida por la frecuencia de las bandas encontradas en cada procedencia.

Si una banda en particular se encontró en todos los individuos de una población o especie (su frecuencia fue 1), se la consideró "constante". Si una banda estuvo presente en algunos individuos y ausente en otros debido a diferencias en la movilidad electroforética o a diferencias en actividad-inactividad se la denominó "variante", tabulando la frecuencia en que se encontraba en cada procedencia.

#### 2.2.2.1.1 Índice de polimorfismo:

El Índice de Polimorfismo o Índice Polimórfico (Marshall y Allard, 1970) se define como

$$I.P. = \sum_{i=1} \frac{p_i (1 - p_i)}{N}$$

donde  $p_i$  es la frecuencia de la  $i$ ésima banda y  $N$  es el número de bandas en cada población. Este Índice varía de 0 a 0,25, y tiene en cuenta las diferencias en la proporción de bandas variables a constantes y el grado de polimorfismo de cada una

de las bandas variables. Este índice ha sido utilizado en diversos estudios, ya sean electroforéticos como morfológicos para evaluar diversidad en especies silvestres y cultivadas (Hamrick, 1979; Magoja et al., 1991).

#### 2.2.2.1.2 Índice de Diversidad de Shannon:

Lewontin (1972) propone este índice como una medida de la diversidad, ejemplificando su uso mediante la estimación de la variación dentro y entre distintos grupos étnicos. Este estadístico es ampliamente utilizado en la literatura ecológica para evaluar la diversidad específica en estudios de comunidades (Pielou, 1977). Constituye, además, una medida útil en análisis jerárquicos de diversidad de diferentes datos como estudios de germoplasma (Poole, 1974), mediante el estudio de patrones geográficos de variación exofenotípica como los realizados por Jain et al. (1975) en el grupo durum de *Triticum turgidum* o de variación isoenzimática, como los de Aiassa et al. (1991) en *Echinochloa elodes*.

El cálculo de este índice propone que los caracteres sean considerados como categorías fenotípicas más que genotípicas, por lo cual es aplicable a los patrones polipeptídicos resultantes de estudios electroforéticos y obtenidos mediante coloración para proteínas generales, donde la naturaleza de la herencia de los caracteres (bandas) considerados no es conocida.

El Índice de Diversidad de Shannon ( $H'$ ) es definido como

$$H' = - \sum_{i=1}^n p_i \log p_i$$

donde  $n$  es el número de clases fenotípicas de un carácter (en el presente estudio el carácter banda presenta dos estados: presencia-ausencia o sea dos clases) y  $p_i$  es la frecuencia de individuos de la  $i$ ésima clase. Puede elegirse la base del logaritmo a utilizar, (en este caso se usaron logaritmos en base 2, ya que de este modo el índice varía de 0 a 1 y es posible, además, la comparación con estudios realizados en otras especies vegetales).

La varianza de  $H'$  es:

$$\text{Var } H' = \frac{\sum_{i=1}^n p_i \log^2 p_i - (H')^2}{N} + \frac{n - 1}{2 N^2}$$

Si tenemos en cuenta las propiedades aditivas del Índice de Shannon podemos calcular la varianza de  $H$  medio aplicando una fórmula semejante a la que utiliza Nei (1975) para su índice de diversidad génica, quedando:

$$\text{Var } (H \text{ medio}) = \frac{\sum \text{Var } (H')}{n}$$

$H'$  fue estimado para cada carácter, el  $H$  medio y su varianza calculados en cada procedencia y se significaron las diferencias siguiendo a Jain et al (1975).



#### 2.2.2.2. Estimación de las relaciones entre poblaciones y especies:

Los análisis realizados se basaron, especialmente, en técnicas numéricas utilizadas por los feneticistas para la conformación de estructuras taxonómicas, la llamada Taxonomía Numérica, que fue definida como la evaluación numérica de la similitud o afinidad entre unidades taxonómicas y sobre la base del estado de sus caracteres, el agrupamiento de las unidades en taxones (Sokal y Sneath, 1963).

Todo el trabajo fue realizado mediante la comparación de patrones polipeptídicos de proteínas seminales, por lo tanto, los caracteres fueron las distintas bandas (o fracciones proteicas). Los estados posibles de cada carácter difirieron según los casos. En aquellos donde el muestreo lo permitió, fueron calculadas la frecuencias o proporción de individuos que portaban cada banda y constituyeron los estados de los caracteres. En la visión general que incluye todas las especies analizadas, los caracteres fueron definidos como de doble estado (presencia-ausencia), considerándose como presentes aquellas bandas que se encontraron en por lo menos un individuo de la especie.

En los Puntos 3.2.4.1 y 3.2.4.2, las distintas procedencias (las que se especifican en los capítulos correspondientes) constituyen las distintas Unidades Taxonómicas Operativas (OTU).

Sobre la base de las diferentes matrices básicas de datos obtenidas, y en cada caso que se consideró útil la

aplicación de técnicas numéricas, se calcularon coeficientes de similitud, distancia y correlación para cada par posible de OTU, con vista a aplicar distintos métodos de análisis de datos multivariados.

La Distancia Taxonómica Promedio (Sokal, 1961), definida como

$$DTP = \left[ \frac{\sum_{i=1}^n (x_{ij} - x_{ik})^2}{n} \right]^{1/2}$$

donde  $n$  es el número de caracteres considerados,  $x_{ij}$  y  $x_{ik}$  los estados del carácter  $i$  en los OTU  $j$  y  $k$  respectivamente puede ser utilizada para calcular la distancia que separa a dos OTU en un espacio euclideo tomando en cuenta para su cálculo caracteres multiestado. En los casos en que este coeficiente fue calculado, la matriz de distancias resultante se utilizó para la confección de un fenograma mediante un análisis de agrupamientos ("Cluster") por el método de medias no ponderadas (UPGMA) (Sneath y Sokal, 1973).

El Índice de Jaccard es un coeficiente de asociación que relaciona dos OTU, es aplicable a caracteres doble-estado (presencia-ausencia) y puede definirse como:

$$IJ = \frac{a}{a + b + c}$$

donde  $a$  es el número de caracteres que presentan el mismo estado en ambas OTU,  $b$  es el número de caracteres que presenta un estado en la primer OTU, pero no en la segunda,  $c$  es el número de caracteres en los cuales un estado está ausente en la primera OTU y presente en la segunda. Este fue

utilizado en el capítulo 3.1, y sobre la base de la matriz de similitudes resultante se conformó la estructura taxonómica con la confección de un fenograma mediante un UPGMA .

La Distancia Manhattan Promedio (Cain y Harrison, 1958) se define como:

$$\text{MANHAT} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |x_{ij} - x_{ik}|$$

y fue calculada para la confección de Árboles de Valor Mínimo (Prim, 1957) que son retículos o diagramas de ramificaciones que carecen de polaridad y en los que la suma de la totalidad de las distancias es mínima.

También fueron aplicados métodos de ordenación como el Análisis de Componentes Principales (para caracteres multiestado) y Análisis de Coordenadas Principales de Gower (para caracteres de doble estado), métodos que reflejan las relaciones entre las OTU mediante la posición que éstas adoptan en un espacio determinado por un grupo reducido de dimensiones (componentes o coordenadas) cada una de las cuales contiene parte de la variabilidad total de los caracteres. Dado que las OTU se distribuyen en un espacio n-dimensional determinado por los n caracteres considerados, el objeto de la aplicación de estos métodos es el de graficar dichas OTU en sistemas de dos o tres dimensiones que, con una mínima distorsión de la variabilidad existente, permite la interpretación de las relaciones entre OTU mediante el análisis de su ubicación en esos sistemas.

Todos los análisis multivariados de relaciones entre poblaciones o especies fueron realizados con la ayuda del Programa NTSYS-pc (Rohlf, 1988).

Otra forma de evaluar las relaciones sistemáticas entre las taxa es mediante los métodos adaptados por Ellison *et al.* (1962), los cuales fueron aplicados a las especies aquí estudiadas.

El Índice de Afinidad de Pares (PA) se define como:

$$PA = \frac{\text{bandas en común de las especies A y B} \times 100}{\text{total de bandas en A + B}}$$

Los Índices PA fueron calculados para cada par posible formado entre las 28 especies utilizadas en este estudio y fueron ilustrados en la forma de gráficos poligonales.

Cada gráfico poligonal muestra las relaciones cuantitativas entre una especie y todas las demás. Los Índices PA son expresados desde 0 (en el centro del círculo) hasta 100 (en el perímetro), a lo largo de los radios apropiados. Un valor para cada especie será siempre de 100, ya que uno de los radios representa la especie en consideración, la cual presentará un índice PA máximo consigo misma. Dos gráficos poligonales pueden tener igual forma y distinta área; si la similitud en cuanto a la forma es estrecha, aun cuando el área pueda variar, esto indica estrecha similitud en cuanto a las relaciones sistemáticas de los dos taxa representados.

Índices numéricos de las interrelaciones de grupo pueden derivarse a partir de los Índices PA: La sumatoria de los

índices PA de cada taxón con todos los estudiados provee de una expresión numérica a cada polígono designada como "Afinidad de Grupo" (GA). Para los 28 taxa analizados, el máximo GA sería de 2800, lo que indicaría una afinidad del 100% entre todas las entidades. El mínimo valor posible de GA es 100, el cual indicaría que el taxón en consideración no posee ninguna banda en común con el resto de los estudiados.

La presencia de bandas marcadoras, distintivas y únicas dentro del grupo estudiado es potencialmente importante en el momento de realizar las consideraciones sistemáticas. En el presente estudio se calculó el Valor de Aislamiento ( $IV_1$ ) mediante el cual se expresa el porcentaje de bandas únicas de una especie con respecto al número total de bandas detectadas en esa especie en particular.

**RESULTADOS Y DISCUSION**

### 3.1. El panorama general de las relaciones interespecíficas en el género *Prosopis*.

Se estudiaron veintisiete especies de *Prosopis* L., representantes de las tres secciones que Burkart reconoce en América.

Asimismo y con el objeto de analizar los límites genéricos, se estudiaron electroforéticamente las proteínas de semilla de *Prosopidastrum globosum*. *Prosopidastrum* es un género, con dos especies, muy afín a *Prosopis* y descrito por Burkart (1964) quién elevó al rango genérico un taxón de origen mejicano, inicialmente considerado una especie de *Prosopis*.

A continuación se da un listado de las especies estudiadas; las mismas se hallan ordenadas de acuerdo a la posición que cada una de ellas tiene, en el sistema de Burkart:

<b>SECCION</b>	<b>SERIE</b>	<b>ESPECIE</b>
<b>Strombocarpa</b>	<b>Strombocarpae</b>	<i>P. palmeri</i> <i>P. torquata</i> <i>P. reptans</i> <i>P. strombulifera</i> <i>P. burkartii</i>
	<b>Cavenicarpae</b>	<i>P. tamarugo</i> <i>P. ferox</i>
<hr/>		
<b>Monilicarpa</b>		<i>P. argentina</i>
<hr/>		
<b>Algarobia</b>	<b>Sericanthae</b>	<i>P. kuntzei</i>
	<b>Ruscifoliae</b>	<i>P. ruscifolia</i> <i>P. hassleri</i>
	<b>Pallidae</b>	<i>P. rubriflora</i> <i>P. pallida</i> <i>P. affinis</i>
	<b>Chilenses</b>	<i>P. chilensis</i> <i>P. juliflora</i> <i>P. nigra</i> <i>P. caldenia</i> <i>P. flexuosa</i> <i>P. alpataco</i> <i>P. glandulosa</i> <i>P. velutina</i> <i>P. alba</i> <i>P. pugionata</i>
	<b>Denudantes</b>	<i>P. denudans</i> <i>P. ruizleali</i> <i>P. castellanosi</i>



En la Tabla 1 (Pág.71 a 76) se muestra la ocurrencia de las fracciones en cada una de las especies estudiadas, indicando con 0 la ausencia y con 1 la presencia de las distintas bandas.

Un total de 137 bandas fueron detectadas en las 27 especies de *Prosopis* estudiadas, 12 bandas adicionales se hallaron en *Prosopidastrum globosum*.

La especie en la que fue encontrado el mayor número de fracciones fue *P. ruscifolia* (48 bandas), mientras que *P. ruizleali* presentó el patrón polipeptídico con menor número de bandas (12). El número de bandas polipeptídicas halladas por individuo no superó en ningún caso las 22.

En la Tabla N° 2 (Pag.77) se indican, el número total de bandas y el número de bandas exclusivas para cada especie. También se indican en la misma tabla los Valores de Aislamiento (V.A.1) y de Afinidad de Grupo (GA).

Sobre la base de la Matriz Básica de Datos (Tabla N° 1) se calcularon el coeficiente de asociación de Jaccard (Tabla N° 3, pág.79) y la distancia taxonómica promedio (Tabla N° 4, pág.81) entre cada par de taxa y se confeccionaron las Figuras 4 (Pag.80) y 5 (Pág.82) que representan los fenogramas resultantes de los Análisis de Agrupamientos (UPGMA) aplicados a las matrices de similitud y distancias obtenidas, respectivamente.

Asimismo, en la Figura N° 6 (Pág.83) se grafican los resultados del Análisis de Coordenadas Principales de Gower

representandose las 27 especies de *Prosopis* y *Prosopidastrum globosum* en espacios delimitados por las tres primeras coordenadas principales.

La Figura N° 7 (Pág.85) es el Arbol de Valor Mínimo obtenido a partir de las distancias Manhattan entre cada par de especies (Tabla N° 5, Pág.84).

Los diagramas poligonales correspondientes a cada una de las veintiocho especies estudiadas se esquematizan en la Figura 8 (Pág.86 a 89)



TABLA Nº 1 (Continuación)

BANDA	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
<i>P. burkartii</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1
<i>P. strobilifera</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
<i>P. reptans</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
<i>P. torquata</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. tamarugo</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1
<i>P. ferox</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. argentina</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. chilensis</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. glandulosa</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. caldenia</i>	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. flexuosa</i>	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. alpataco</i>	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. pallida</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. juliflora</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. velutina</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. rubriflora</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. affinis</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. pugionata</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. castellanosii</i>	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. denudans</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. ruizleali</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. kuntzei</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>P. ruscifolia</i>	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0
<i>P. nigra</i>	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0
<i>P. hassleri</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0
<i>P. alba</i>	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0
<i>P. palmeri</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. globosus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

TABLA N° 1 (Continuación)

BANDA	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
<i>P. burkartii</i>	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
<i>P. strombulifera</i>	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
<i>P. reptans</i>	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1
<i>P. torquata</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
<i>P. tamarugo</i>	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
<i>P. ferox</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
<i>P. argentina</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
<i>P. chilensis</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. glandulosa</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. caldenia</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0
<i>P. flexuosa</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0
<i>P. alpataco</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0
<i>P. pallida</i>	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. juliflora</i>	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. velutina</i>	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. rubriflora</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. affinis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. pugionata</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. castellanosii</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. denudans</i>	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>P. ruizleali</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. kuntzei</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. ruscifolia</i>	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. nigra</i>	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. hassleri</i>	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. alba</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. palaeri</i>	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>P. globosus</i>	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0

TABLA Nº 1 (Continuación)

BANDA	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
<i>P. burkartii</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
<i>P. strobilifera</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
<i>P. reptans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
<i>P. torquata</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
<i>P. tamarugo</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
<i>P. ferox</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. argentina</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. chilensis</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. glandulosa</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. caldenia</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. flexuosa</i>	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. alpataco</i>	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. pallida</i>	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. juliflora</i>	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. velutina</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. rubriflora</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. affinis</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. pugionata</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. castellanosii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
<i>P. denudans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>P. ruizleali</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>P. kuntzei</i>	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. ruscifolia</i>	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. nigra</i>	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. hassleri</i>	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. alba</i>	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. palmeri</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>P. globosua</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0



TABLA Nº 1 (Continuación)

BANDA	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	
ESPECIE																									
<i>P. burkartii</i>	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. strobilifera</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. reptans</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. torquata</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. tamarugo</i>	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. ferox</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. argentina</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. chilensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. glandulosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. caldenia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. flexuosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. alpataco</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. pallida</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. juliflora</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. velutina</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. rubriflora</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. affinis</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. pugionata</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. castellanosii</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0
<i>P. denudans</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1
<i>P. ruizleali</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. kuntzei</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. ruscifolia</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. nigra</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. hassleri</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. alba</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. palmeri</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. globosus</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0



Tabla N° 2

ESPECIE	N° TOTAL DE BANDAS	N° BANDAS EXCLUSIVAS	VALOR DE AISLAMIENTO	AFINIDAD DE GRUPO (max. = 2800)
1. <i>P. palmeri</i>	13	8	61,53	229,1
2. <i>P. torquata</i>	21	2	9,52	668,5
3. <i>P. reptans</i>	28	0	0	747,3
4. <i>P. strombulifera</i>	31	0	0	706,3
5. <i>P. burkartii</i>	40	0	0	659,9
6. <i>P. tamarugo</i>	33	0	0	666
7. <i>P. ferox</i>	26	1	3,85	743,2
8. <i>P. argentina</i>	23	4	17,39	668,5
9. <i>P. kuntzei</i>	22	7	31,82	510,9
10. <i>P. ruscifolia</i>	48	0	0	1028,8
11. <i>P. hassleri</i>	43	0	0	1039,9
12. <i>P. rubriflora</i>	18	0	0	1080,4
13. <i>P. pallida</i>	34	1	2,94	909,2
14. <i>P. affinis</i>	25	0	0	1039,1
15. <i>P. chilensis</i>	23	1	4,35	1002,4
16. <i>P. juliflora</i>	33	0	0	1055,1
17. <i>P. nigra</i>	44	0	0	1039,1
18. <i>P. caldenia</i>	23	0	0	1024,3
19. <i>P. alpataco</i>	30	1	3,33	1037,4
20. <i>P. flexuosa</i>	28	0	0	1047,9
21. <i>P. glandulosa</i>	24	0	0	1098,8
22. <i>P. velutina</i>	29	1	3,45	1009,1
23. <i>P. alba</i>	40	0	0	1080,4
24. <i>P. pugionata</i>	22	0	0	939,6
25. <i>P. denudans</i>	20	7	35	545,3
26. <i>P. ruizleali</i>	12	2	16,67	571
27. <i>P. castellanosi</i>	23	9	39,13	447,4
28. <i>Prosopidastrum globosum</i>	19	12	63,15	282,5

**REFERENCIAS:** Tabla de abreviaturas utilizadas en matrices y/o tablas y de símbolos en mapas y diagramas





























Especies	Abreviaturas en matrices y/o tablas	Símbolos en mapas y Diagramas
1. <i>P. palmeri</i>	PALM	
2. <i>P. torquata</i>	TORQ	
3. <i>P. reptans</i>	REPT	
4. <i>P. strombulifera</i>	STRO	
5. <i>P. burkartii</i>	BURK	
6. <i>P. tamarugo</i>	TAMA	
7. <i>P. ferox</i>	FERO	
8. <i>P. argentina</i>	ARGE	
9. <i>P. kuntzei</i>	KUNT	
10. <i>P. ruscifolia</i>	RUSC	
11. <i>P. hassleri</i>	HASS	
12. <i>P. rubriflora</i>	RUBR	
13. <i>P. pallida</i>	PALL	
14. <i>P. affinis</i>	AFFI	
15. <i>P. chilensis</i>	CHIL	
16. <i>P. juliflora</i>	JULI	
17. <i>P. nigra</i>	NIGR	
18. <i>P. caldenia</i>	CALD	
19. <i>P. alpataco</i>	ALPA	
20. <i>P. flexuosa</i>	FLEX	
21. <i>P. glandulosa</i>	GLAN	
22. <i>P. velutina</i>	VELU	
23. <i>P. alba</i>	ALBA	
24. <i>P. pugionata</i>	PUGI	
25. <i>P. denudans</i>	DENU	
26. <i>P. ruizleali</i>	RUIZ	
27. <i>P. castellanosii</i>	CAST	
28. <i>Prosopidastrum globosum</i>	PROSOM	

Tabla No 3:

Matriz de similitudes entre todas las especies estudiadas  
(Coeficiente de Asociación de Jaccard)

	BOEC	STRO	REPT	TORO	TANA	FERO	ARSE	CHIL	GLAM	CARD	FLEI	ALPA	PMLL	JULI	VELU	RUOR	AFFI	PMSI	CASI	BEBU	BIIZ	EBUT	MUSE	RIGR	WASS	ALMA	PALR	PROSSM	
BOEC	1.000																												
STRO	0.732	1.000																											
REPT	0.459	0.905	1.000																										
TORO	0.419	0.529	0.531	1.000																									
TANA	0.738	0.524	0.452	0.385	1.000																								
FERO	0.500	0.442	0.459	0.469	0.553	1.000																							
ARSE	0.189	0.149	0.159	0.189	0.244	0.289	1.000																						
CHIL	0.125	0.149	0.159	0.189	0.191	0.275	0.374	1.000																					
GLAM	0.140	0.147	0.178	0.211	0.160	0.244	0.297	0.455	1.000																				
CARD	0.145	0.174	0.186	0.222	0.167	0.256	0.314	0.506	0.455	1.000																			
FLEI	0.153	0.135	0.143	0.167	0.151	0.206	0.275	0.500	0.559	0.445	1.000																		
ALPA	0.111	0.130	0.137	0.159	0.125	0.191	0.285	0.432	0.571	0.604	0.813	1.000																	
PMLL	0.104	0.102	0.107	0.122	0.136	0.154	0.180	0.390	0.475	0.599	0.590	0.541	1.000																
JULI	0.123	0.143	0.151	0.174	0.150	0.204	0.302	0.514	0.540	0.514	0.488	0.537	0.523	1.000															
VELU	0.113	0.132	0.140	0.163	0.127	0.176	0.268	0.466	0.456	0.514	0.466	0.513	0.460	0.590	1.000														
RUOR	0.094	0.114	0.122	0.144	0.109	0.189	0.171	0.307	0.387	0.281	0.314	0.297	0.240	0.540	0.469	1.000													
AFFI	0.171	0.143	0.152	0.179	0.137	0.244	0.283	0.500	0.583	0.500	0.539	0.528	0.515	0.540	0.500	0.593	1.000												
PMSI	0.170	0.152	0.163	0.194	0.170	0.243	0.216	0.466	0.516	0.452	0.479	0.405	0.346	0.486	0.457	0.479	0.421	1.000											
CASI	0.066	0.102	0.109	0.100	0.120	0.089	0.150	0.171	0.179	0.216	0.152	0.163	0.163	0.167	0.154	0.108	0.143	0.125	1.000										
BEBU	0.132	0.159	0.171	0.139	0.082	0.122	0.132	0.279	0.184	0.179	0.200	0.190	0.149	0.178	0.185	0.226	0.216	0.209	0.132	1.000									
BIIZ	0.106	0.132	0.143	0.130	0.071	0.110	0.129	0.250	0.233	0.290	0.712	0.700	0.150	0.181	0.204	0.304	0.233	0.340	0.179	0.179	1.000								
EBUT	0.170	0.157	0.163	0.194	0.146	0.171	0.184	0.184	0.205	0.154	0.750	0.182	0.191	0.146	0.159	0.143	0.175	0.158	0.078	0.077	0.097	1.000							
MUSE	0.114	0.129	0.134	0.150	0.141	0.115	0.224	0.470	0.321	0.420	0.462	0.579	0.491	0.508	0.540	0.404	0.433	0.127	0.133	0.127	0.133	0.132	0.162	1.000					
RIGR	0.105	0.119	0.125	0.140	0.149	0.162	0.218	0.457	0.535	0.426	0.449	0.542	0.472	0.508	0.500	0.400	0.400	0.373	0.156	0.143	0.143	0.158	0.178	1.000					
WASS	0.107	0.121	0.127	0.143	0.152	0.169	0.222	0.467	0.545	0.435	0.479	0.553	0.481	0.404	0.503	0.469	0.245	0.417	0.383	0.119	0.145	0.146	0.161	0.057	1.000				
ALMA	0.127	0.145	0.153	0.173	0.141	0.200	0.255	0.432	0.505	0.445	0.511	0.591	0.480	0.472	0.533	0.761	0.477	0.442	0.103	0.154	0.156	0.170	0.033	0.047	0.044	1.000			
PALR	0.062	0.100	0.079	0.063	0.070	0.054	0.079	0.079	0.056	0.079	0.051	0.049	0.044	0.045	0.050	0.049	0.049	0.056	0.029	0.031	0.042	0.029	0.031	0.036	0.037	0.039	1.000		
PROSSM	0.054	0.064	0.068	0.076	0.061	0.071	0.056	0.077	0.073	0.077	0.068	0.065	0.062	0.083	0.067	0.088	0.100	0.108	0.024	0.114	0.107	0.075	0.063	0.048	0.049	0.073	0.000	1.000	

Figura No 4:

Fenograma resultante del análisis de agrupamientos (UPGMA) aplicado a la Matriz de Similitudes (Tabla No 3)

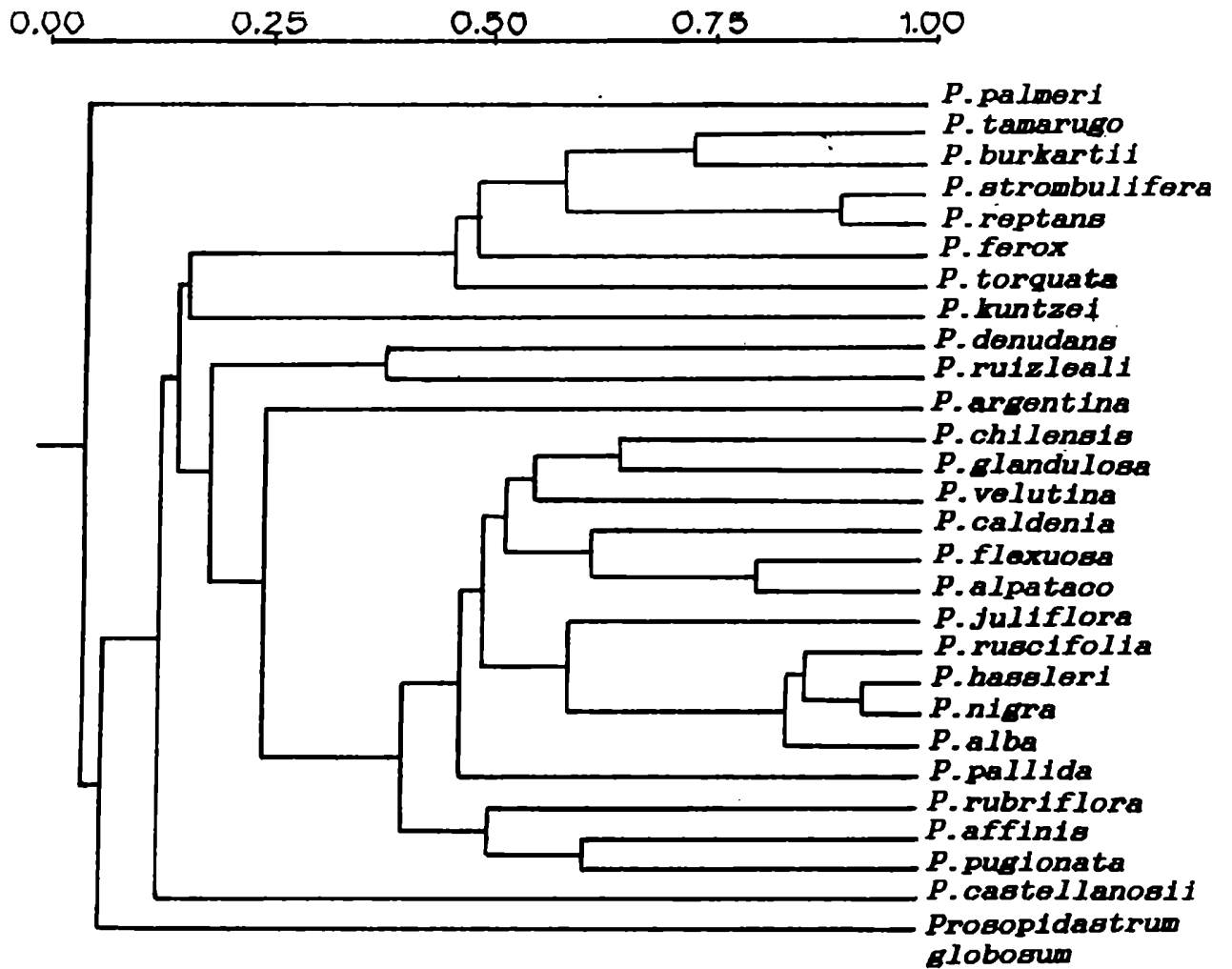


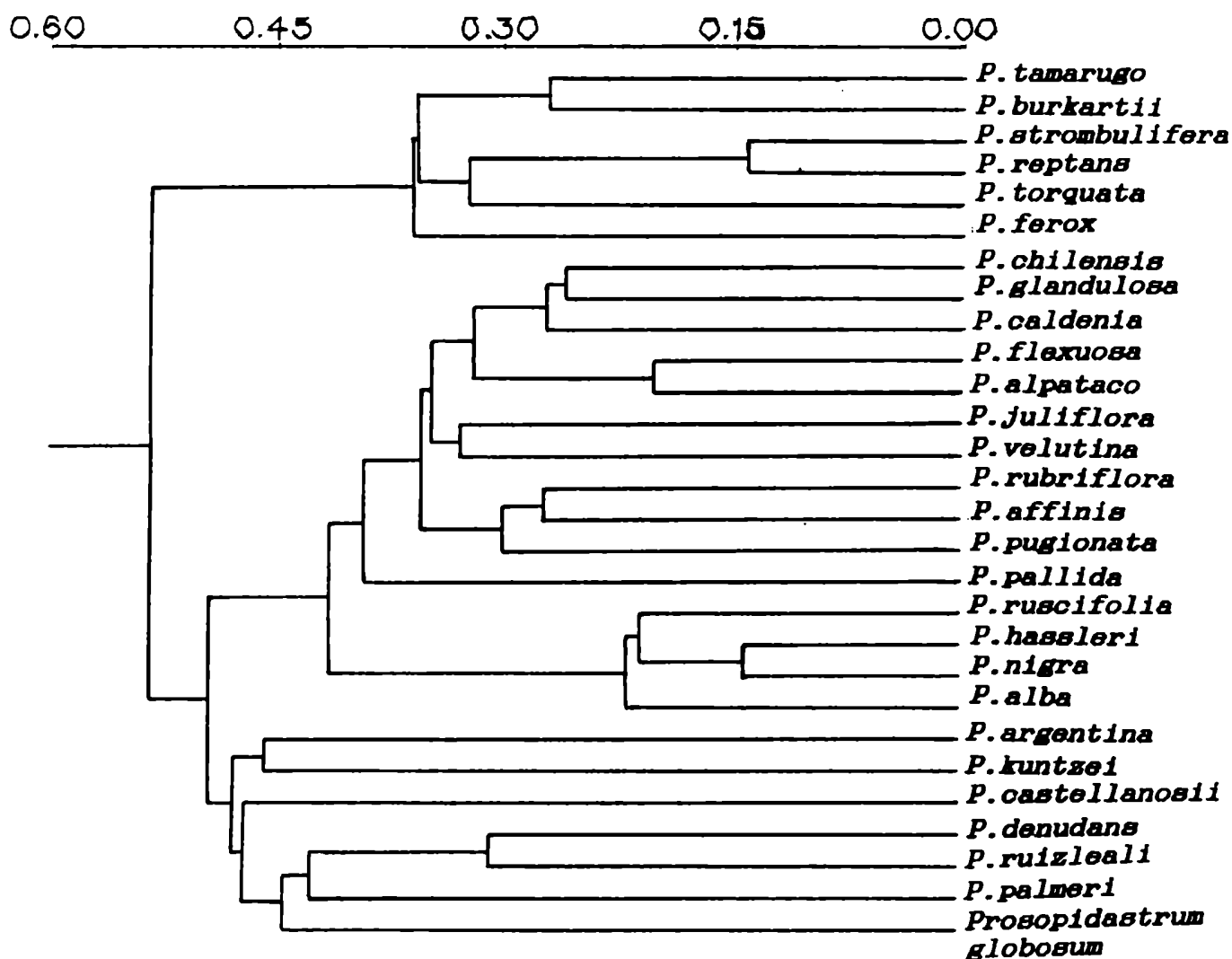
Tabla No 4:

Matriz de Distancias entre especies de *Prosopis* y *Prosopidastrum* estudiadas (Distancia Taxonómica Promedio)

	SIRO	REPT	TOMO	TAMA	PERO	ANDE	CHIL	OLAM	CALO	FILEE	ALPA	PALL	JULI	VELU	BURR	OFFI	PMSI	CASI	ROMI	IBIT	IBSC	BIER	WASS	ALMA	PALE	PROSPR	
SIRO	0.000																										
REPT	0.272	0.000																									
TOMO	0.207	0.102	0.000																								
TAMA	0.110	0.270	0.373	0.000																							
PERO	0.272	0.366	0.373	0.330	0.000																						
ANDE	0.204	0.375	0.366	0.409	0.479	0.000																					
CHIL	0.373	0.310	0.490	0.649	0.505	0.456	0.000																				
OLAM	0.373	0.310	0.490	0.649	0.505	0.456	0.000	0.259																			
CALO	0.267	0.295	0.405	0.433	0.310	0.441	0.401	0.204	0.000																		
FILEE	0.291	0.290	0.331	0.405	0.350	0.477	0.441	0.330	0.317	0.277	0.000																
ALPA	0.413	0.362	0.343	0.490	0.373	0.505	0.403	0.375	0.317	0.295	0.291	0.000															
PALL	0.435	0.396	0.379	0.537	0.205	0.343	0.312	0.410	0.375	0.410	0.370	0.340	0.000														
JULI	0.619	0.540	0.509	0.505	0.540	0.512	0.449	0.340	0.320	0.340	0.375	0.357	0.375	0.000													
VELU	0.400	0.256	0.337	0.492	0.340	0.470	0.449	0.340	0.320	0.340	0.375	0.357	0.375	0.300	0.000												
BURR	0.300	0.311	0.472	0.456	0.375	0.449	0.441	0.337	0.337	0.337	0.361	0.410	0.449	0.470	0.330	0.000											
OFFI	0.205	0.331	0.312	0.463	0.456	0.433	0.433	0.320	0.307	0.320	0.337	0.330	0.337	0.330	0.337	0.272	0.000										
PMSI	0.343	0.312	0.492	0.441	0.312	0.433	0.441	0.337	0.317	0.330	0.346	0.384	0.410	0.410	0.357	0.320	0.272	0.000									
CASI	0.296	0.343	0.325	0.492	0.343	0.433	0.441	0.337	0.317	0.330	0.346	0.384	0.410	0.410	0.357	0.320	0.272	0.000	0.400								
ROMI	0.356	0.470	0.470	0.456	0.290	0.472	0.471	0.426	0.456	0.426	0.471	0.512	0.525	0.510	0.505	0.471	0.472	0.400	0.400	0.000							
IBIT	0.331	0.471	0.449	0.410	0.312	0.449	0.426	0.375	0.373	0.375	0.410	0.433	0.470	0.470	0.471	0.401	0.411	0.433	0.426	0.307	0.433	0.471	0.471	0.471	0.471	0.471	
IBSC	0.343	0.512	0.492	0.441	0.325	0.470	0.456	0.375	0.373	0.375	0.410	0.433	0.470	0.470	0.471	0.401	0.411	0.433	0.426	0.307	0.433	0.471	0.471	0.471	0.471	0.471	
BIER	0.405	0.440	0.424	0.205	0.440	0.391	0.350	0.441	0.373	0.411	0.433	0.441	0.433	0.375	0.373	0.365	0.456	0.443	0.400	0.291	0.330	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	
WASS	0.476	0.429	0.413	0.205	0.419	0.379	0.337	0.410	0.375	0.426	0.410	0.394	0.433	0.337	0.410	0.365	0.411	0.443	0.400	0.291	0.330	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	
ALMA	0.431	0.424	0.400	0.205	0.413	0.373	0.331	0.401	0.346	0.410	0.375	0.426	0.410	0.375	0.410	0.365	0.411	0.443	0.400	0.291	0.330	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	
PALE	0.443	0.396	0.379	0.337	0.400	0.343	0.312	0.410	0.330	0.373	0.384	0.410	0.330	0.330	0.375	0.470	0.373	0.481	0.365	0.343	0.343	0.343	0.343	0.343	0.343	0.343	
PROSPR	0.350	0.472	0.405	0.449	0.310	0.405	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	0.470	
PROSPR	0.390	0.543	0.325	0.305	0.356	0.312	0.305	0.472	0.340	0.472	0.325	0.337	0.350	0.343	0.531	0.456	0.472	0.471	0.510	0.456	0.410	0.312	0.429	0.460	0.462	0.443	

Figura No 5:

Fenograma que relaciona las 28 especies estudiadas a partir de las Distancias Taxonómicas Promedio)



**Figura N° 6:**

Análisis de Coordenadas Principales (Gower): Representación en el espacio delimitado por las tres primeras coordenadas principales de los 28 taxa estudiados.

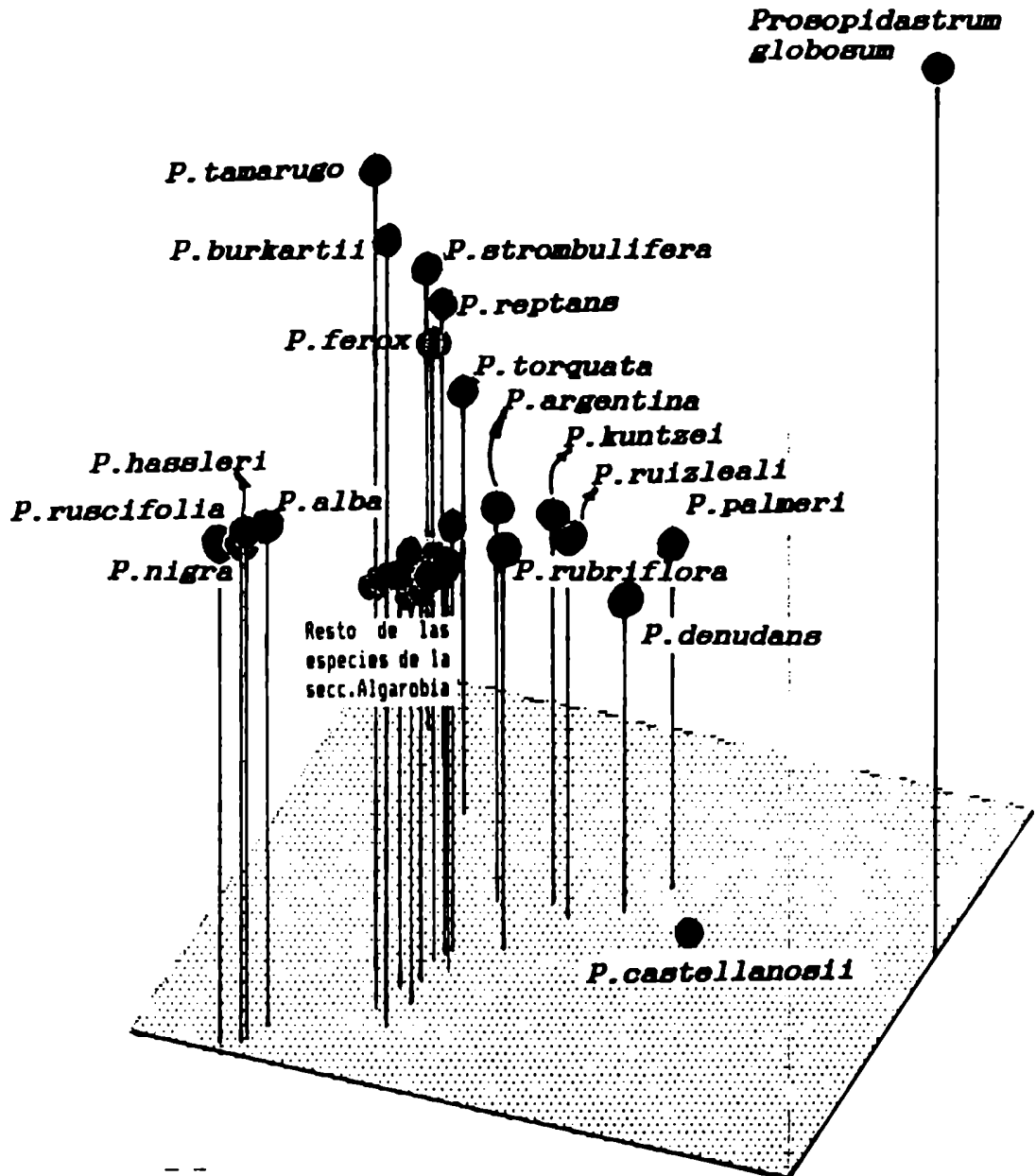
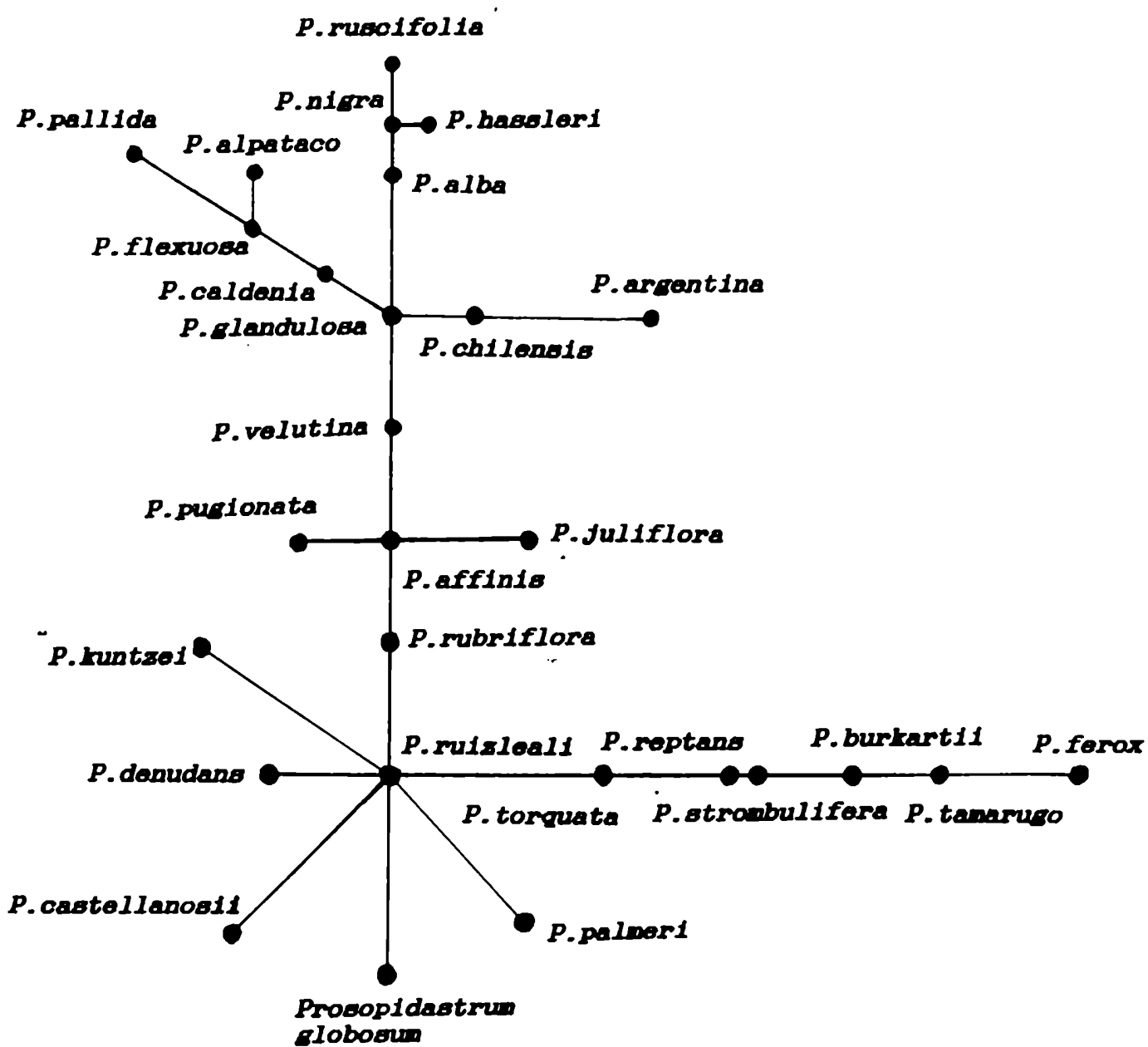


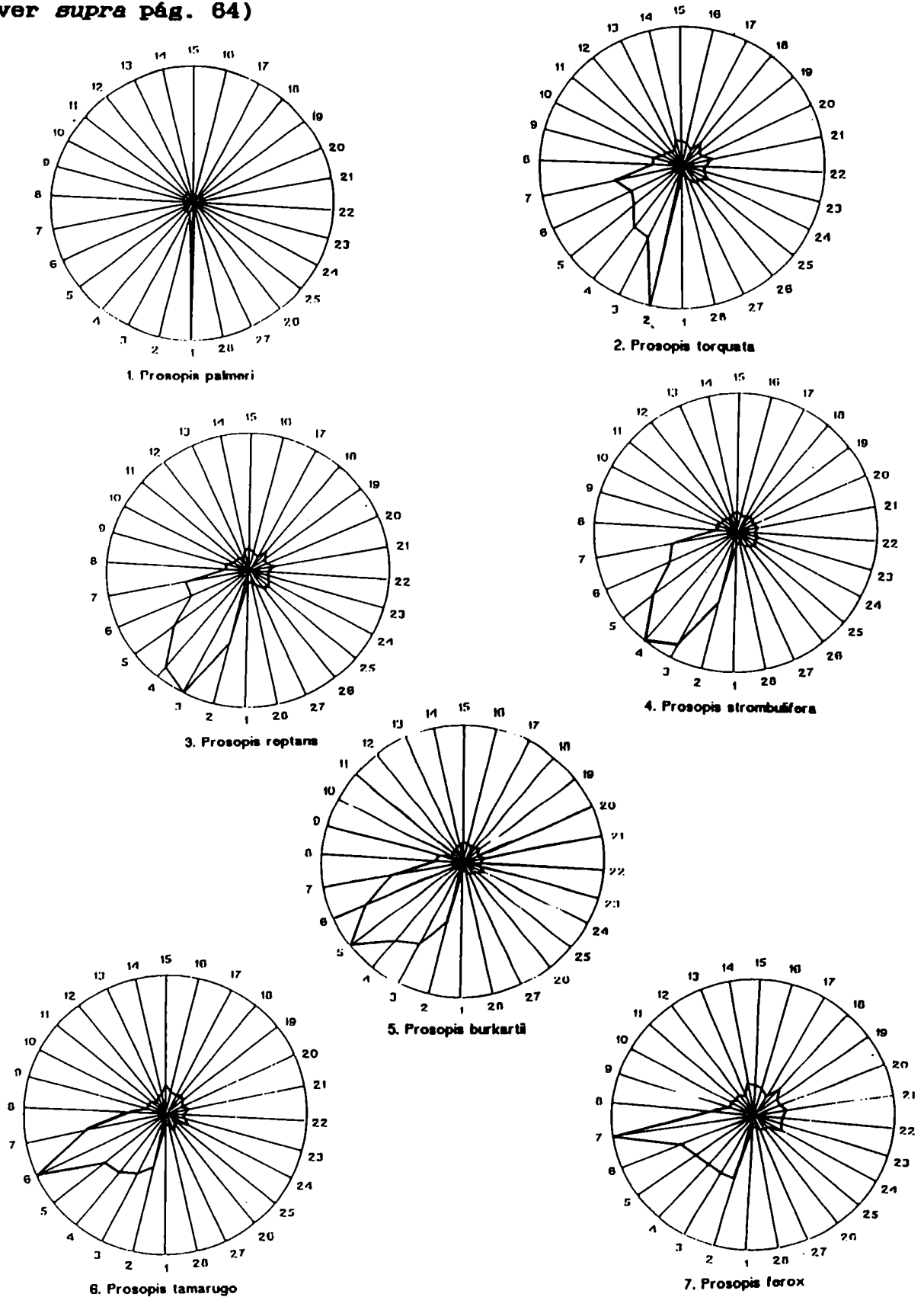




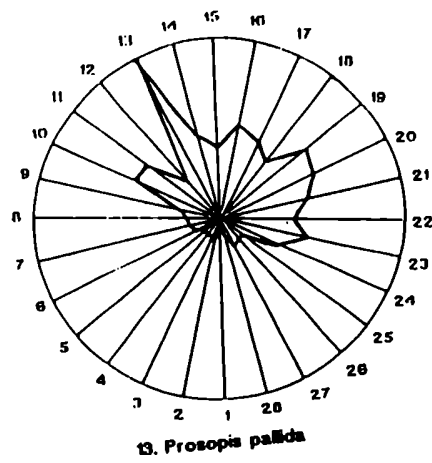
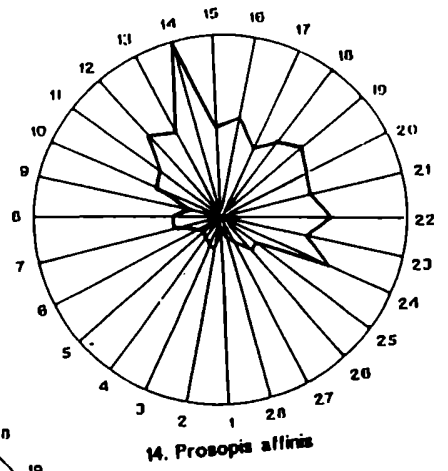
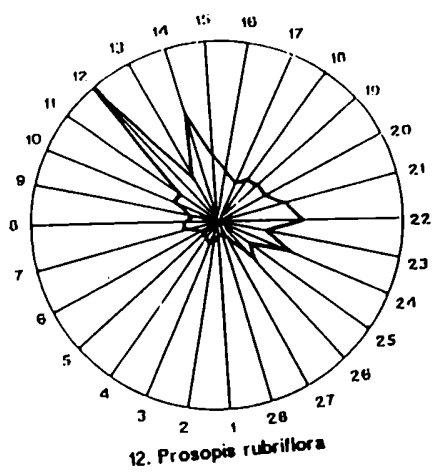
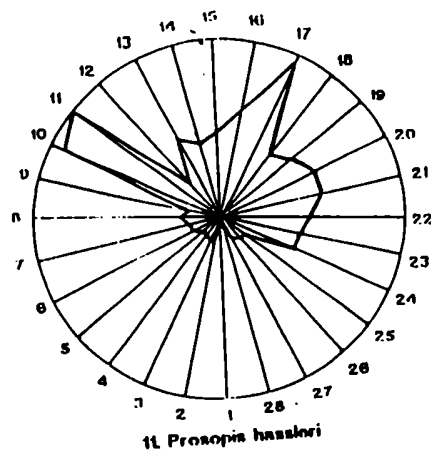
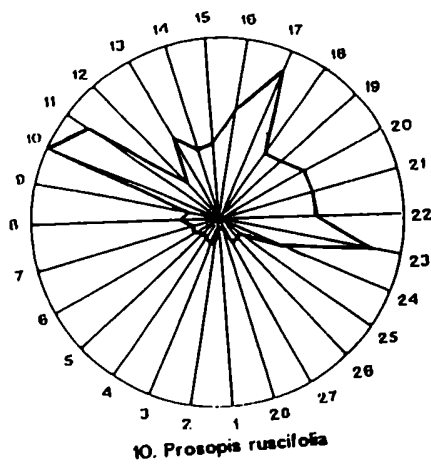
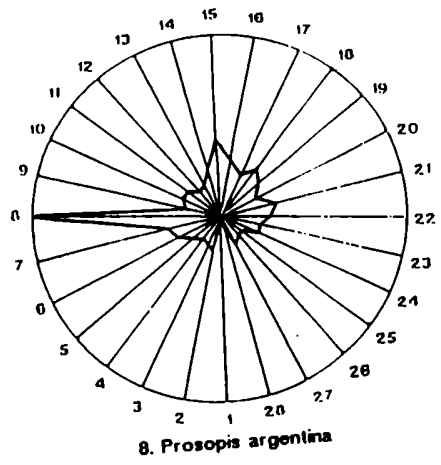
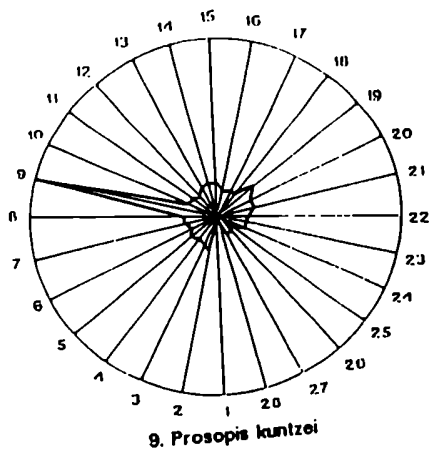
Figura No 7 : Arbol de Valor Mínimo



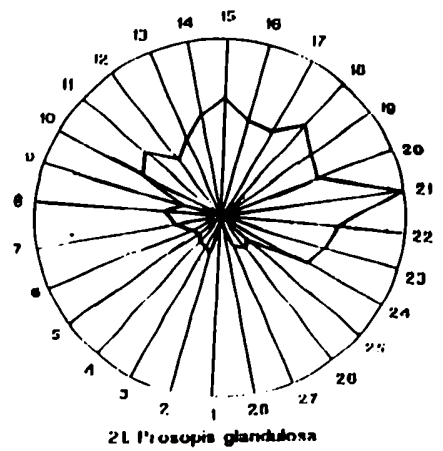
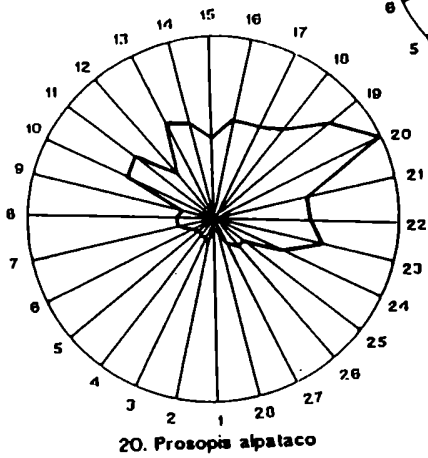
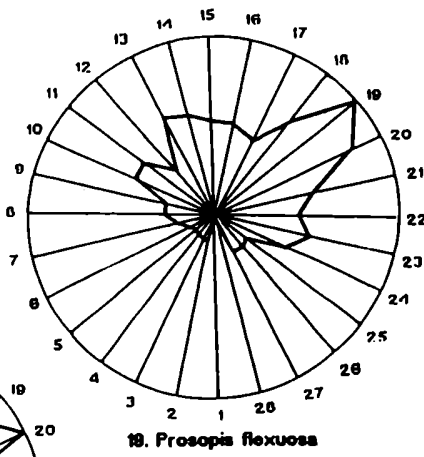
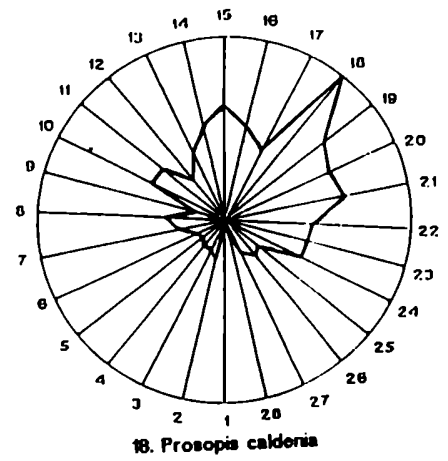
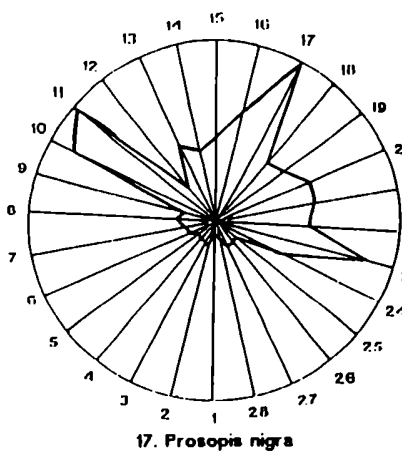
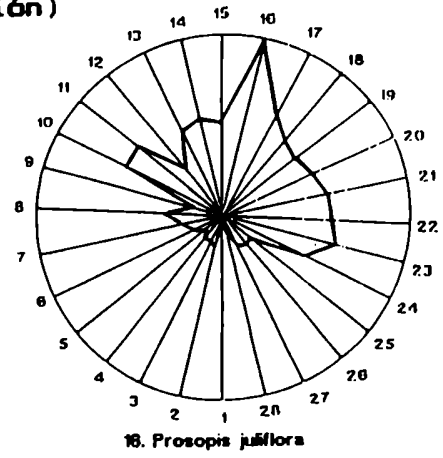
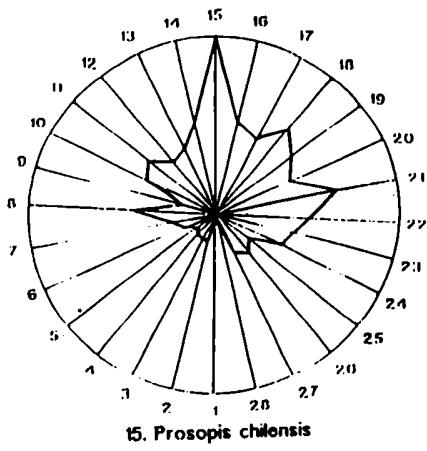
**FIGURA NO 8:** Representación poligonal de los Indices de Afinidad de Pares (PA) de cada uno de los 28 taxa estudiados. Los PA son representados a lo largo de los radios de 0% a 100% comenzando por el centro (Para mayor explicación ver *supra* pág. 64)



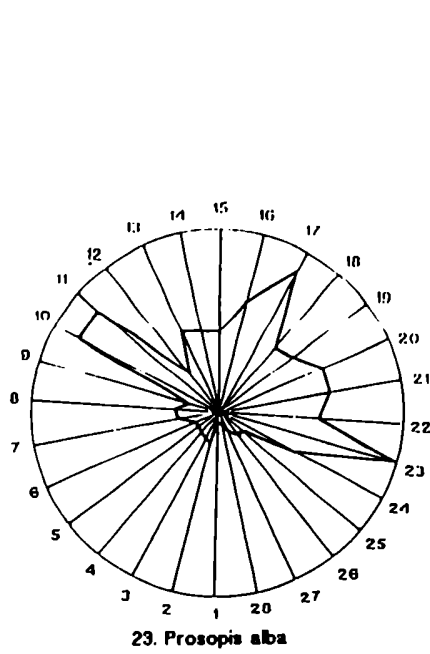
**FIGURA Nº 8: (Continuación)**



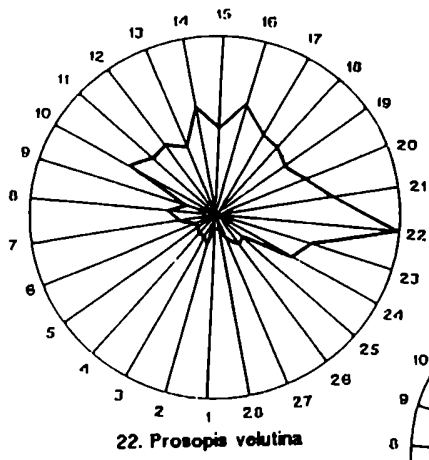
**FIGURA Nº 8: (Continuación)**



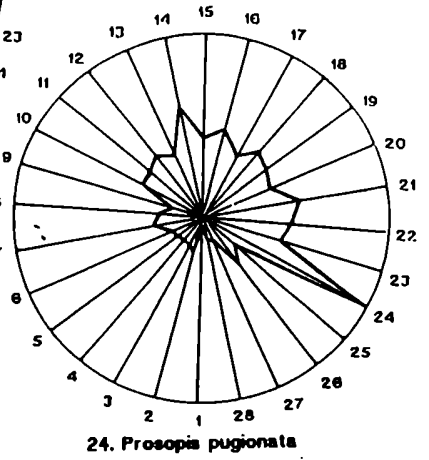
**FIGURA Nº 8:** (Continuación)



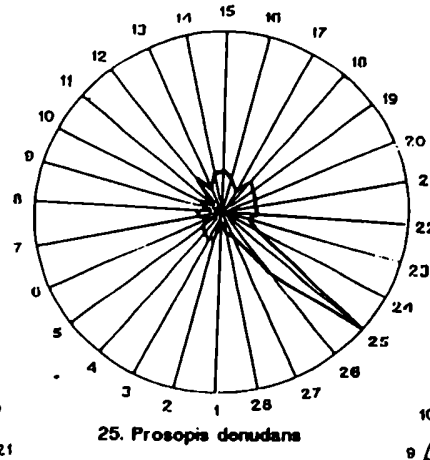
23. *Prosopis alba*



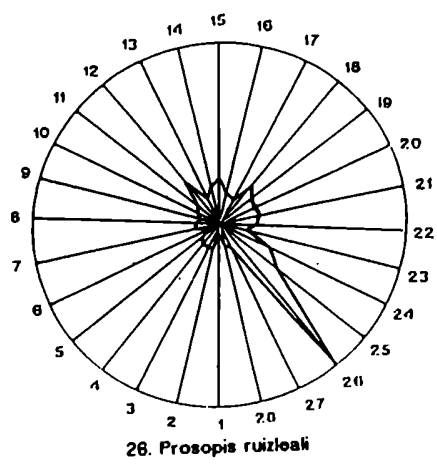
22. *Prosopis velutina*



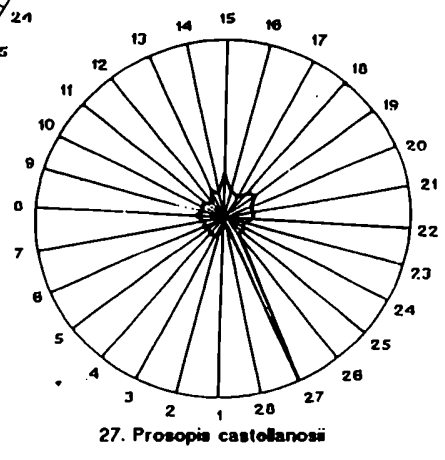
24. *Prosopis pugionata*



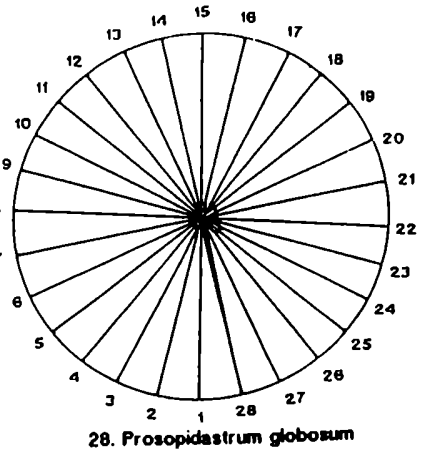
25. *Prosopis donudana*



26. *Prosopis Ruizleali*



27. *Prosopis castellanosi*



28. *Prosopidastrum globosum*

### 3.1.1 Límites genéricos:

Analizando los distintos datos obtenidos se puede sacar una serie de conclusiones acerca del límite genérico en *Prosopis*. Si se considera que, cualquier clasificación a nivel supraespecífico tiene por objeto expresar en forma simplificada las interrelaciones entre los organismos (McNeill, 1979); se puede suponer que una mayor divergencia a nivel bioquímico (que en el caso de la electroforesis de proteínas de semilla representaría alrededor de un treinta por ciento de la variación génica total) podría considerarse una expresión de las relaciones genéticas (teniendo en cuenta siempre que el modo de especiación actuante tendrá una consecuencia directa sobre dicha variación génica). Si bien la divergencia a nivel de proteínas de semilla no sigue un patrón determinado, esto es, que la variación en un grupo de especies puede ser distinta que la observada en otro grupo (González Aguilera *et al*, 1986), es altamente probable y experimentalmente comprobado en diversos trabajos que la divergencia observada disminuye a medida que los taxa analizados se hacen más estrechamente relacionados. Es por ello que el aumento de la divergencia entre grupos podría utilizarse como herramienta para la conformación de estructuras jerárquicas clasificatorias.

La Tabla 2 (Pág.77) indica que, a nivel de proteínas de semilla se corroboraría una divergencia que avala la identidad de *Prosopidastrum globosum*. El alto valor de aislamiento (63,15) y la reducida afinidad de grupo (282,5)

son comparables a los que Ellison *et al.* en 1962 obtienen para especies de géneros diferentes.

Los análisis de datos multivariados señalan, también, que la posición de *Prosopidastrum globosum* con respecto a las especies de *Prosopis* es bastante distante, así, en las Figuras 4 (Pág.80) y 5 (Pág.82), se observa que los distintos análisis de agrupamiento coinciden en mostrar una alta divergencia entre los dos grupos. La posición en el diagrama de Coordenadas Principales (Figura 6, pág.83) también indica una separación de *Prosopidastrum* de las especies de *Prosopis*. No es tan clara esta diferenciación si se observa el Arbol de Valor Mínimo (Figura 7, pág.85). De cualquier modo, el patrón electroforético de proteínas totales de *Prosopidastrum* puede diferenciarse a simple vista del de los *Prosopis*; sus 12 bandas exclusivas lo caracterizan inequívocamente. Ver Figura 9, pág.92.

Los diagramas poligonales modificados por Ellison (1962), expresan, mediante la silueta que se conforma la mayor o menor afinidad de los *taxa*. En este caso importa más la forma que el área delimitada. Si se observa la Figura 8.28 (Pág.89), el diagrama poligonal de *Prosopidastrum* no guarda comparación con ninguno de los otros, si bien, la forma se asemeja ligeramente a la de las especies de la Serie Denudantes de *Prosopis* (relación que puede observarse también al analizar el Arbol de Valor Mínimo (Figura 7, pág.85).

Figura No 9:

Patrones polipeptídicos obtenidos por coloración con Coomassie Blue (SIGMA).

▲ Bandas exclusivas de *Prosopidastrum globosum*

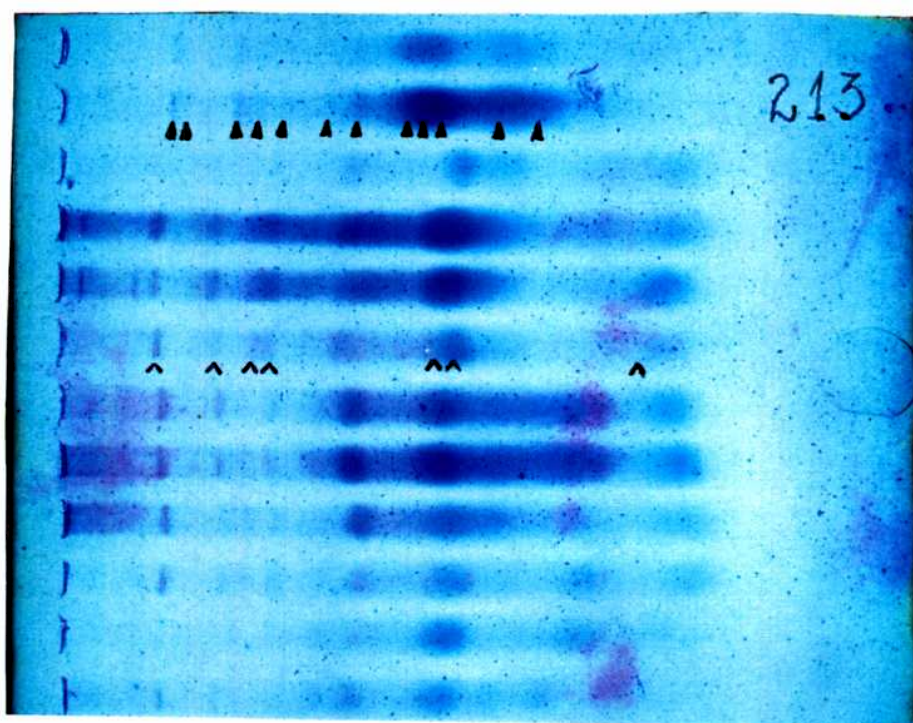
^ Bandas exclusivas de *Prosopis kuntzei*

*Prosopidastrum*  
*Prosopidastrum*

*P. kuntzei*

*P. pugionata*

*P. nigra*  
*P. alba*





### 3.1.2 El caso de *Prosopis palmeri*:

Un tanto dudosa, si se observa bajo la misma lente, es la posición de *P. palmeri*. Esta especie, endémica de la Baja California en México, ha presentado dificultades con respecto a su interpretación. El autor, Watson (1889), la consideró como un miembro de la sección Algarobia, posteriormente, Britton y Rose (1928), fundaron con ella un nuevo género: *Sopropis*. Burkart (1940) inicialmente la ubicó dentro de la sección *Anonychium*, pero en su monografía sobre el género (1976), la consideró definitivamente como una "verdadera *Strombocarpa*".

La electroforesis de proteínas de semilla arroja dudas con respecto a esta posición, ya que el patrón polipeptídico hallado en los ejemplares estudiados no posee ninguna de las bandas "marcadoras" de las secciones americanas de *Prosopis* (Ver 3.1.3.1). Su perfil electroforético es característico; en la Figura 10 (Pág.95) se puede observar comparado con el de especies de las tres secciones americanas de *Prosopis*. El esquema de la Figura 11 (Pág.96) representa tres electroforegramas hipotéticos típicos de cada una de las secciones americanas de *Prosopis* y el de *P. palmeri*. Se indican con letras las bandas características de las secciones y con números aquellas bandas que *P. palmeri* comparte con el resto de las especies de *Prosopis*.

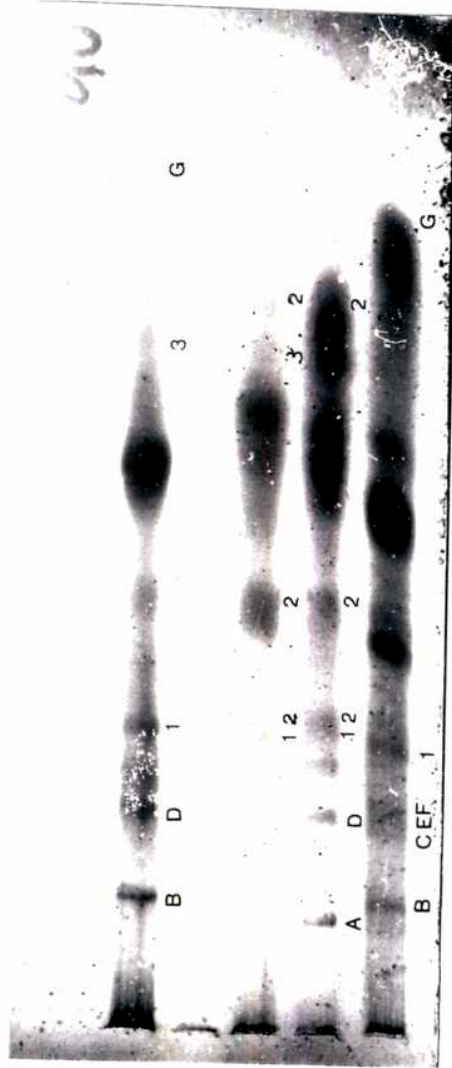
En la Tabla 1 (Pág.71) puede observarse que, de 13 bandas que, en total presenta el patrón de *P. palmeri*, ocho son exclusivas, ésto le confiere un Valor de Aislamiento de

61,53% y la Afinidad de Grupo es de 229,1 (Tabla 2, pag.77). Los valores recién indicados son sustancialmente semejantes a los de *Prosopidastrum globosum*, lo que indicaría que la divergencia a nivel de proteínas de semilla de *P. palmeri* sería comparable a la encontrada con una especie de otro género. Los Análisis de Agrupamientos (Figuras 4 y 5, págs.80 y 82) señalan el alejamiento de *P. palmeri* del resto de las especies de *Prosopis*. Lo mismo se deduce de los Análisis de Coordenadas Principales y el Arbol de Valor Mínimo. (Figuras 6 y 7; págs. 83 y 85, respectivamente). El diagrama poligonal (Figura 8.1) presenta una forma diferente al resto de las especies de *Prosopis*.

Dados los resultados obtenidos en este trabajo, se hace necesaria una revisión integral de esta especie, incluyendo, además, un nuevo estudio de proteínas de semilla con el objeto de analizar mayor cantidad de individuos. De mantenerse los resultados aquí presentados, y si el resto de las evidencias así lo determinan, la posición sistemática que Burkart (1976) asignó a *P. palmeri* debería ser modificada.

Figura No 10:

Patrones polipeptídicos obtenidos por coloración con Coomassie Blue (SIGMA): Comparación del perfil de *Prosopis palmeri* con el de especies representantes de las tres secciones americanas



Secc. Algarobia

P. palmeri

Secc. Strombocarpa

Secc. Monilicarpa

Ver referencia en la figura No 11 (pág. 96)

**Figura N° 11:**

Representación esquemática de los patrones electroforéticos hipotéticos de las tres secciones de América (incluyendo las bandas características) y de *Prosopis palmeri*.

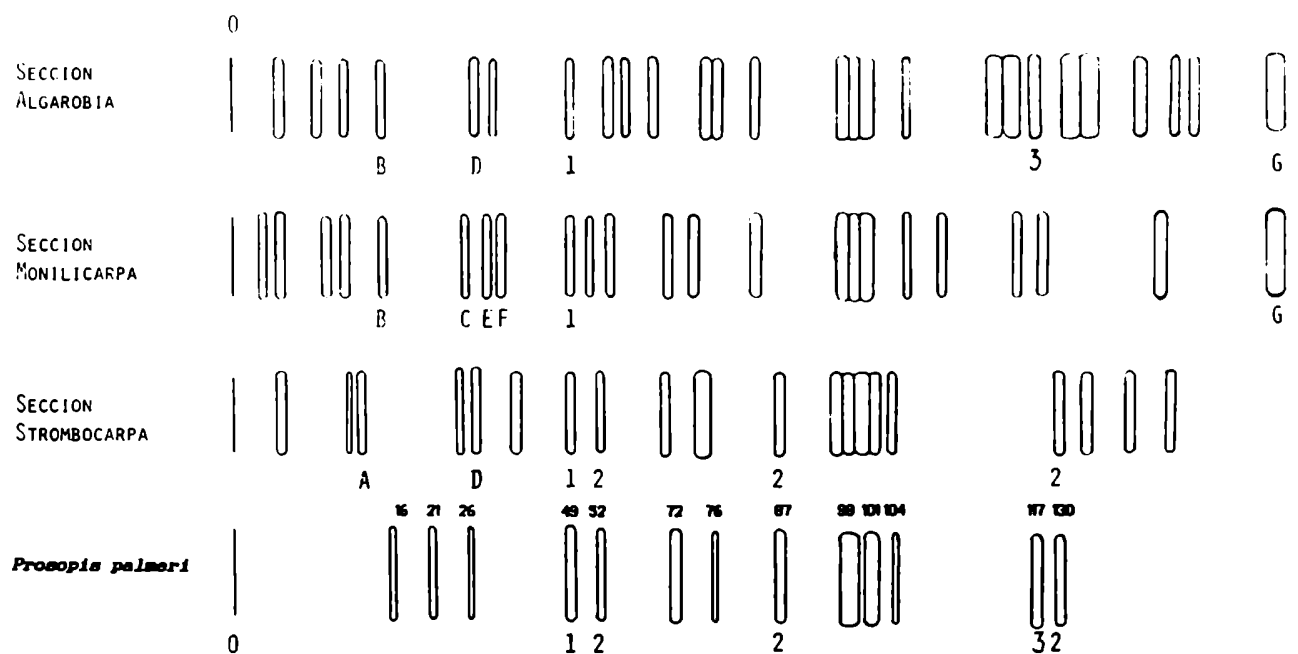
Con números se señalan las fracciones en común:

1 = comunes a *P. palmeri* y a las especies de las tres secciones de *Prosopis*.

2 = comunes a *P. palmeri* y a especies de la sección *Strombocarpa* de *Prosopis*.

3 = comunes a *P. palmeri* y a especies de la sección *Algarobia* de *Prosopis*.

Los números pequeños se corresponden con los de la Tabla N° 1



### 3.1.3 Divisiones infragenéricas:

#### 3.1.3.1 Las secciones: Consideraciones generales

De los datos vertidos en la Tabla 1 (Pág.71) pueden destacarse los siguientes hechos:

1.- Existen veinte bandas exclusivas de la sección Strombocarpa y que no se hallan en las especies de las otras dos secciones del género *Prosopis* estudiadas (8, 9, 10, 15, 17, 40, 44, 50, 52, 54, 55, 70, 87, 110, 115, 120, 126, 127, 128 y 134).

La banda número 9 es "marcadora", constante, o sea que permite caracterizar a cualquier individuo como perteneciente a la sección. (A excepción hecha de *P. palmeri*, especie que presenta únicamente dos de las bandas exclusivas de la sección (la 52 y la 87) y que ya fue tratada en otra sección del presente capítulo). Otra banda constante para todos los individuos de las especies de la sección es la número 27, la cual también es constante en la sección Algarobia.

2.- *P. argentina*, única especie de la sección Monillicarpa, presenta 4 bandas exclusivas (22, 29, 30 y 142), de las cuales, las tres primeras son marcadoras y constantes. El patrón polipeptídico de esta especie presenta cuatro bandas que comparte con el de las especies de la sección Strombocarpa, hallándose ausentes en los patrones de la sección Algarobia; éstas son la 68, 69, 114 y 119. Pero a su vez las especies de la sección Algarobia presentan siete

bandas, ausentes en *Strombocarpa* pero presentes en *P. argentina*: 3, 4, 11, 93, 107, 109 y 143; siendo la número 11 característica de las secciones Algarobia y Monilicarpa, habiéndose hallado únicamente en algunos individuos de *P. ferox* y constituyendo la 143, una fracción rápida, marcadora y constante que también caracteriza a las secciones Algarobia y Monilicarpa.

3.- De la sección Algarobia, se estudiaron representantes de cinco de las seis series en la que se halla subdividida (Burkart, 1976) . Las bandas exclusivas de esta sección, que pueden presentarse o no en las distintas especies son 75 (5, 6, 7, 13, 18, 19, 20, 23, 28, 31, 32, 33, 34, 36, 37, 38, 39, 41, 42, 45, 46, 47, 48, 56, 57, 58, 59, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 71, 73, 74, 75, 77, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 88, 97, 99, 103, 105, 111, 112, 118, 122, 123, 124, 125, 131, 132, 133, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 143, 144, 145, 146, 147, 148 y 149).

Las bandas caracterizadoras y constantes en esta sección son la 11, 27 y 143.

4.- La banda 49 se halla en todas las especies de *Prosopis* estudiadas, exceptuando a *P. kuntzei* y la 95 sólo está ausente en *P. palmeri* y *P. castellanosi*.

En la Figura N° 12 (Pág.100), se pueden observar los electroforegramas obtenidos mediante coloración con Coomassie de distintas especies que representan a las tres secciones americanas. En ella se señalan las bandas características y constantes de cada sección.

En general, y si no tenemos en cuenta algunos casos especiales entre los que se hallan los de *P. palmeri* y *P. kuntzei*, los resultados obtenidos a partir de la electroforesis de proteínas de semilla corroboran los estudios previos, evidenciando diferencias a nivel bioquímico que, agregadas al hecho de no haberse encontrado híbridos interseccionales, indican que las secciones propuestas por Burkart (1976) serían grupos naturales.

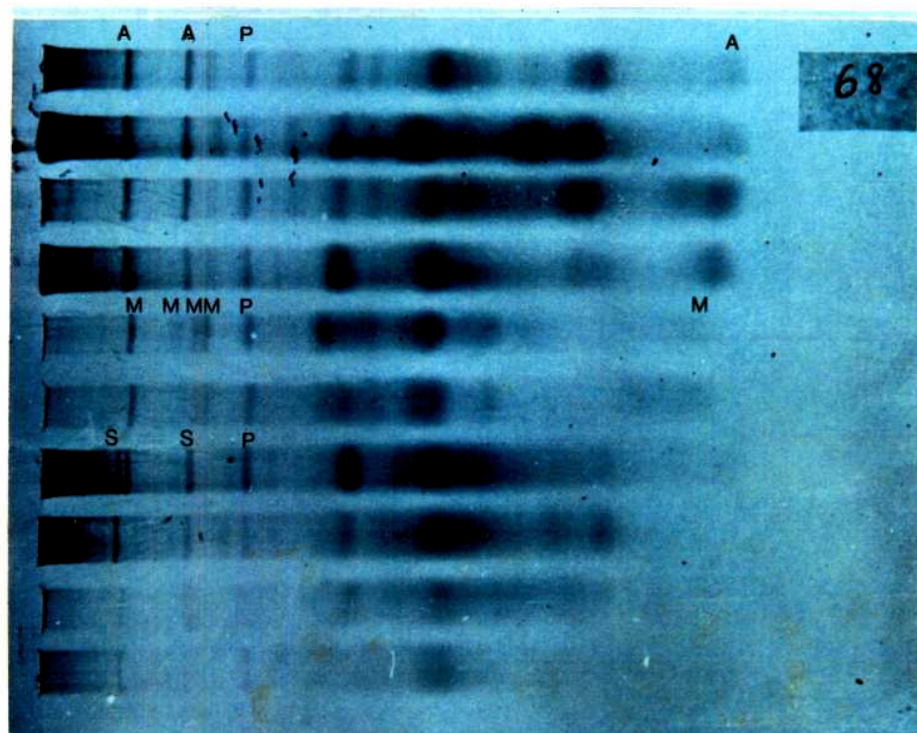
Este trabajo avala, mediante los resultados, la separación de *P. argentina* en una sección diferente, dado que posee un patrón característico, inequívocamente diferenciable del de las otras especies por tres bandas exclusivas y constantes, el Valor de Aislamiento es de 17,39%, sensiblemente mayor al observado en la mayoría de las otras especies, en las que oscila entre 0 y 9,52%. El análisis de las figuras 4, 5 y 6 (Págs. 80, 82 y 83) señalan una posición intermedia de *P. argentina* con respecto a las otras secciones, asemejándose más a las especies de Algarobia que a las de Strombocarpa. El Arbol de Valor Mínimo (Figura 7, pág.85) la posiciona en un extremo, unida a *P. chilensis* y *P. glandulosa*, especies de la sección Algarobia. El diagrama poligonal (Figura 8.8, pág.86) también representa una relación estrecha entre estas tres especies.

Figura No 12:

Patrones polipeptídicos obtenidos por coloración con Coomassie Blue (SIGMA) de especies representantes de las tres secciones americanas

- A Bandas características de la sección Algarobia  
 S Bandas características de la sección Strombocarpa  
 M Bandas características de la sección Monillicarpa  
 P Banda constante en todas las secciones

*P. ruscifolia*  
*P. affinis*  
*P. velutina*  
*P. juliflora*  
*P. argentina*  
*P. argentina*  
*P. ferox*  
*P. tamarugo*  
*P. torquata*  
*P. strombulifera*



Las barras verticales unen muestras correspondientes a especies de la misma sección.  
 (Por orden, de arriba hacia abajo, secciones: Algarobia, Monillicarpa y Strombocarpa).



### 3.1.3.2 Sobre la ubicación de *P. kuntzei*

*P. kuntzei* es una especie perteneciente a la serie Sericanthae de la sección Algarobia, sus representantes son árboles subáfilos, muy ramificados, con frutos negros, gruesos, endocarpio extremadamente duro y semillas grandes (7-10 mm de largo y 5-6 mm de largo). Constituye morfológicamente una especie muy diferenciada de las otras del género estudiadas.

La electroforesis de proteínas seminales indican una divergencia bioquímica considerable con el resto de las especies analizadas. El Valor de Aislamiento (31,82%) supera al de *P. argentina*, así como también la Afinidad de Grupo (510,9) que presenta, es menor que la de esta especie (cfr. Tabla N°2, pág. 77)

Los análisis de agrupamiento la separan considerablemente de las otras especies de la sección (Figuras 4 y 5; págs. 80 y 82); igualmente el Arbol de Valor Mínimo (Figura 7, pág. 85), si bien la une a otras especies de la sección como *P. ruizleali*, la distancia que la separa de ella es mayor aún que la que existe entre *P. ruizleali* y *P. palmeri* o *Prosopidastrum globosum*. El diagrama poligonal (Figura 8.9, pág. 87) señala una escasa similitud de *P. kuntzei* con el resto de las especies del género, sin embargo, la forma del polígono la acerca a especies de la Serie Denudantes de la Sección Algarobia: *P. ruizleali*, *P. denudans* y *P. castellanosi*.

De cualquier modo, en el caso de *P. kuntzei*, el perfil electroforético permite caracterizarla, diferenciándola de cualquier otra especie del género (Ver Figura 9, pág. 92) y el Valor de Aislamiento hallado hace pensar que quizás sea necesaria una elevación a nivel de sección (o subgénero *sensu* Hunziker *et al.*, 1986) de la serie *Sericanthae*.

### 3.1.3.3. Las series. Consideraciones generales:

Burkart (1976) propone la estructura jerárquica infragenérica de *Prosopis*, estableciendo, como ya se señaló, secciones y series.

Las evidencias hasta hoy encontradas en cuanto a arquitectura foliar (Martínez, 1984), anatomía y ultraestructura de la madera (Castro, 1989), cromatografía de compuestos fenólicos de extractos foliares (Palacios y Bravo, 1981), electroforesis de isoenzimas (Saidman, 1985) y las de proteínas de reserva, cuyos resultados globales son aquí presentados; así como la existencia de híbridos entre especies de distintas series indicarían que las mismas no constituyen grupos biológicos naturales.

En el presente trabajo se analizaron especies de las dos series en las que se encuentra dividida la sección *Strombocarpa* y de cinco de las seis series de la sección *Algarobia*. Es en esta sección, donde las discrepancias entre resultados experimentales y bioquímicos con el sistema propuesto por Burkart (1976), al menos en algunos grupos, se hacen más notorias.

Como ya se puntualizó, los patrones electroforéticos de especies más estrechamente relacionadas presentan más bandas en común que aquellos de especies menos relacionadas, lo que se reflejaría en los coeficientes de similitud y por lo tanto en los métodos de agrupamiento y ordenación empleados.

#### 3.1.3.3.1. La sección Strombocarpa:

Esta sección está dividida en dos series: Strombocarpae (con siete especies, de las que fueron estudiadas cinco) y Cavenicarpae (con dos especies, las cuales fueron analizadas); por lo tanto una visión bastante general de la sección y sus divisiones puede darse a nivel de proteínas de reserva.

Burkart (1976) basa la separación de las dos series en la disposición de los segmentos del endocarpio.

En cuanto a la electroforesis de proteínas de reserva, arrojan resultados en algunos casos congruentes y en otros, diferentes, con la morfología .

La variación interespecífica es bastante marcada, el coeficiente de asociación (Jaccard) entre taxa varía entre 0,054 (entre *P. palmeri* y *P. ferox*) y 0,903 (entre *P. strombulifera* y *P. reptans*)(Ver Tabla 6, pág. 108).

Cabe indicar que Burkart (1976) señala la posibilidad de considerar a *P. strombulifera* y *P. reptans* como subespecies de una única especie, asimismo, las evidencias isoenzimáticas obtenidas por Saidman (1985) la llevan a proponer que así sean consideradas. Los resultados de proteínas de semilla

son, en este caso, congruentes con los morfológicos e isoenzimáticos, todo hace, por lo tanto, suponer que ya que no existen pruebas acerca de su aislamiento reproductivo y dada la elevada similitud que presentan a nivel bioquímico, estas dos entidades estarían tan estrechamente relacionadas como para ser tratadas como subespecies.

La Tabla N° 7 (pág. 109) es la matriz de distancias taxonómicas. Sobre la base de los datos de las tablas 6 y 7 se confeccionaron los fenogramas que se presentan en las Figuras N° 13 y 14 (págs. 108 y 109)

Se calcularon las distancias Manhattan entre cada par posible de unidades (Tabla N° 8, pág. 110) y se confeccionó el Arbol de Valor Mínimo (Figura N° 15, pág. 110).

En la Figura N° 16 (Pág. 111) se presenta la proyección de las especies estudiadas de la sección Strombocarpa en las tres primeras coordenadas principales.

En total, 56 bandas fueron halladas en especies de esta sección (si se excluye a *P. palmeri*, el número desciende a 48).

Los Valores de Aislamiento y de Afinidad de grupo son volcados en la Tabla N° 9, pág. 112.

Como se puede comprobar mediante el análisis de la Tabla 9, *P. palmeri*, cuyo patrón polipeptídico presenta un total de 13 bandas presenta una extremadamente baja afinidad de grupo (comparable con la encontrada por Ellison *et al.*(1962) entre especies de distintos géneros, ocurriendo lo mismo con el

Valor de Aislamiento con respecto a las otras especies de la sección.

Dado que comparte solamente cuatro bandas con el resto de las especies de *Strombocarpa* y su perfil electroforético es distinto, se trataría de una especie muy diferenciada, siendo las evidencias electroforéticas indicio de escasa similitud a nivel bioquímico, lo cual si es apoyado por resultados de otros campos de investigación, llevaría a la exclusión de esta especie de la sección indicada y aun, como ya se dijo en el punto 3.1.2. del género *Prosopis*.

Excluyendo del análisis a *P. palmeri*, 11 de las 48 bandas pueden ser encontradas en todas las especies, aunque no todas en todos los individuos de cada especie; en el punto 3.1.3.1. ya se indicaron cuales son las bandas constantes.

Existen sólo tres bandas que pueden ser encontradas en los miembros de una de las series y no en los de la otra. El resto de las fracciones observadas no sigue un patrón de presencia/ausencia congruente con la división infraseccional propuesta por Burkart (1976). Esto indica que la electroforesis de proteínas seminales no constituyen una herramienta muy simple para utilizar en la caracterización de las series; sin embargo, como se puede visualizar en los distintos análisis multivariados aplicados, mediante su interpretación es posible generar o corroborar hipótesis acerca de las relaciones existentes entre especies.

Los Análisis de Agrupamientos (Figuras 13 y 14, págs. 108 y 109) son congruentes en el núcleo formado por

*P. strombulifera*-*P. reptans*, *P. burkartii*-*P. tamarugo*, pero separan de esta última a *P. ferox* que según el sistema de Burkart correspondería a la misma serie.

La afinidad de *P. torquata* con el resto de las especies de la serie Strombocarpae no es clara a la luz de estos análisis, tampoco los diagramas poligonales (Figura N° 8, págs. 86 a 89) ayudan en este sentido, si el Arbol de Valor Mínimo, une a esta especie con *P. reptans* que correspondería a la misma serie, pero la distancia que las separa es mayor que la que separa a *P. burkartii* de *P. tamarugo* que pertenece a la serie Cavenicarpae. Finalmente, el Análisis de Coordenadas Principales (Figura N° 16, pág. 111) señala diversas discrepancias entre las relaciones observadas a partir de los estudios electroforéticos y el sistema de Burkart: separación neta de *P. palmeri* del resto de las especies de la sección, relativa divergencia entre *P. torquata* y las otras Strombocarpae. *P. ferox* y *P. tamarugo*, sin embargo, se encuentran relativamente cerca en el espacio tridimensional como sería de esperar en especies afines. También el Arbol de Valor Mínimo une a estas dos especies pero con una distancia aún mayor que la que une a especies de distintas series.

Las relaciones entre *P. tamarugo* y *P. burkartii*, que se agrupan como un núcleo taxonómico (en los Análisis de Agrupamiento) y unidas en el Arbol de Valor Mínimo serán tratadas *in extenso* en el punto 3.2.1., pero corresponde aquí adelantar que existen fuertes evidencias del origen híbrido

de *P. burkartii*, la cual se habría originado por hibridación entre dos especies pertenecientes a distintas series (*P. strombulifera* y *P. tamarugo* ) hecho que constituye otra evidencia que desdibuja los límites de las series propuestas por Burkart.

Los análisis electroforéticos de proteínas de semilla hacen presumir que sería necesario un estudio integral de las especies de la sección *Strombocarpa* a fin de determinar más certeramente sus relaciones y ajustar, si es preciso, la delimitación de los grupos infraseccionales.

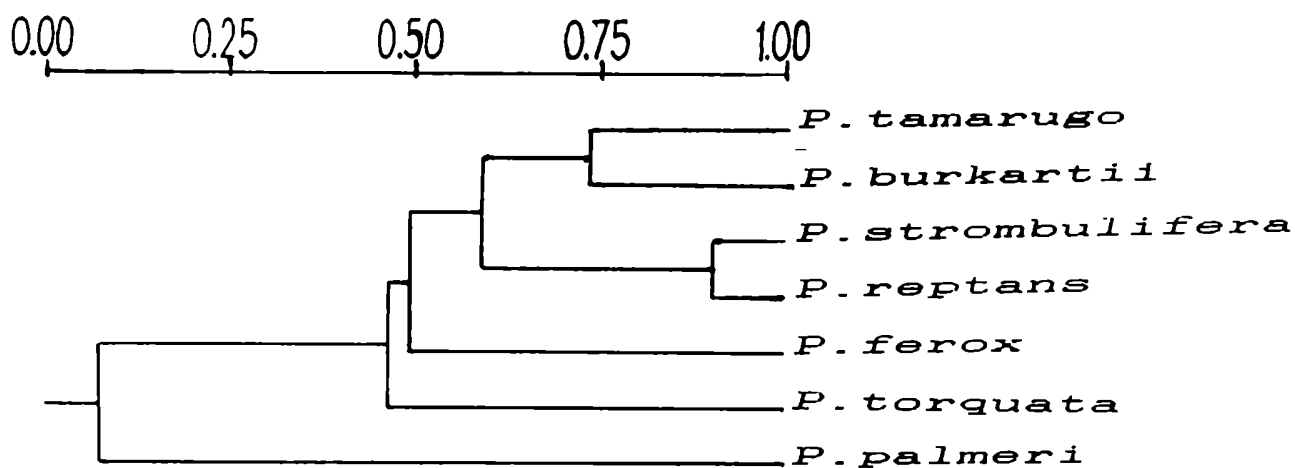
Tabla N° 6:

Matriz de similitudes en especies de la sección Strombocarpa  
(Coeficiente de Asociación de Jaccard)

	BURK	STRO	REPT	TORQ	TAMA	FERO	PALM
BURK	1.000						
STRO	0.732	1.000					
REPT	0.659	0.903	1.000				
TORQ	0.419	0.529	0.531	1.000			
TAMA	0.738	0.524	0.452	0.385	1.000		
FERO	0.500	0.462	0.459	0.469	0.553	1.000	
PALM	0.082	0.100	0.079	0.063	0.070	0.054	1.000

Figura N° 13:

Fenograma resultante del análisis de agrupamientos (UPGMA)  
aplicado a la Matriz de Similitudes (Tabla N° 6)



$$r = 0,97$$

r: Coeficiente de correlación cofenético



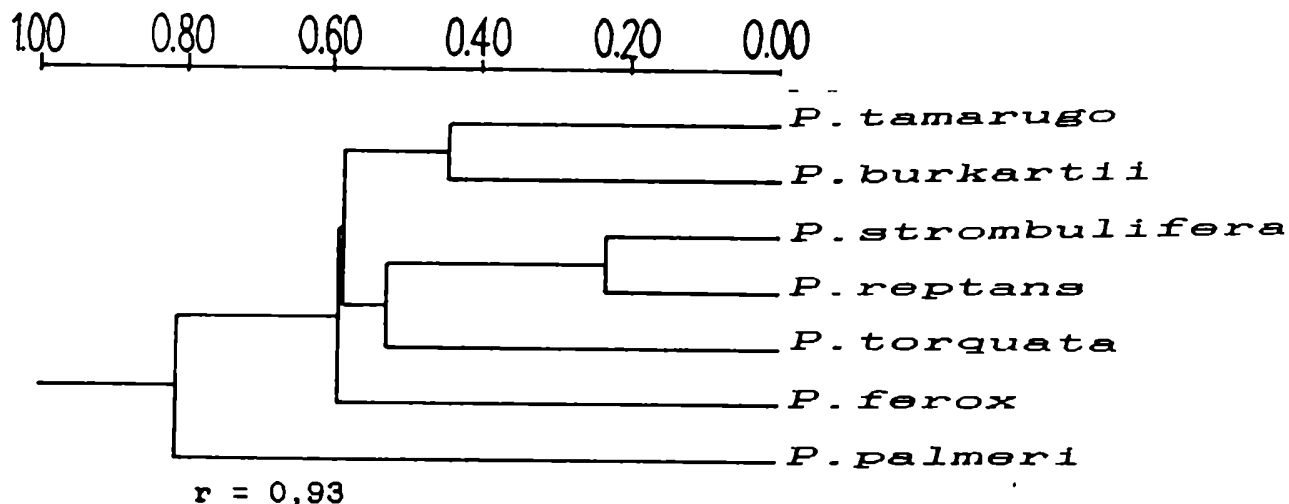
Tabla N° 7:

Matriz de Distancias entre especies de la sección Strombocarpa (Distancia Taxonómica Promedio)

	BURK	STRO	REPT	TORQ	TAMA	FERO	PALM
BURK	0.000						
STRO	0.443	0.000					
REPT	0.500	0.231	0.000				
TORQ	0.668	0.535	0.518	0.000			
TAMA	0.443	0.598	0.641	0.655	0.000		
FERO	0.627	0.612	0.598	0.551	0.551	0.000	
PALM	0.896	0.802	0.791	0.732	0.845	0.791	0.000

Figura N° 14:

Fenograma que relaciona las especies estudiadas de la sección Strombocarpa (a partir de Distancias Taxonómicas Promedio)

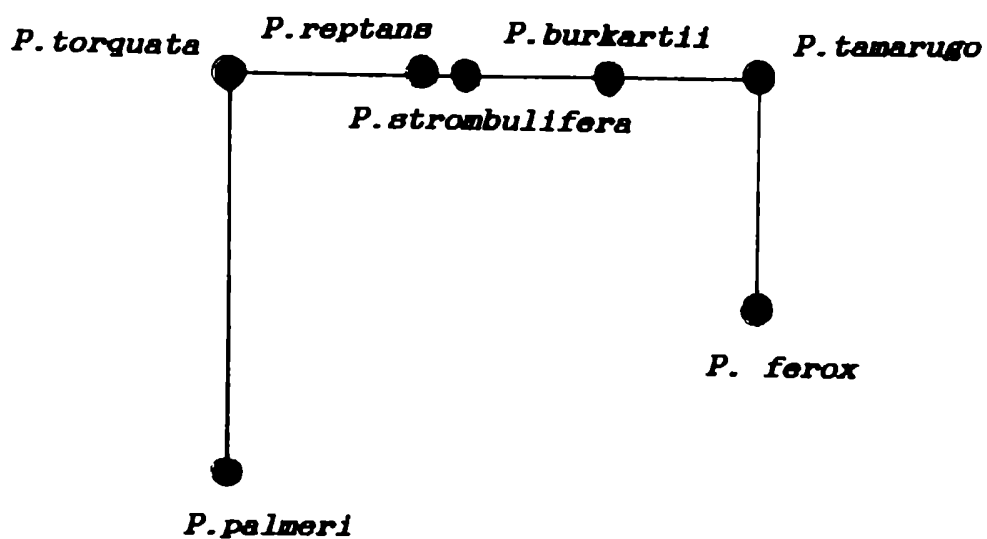


r: Coeficiente de correlación cofenético

Tabla N° 8:

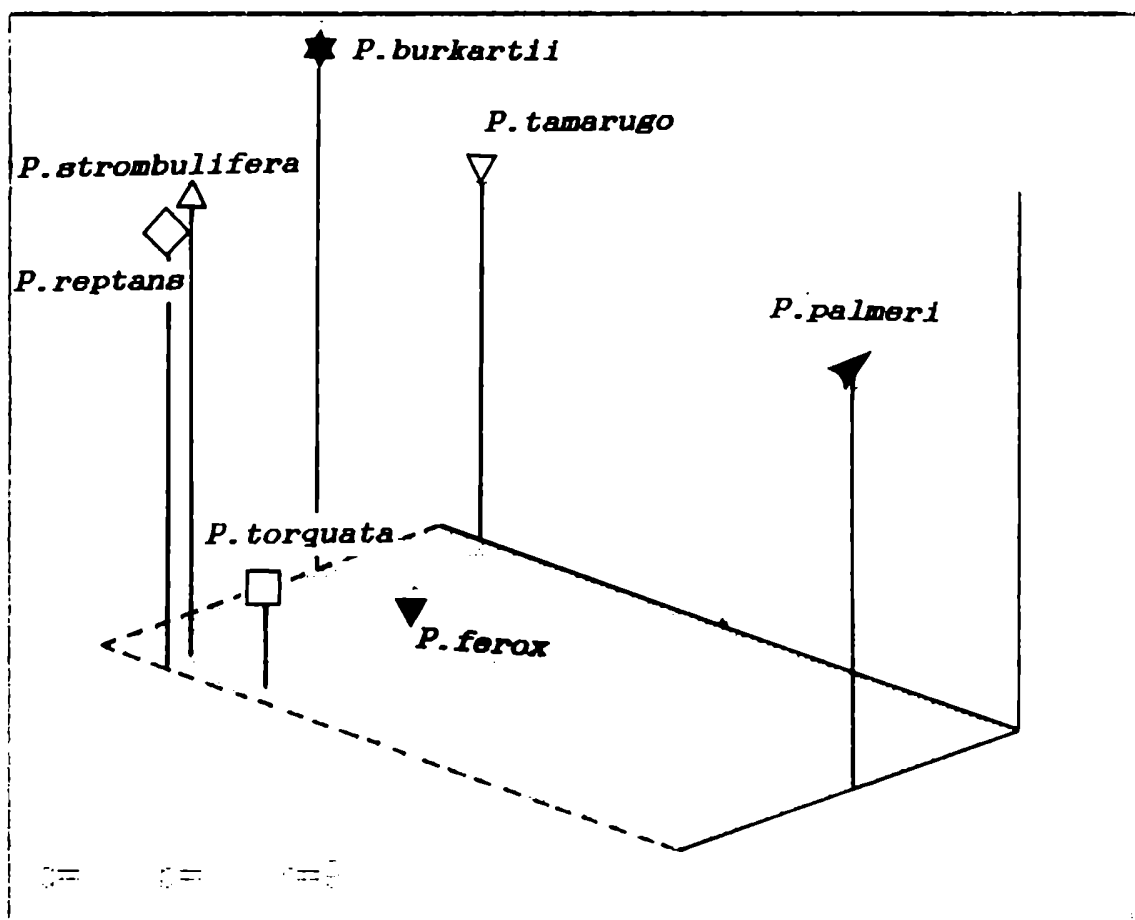
Matriz de distancias Manhattan (MANHAT) entre cada par de especies de la sección Strombocarpa

	BURK	STRO	REPT	TORQ	TAMA	FERO	PALM
BURK	0.000						
STRO	0.196	0.000					
REPT	0.250	0.054	0.000				
TORQ	0.446	0.286	0.268	0.000			
TAMA	0.196	0.357	0.411	0.429	0.000		
FERO	0.393	0.375	0.357	0.304	0.304	0.000	
PALM	0.804	0.643	0.625	0.536	0.714	0.625	0.000

Figura N° 15: Arbol de Valor Mínimo

**Figura N° 16:**

Análisis de Coordenadas Principales (Gower): Representación en el espacio delimitado por las tres primeras coordenadas principales de los taxa estudiados de la sección Strombocarpa.



**Tabla N° 9:**

Valores de aislamiento y Afinidad de Grupo de especies de la sección Strombocarpa

ESPECIE	Nº TOTAL DE BANDAS	Nº BANDAS EXCLUSIVAS	VALOR DE AISLAMIENTO	AFINIDAD DE GRUPO (GA) (MAX. = 700)	G.A. por SERIE
1. <i>P. burkartii</i>	40	0	0	413,0	289,2
2. <i>P. strombulifera</i>	31	0	0	425,0	328,4
3. <i>P. reptans</i>	28	0	0	418,3	317,2
4. <i>P. torquata</i>	21	2	9,5	144,8	254,2
5. <i>P. palmeri</i>	13	9	69,4	805,3	132,4
6. <i>P. tamarugo</i>	33	1	3,0	382,2	155,3
7. <i>P. ferox</i>	26	3	11,65	349,7	155,3

**Nº TOTAL DE BANDAS (t):** Cantidad de fracciones polipeptídicas encontradas en los perfiles electroforéticos

**Nº BANDAS EXCLUSIVAS (e):** Fracciones halladas únicamente en la especie señalada.

**VALOR DE AISLAMIENTO:** Proporción e/t expresada como porcentaje.

**AFINIDAD DE GRUPO (AG):**  $\Sigma$  (Bandas comunes / Totales x 100, para cada par posible de especies).

**A.G. por SERIE:** El máximo en cada serie lo da el 100% de similitud entre cada par de especies de la serie en cuestión.

### 3.1.3.3.2. La sección Algarobia:

La sección Algarobia es la que alberga mayor número de especies está dividida en seis series (Sericanthae, Ruscifoliae, Denudantes, Humiles, Pallidae y Chilenses), sobre la base de distintos caracteres morfológicos (Burkart, 1976).

Saidman (1985), al estudiar la variación alozímica en especies de la sección, encontró una estrecha similitud entre ellas, señalando en su trabajo la conveniencia de considerar a las mismas, como semiespecies.

En el presente estudio fueron analizados representantes de cinco de las series en que se divide la sección, los patrones polipeptídicos de las especies fueron comparados y se trató de establecer las relaciones entre ellas, con el objeto de caracterizar las distintas series y verificar si estas subdivisiones podrían representar grupos naturales.

El total de bandas encontradas en las especies de la sección fue de 101, de las cuales, sólo tres se encuentran en todas las especies. Si se deja de lado a *P. kuntzei* (Ver punto 3.1.3.2.), noventa y dos son las bandas totales y cinco las que se pueden encontrar en todas las especies de la sección (si bien, sólo tres son constantes y características).

En la mayoría de los taxa aquí estudiados, los perfiles electroforéticos no presentan bandas constantes que permitan

asignar un patrón característico a cada serie de esta sección.

Se calculó el coeficiente de similitud de Jaccard entre cada par de especies, la matriz de similitudes obtenida se volcó en la Tabla N° 10 (Pág. 117) y sobre la base de estos datos se aplicó un Análisis de Agrupamientos (UPGMA) (Figura N° 17, pág. 118).

La matriz de Distancias Taxonómicas Promedio (Tabla N° 11, pág. 119) fue utilizada también para realizar un Análisis de Agrupamientos y el resultado fue graficado en la Figura N° 18, pág. 120.

También fueron realizados los cálculos para la confección del Arbol de Valor Mínimo (Figura N° 19, pág. 121).

En la Figura N° 20 (Pág. 122) se grafican sobre el espacio delimitado por las tres primeras coordenadas principales (Método de Gower), las 19 especies estudiadas de esta sección

El caso de *P. kuntzei* ya fue tratado en el punto 3.1.3.2., constituye una especie muy aislada del resto a nivel de proteínas seminales, su Valor de aislamiento (Ver Tabla 12, pág. 123) es de 40,91%, uno de los más altos de las especies de la sección. Los resultados obtenidos a partir de la matriz básica de datos (Tabla 1, págs. 71-76). Su valor de afinidad de Grupo también es reducido (387,5).

*P. castellanosii*, una especie endémica de la Patagonia extraandina, cuyo hábito vegetativo y la morfología de su

fruto la hacen una especie muy aislada dentro de la sección Algarobia presenta, concomitantemente un perfil de proteínas de semilla muy particular con 12 bandas exclusivas sobre un total de 23 y un patrón proteico claramente diferenciable de sus especies más relacionadas: *P.ruizleali* y *P. denudans*.

Las especies de la serie Denudantes, constituyen un grupo relativamente aislado de los demás, con 21 bandas exclusivas de la serie, algunos tipos de análisis reflejan similitud entre estas especies (Ver Figuras 18 y 19, págs. 120 y 121). (Este punto será tratado más adelante).

Menos claros son los límites de las otras tres series estudiadas, *P. nigra* (Serie Chilenses) parece estar más relacionada con *P. ruscifolia* (Serie Ruscifoliae) que con *P. alba* que pertenece a la misma serie en el sistema de Burkart, asimismo, *P. alba* está muy estrechamente relacionada con *P. hassleri*, que se halla clasificada dentro de la serie Ruscifoliae. Como se verá más adelante (Punto 3.2.4.1), las cuatro especies, a pesar de pertenecer a distintas series podrían ser consideradas como semiespecies. Lo cual implicaría la necesidad de un replanteo de las series en que se halla dividida la sección Algarobia.

Por último, de la serie Pallidae, se estudiaron: *P. pallida*, *P. rubriflora* y *P. affinis*. *P. rubriflora* es considerada muy afin a *P. affinis* por su hábito y caracteres morfológicos de fruto (Burkart, 1976). Los análisis electroforéticos de proteínas de semilla evidencian patrones polipeptídicos bien diferenciados (Índice de Jaccard= 0,593 y

Distancia Taxonómica Promedio= 0,272), avalando la identidad específica de estos dos taxa. Los Análisis de Agrupamiento y ordenación coinciden en unirlos, lo que indica una estrecha afinidad entre ellas. Un hecho incongruente, sin embargo, con el sistema de Burkart es la agrupación de *P. affinis* con *P. pugionata* que corresponde a otra serie y que según el autor antes citado, es afín a *P. flexuosa* y *P. alpataco*. En la Figura Nº 18, pág. 120 puede observarse que *P. affinis*, *P. rubriflora* y *P. pugionata* forman un grupo que se une al resto de las especies de la serie Chilenes, exceptuando *P. alba* y *P. nigra*).

Los diagramas poligonales, que son una forma más de mostrar las relaciones entre especies (Figura 8, págs.86-89), presentan, sin embargo, siluetas similares para aquellas especies que pertenecen a la misma serie. Esta evidencia, contrapuesta a las anteriores, hace pensar que un análisis a fondo de este tema debe ser aún llevado a cabo para poder comprobar las afirmaciones acerca de las afinidades que se dan entre grupos de especies a nivel bioquímico.



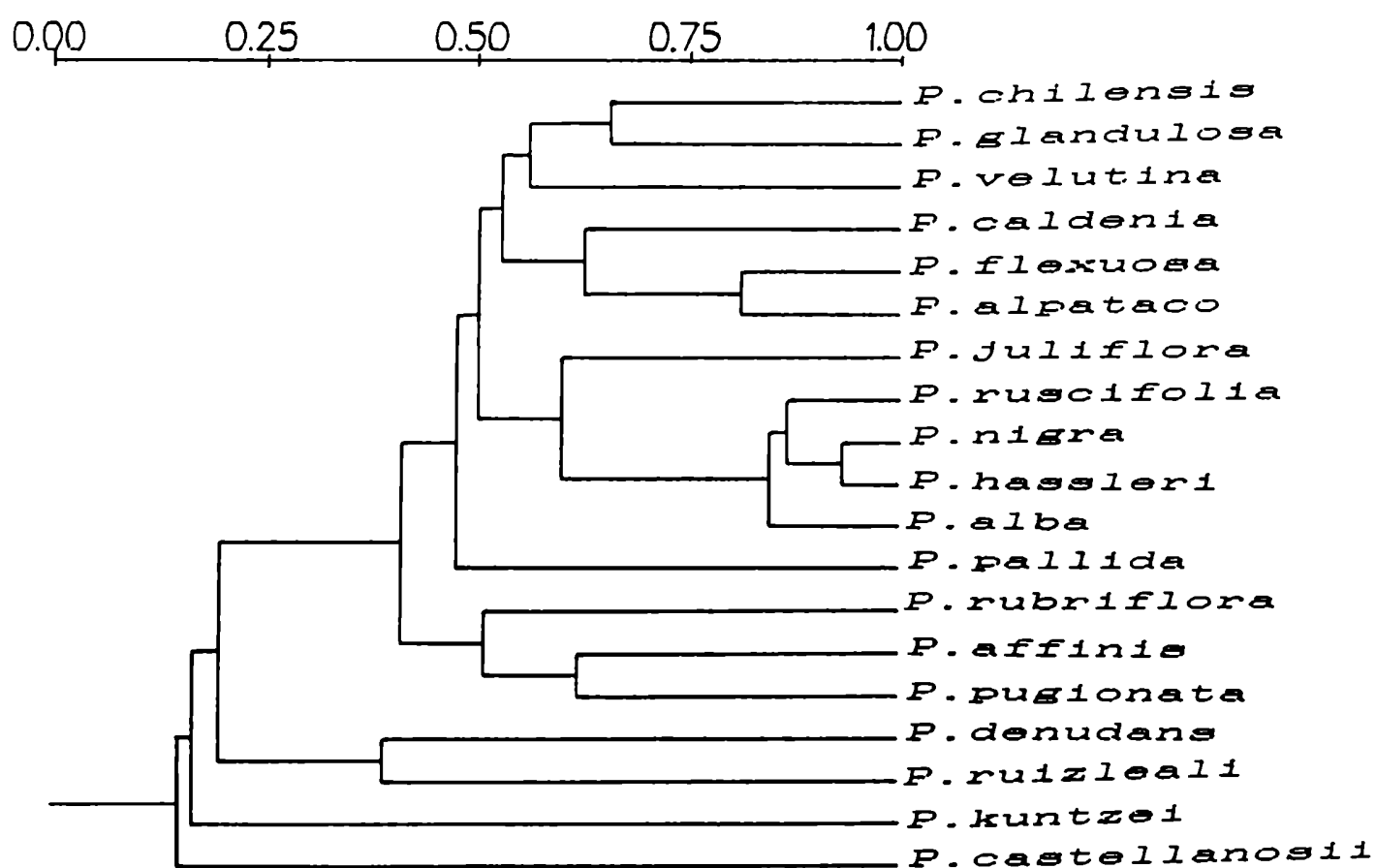
Tabla No 10:

Matriz de similitudes en las especies estudiadas de la sección Algarobia (Coeficiente de Asociación de Jaccard)

	CHIL	GLAN	CALD	FLEX	ALPA	PALL	JULI	VELU	RUBR	AFFI	PUGI	CAST	DEMU	RUIZ	KUMT	RUSC	NIGR	MASS	ALBA
CHIL	1.000																		
GLAN	0.635	1.000																	
CALD	0.586	0.655	1.000																
FLEX	0.500	0.559	0.645	1.000															
ALPA	0.432	0.571	0.606	0.813	1.000														
PALL	0.390	0.475	0.390	0.590	0.561	1.000													
JULI	0.514	0.568	0.514	0.488	0.537	0.523	1.000												
VELU	0.486	0.636	0.486	0.462	0.513	0.400	0.590	1.000											
RUBR	0.367	0.387	0.281	0.314	0.297	0.268	0.308	0.469	1.000										
AFFI	0.500	0.563	0.500	0.559	0.528	0.513	0.568	0.588	0.593	1.000									
PUGI	0.406	0.516	0.452	0.429	0.405	0.366	0.486	0.457	0.429	0.621	1.000								
CAST	0.211	0.171	0.179	0.214	0.152	0.163	0.167	0.156	0.108	0.143	0.125	1.000							
DEMU	0.229	0.184	0.229	0.200	0.190	0.149	0.178	0.195	0.226	0.216	0.200	0.132	1.000						
RUIZ	0.250	0.233	0.250	0.212	0.200	0.150	0.184	0.206	0.304	0.233	0.308	0.129	0.391	1.000					
KUMT	0.184	0.205	0.194	0.250	0.182	0.191	0.146	0.159	0.143	0.175	0.198	0.098	0.077	0.097	1.000				
RUSC	0.420	0.521	0.420	0.462	0.529	0.491	0.588	0.540	0.269	0.404	0.373	0.127	0.133	0.132	0.167	1.000			
NIGR	0.457	0.533	0.426	0.469	0.542	0.472	0.604	0.490	0.408	0.408	0.375	0.136	0.143	0.143	0.158	0.878	1.000		
MASS	0.467	0.545	0.435	0.479	0.553	0.481	0.583	0.449	0.245	0.417	0.383	0.119	0.145	0.146	0.161	0.857	0.933	1.000	
ALBA	0.432	0.585	0.465	0.511	0.591	0.480	0.622	0.533	0.261	0.477	0.442	0.109	0.154	0.156	0.170	0.833	0.867	0.844	1.000

**Figura N° 17 :**

Fenograma resultante del análisis de agrupamientos (UPGMA) aplicado a la Matriz de Similitudes en especies de la sección Algarobia (Tabla N° 10)



$r = 0,95$

r: Coeficiente de correlación cofenético

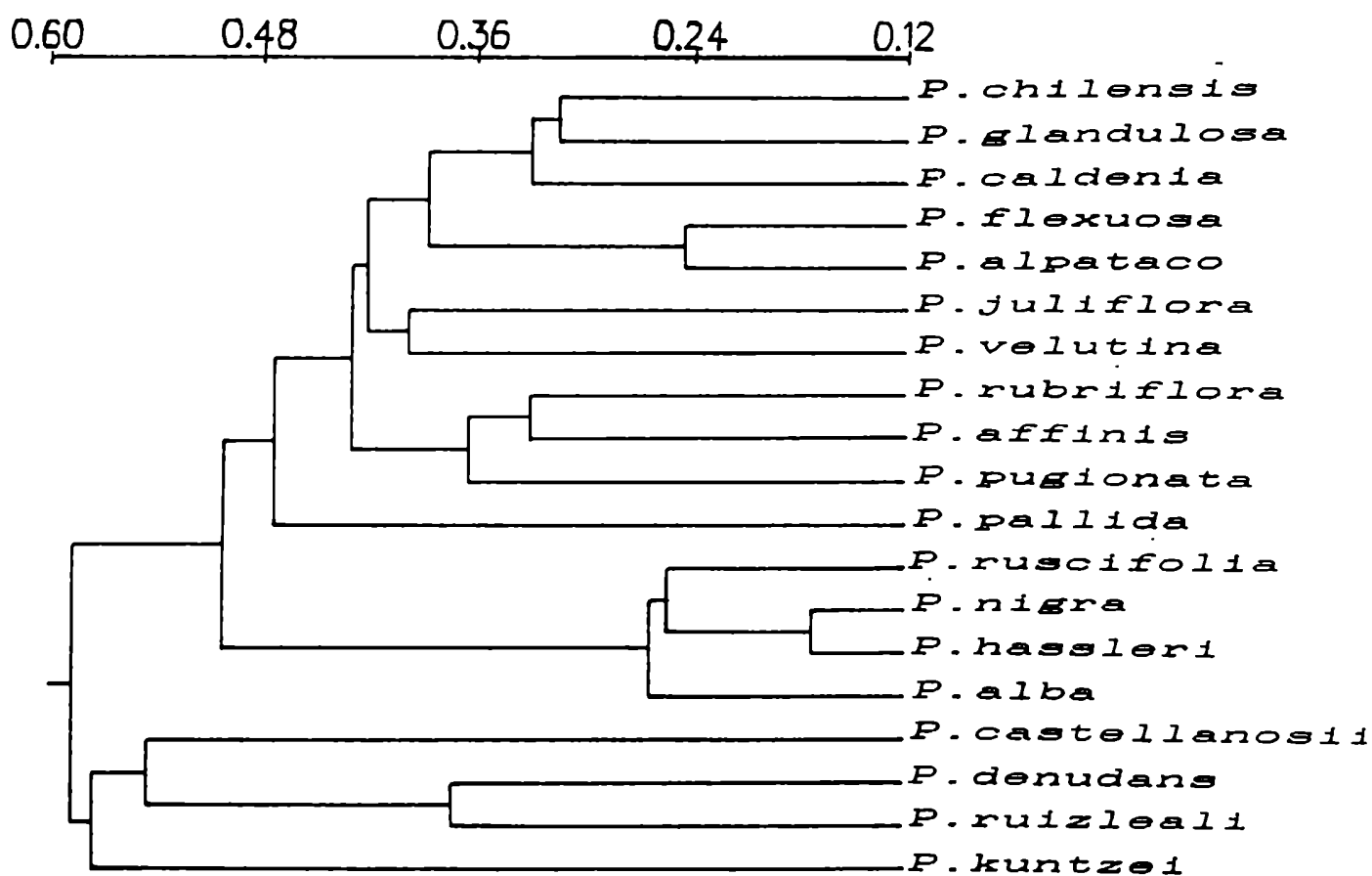
Tabla N° 11 :

Matriz de Distancias entre especies de la sección Algarobia  
(Distancia Taxonómica Promedio)

	CHIL	GLAN	CALD	FLEX	ALPA	PALL	JULI	VELU	RUBR	AFFI	PUGI	CAST	DEJU	RUIZ	KUMT	RUSC	MIGR	HASS	ALBA
CHIL	0.000																		
GLAN	0.315	0.000																	
CALD	0.345	0.315	0.000																
FLEX	0.410	0.385	0.330	0.000															
ALPA	0.456	0.385	0.359	0.244	0.000														
PALL	0.498	0.456	0.498	0.398	0.422	0.000													
JULI	0.422	0.398	0.422	0.456	0.434	0.456	0.000												
VELU	0.422	0.345	0.422	0.456	0.434	0.517	0.398	0.000											
RUBR	0.434	0.434	0.477	0.487	0.507	0.545	0.517	0.410	0.000										
AFFI	0.398	0.372	0.398	0.385	0.410	0.434	0.398	0.372	0.330	0.000									
PUGI	0.434	0.385	0.410	0.445	0.467	0.507	0.434	0.434	0.398	0.330	0.000								
CAST	0.545	0.580	0.563	0.572	0.621	0.637	0.629	0.613	0.572	0.597	0.589	0.000							
DEJU	0.517	0.554	0.517	0.563	0.580	0.629	0.605	0.572	0.487	0.536	0.527	0.572	0.000						
RUIZ	0.456	0.477	0.456	0.507	0.527	0.580	0.534	0.517	0.398	0.477	0.472	0.517	0.372	0.000					
KUMT	0.554	0.554	0.572	0.545	0.597	0.613	0.637	0.605	0.545	0.572	0.563	0.738	0.527	0.000	0.000				
RUSC	0.536	0.477	0.536	0.527	0.487	0.527	0.456	0.477	0.613	0.554	0.563	0.704	0.675	0.704	0.000	0.000			
MIGR	0.498	0.456	0.517	0.507	0.467	0.527	0.434	0.498	0.613	0.536	0.545	0.711	0.689	0.645	0.689	0.244	0.000		
HASS	0.487	0.445	0.507	0.498	0.456	0.517	0.445	0.507	0.605	0.527	0.536	0.718	0.682	0.637	0.682	0.263	0.172	0.000	
ALBA	0.498	0.410	0.477	0.467	0.422	0.507	0.410	0.456	0.580	0.477	0.487	0.711	0.660	0.613	0.660	0.281	0.244	0.263	0.000

**Figura N° 18:**

Fenograma que relaciona las especies estudiadas de la sección Algarobia (a partir de las Distancias Taxonómicas Promedio)



$$r = 0,85$$

r: Coeficiente de correlación cofenético

Figura No. 19:

Ordenamiento de las especies de la sección Algarobia mediante un Arbol de Valor Mínimo

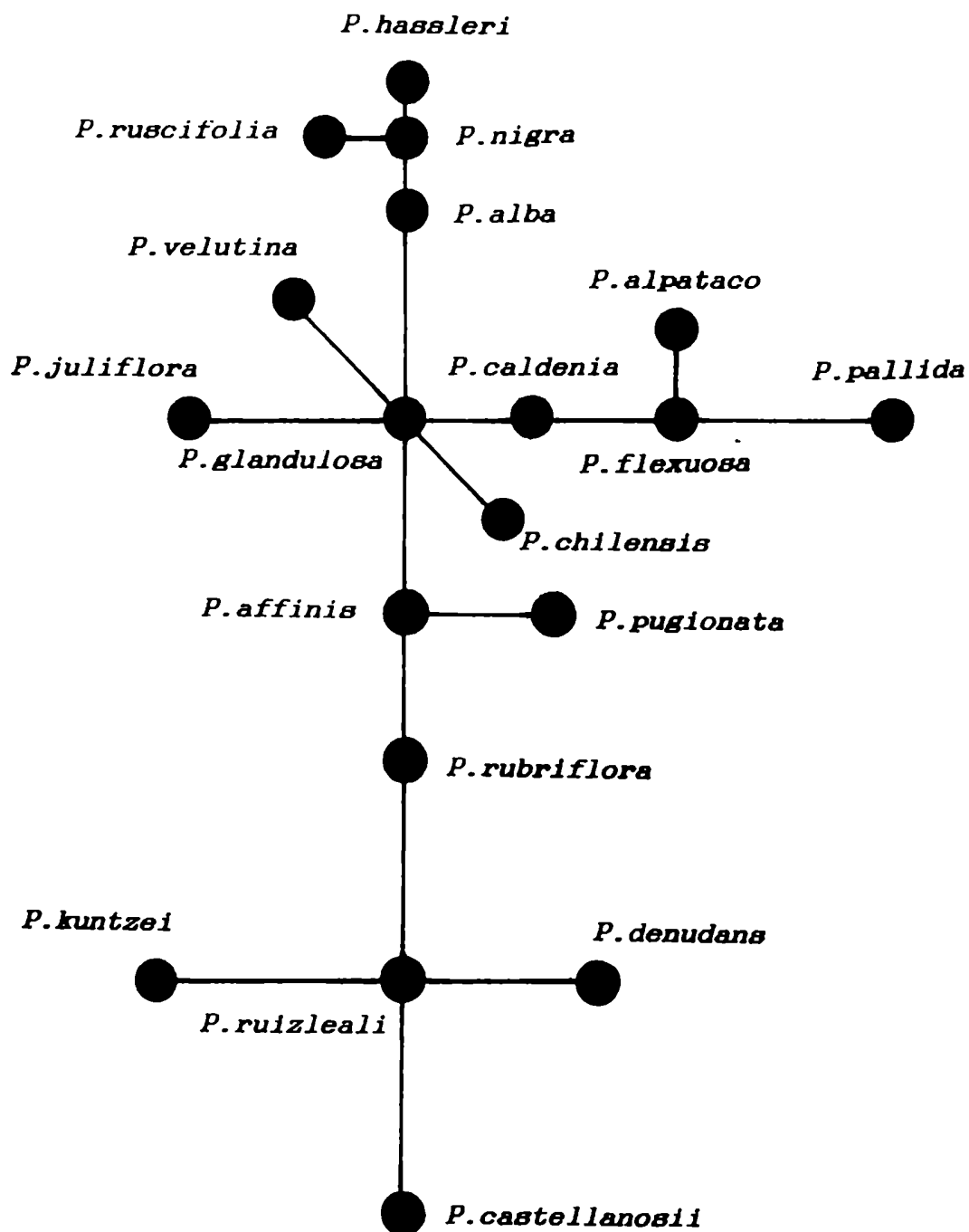
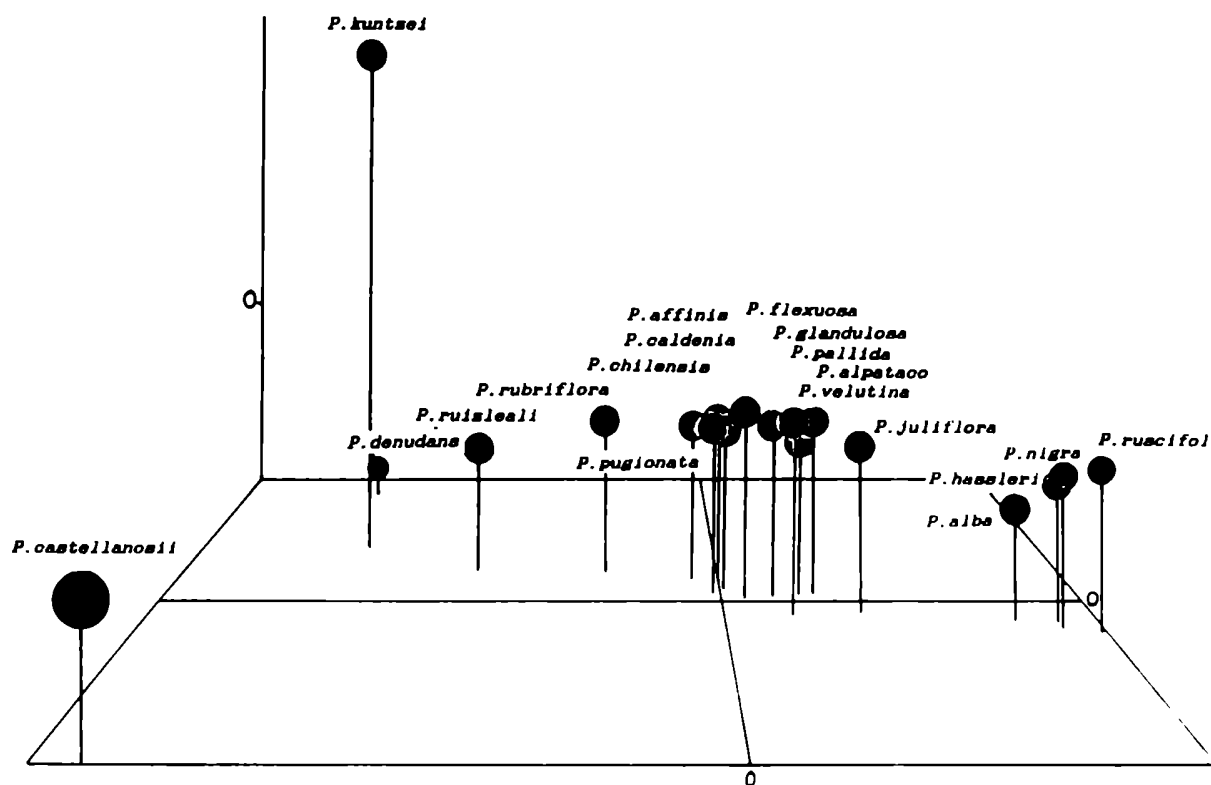


Figura N° 20:

Análisis de Coordenadas Principales (Gower): Representación gráfica de la ordenación de las especies de la sección Algarobia estudiadas, en el espacio delimitado por las tres primeras coordenadas principales.



**Tabla N° 12:**

Valores de Aislamiento y de Afinidad de grupo de las especies analizadas de la sección Algarobia

ESPECIE	Nº TOTAL DE BANDAS	Nº BANDAS EXCLUSIVAS	VALOR DE AISLAMIENTO	AFINIDAD DE GRUPO (GA) (max. = 1000)	G.A. por SERIE
1. <i>P. kuntzei</i>	22	9	40,91	387,5	-
2. <i>P. ruscifolia</i>	48	0	0	914,4	185,7
3. <i>P. hassleri</i>	43	0	0	926,2	185,7
4. <i>P. rubriflora</i>	18	0	0	650,9	186,1
5. <i>P. pallida</i>	34	1	2,94	805,3	178,1
6. <i>P. affinis</i>	25	0	0	900,6	210,6
7. <i>P. chilensis</i>	23	1	4,35	848,6	546,4
8. <i>P. juliflora</i>	33	0	0	916,8	592,3
9. <i>P. nigra</i>	44	0	0	927,4	576,3
10. <i>P. caldenia</i>	23	0	0	867,3	583,5
11. <i>P. flexuosa</i>	28	0	0	915,6	587,6
12. <i>P. alpataco</i>	30	1	3,33	920,2	601,0
13. <i>P. glandulosa</i>	24	0	0	956,2	627,8
14. <i>P. velutina</i>	29	1	3,45	883,5	565,3
15. <i>P. alba</i>	40	0	0	952,8	604,8
16. <i>P. pugionata</i>	22	1	0	793,1	496,8
17. <i>P. denudans</i>	20	9	45	487,1	152,0
18. <i>P. ruizleali</i>	12	2	16,67	472,4	152,3
19. <i>P. castellanosi</i>	23	12	52,17	363,5	126,1

Nº TOTAL DE BANDAS (t): Cantidad de fracciones polipeptídicas encontradas en los perfiles electroforéticos

Nº BANDAS EXCLUSIVAS (e): Fracciones halladas únicamente en la especie señalada.

VALOR DE AISLAMIENTO: Proporción e/t expresada como porcentaje.

AFINIDAD DE GRUPO (GA):  $\Sigma$  (Bandas comunes / Totales x 100, para cada par posible de especies).

G.A. por SERIE: El máximo en cada serie lo da el 100% de similitud entre cada par de especies de la serie en cuestión.

### 3.1.3.3.3 Sobre la serie Denudantes y su nivel de aislamiento.

La serie Denudantes está compuesta por cuatro especies que se distribuyen en la zona de Cuyo y la Patagonia extraandina, todas ellas constituyen endemismos más o menos restringidos (Burkart, 1976). En este punto se discutirá acerca del nivel de aislamiento que las proteínas seminales evidencian, entre este grupo y el resto de las especies de la sección Algarobia del género *Prosopis*.

Se han estudiado ejemplares de tres especies: *P. ruizleali* (la que presenta distribución más amplia), *P. denudans* y *P. castellanosii*, un arbusto cuyo hábito vegetativo es muy particular dentro del género, así como también la estructura, forma y color de su fruto y posiblemente la forma de dispersión de sus semillas.

El *status* clasificatorio de la serie Denudantes y su delimitación no son claros a la luz de los datos de proteínas de semilla.

Si se observa la Tabla N° 2 (pág. 77), se nota inmediatamente que los valores de aislamiento de dos de las tres especies estudiadas exceden al calculado para *P. argentina*, la que fue separada en una sección diferente por Burkart (1976), asimismo, la tercera de las especies que tiene la distribución menos restringida (*P. ruizleali*) tiene un valor de aislamiento del orden del de *P. argentina*.



Por otro lado,, la Figura 17, pág. 118, muestra a *P. denudans* y *P. ruizleali* formando un grupo diferenciado del resto de las especies, al cual se une *P.kuntzei* y *P. castellanosi*, mientras que la Figura 18 (pág. 120), muestra a las tres especies formando un grupo netamente diferenciado del resto de las Algarobia. El Arbol de Valor Mínimo (Figura 19, pág. 121), muestra a las tres especies como muy relacionadas. Del mismo modo, los diagramas poligonales de las tres especies presentan siluetas similares, lo que indicaría estrecha afinidad entre ellas, ya que guardan relaciones semejantes con el resto de las especies del género (Figuras 8.25, 8.26 y 8.27, pág. 89).

Las evidencia aquí presentada, nuevamente indica la necesidad de replantear la estructura jerárquica clasificatoria y la posición de este grupo de especies en el sistema.

### 3.2. El estudio de las proteínas de semilla aplicado a estudios específicos en el género *Prosopis*.

#### 3.2.1. La hibridación como proceso especiogénico: *Prosopis burkartii*.

Se ha demostrado en numerosos trabajos que la electroforesis de proteínas seminales es una herramienta útil para la caracterización de taxa y que dado que se da el fenómeno de adición de bandas en el patrón electroforético de aloploidos e híbridos, es de suma utilidad para el estudio de aquellos casos, donde es posible que la hibridación haya jugado un papel preponderante en la formación de especies.

*Prosopis burkartii* es un arbusto espinoso, con ramificación intrincada, cuya distribución se encuentra restringida al Norte de Chile. Sólo fue encontrado en la Pampa del Tamarugal (Provincia de Iquique), donde aparecen unos pocos individuos aislados entre sí, siendo sumamente difícil lograr cantidades importantes de semillas y el análisis de gran cantidad de plantas madres.

Burkart (1976) señala que se trata de un "biotipo estabilizado dada la fertilidad del material coleccionado" (aunque no especifica cómo midió esa fertilidad) anotando también que, por su morfología y distribución pudo haberse originado por hibridación entre *P.strombulifera* y *P.tamarugo*.

En total se identificaron 42 bandas diferentes. Las muestras difirieron en cuanto a la presencia de algunas de ellas. Un total de 31 y uno de 33 bandas fueron halladas en *P. strombulifera* y *P. tamarugo*. El perfil electroforético de *P. burkartii* presentó un total de 40 bandas. Veinte bandas son compartidas por las tres especies (8, 9, 10, 25, 27, 35, 40, 44, 49, 54, 55, 60, 68, 69, 87, 94, 95, 100, 102 y 106) (Tabla N° 1, págs. 71 a 76)

Algunas bandas específicas de *P. tamarugo* tienen sus homólogas en *P. burkartii* (1, 15, 17, 50, 114, 119, 120 y 126), del mismo modo, se encontraron 9 bandas homólogas entre *P. burkartii* y *P. strombulifera* (24, 51, 52, 63, 70, 110, 115, 121 y 122).

Sólo dos bandas presentes en los presuntos progenitores no fueron encontradas en ninguna muestra de *P. burkartii* (la 2, que comparten ambas especies y la 53 que sólo presenta *P. tamarugo*).

En la Figura N° 21 (pág. 129) se esquematizan los perfiles electroforéticos de las tres especies consideradas en este punto.

En cuanto a las características morfológicas, *P. burkartii*, parece ocupar una posición intermedia entre las otras dos especies, aunque algunos caracteres foliares la relacionan más con *P. tamarugo* (Palacios *et al.*, 1991).

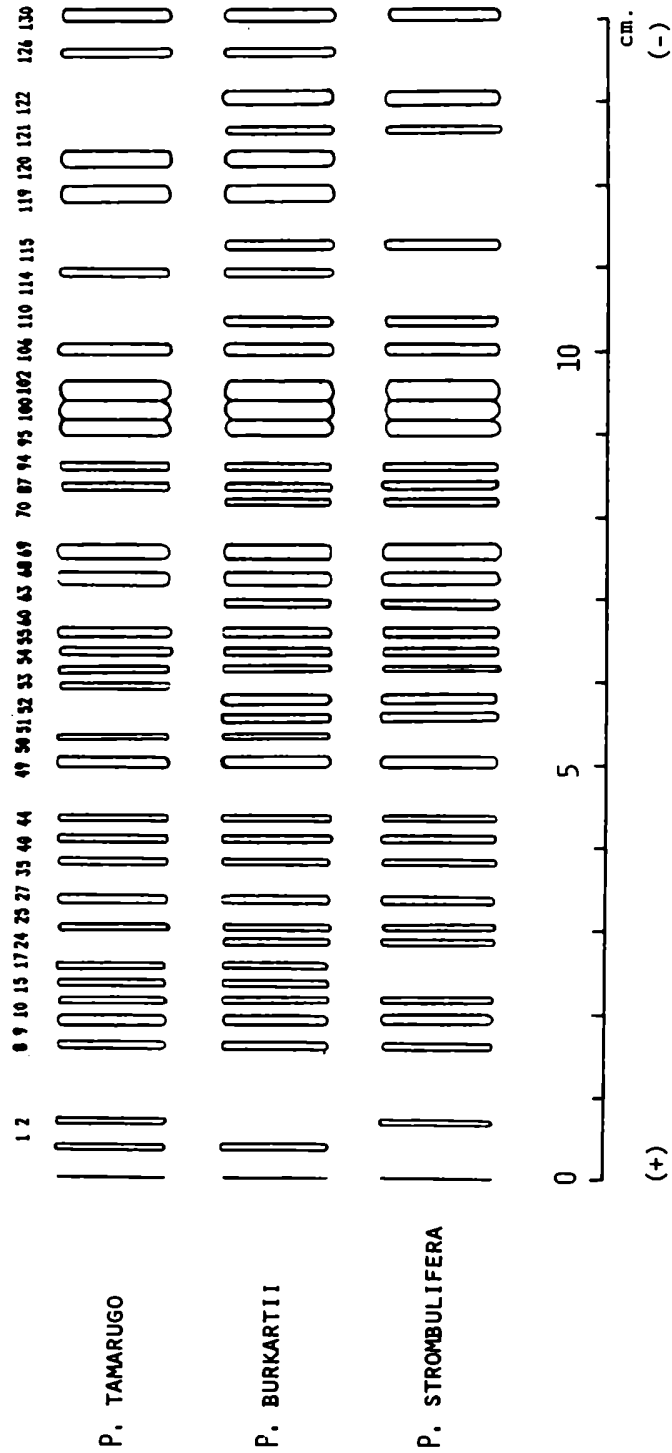
Las muestras analizadas de proteínas de semilla de *P. burkartii* si bien, en su conjunto, componen un patrón polipeptídico que muestra una casi completa adición de

bandas, lo que sería indicio del origen híbrido de esta especie, la mayoría de las semillas presentaban un patrón similar al de *P. tamarugo*. Esto podría explicarse teniendo en cuenta que los individuos de *P. burkartii* se hallan entre otros de *P. tamarugo*, lo cual, añadido a la existencia de fecundación cruzada, de barreras de aislamiento incompletamente desarrolladas y de baja fertilidad del polen de *P. burkartii* haría posible que las semillas extraídas de los arbustos de esta última especie hubiesen sido producto de introgresión, por fecundación con polen de *P. tamarugo*.

La evidencia electroforética aquí presentada indicaría claramente el origen híbrido de *P. burkartii* a partir del cruzamiento entre individuos de *P. strombulifera* y *P. tamarugo*. La reducida fertilidad del polen, que es de alrededor del 7% (obs. pers.), así como la bajísima producción de semillas (a pesar de la existencia de gran cantidad de frutos), refuerzan la suposición que, en realidad, *P. burkartii* no sería un biotipo estable como lo señala Burkart (1976), sino que, los pocos ejemplares encontrados podrían ser híbridos F<sub>1</sub> o bien segregantes entre *P. strombulifera* y *P. tamarugo*.

**Figura NO 21:**

Electroforegramas de las proteínas de semilla de *P. tamarugo*, *P. strombulifera* y *P. burkartii*. El 0 en la escala marca el lugar de siembra.



### 3.2.2. El caso *P. flexuosa*-*P. alpataco*:

Las especies *P. flexuosa* y *P. alpataco* se diferencian particularmente por su hábito, ya que la primera incluiría, en general, formas arbóreas y la segunda, únicamente formas arbustivas (Burkart, 1976). Sobre esa base, la determinación de ejemplares resulta relativamente sencilla.

Los estudios de Cohen *et al.* (1967) con técnicas de precipitinas, así como también los análisis realizados mediante electroforesis de proteínas de reserva (Burghardt, 1982), indicarían a *P. flexuosa* y *P. alpataco* (*sensu* Burkart) como *taxa* estrechamente semejantes, pero independientes.

Saidman (1985), sobre la base de sus estudios isoenzimáticos, realizados en poblaciones de estas especies ubicadas en la Provincia de La Pampa, indica una tan estrecha similitud como la esperable para poblaciones de una misma especie y propone que se las considere semiespecies. Basándose en los mismos resultados postula la existencia de un *singameon* formado por éstas y otras especies de la sección *Algarobia*.

Por su parte, Roig (1987) realiza una revisión de las especies *P. flexuosa* y *P. alpataco* indicando que "ambas especies tienen bioformas distintas, tanto árboles como arbustos" y presentando una nueva clasificación, reconociendo en *P. flexuosa* tres variedades y dos formas y, en *P. alpataco* dos variedades y dos formas. De la clave presentada en el

trabajo de Roig (*op.cit.*) se desprende que las características que delimitarían las especies estarían relacionadas, por un lado, con el color de ramas nuevas y por otro, con la forma y color de los frutos, sabor del mesocarpio y período de permanencia de los frutos maduros sobre las plantas. Si bien Roig no hace una mención especial, todo hace suponer, que de acuerdo a su criterio, probablemente los ejemplares analizados isoenzimáticamente por Saidman (1985) corresponderían en su totalidad a *P. flexuosa*.

En este trabajo se analizaron los patrones polipeptídicos de proteínas de semilla de ejemplares correspondientes a ambas especies (consideradas como en Burkart, 1976), coleccionados en las provincias de Catamarca, San Juan, Mendoza, San Luis, La Pampa, Neuquén y Río Negro, habiéndose recorrido gran parte de la zona de distribución de las especies en nuestro país. De las observaciones a campo se desprende la existencia de cierta variabilidad morfológica dentro de cada taxón (como ya lo indicara Burkart, 1976). Algunas características consideradas distintivas de las especies por Roig (1987) tales como las del margen de los frutos (moniliforme o recto), su color (amarillo o rojo) y la momificación de los mismos sobre las plantas fueron encontradas en combinaciones variables sobre cada pie, hecho que no coincidiría con su clasificación.

Se analizaron los patrones proteicos de ejemplares de *P. alpataco* algunos de los cuales presentaban características de

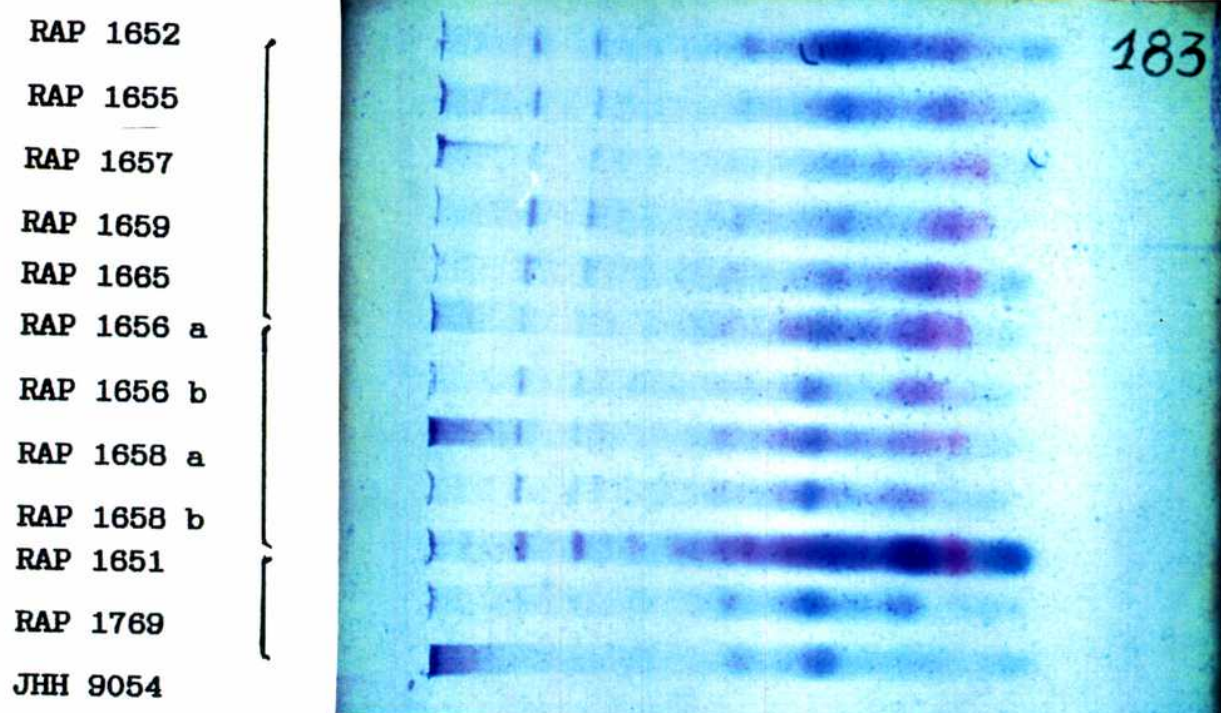
*P. flexuosa* (*sensu* Roig, 1987). Los electroforegramas presentaron una constancia que más hace suponer en una entidad homogénea a nivel de proteínas de semillas, que avalar una separación congruente con las características que Roig propone (Ver Fig. 22, pág. 134)

El total de bandas encontradas fue de 30 en *P. alpataco* y 28 en *P. flexuosa*, presentando, la primera, la banda 65, exclusiva dentro del género (Cfr. Tablas Nº 1 y 2, págs. 71 a 77). Ambas especies comparten 24 fracciones polipeptídicas, de las cuales, 5 se encuentran en todas las especies de la sección.

Los análisis de agrupamiento y ordenación coinciden en agruparlas, pero, las distancias calculadas son mayores que las encontradas entre especies de los grupos *P. strombulifera*-*P. reptans* o *P. alba*-*P. hassleri*-*P. nigra*-*P. ruscifolia* (como ejemplos ver Figs. 4 pág. 80, 5 pág. 82, 17 pág. 118 y 18 pág. 120). Si bien no se pueden significar estadísticamente las diferencias, su magnitud; así como las diversas incongruencias halladas con el sistema de Roig (1987) hacen que, la electroforesis de proteínas de semilla no pueda ser considerada para avalar un cambio como el que se propusiera. Por el contrario, los resultados del presente trabajo parecen corroborar la identidad de la especie *P. alpataco* (como arbustiva) y su diferenciación de *P. flexuosa*. Esto, unido al hecho de la simplicidad en la determinación que implica el aplicar el sistema de Burkart, hacen preferir este último, si bien una revisión más profunda del tema queda aún por



realizar dada la variabilidad morfológica interpoblacional y el grado de variación interespecifica observada en ciertos caracteres vegetativos.

Figura N° 22:Perfiles de proteínas seminales en ejemplares de *P. alpataco*

Todas las muestras coleccionadas por RAP corresponden a *P. alpataco* (Según Burkart, 1976).

Las barras verticales unen muestras que difieren en caracteres morfológicos discriminatorios (*sensu* Roig, 1987).

De arriba hacia abajo: Artejos transversales (fruto insípido)

Artejos longitudinales (1656: fruto dulce, 1658: fruto insípido).

Fruto moniliforme, artejos oblicuos (1651: fruto dulce;

1769: fruto insípido)

JHH 9054: *P. flexuosa*.

### 3.2.3. Caracterización electroforética de algunas especies de la serie Denudantes:

De las cuatro especies que Burkart (1976) incluye en esta serie, fueron estudiadas tres: *P. ruizleali*, *P. denudans* y *P. castellanosi*.

*P. ruizleali* es una especie estrechamente relacionada a *P. denudans* y Burkart (1976) sugirió la posibilidad de que fuese una subespecie más robusta de ésta.

*P. castellanosi* en cambio es una especie muy diferenciada. Su hábito, la morfología de su fruto y quizás la dispersión de las semillas, son particularmente distintas del resto de las especies de la sección. Es un arbusto xerófito extremo, de aspecto globoso, con tallos verdes, gruesos, desprovistos casi por completo de hojas, que se encuentra en elevaciones entre 600 y 1300 m.s.m. (Burkart, 1941, 1976).

Los patrones electroforéticos de las tres especies fueron analizados con el objeto de aportar nuevas evidencias para el estudio de las relaciones entre ellas y contribuir a la evaluación de sus identidades genético-taxonómicas.

Se encontraron en total 41 fracciones polipeptídicas en las tres especies (cfr. Tabla Nº 1, págs. 71-76). Sólo cuatro bandas (11, 27, 49 y 143) se observan en todos los individuos analizados de las tres especies, siendo las fracciones 11, 27 y 143 caracterizadoras constantes de la sección Algarobia.

*P. ruizleali* es la especie que presenta menos bandas dentro del género; de las doce fracciones que aparecen en su patrón, sólo dos son exclusivas; *P. denudans* con 20 bandas y siete exclusivas y *P. castellanosi*, con 23 bandas y 9 exclusivas poseen los más altos valores de aislamiento en el género (35 y 39,13)(*cf.* Tabla Nº 2, pág. 77). La afinidad de grupo de las tres especies en promedio, con respecto al resto es inferior al 19% del máximo posible, valor encontrado en la literatura para especies de distinto género (Ellison, 1962).

Los patrones electroforéticos de las tres especies son perfectamente diferenciables, dada la cantidad de bandas exclusivas (Figura 23, pág. 138).

Los resultados electroforéticos evidencian a través de su análisis numérico, una afinidad que avalaría su clasificación dentro de una misma serie: la afinidad de grupo de las especies entre sí es de alrededor del 50% del máximo (Burghardt y Palacios, 1990), valor considerado como intermedio para especies más o menos relacionadas de *Capsicum* por Panda *et al.*(1986). Además, los diagramas poligonales (Fig. Nº 8, pág. 89) muestran siluetas similares, lo cual indica que pueden ser consideradas dentro del mismo grupo, ya que en ellos se representan las afinidades relativas entre las especies, pues permiten visualizar sus relaciones con el resto de los *taxa* estudiados. Por su parte, Castro (1989), en su análisis de leño, diferencia a estas especies del resto

de las Algarobia, formando un grupo separado por sus caracteres anatómico-estructurales.

Por otro lado, el coeficiente de Jaccard (Tabla 10, pág. 117), la Distancia Taxonómica (Tabla 11, pág. 119), las Afinidades de Grupo y Valores de Aislamiento (Tabla 12, pág. 123) obtenidos a partir del análisis de patrones polipeptídicos, así como también los caracteres ultraestructurales de leño (Castro, 1989) corroboran la identidad genética y taxonómica de cada uno de los tres taxa analizados.

El número relativamente alto de bandas exclusivas, con Valores de Aislamiento que oscilan entre un 16,67 y un 52,17% dentro de la sección Algarobia (cfr. Tabla 12, pág. 123) y la escasa similitud entre las tres especies de la serie, con Distancias mayores del 50%, evidencian una diferenciación a nivel de proteínas seminales entre las tres especies mucho mayor que la encontrada entre otras de la sección, principalmente las de las series Chilenses, Ruscifoliae y Pallidae.

La especialización anatómica y morfológica que presentan las especies de la serie Denudantes, su ubicación geográfica (dado que constituyen endemismos bastante restringidos, presentándose como poblaciones bastante aisladas) y los resultados de los análisis electroforéticos aquí expuestos, hacen suponer una historia evolutiva donde la divergencia génica alopátrica podría haber jugado un papel preponderante como modo de especiación en este grupo.

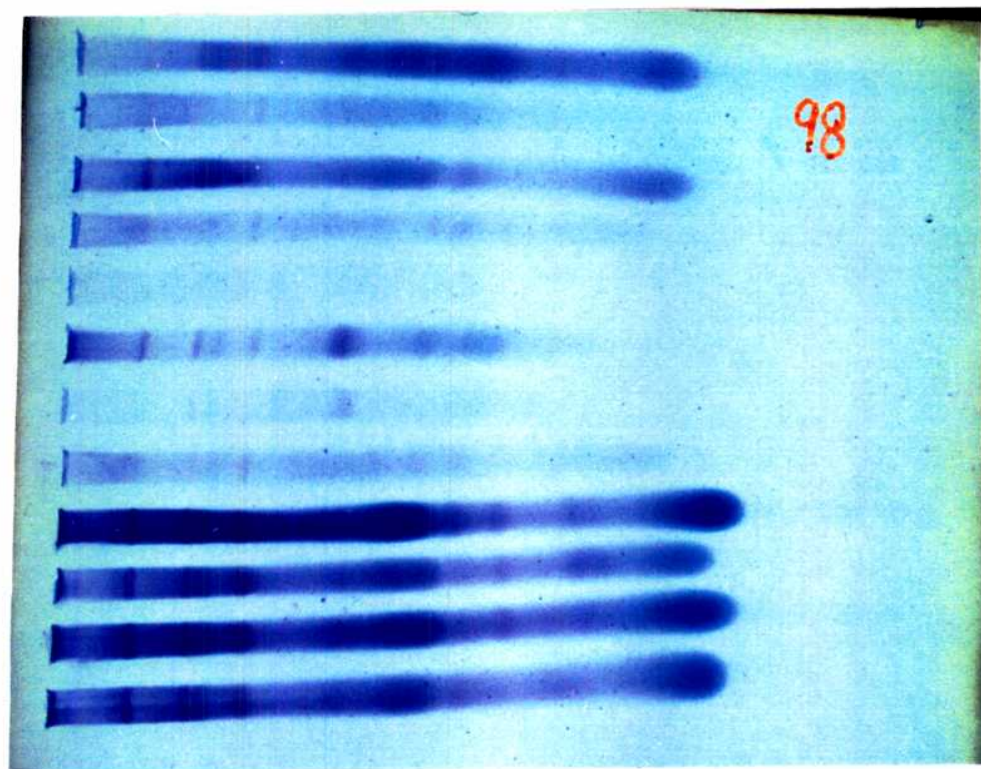
Figura N° 23:

Patrones electroforéticos de proteínas seminales en tres especies de la serie Denudantes.

*P. ruizleali*

*P. denudans*

*P. castellanosi*



#### 3.2.4. Utilidad de los análisis electroforéticos de semillas individuales para estudios de variabilidad inter e intrapoblacional

La electroforesis de proteínas de semilla es reconocida como una herramienta de utilidad para caracterizar especies (Ladizinsky y Hymowitz, 1979, Harborne y Turner, 1984, González Aguilera *et al.*, 1986, etc.), sin embargo, muy pocos fueron los estudios realizados a partir de semillas individuales y en ningún caso se analizaron los datos más que en forma cualitativa.

En el presente trabajo, se realiza por primera vez un análisis numérico a partir de los patrones electroforéticos de proteínas generales obtenidos de semillas individuales, considerando a cada muestra como un individuo, dada la condición alogámica de reproducción preponderante en el grupo estudiado. El análisis de la frecuencia de aparición de las distintas fracciones proteicas permitió un estudio más exhaustivo de las relaciones entre especies muy relacionadas, de poblaciones coespecíficas y aun intrapoblacionales.

Para el estudio de la variabilidad intraespecífica debe cuidarse el método de muestreo, ya que al realizarse un análisis poblacional deben tenerse en cuenta diversos parámetros con el objeto de conseguir muestras representativas. Es por esto que en este trabajo sólo se presentan los datos que cumplen con los requisitos básicos de muestreo sugeridos por Vilardi *et al.* (1988).

### **3.2.4.1 La variabilidad proteica entre especies estrechamente relacionadas.**

#### **3.2.4.1.1. Estudio de la variación interespecífica en cuatro especies del Chaco Argentino.**

Las especies estudiadas son *P. alba* y *P. nigra* de la serie Chilenses y *P. ruscifolia* y *P. hassleri* de la serie Ruscifoliae. Estas cuatro especies de la sección Algarobia son muy afines, como lo indican los estudios exomorfológicos (Burkart, 1976), cromosómicos (Hunziker *et al.*, 1975, 1977, Naranjo *et al.*, 1984), cromatográficos (Carman, 1973, 1977, Gianinetto *et al.* 1975, 1976 a y b, Palacios y Bravo, 1981, Gitelli *et al.*, 1981, 1984, Naranjo *et al.* 1984), de composición acidica de aceites seminales (Madriñan Polo *et al.*, 1976), isoenzimáticos (Saidman, 1984, 1985, Montoya *et al.*, 1992) y la existencia de hibridación natural entre ellas en algunas áreas (Burkart, 1952; Palacios y Bravo, 1974, 1981; Hunziker *et al.* 1975, 1986; Naranjo *et al.*, 1984). Estudios previos de electroforesis de proteínas seminales, indican asimismo, una elevada similitud proteica entre algunas de estas especies (Burghardt, 1982, 1992; Burghardt y Palacios, 1981, 1984, 1990).

Si bien el tratamiento sobre la base de caracteres morfológicos (basado principalmente en características foliares) llevado a cabo por Burkart (1976), determinó la inclusión de *P. alba* y *P. hassleri* en distintas series, los



estudios cromatográficos de Palacios y Bravo (1981) y los análisis isoenzimáticos (Saidman, 1984, 1985) coinciden en estimar una alta similitud entre estas especies. Además, se han citado varios híbridos naturales entre ambas (Palacios y Bravo, 1981).

*P. nigra* tiene una amplia distribución geográfica, desarrollándose en zonas con 200 mm de precipitación media anual, hasta 1200 mm y desde el nivel del mar hasta 2500 m.s.m. Es morfológicamente muy similar a *P. alba*; pero, a pesar de que ambas viven en simpatria en amplias regiones de nuestro país, la cantidad de individuos de origen híbrido encontrada es relativamente escasa (Palacios y Bravo, 1981; Naranjo *et al.*, 1984)

*P. ruscifolia* es una especie invasora que se caracteriza por ocupar grandes espacios modificados natural o artificialmente; su área de distribución coincide con la de las otras tres especies, habiéndose detectado híbridos con todas ellas (Palacios y Bravo, 1981; Hunziker *et al.*, 1986).

El estudio de la variabilidad interespecífica en este grupo de *taxa* fue llevado a cabo sobre la base de muestras de semillas individuales, la comparación de los patrones electroforéticos y la aplicación de los análisis numéricos pertinentes.

El total de bandas encontrado en los patrones polipeptídicos de las cuatro especies es de 49 (*cfr.* Tabla N° 1, pág.71-76).

Las bandas 11, 27 y 49 son constantes y se observan en todos los individuos estudiados de este grupo.

Las muestras de *P. ruscifolia*, *P. nigra* y *P. hassleri* presentaron siempre la banda 102, que apareció también en un 98% de los individuos de *P. alba*. La banda 100, también se presentó en alta frecuencia en las cuatro especies, siendo constante para todos los individuos de *P. nigra* y *P. hassleri*.

La fracción 82 presentó frecuencia intermedia en *P. hassleri*, baja en *P. ruscifolia* y estuvo ausente en *P. alba* y *P. nigra*.

Las bandas 28, 51, 53, 62, 83, 84, 135 y 141 se hallan en baja frecuencia en las cuatro especies, estando alternativamente ausentes en algunas de ellas a saber: la 28 en *P. hassleri*, la 51 en esta especie y en *P. nigra*, la 62 en *P. hassleri* y *P. alba*; la banda 135 sólo ausente en *P. nigra*, la 83 en *P. ruscifolia* y *P. alba* y 84 y 141 no fueron encontradas en ningún individuo de *P. alba*.

Las bandas 19, 20 y 139 se encontraron solamente en unos pocos individuos de *P. ruscifolia*, estando ausentes en el resto de las especies.

Dado que no se encontraron bandas constantes, marcadoras, exclusivas y características de cada una de las especies, sino que ellas se diferenciaron más por la frecuencia de aparición de las distintas fracciones, que por criterios de presencia-ausencia, el estudio de la variabilidad interespecífica se realizó sobre la base de las frecuencias

observadas de cada banda proteica en cada una de las especies (Ver Tabla N° 13, pág. 147).

Las distancias Taxonómica Promedio y Manhattan, calculadas considerando los datos de la Tabla N° 13 se registraron en las Tablas 14 y 15 (Pág. 148).

La Figura N° 24 (Pág. 149) muestra los dos fenogramas resultantes de aplicar el método de agrupamiento de medias no ponderadas (UPGMA) a las matrices de Tablas 14 y 15. En ella se indican los coeficientes de correlación cofenética y el coeficiente de congruencia (Sokal y Rohlf, 1982).

La Figura N° 25 (Pág. 150) muestra el Arbol de Valor Mínimo.

De los resultados electroforéticos se deduce una gran similitud entre las especies *P. alba* y *P. hassleri*, ya que los distintos métodos de agrupamiento son congruentes en reunir las en un mismo núcleo taxonómico. Este hecho se encuentra en concordancia con los estudios cromatográficos y enzimáticos, así como también con la significativa ocurrencia de individuos de origen híbrido entre ambas (once, según lo citado por Palacios y Bravo (1981), considerada con respecto a la aparición de híbridos interespecíficos entre *P. alba* y la otra especie de la misma serie: *P. nigra*. Los híbridos citados entre estas dos últimas, además, son escasos: dos para la región chaqueña (Palacios y Bravo, 1981) y dos en la provincia de Entre Ríos (Naranjo et al. 1984).

La relación de *P. nigra* con las otras especies estudiadas no puede ser esclarecida totalmente mediante los estudios

electroforéticos de proteínas seminales. Los trabajos quimiosistemáticos previos, realizados sobre este tema, tampoco son concluyentes: Los estudios cromatográficos señalan una mayor similitud entre *P. nigra* y *P. alba* que entre la primera y *P. ruscifolia*, sin embargo, estas dos comparten dos manchas en forma exclusiva (Palacios y Bravo, 1981: 26); Saidman (1985) encontró mayor similitud isoenzimática entre *P. alba* y *P. nigra* que entre ésta y *P. ruscifolia* pero señala que "en algunos individuos de *P. nigra* y *P. ruscifolia*, las intensidades de coloración relativa de las bandas de ADH se apartan de las esperadas, hecho que sugeriría una incipiente divergencia génica entre estas especies y *P. alba* y *P. hassleri*".

Los fenogramas obtenidos sobre la base del presente estudio electroforético de proteínas seminales (Fig. Nº 24 pág. 149), a pesar de ser altamente congruentes, difieren en la ubicación de *P. nigra*, ya que uno la agrupa con *P. ruscifolia* y otro al núcleo formado por *P. alba* y *P. hassleri*. El Arbol de Valor Mínimo (Fig. Nº 25, pág. 150) muestra a *P. nigra* como un taxón intermedio entre *P. ruscifolia* y *P. alba*, más cercano a esta última; una similitud más baja con *P. hassleri* podría producir su agrupamiento alternativo con *P. ruscifolia*.

Las diferencias entre *P. hassleri* y *P. nigra* son las más pronunciadas a nivel electroforético; en este caso existe concordancia con la división infragenérica propuesta por Burkart (1976). Esta diferencia está en cierta forma

evidenciada por los pocos individuos híbridos *P.hassleri* x *P. nigra* encontrados (Palacios obs. pers.); lo cual indicaría poca afinidad entre ambas.

*P. ruscifolia*, que en el sistema de Burkart (1976) es considerada afín a *P.hassleri*, muestra, a nivel electroforético, una manifiesta diferenciación de ésta, lo cual coincide con datos cromatográficos (Palacios y Bravo, 1981) y electroforéticos (Saidman, 1984, 1985; Hunziker et al., 1986; Burghardt y Palacios, 1981,1984) previos. A pesar de su similitud exomorfológica (folíolos grandes) son relativamente pocos los individuos híbridos detectados en la naturaleza entre *P. ruscifolia* y *P. hassleri*, lo cual está relacionado con la menor similitud de sus patrones electroforéticos de proteínas seminales

Los híbridos *P.ruscifolia* x *P. alba* son los más frecuentes pero la presencia de dichos híbridos se da principalmente en Santiago del Estero, hallándose con menor frecuencia en otras procedencias estudiadas; ésto podría indicar que existen diferencias genéticas entre poblaciones de *P. alba* o de *P. ruscifolia*. Estudios poblacionales (Ver punto 3.2.4.1.2, (pág. 151) indicarían que las homologías proteicas entre procedencias de *P. alba* son mayores que las existentes entre poblaciones de *P. ruscifolia*. La ocurrencia de mayor cantidad de híbridos en Santiago del Estero puede ser debida a condiciones ambientales que permitieron la manifestación de la hibridación. La presencia de asentamientos europeos en esta área datan de aproximadamente

400 años y la devastación de la masa boscosa determinó la existencia de habitats abiertos que habrían permitido el desarrollo de mayor cantidad de individuos híbridos; no siendo, en este caso, necesario postular una correlación entre su presencia y una mayor similitud genética entre las especies involucradas.

La similitud en los patrones polipeptídicos de las cuatro especies, que conduce a su agrupación cuando se aplican técnicas numéricas y la ausencia de bandas exclusivas (lo que implica un Valor de Aislamiento = 0), indican una gran homología proteica e impiden una identificación precisa mediante electroforegramas característicos de cada una de ellas. Los resultados aquí expuestos indicarían que este grupo podría haber seguido una vía evolutiva que involucrase un antecesor común e involucra aún hoy a distintas especies en frecuentes eventos de hibridación e introgresión.

Tabla N° 13:

Frecuencia de las distintas bandas observadas en cada una de las cuatro especies estudiadas.

Se mantuvo la numeración de la Tabla N° 1 (Pág. 71-76)

ESPECIE	N° DE BANDA																
	2	3	11	19	20	23	27	28	33	37	39	45	46	49	51	53	58
<i>P.alba</i>	0,20	0,36	1,00	0,00	0,00	0,06	1,00	0,04	0,01	0,74	0,48	0,03	0,15	1,00	0,01	0,00	0,60
<i>P.hassleri</i>	0,06	0,41	1,00	0,00	0,00	0,10	1,00	0,00	0,02	0,81	0,48	0,10	0,10	1,00	0,00	0,03	0,63
<i>P.nigra</i>	0,06	0,33	1,00	0,00	0,00	0,04	1,00	0,06	0,09	0,63	0,63	0,04	0,23	1,00	0,00	0,08	0,78
<i>P.ruscifolia</i>	0,31	0,50	1,00	0,004	0,02	0,03	1,00	0,03	0,33	0,79	0,46	0,12	0,32	1,00	0,06	0,06	0,86

ESPECIE	N° DE BANDA																
	60	62	71	73	78	79	80	81	82	83	84	88	93	95	100	102	103
<i>P.alba</i>	0,82	0,00	0,32	0,50	0,46	0,31	0,51	0,73	0,00	0,00	0,00	0,49	0,29	0,71	0,98	1,00	0,44
<i>P.hassleri</i>	0,75	0,00	0,33	0,57	0,44	0,38	0,40	0,62	0,38	0,02	0,27	0,29	0,43	0,51	1,00	1,00	0,60
<i>P.nigra</i>	0,74	0,12	0,71	0,90	0,19	0,09	0,08	0,73	0,00	0,01	0,10	0,06	0,79	0,54	1,00	1,00	0,40
<i>P.ruscifolia</i>	0,89	0,02	0,55	0,77	0,38	0,09	0,27	0,68	0,20	0,00	0,15	0,13	0,82	0,83	0,99	1,00	0,65

ESPECIE	N° DE BANDA														
	106	107	109	111	117	122	124	125	133	135	137	139	140	141	143
<i>P.alba</i>	0,50	0,35	0,33	0,02	0,29	0,23	0,51	0,36	0,16	0,05	0,39	0,00	0,08	0,00	0,40
<i>P.hassleri</i>	0,62	0,56	0,22	0,11	0,22	0,43	0,51	0,48	0,51	0,02	0,24	0,00	0,51	0,06	0,38
<i>P.nigra</i>	0,70	0,33	0,16	0,07	0,21	0,13	0,37	0,32	0,23	0,01	0,44	0,00	0,03	0,23	0,51
<i>P.ruscifolia</i>	0,29	0,44	0,56	0,02	0,30	0,16	0,71	0,75	0,42	0,02	0,50	0,04	0,30	0,04	0,42

Tabla N° 14:

Matriz de distancias (Distancias Taxonómicas Promedio)  
Cálculos basados en datos de la Tabla N° 13.

	<i>P.ruscifolia</i>	<i>P. nigra</i>	<i>P. alba</i>	<i>P. hassleri</i>
<i>P.ruscifolia</i>	0,000			
<i>P. nigra</i>	0,168	0,000		
<i>P. alba</i>	0,173	0,169	0,000	
<i>P. hassleri</i>	0,168	0,183	0,135	0,000

Tabla N° 15:

Matriz de distancias (Distancias Manhattan) Cálculos basados  
en datos de la Tabla N° 13.

	<i>P.ruscifolia</i>	<i>P. nigra</i>	<i>P. alba</i>	<i>P. hassleri</i>
<i>P.ruscifolia</i>	0,00			
<i>P. nigra</i>	5,97	0,00		
<i>P. alba</i>	6,01	5,35	0,00	
<i>P. hassleri</i>	6,10	6,47	4,35	0,00

NOTA: Los valores de Distancia Manhattan son absolutos como los definen Crisci y López Armengol, 1983.

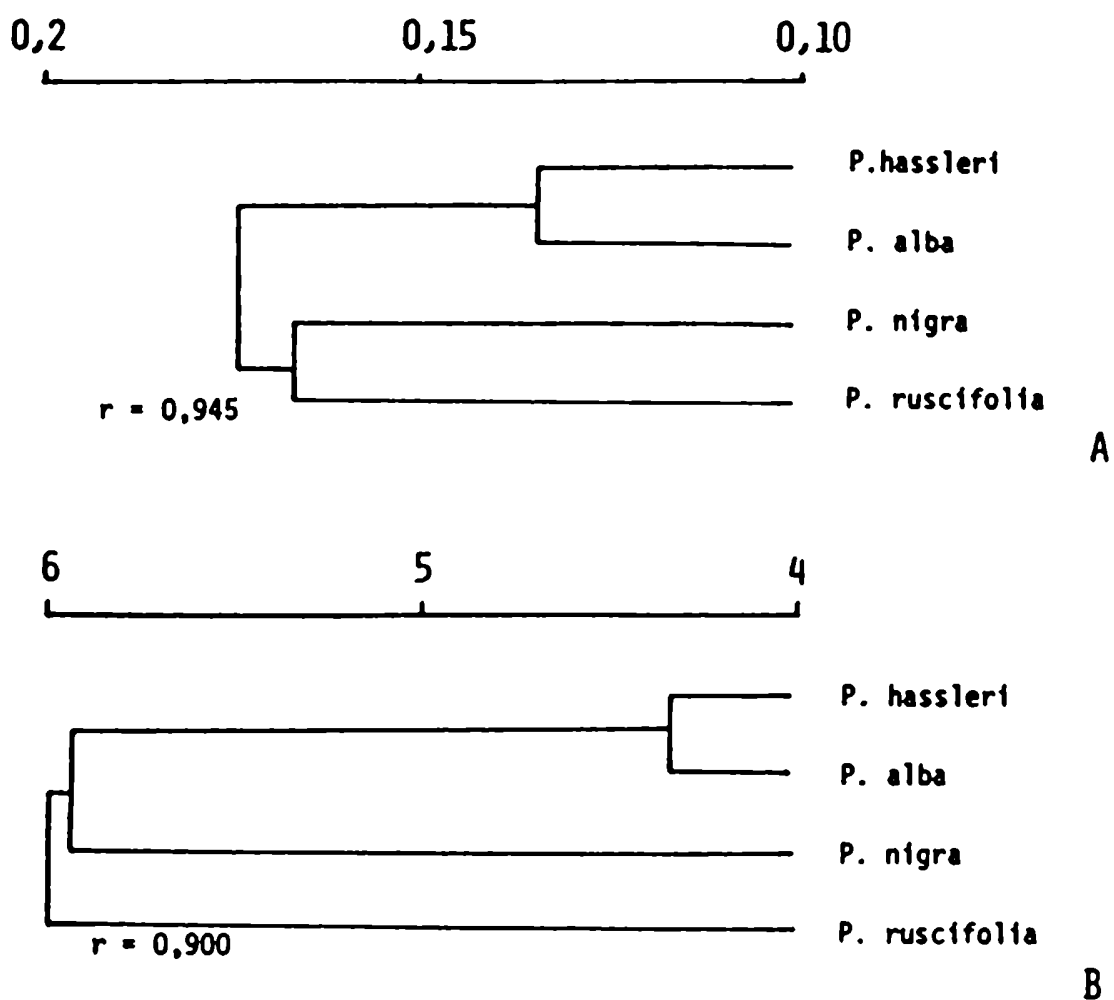


**Figura N° 24:**

Fenogramas obtenidos mediante el método de pares no pesados basados en medias aritméticas (UPGMA)

A: Fenograma basado en Distancias Taxonómicas Promedio

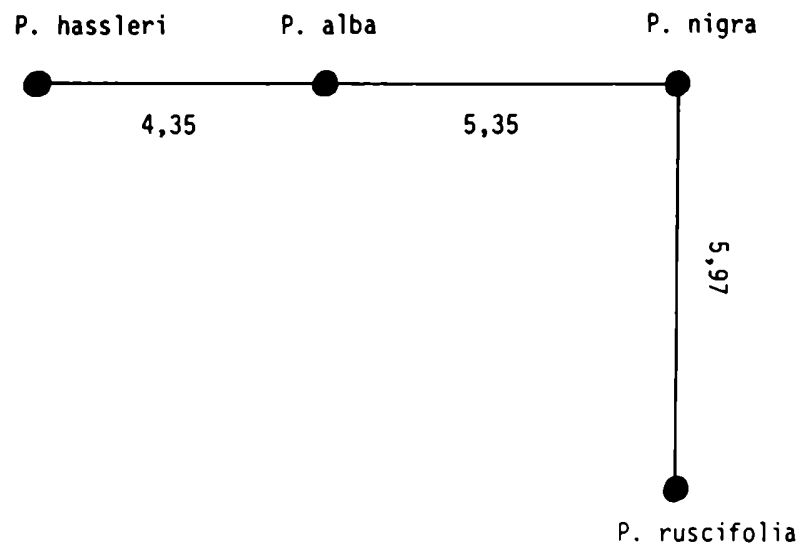
B: Fenograma basado en Distancias Manhattan



COEFICIENTE DE CONGRUENCIA  $c = 0,988$

**Figura N° 25:**

Arbol de Valor Mínimo que relaciona las cuatro especies del Chaco estudiadas.



#### 3.2.4.1.2. Una aproximación al estudio de la variabilidad intraespecífica en las cuatro especies del Chaco

Todo estudio que pretenda reflejar las relaciones entre especies, así como la variabilidad intraespecífica con el objeto de establecer posibles vías evolutivas, debería ser multidisciplinario. El resultado de aplicar una técnica bioquímica, sin tener en cuenta lo observado a campo, las características morfológicas u otras obtenidas por los más diversos métodos, puede llevar en sí mismo una gran fuente de error, dado el sesgo que los resultados por sí solos pueden imprimir a la elaboración de las conclusiones. En tres de estas cuatro especies, el análisis poblacional que se puede realizar se encuentra limitado, entonces, por la falta de bibliografía respecto de su variabilidad intraespecífica. Sólo de *P. ruscifolia*, el "vinal", que será tratado *in extenso* en el punto 3.2.4.2 (pág. 160) se cuenta con estudios previos de variación intraespecífica: morfológicos y cromatográficos (Bravo *et al.*, 1979), ecológicos (Morello *et al.*, 1971), isoenzimáticos (Saidman, 1984, 1985); los cuales permiten contar con mayor cantidad de evidencias para la elaboración de las propias conclusiones.

No por esto deja de ser interesante una evaluación del estudio electroforético de proteínas de semilla en distintas procedencias de las especies por separado y de las cuatro en su conjunto, ya que, los datos que este análisis aporta, permiten ampliar los conocimientos que se tienen, hasta el momento, de sus relaciones sistemáticas.

Los patrones polipeptídicos fueron analizados y tabulados según la frecuencia de cada banda en las distintas procedencias (Tabla N° 16, pág. 155).

La variabilidad dentro de cada procedencia fue evaluada mediante el Índice de Diversidad de Shannon ( $H'$ ) (Tabla N° 17, pág. 156).

*P. nigra* y *P. ruscifolia* presentan menores Índices de Diversidad que *P. alba* y *P. hassleri*; este resultado no es comparable con los obtenidos en los análisis isoenzimáticos, ya que no se trata de las mismas poblaciones, sin embargo coinciden en que las procedencias de *P. ruscifolia* presentan la menor variabilidad, medida en el caso de las enzimas como porcentaje de loci polimórficos y frecuencia media esperada de heterocigotas por locus (Saidman, 1985: 167).

Tanto en *P. alba* como en *P. ruscifolia* los mayores Índices de Diversidad, calculados mediante el análisis de proteínas de semilla, se obtuvieron en Santiago del Estero. Es en esta provincia donde se observa hibridación entre ellas con mayor frecuencia, pero también se trata de una procedencia con condiciones ecológicas diversas, especialmente en las características edáficas, por lo tanto, es difícil inferir con cierto grado de certeza la causa de la mayor diversidad observada en esta zona.

Los fenogramas obtenidos por el método UPGMA para cada especie, en los que se relacionan las distintas procedencias de acuerdo al Índice de Distancia Taxonómica Promedio se representan en la Figura 26 (Pág. 157). Comparando los tres

fenogramas, se observa que las diferencias existentes entre procedencias de *P. alba* son menores que las que existen entre las de *P. ruscifolia* y entre las de *P. nigra*, lo cual indicaría una mayor divergencia proteica intraespecífica en estas dos últimas especies.

Por otro lado, las procedencias de Chaco y Santiago del Estero de *P. alba* están más relacionadas entre sí que ésta última con Formosa (hecho que ocurre en las otras dos especies). Esta mayor similitud podría estar relacionada con la distribución de los montes de *P. alba* que se extienden entre Chaco y Santiago del Estero, existiendo posiblemente mayor flujo génico entre estas procedencias.

Para analizar las relaciones entre procedencias de distintas especies, se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) y un Análisis de Agrupamientos (UPGMA). En la Figura Nº 27 (Pág. 158) se esquematiza la proyección de las distintas procedencias sobre los tres primeros componentes principales y el fenograma obtenido por UPGMA a partir de una matriz de Distancias Taxonómicas Promedio.

En la Figura 28 (pág. 159) se esquematiza el Arbol de Valor Mínimo basado en Distancias Manhattan sobre un plano delimitado por las dos primeras componentes principales del ACP.

Tanto en los métodos de ordenación (ACP y Arbol de Valor Mínimo), como en el de agrupamiento (UPGMA) se observan agrupadas las procedencias de cada especie o sea que las relaciones entre procedencias de una misma especie no se ven

alteradas al ser analizadas conjuntamente con las de las otras (como única excepción, en la Fig. 28, la procedencia de Salta de *P. ruscifolia* se encuentra separada del resto de las de la especie y en posición intermedia entre *P.alba* y *P.nigra*).

Los resultados del análisis electroforético implican un grado de similitud proteica mayor entre procedencias de una misma especie que entre especies en una misma procedencia, aún en el caso de *P.alba* y *P.ruscifolia* de Santiago del Estero, área donde se verificó la existencia de mayor cantidad de híbridos interespecíficos entre ambos *taxa*.

De estos resultados podría inferirse que la identidad de las especies involucradas en este grupo se mantendría por mecanismos cohesivos, independientemente de la posibilidad de flujo génico entre ellas dada la existencia de barreras de aislamiento incompletamente desarrolladas.

Tabla N° 16:

Frecuencia de aparición de las distintas fracciones polipeptídicas en las procedencias estudiadas

N° DE BANDA	<i>P. ruscifolia</i>				<i>P. alba</i>			<i>P. nigra</i>			<i>P. hassleri</i>		
	FORMOSA	CHACO	SANTIAGO	TUCUMAN	SALTA	FORMOSA	CHACO	SANTIAGO	FORMOSA	CHACO	SANTIAGO	SALTA	FORMOSA
2	0.290	0.570	0.410	0.060	0.210	0.240	0.210	0.170	0.170	0.000	0.000	0.000	0.060
3	0.530	0.390	0.470	0.820	0.290	0.480	0.330	0.280	0.420	0.220	0.360	0.430	0.410
11	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
19	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
20	0.060	0.000	0.060	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
23	0.040	0.000	0.040	0.060	0.000	0.090	0.080	0.000	0.000	0.110	0.000	0.000	0.100
27	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
28	0.040	0.000	0.020	0.000	0.070	0.050	0.080	0.000	0.000	0.000	0.180	0.000	0.000
33	0.510	0.440	0.230	0.260	0.210	0.050	0.000	0.000	0.080	0.000	0.180	0.140	0.020
37	0.820	0.830	0.830	0.590	0.860	0.670	0.830	0.720	0.750	0.330	0.820	0.710	0.810
39	0.270	0.170	0.550	0.760	0.570	0.290	0.500	0.660	0.490	0.660	0.730	0.790	0.480
45	0.100	0.130	0.060	0.260	0.070	0.050	0.040	0.000	0.000	0.110	0.000	0.000	0.100
46	0.290	0.390	0.320	0.530	0.070	0.140	0.210	0.110	0.290	0.220	0.180	0.210	0.100
49	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
51	0.140	0.000	0.150	0.000	0.000	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
53	0.060	0.040	0.130	0.060	0.000	0.000	0.000	0.000	0.040	0.110	0.090	0.070	0.030
58	0.980	0.570	0.940	1.000	0.790	0.520	0.670	0.610	0.880	0.640	0.910	0.210	0.630
60	0.940	0.610	0.890	1.000	1.000	0.760	0.920	0.780	0.750	0.660	0.820	0.430	0.750
62	0.100	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.130	0.220	0.000	0.000	0.000
71	0.860	0.700	0.710	0.290	0.210	0.240	0.290	0.440	0.750	0.550	0.820	0.790	0.330
73	0.770	0.910	0.850	0.530	0.790	0.190	0.750	0.550	0.830	0.880	1.000	0.930	0.570
78	0.140	0.170	0.380	0.410	0.790	0.330	0.500	0.550	0.170	0.220	0.180	0.290	0.440
79	0.060	0.000	0.160	0.000	0.210	0.380	0.210	0.330	0.080	0.000	0.180	0.070	0.380
80	0.250	0.090	0.320	0.530	0.150	0.620	0.420	0.500	0.130	0.110	0.000	0.070	0.400
81	0.820	0.780	0.600	0.350	0.860	0.810	0.830	0.550	0.920	0.440	0.820	0.860	0.620
82	0.310	0.090	0.080	0.290	0.210	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.380
83	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.040	0.000	0.000	0.070	0.020
84	0.140	0.480	0.090	0.060	0.000	0.000	0.000	0.000	0.040	0.000	0.270	0.000	0.270
88	0.180	0.000	0.360	0.120	0.000	0.430	0.540	0.500	0.080	0.000	0.090	0.000	0.290
93	0.200	1.000	0.770	0.880	0.640	0.190	0.250	0.440	0.830	1.000	0.550	0.500	0.430
95	0.860	0.960	0.830	1.000	0.500	0.710	0.710	0.720	0.580	0.220	0.820	0.790	0.510
100	0.980	1.000	1.000	1.000	1.000	0.950	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
102	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
103	0.690	0.610	0.580	0.820	0.570	0.410	0.420	0.500	0.460	0.110	0.640	0.290	0.600
106	0.200	0.170	0.320	0.350	0.430	0.470	0.420	0.610	0.630	0.550	0.910	0.930	0.620
107	0.510	0.260	0.680	0.590	0.150	0.410	0.250	0.390	0.540	0.000	0.450	0.140	0.560
109	0.590	0.300	0.660	0.880	0.360	0.410	0.290	0.280	0.080	0.220	0.180	0.000	0.220
111	0.000	0.000	0.000	0.120	0.000	0.070	0.000	0.000	0.130	0.000	0.090	0.290	0.110
117	0.330	0.300	0.430	0.000	0.430	0.210	0.230	0.440	0.250	0.110	0.270	0.210	0.220
122	0.080	0.040	0.400	0.000	0.290	0.210	0.090	0.390	0.290	0.000	0.090	0.070	0.430
124	0.940	0.960	0.770	0.650	0.210	0.500	0.410	0.610	0.130	0.440	0.550	0.500	0.510
125	0.840	0.960	0.640	0.940	0.360	0.290	0.360	0.440	0.080	0.330	0.550	0.360	0.480
133	0.350	0.520	0.430	0.350	0.430	0.140	0.180	0.170	0.330	0.000	0.360	0.500	0.510
135	0.060	0.000	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.170	0.040	0.000	0.000	0.000	0.020
137	0.430	0.520	0.450	0.590	0.500	0.360	0.360	0.440	0.380	0.110	0.820	0.070	0.240
139	0.040	0.090	0.020	0.000	0.070	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
140	0.220	0.480	0.530	0.120	0.150	0.070	0.000	0.170	0.000	0.000	0.090	0.140	0.510
141	0.080	0.000	0.040	0.000	0.070	0.000	0.000	0.000	0.210	0.110	0.360	0.290	0.060
143	0.430	0.220	0.470	0.350	0.640	0.430	0.320	0.440	0.500	0.220	0.820	0.930	0.380

Tabla N° 17:

Variabilidad en las distintas procedencias de las cuatro especies estudiadas.

ESPECIE	PROCEDENCIA	No TOTAL BANDAS	BANDAS CONST.	% CONST	INDICE H'
<i>P. ruscifolia</i>	FORMOSA	47	4	0,085	0,561840
	CHACO	37	6	0,162	0,593307
	SANTIAGO	45	5	0,111	0,630986
	SALTA	38	6	0,158	0,629953
	TUCUMAN	37	8	0,216	0,578343
<i>P. alba</i>	FORMOSA	39	4	0,103	0,664930
	CHACO	35	5	0,143	0,670259
	SANTIAGO	34	5	0,147	0,761538
<i>P. nigra</i>	FORMOSA	40	5	0,125	0,581831
	CHACO	31	6	0,193	0,594158
	SANTIAGO	37	6	0,162	0,598987
	SALTA	35	5	0,143	0,581059
<i>P. hassleri</i>	FORMOSA	43	5	0,116	0,679679



**Figura N° 26:**

Fenogramas representativos de las distancias relativas entre las procedencias estudiadas en cada especie (Distancia Taxonómica Promedio)

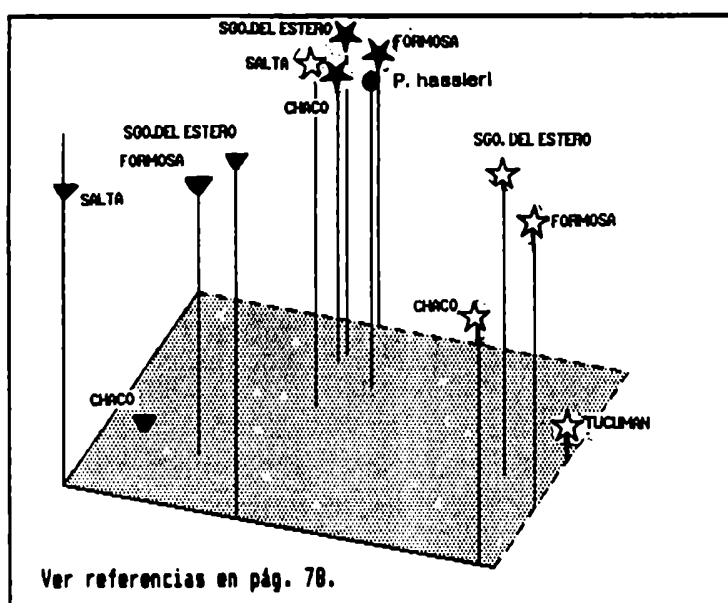


r: Coeficiente de correlación cofenético

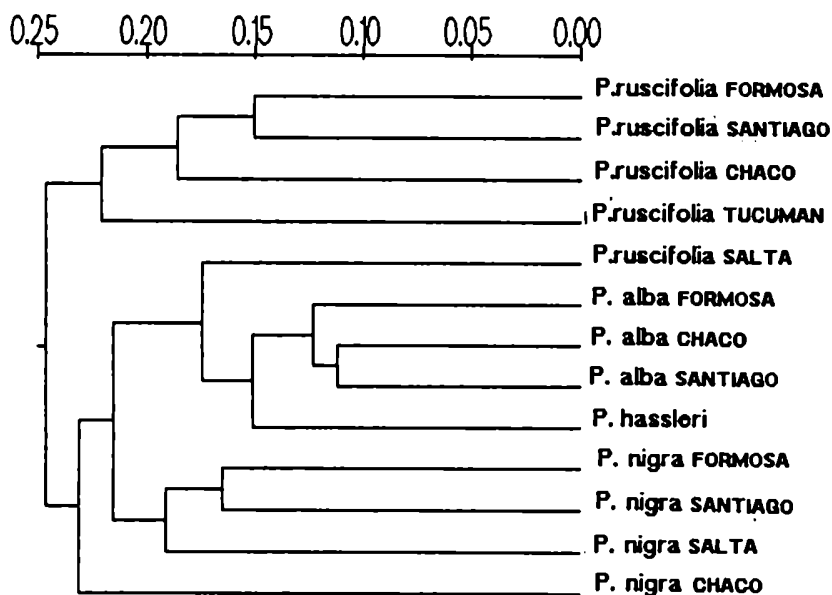
**Figura N° 27:**

**A:** Análisis de Componentes Principales: Proyección de las distintas procedencias en el espacio delimitado por las tres primeras componentes principales.

**B:** Fenograma obtenido mediante UPGMA basado en Distancias Taxonómicas Promedio.



A



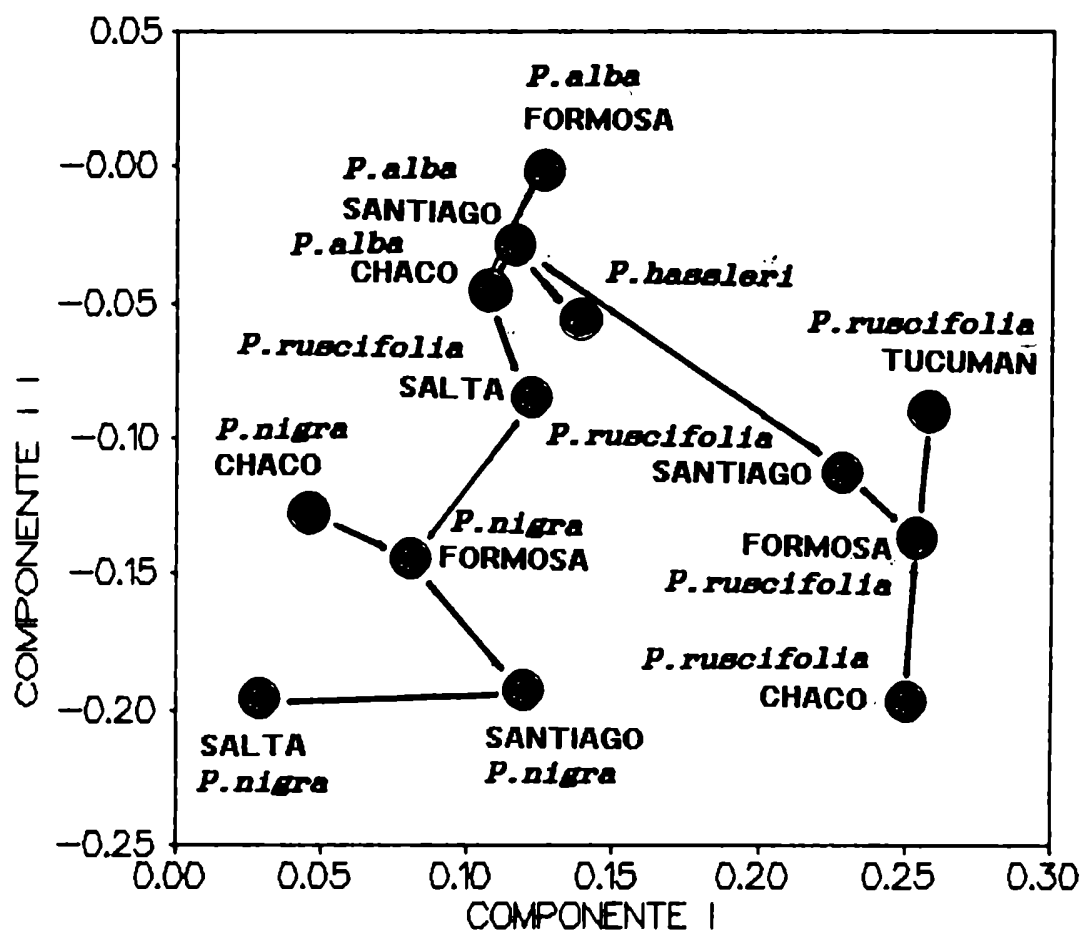
$$r = 0,78$$

$r$ : Coeficiente de correlación cofenético

B

**Figura N° 28:**

Arbol de Valor Mínimo representado sobre un plano delimitado por las dos primeras componentes principales



#### 3.2.4.2. Variabilidad intraespecifica en *Prosopis ruscifolia*:

*Prosopis ruscifolia* Griseb., el "vinal", es una especie colonizadora leñosa que habita la región N.E. de la Argentina. Su área de distribución incluye las provincias de Formosa, Chaco, Santiago del Estero, Salta y la región limítrofe entre Tucumán y Santiago del Estero (Aledaños de la localidad de 7 de Abril) que, para simplificar, denominaremos en este trabajo como Tucumán (Ver Morello et al., 1971: Fig. 4).

Muello (1939) ya señala el grave problema del vinal, proponiendo que se declare Plaga Nacional basándose en un expediente del Ministerio de Agricultura que databa de 1930. Fue recién en 1941 que, por ley, se declaró al vinal Plaga de la Agricultura. Probablemente, este reconocimiento no haya sido hecho antes, debido a que el área que ocupa el vinal en la Argentina es periférica en cuanto a la distribución de los recursos humanos y físico-productivos del país (Morello et al, 1971); pero no se conoce a ciencia cierta si se trata de una especie que haya comenzado a ocupar nuevos ambientes recién cuando el hombre empezó a alterar los ecosistemas chaqueños.

Según Morello et al. (1971) existen siete áreas con vinalares en el norte argentino, tres de las cuales pueden considerarse de endemismo, o sea, donde los vinalares siempre existieron. Estas se corresponden principalmente con áreas donde existen cambios en los cauces de los ríos; son las

zonas denominadas: Bermejo-Teuco (Prov.de Chaco), Pilcomayo (Formosa) y Salado (Santiago del Estero). Para estos autores, las áreas de colonización reciente son el llamado interfluvio formoseño y las cañadas de Salta. Al momento de realizar su estudio, no poseían datos suficientes como para determinar el origen del resto de las áreas que ocupa la especie.

*Prosopis ruscifolia* es una especie colonizadora con una gran habilidad para ocupar habitats abiertos originados, ya sea por la acción del hombre (quema, tala, agricultura, sobrepastoreo) o por factores naturales, en especial inundaciones por cambio de los cauces y desborde de los ríos (principalmente los Ríos Pilcomayo y Dulce).

Morello et al. (1971) señalan la posible existencia de ecotipos ya que indican que la estructura genética de las distintas poblaciones podría diferir, y así, esas poblaciones presentarían comportamientos ecológicos diferentes.

Morfológicamente, se ha observado variación intraespecífica (entre procedencias), particularmente en las semillas (Palacios y Bravo, 1974).

Mediante cromatografía de compuestos fenólicos de extractos foliares se pudieron diferenciar, al menos, tres procedencias de la especie, existiendo siete manchas que permiten evaluar la variabilidad a ese nivel (Bravo et al. 1979, Palacios y Bravo, 1981).

Saidman (1985), en su estudio sobre la variación enzimática en *Prosopis*, encontró, sin embargo, que las

poblaciones de Formosa y Santiago del Estero de *P. ruscifolia* poseían escasa variabilidad (medida como porcentaje de loci polimórficos y frecuencia promedio de individuos heterocigotas por locus) y no diferían mayormente en sus frecuencias alélicas, postulando, por un lado la existencia de deriva genética y por otro la de una estrategia adaptativa basada en la existencia de unos pocos genotipos fenotípicamente plásticos.

En otras especies de plantas se ha verificado variabilidad intraespecífica a nivel de proteínas de semilla (Gray et al., 1973; Comas et al., 1985; Wallace y Fairbrothers, 1986) y se ha demostrado que el patrón de albúminas totales no se ve alterado por variaciones ambientales (Ladizinsky y Hymowitz, 1979) pero sí con cambios en la constitución genética, tales como la mutación en un único gen, llegando a caracterizarse distintos mutantes de *Pisum sativum* (Wolff, 1980) y *Nigella sativa* (Data et al., 1987).

En este capítulo se muestran los resultados obtenidos en el estudio realizado dentro y entre procedencias, mediante el análisis de semillas individuales.

Se encontraron, en total, 48 bandas polipeptídicas, las que fueron numeradas de acuerdo a su movilidad catódica, comenzando por la de menor movilidad.

La Figura Nº 29 (pág. 169) es la representación esquemática de los patrones polipeptídicos de cada procedencia analizada. Dado que en cada procedencia hubo

algunas bandas constantes y otras variantes, se optó por confeccionar el electroforegrama característico como la suma de los patrones individuales hallados en cada procedencia. Las bandas en negro son las que se encuentran en más del 50% de los individuos. La numeración utilizada es la que corresponde a la tabla general de datos (Tabla Nº 1, págs. 71-76)

Del total de bandas hallado, cuatro fueron constantes en todas las procedencias (11, 27, 49 y 102). Algunas sólo fueron constantes en ciertas procedencias, como las 58 y 95 que se encontraron en todos los individuos de Tucumán, la banda 60 constante en Tucumán y Salta y la 100 que apareció en alta frecuencia en Formosa, fue constante en el resto de las procedencias.

Las bandas 19 y 62 se encontraron únicamente en Formosa; las bandas 20, 51 y 135 en Formosa y Santiago del Estero; las 28, 79 y 141 se encontraron además en Salta, estando ausentes en Chaco y Tucumán.

Las bandas 122 y 139 fueron encontradas en todas las procedencias salvo en Tucumán, donde se encontró la banda 109 (ausente en el resto de las localidades).

Las provincias de Formosa y Santiago del Estero presentaron la mayor diversidad de bandas (47 y 45 respectivamente), mientras que en Salta se observaron 38, y en Tucumán y Chaco 37.

La cantidad de bandas constantes varió para cada procedencia, presentando Formosa y Santiago del Estero menos

bandas constantes (cuatro y cinco respectivamente) que Chaco, Tucumán y Salta donde el número de bandas constantes varió entre seis y ocho.

No se verificó la existencia de bandas constantes y exclusivas de una procedencia determinada, por lo cual el estudio de la variabilidad intraespecífica se realizó sobre la base de las frecuencias observadas de cada banda proteica. Dichas frecuencias se resumen en la Tabla N° 18 (Pág. 170) El análisis de la variabilidad de cada procedencia fue realizado mediante el cálculo de los Índices Polimórfico y de Diversidad de Shannon. En la Tabla N° 19 (Pág. 171) se resumen los resultados de estos cálculos. Existe una alta correlación entre los dos índices ( $r= 0,98$ ;  $p= 0,01$ ).

Las distancias Taxonómica Promedio y Manhattan calculada sobre la base de la matriz básica de datos (Tabla N° 18) se registraron en las Tablas N° 20 (pág. 172) y 21 (pag. 173).

Sobre la base de la Tabla N° 20 se realizó un análisis de agrupamientos mediante el método de medias no ponderadas (UPGMA), el fenograma resultante se muestra en la Figura N° 30. (pág. 172)

En la Figura N° 31 (pág. 173) se esquematiza el Arbol de Valor Mínimo obtenido a partir de los datos de la Tabla N° 21. El mismo fue dibujado sobre un plano determinado por los dos primeros componentes principales resultantes del ACP.

La Figura N° 32 (pág. 174) muestra el diagrama obtenido por el Análisis de Componentes Principales, donde se ubican



las cinco procedencias de *P. ruscifolia* en un espacio tridimensional delimitado por los tres primeros componentes principales.

El vinal tiene características que le permiten colonizar diferentes habitats, especialmente aquellos ecosistemas llamados "marginales" por Morello et al. (1971), los cuales presentan alta inestabilidad, ya sea por los disturbios que ocasiona la actividad humana, como ser: talas, quemas, traslado de ganado y explotación ganadera (dada la condición endozoica de la dispersión de los frutos (Morello et al., 1971, Solbrig y Cantino, 1975) o por fenómenos naturales tales como los de rellenamiento de bajos y migraciones de cauces ya que la diseminación de las semillas se puede también producir por flotación en el agua (Solbrig y Cantino, op. cit.) *Prosopis ruscifolia* tiene las características generales que se indican para toda colonizadora exitosa (capacidad para ocupar ambientes diversos, abundancia local, amplia distribución regional y transregional (Morello et al., op. cit) pero carece de algunas, tales como la reproducción vegetativa y la regeneración de porciones de raíces que Baker (1965) considera en una maleza perenne ideal.

Sin embargo, como planta colonizadora leñosa, ha invadido diferentes áreas con diversas condiciones ambientales (edáficas, climáticas, etc.) de la Provincia Fitogeográfica Chaqueña .

La mayoría de los ejemplares estudiados en Formosa fueron recolectados en las zonas correspondientes al llamado "interfluvio formoseño" por Morello et al (1971), zona considerada de colonización reciente. Los del Chaco corresponderían a una de las zonas endémicas. Observaciones hechas en el campo nos indican que la procedencia de 7 de Abril (Tucumán) es una zona pequeña, la cual parece haber sido colonizada probablemente recién a fines del siglo pasado. En Santiago del Estero se ha recolectado en distintas zonas pero, en general, en el area muestreada se encuentran poblaciones relativamente jóvenes o sea que no se corresponderían con la zona endémica de Morello et al.(1971). La zona de Salta parece estar constituida por pequeños relictos más que por una población continua como la señalada por Morello et al (op.cit.)(Palacios, obs. pers)

Los datos aportados por este estudio de variabilidad que se resumen en la Tabla N° 19 (pág. 171) coinciden con los obtenidos a campo y estarían en acuerdo en los casos de Formosa, Chaco y Tucumán con lo indicado por Brown y Marshall (1981) en cuanto a que las poblaciones jóvenes de especies colonizadoras poseerían poca variabilidad, probablemente debido a un efecto fundador (Nei et al., 1975) y que su desarrollo a partir de esta etapa inicial conduciría a un aumento de la diversidad genética (McNeill, 1976).

En cuanto a la procedencia de Santiago del Estero que presenta una alta riqueza de bandas y la mayor diversidad, calculada según  $H'$ , como ya dijimos constituye una muestra

heterogénea en cuanto a habitats y microhabitats por lo cual, si bien, en general, la zona sería de colonización reciente, la mayor variabilidad encontrada podría ser explicada por la heterogeneidad ambiental. La presencia de diferentes "parches" ambientales (probablemente determinados por las condiciones edáficas: presencia de suelos "negros" y "blancos") podría además dar lugar a que la selección diversificadora actúe manteniendo esa variabilidad.

Si consideramos los datos obtenidos a nivel de patrones proteicos de los individuos coleccionados en la provincia de Salta, la relativamente alta diversidad encontrada podría deberse a que dichos individuos proviniesen de poblaciones de alguna antigüedad y la reducida riqueza de bandas podría deberse a una reducción en número de dichas poblaciones. Las observaciones hechas a campo indican que, efectivamente, en esta zona, el vinal ocuparía pequeñas áreas, o sea que constituiría poblaciones relictuales que actualmente se encuentran en regresión, siendo invadidas por otras comunidades vegetales, más que zonas de colonización reciente como postulan Morello et al.(1971).

La variabilidad encontrada entre las distintas procedencias se evidencia tanto en riqueza de bandas como en la frecuencia de ciertas bandas.

De las Figuras 30 (pág. 172), 31 (pág. 173) y 32 (pág. 174) se puede deducir que las procedencias que presentan mayor homología proteica serían las de Formosa y Santiago del Estero, a pesar de la distancia que las separa. Estas se

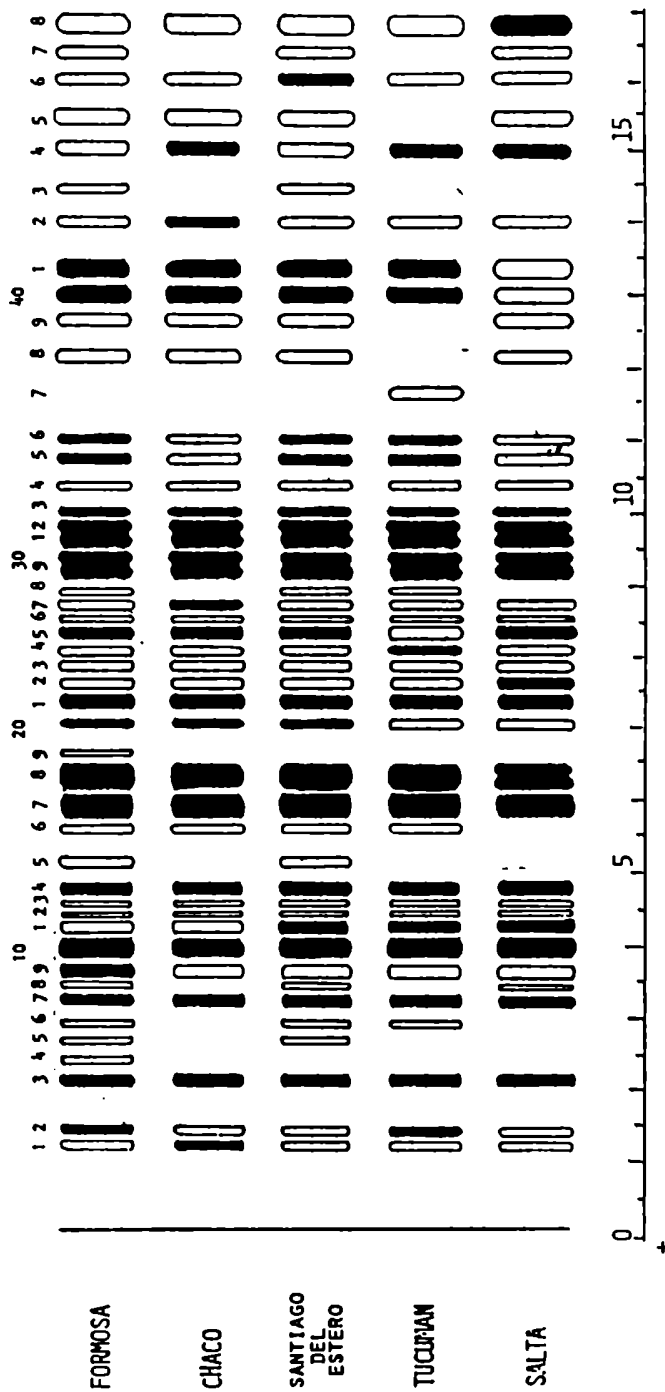
corresponderían, en parte, con las poblaciones estudiadas por Saidman (1985) quien encontró una elevada similitud a nivel de loci enzimáticos.

La mayoría de los ejemplares recolectados en Formosa corresponden a la zona del interfluvio formoseño, de reciente colonización. Asumiendo que los vinalares del Teuco-Bermejo y del Pilcomayo pudieron no estar vinculados por poblaciones puente, una diferenciación como la encontrada entre las poblaciones de Formosa y Chaco sería esperable si aquéllas que ocuparon la región central formoseña fueron originadas de alguna manera a partir de individuos provenientes del Pilcomayo, teoría bastante consistente con los registros de desvíos de cauce de los ríos que en la zona se han dado generalmente de norte a sur (Castellanos, 1975).

Los resultados aquí expuestos indican que existe correlación entre la diferenciación electroforética y las procedencias geográficas, lo cual, indirectamente, señalaría cierta variación genética intraespecífica que bien podría asociarse a la existencia de ecotipos en *Prosopis ruscifolia*.

**Figura N° 29:**

Representación esquemática de los patrones polipeptídicos característicos de las distintas procedencias. El 0 marca el lugar de siembra.



(Las bandas 1 a 48 se corresponden correlativamente con las numeradas 2 a 143 en la Tabla 18)

Tabla N° 18:

Matriz básica de datos: Frecuencias observadas de las bandas en cada una de las procedencias analizadas de *P. ruscifolia*.

PROCEDENCIA	N° DE BANDA								
	2	3	11	19	20	23	27		
FORMOSA	0,29	0,53	1,00	0,02	0,06	0,04	1,00		
CHACO	0,57	0,39	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00		
SGO. DEL ESTERO	0,41	0,47	1,00	0,00	0,06	0,04	1,00		
TUCUMAN	0,06	0,82	1,00	0,00	0,00	0,06	1,00		
SALTA	0,21	0,29	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00		
	28	33	37	39	45	46	49	51	53
	58								
	0,04	0,51	0,82	0,27	0,10	0,29	1,00	0,14	0,06
	0,00	0,44	0,83	0,17	0,13	0,39	1,00	0,00	0,04
	0,02	0,23	0,83	0,55	0,06	0,32	1,00	0,15	0,13
	0,00	0,26	0,59	0,76	0,26	0,53	1,00	0,00	0,06
	0,07	0,21	0,86	0,57	0,07	0,07	1,00	0,00	0,00
	60	62	71	73	78	79	80	81	82
	84								
	0,94	0,10	0,86	0,77	0,14	0,06	0,25	0,82	0,31
	0,61	0,00	0,70	0,91	0,17	0,00	0,09	0,78	0,09
	0,89	0,00	0,71	0,83	0,38	0,16	0,32	0,60	0,08
	1,00	0,00	0,29	0,53	0,41	0,00	0,53	0,35	0,29
	0,79	0,79	0,21	0,15	0,86	0,21	0,00	0,00	0,64
	88	93	95	100	102	103	106	107	109
	111								
	0,18	0,20	0,86	0,98	1,00	0,69	0,20	0,51	0,59
	0,00	1,00	0,96	1,00	1,00	0,61	0,17	0,26	0,30
	0,36	0,77	0,83	1,00	1,00	0,58	0,32	0,68	0,66
	0,12	0,88	1,00	1,00	1,00	0,82	0,35	0,59	0,88
	1,00	1,00	0,57	0,43	0,15	0,36	0,00	0,43	0,29
	117	122	124	125	133	135	137	139	140
	141								
	0,33	0,08	0,94	0,84	0,35	0,06	0,43	0,04	0,22
	0,30	0,04	0,96	0,96	0,52	0,00	0,52	0,09	0,48
	0,43	0,40	0,77	0,64	0,43	0,02	0,45	0,02	0,53
	0,00	0,00	0,65	0,94	0,35	0,00	0,59	0,00	0,12
	1,00	0,00	0,21	0,36	0,43	0,00	0,50	0,07	0,15

143

0,43  
0,22  
0,47  
0,35  
0,64

NOTA: Las bandas fueron numeradas en concordancia con la Tabla N° 1 (Pág. 71 - 76).

Tabla N° 19 :

Variabilidad dentro de cada procedencia de *P. ruscifolia*.

PROCEDENCIA	NUMERO TOTAL DE BANDAS	NUMERO DE BANDAS CTES.	% BANDAS CONSTANTES	INDICE H'	INDICE POLIMORFICO
FORMOSA	47	4	0,085	0,561840	0,1242829
CHACO	37	6	0,162	0,593307	0,1364675
SGO. DEL ESTERO	45	5	0,111	0,630986	0,1459844
TUCUMAN	37	8	0,216	0,578343	0,1334216
SALTA	38	6	0,158	0,629953	0,1447000

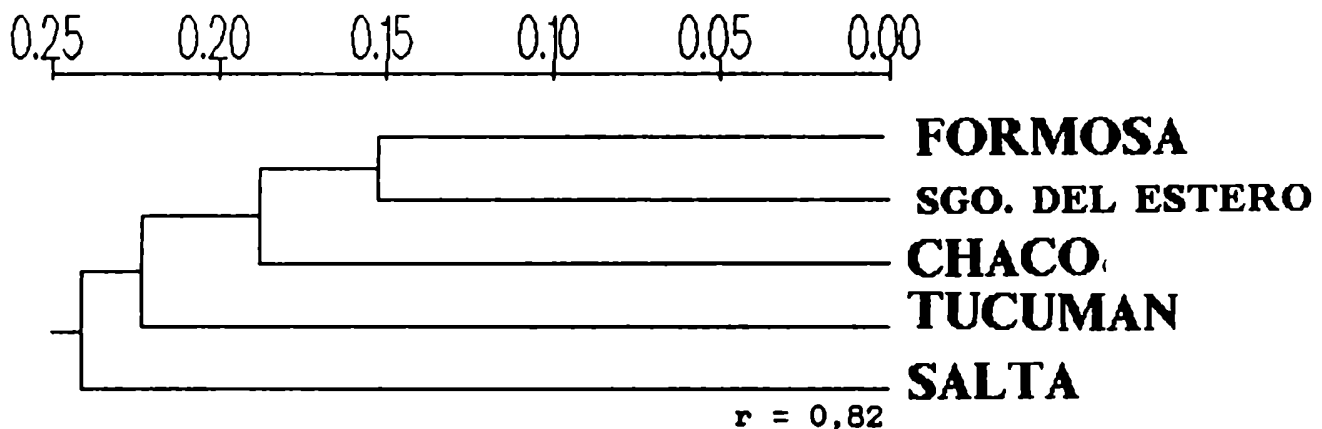
Tabla N° 20:

Matriz de distancias (Distancias Taxonómicas Promedio)

	<i>P. ruscifolia</i> FORMOSA	<i>P. ruscifolia</i> CHACO	<i>P. ruscifolia</i> SANTIAGO	<i>P. ruscifolia</i> TUCUMAN	<i>P. ruscifolia</i> SALTA
FORMOSA	0.000				
CHACO	0.188	0.000			
SANTIAGO	0.152	0.188	0.000		
TUCUMAN	0.218	0.257	0.195	0.000	
SALTA	0.240	0.263	0.203	0.257	0.000

Figura N° 30:

Fenograma obtenido a partir de la Matriz de Distancias N° 20 por el método de medias aritméticas no ponderadas (UPGMA).



r: Coeficiente de correlación cofenético



**Tabla N° 21:**

Matriz de distancias (Distancias Manhattan Promedio)

	<i>P. ruscifolia</i> FORMOSA	<i>P. ruscifolia</i> CHACO	<i>P. ruscifolia</i> SANTIAGO	<i>P. ruscifolia</i> TUCUMAN	<i>P. ruscifolia</i> SALTA
FORMOSA	0.000				
CHACO	0.123	0.000			
SANTIAGO	0.102	0.135	0.000		
TUCUMAN	0.153	0.184	0.148	0.000	
SALTA	0.181	0.174	0.135	0.184	0.000

**Figura N° 31:**

Arbol de Valor Mínimo, representado sobre los dos primeros componentes obtenidos por un Análisis de Componentes Principales.

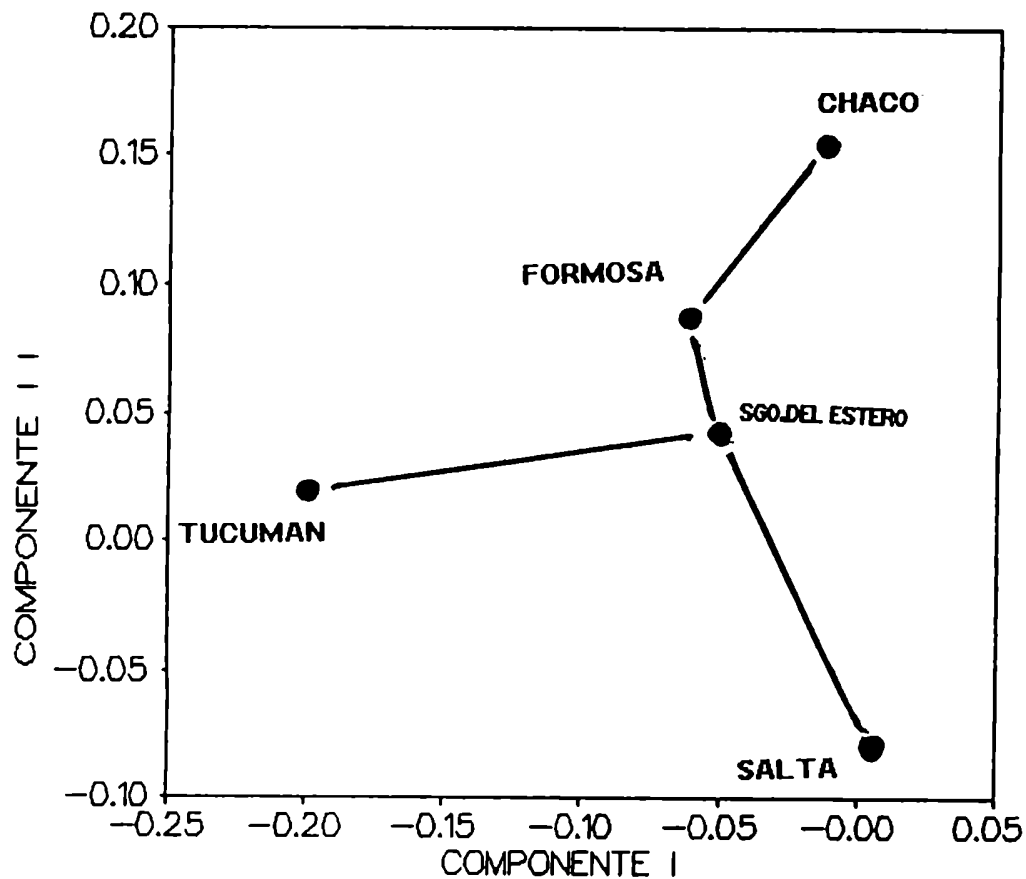
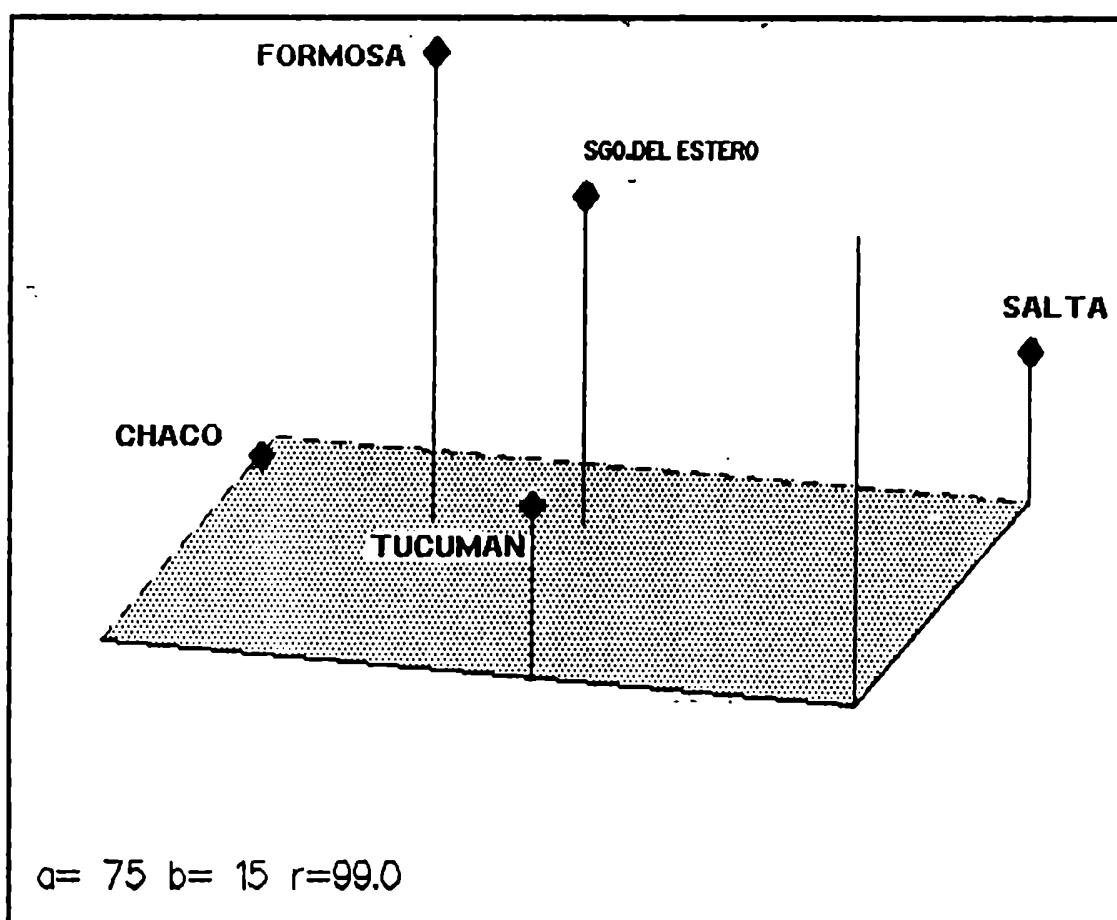


Figura N° 32:

Proyección tridimensional de las procedencias (OTU) de *P. ruscifolia*, sobre los primeros tres componentes principales.



**RESUMEN**

## RESUMEN

En este trabajo se estudió la variación en las proteínas seminales de veintisiete especies pertenecientes a las tres secciones americanas del género *Prosopis* L. (Fam. Leguminosae, Subfam. Mimosoideae). Estas son: Sección Strombocarpa, Serie Strombocarpae: *P. palmeri*, *P. torquata*, *P. strombulifera*, *P. reptans*, *P. burkartii*; Ser. Cavenicarpae: *P. tamarugo*, *P. ferox*; Sección Monilicarpa: *P. argentina*; Sección Algarobia, Ser. Sericanthae: *P. kuntzei*; Ser. Ruscifoliae: *P. ruscifolia*, *P. hassleri*; Ser. Pallidae: *P. rubriflora*, *P. pallida*, *P. affinis*; Ser. Chilenses: *P. chilensis*, *P. juliflora*, *P. nigra*, *P. caldenia*, *P. flexuosa*; *P. alpataco*, *P. glandulosa*, *P. velutina*, *P. pugionata*; Serie Denudantes: *P. denudans*, *P. ruizleali*, *P. castellanosi*. Se estudiaron también los patrones electroforéticos de *Prosopidastrum globosum*, con el objeto de analizar los límites genéricos.

Fue realizada la electroforesis horizontal en placas de gel de poliacrilamida de las proteínas totales (fracción acuosa) de semilla. Los patrones polipeptídicos de las veintiocho especies fueron analizados y tabulados según el criterio de presencia-ausencia con el objeto de evaluar las variaciones a nivel específico y supraespecífico. En los casos en que el diseño de muestreo lo permitió, se realizó el análisis de semillas individuales de varios individuos en distintas poblaciones de una especie con el objeto de verificar si existe variación intra e interpoblacional de las proteínas seminales en especies del

*género Prosopis.*

Distintos métodos de análisis numéricos y gráficos fueron aplicados a los datos (Análisis de Componentes Principales, de Coordenadas Principales, de Agrupamiento, Arbol de Valor Mínimo, diagramas poligonales) con el objeto de analizar las relaciones entre poblaciones o especies. Los valores de aislamiento y de afinidad de grupo de las distintas especies fueron calculados para evaluar la delimitación de los distintos rangos clasificatorios.

Los resultados indican que:

- 1.- La electroforesis de proteínas seminales constituye una herramienta valiosa para apoyar estudios sistemáticos llevados a cabo en el género *Prosopis*. Su bajo costo aventaja a los estudios isoenzimáticos, teniendo en cuenta que los resultados obtenidos acerca de las afinidades entre especies o sea la estructura taxonómica generada no varía según sea la técnica empleada.
- 2.- Los individuos analizados mediante electroforesis de proteínas seminales pueden ser asignados inequívocamente a la sección a la que pertenecen según el sistema de Burkart (1976) ya que las tres secciones americanas presentan bandas características y constantes que actúan como marcadoras.
- 3.- El presente estudio avala la separación de *P. argentina* en una sección diferente de *Strombocarpa* y *Algarobia*, dados los valores de aislamiento y de afinidad de grupo (17,39 y 668,5 respectivamente) y la presencia de un patrón electroforético característico con presencia de bandas marcadoras.
- 4.- Los valores de aislamiento y de afinidad de grupo corroboran los límites genéricos y las divisiones seccionales con

algunas salvedades:

a) *P. palmeri* que es considerada por Burkart en su monografía como un miembro de la sección Strombocarpa, presenta valores de aislamiento (61,53%) y de afinidad de grupo (229,1) similares a los de una especie de otro género: *Prosopidastrum globosum* (V.A = 63,15; A.G.= 282,5) por lo cual debería revisarse su posición en el sistema.

b) *P. kuntzei* presenta como valor de aislamiento: 31,82 y la afinidad de grupo es de 510,9, lo cual implica una divergencia a nivel de proteínas de semilla comparable con la que presenta *P. argentina* con respecto al resto de las especies de Algarobia.

c) Lo mismo ocurre con los representantes de la serie Denudantes, cuyos valores de aislamiento y afinidad de grupo oscilan entre 16,67 y 39,13 y 447,4 y 571,0 respectivamente. Estos valores se corresponden con los límites seccionales.

- 5.- Las series en que se encuentran divididas las secciones en el sistema de Burkart, no parecen constituir grupos naturales, según lo muestra la electroforesis de proteínas de semilla.
- 6.- Se aportan datos que apoyan la presunción del origen de *P. burkartii* por hibridación entre *P. strombulifera* y *P. tamarugo*.
- 7.- Las distintas especies del género deben haber seguido caminos evolutivos diferentes, involucrando a veces la hibridación, en cuyo caso, la divergencia a nivel de proteínas de semilla en grupos de especies taxonómicas bien definidas sería muy bajo (como se observa en el complejo *P. alba*, *P. nigra*, *P.*

*hassleri*, *P. ruscifolia*; donde las especies presentan una homología proteica muy elevada que, unida a otras evidencias, llevan a pensar que, biológicamente, deberían ser consideradas como semiespecies simpátricas.) En otros grupos, la divergencia genética calculada sobre la base de las proteínas de semilla es grande, como en las especies de la serie Denudantes. Todas ellas constituyen endemismos mas o menos restringidos que pudieron conducir a una divergencia génica alopátrica y adaptación a ambientes especiales.

- 8.- Los estudios electroforéticos de proteínas llevados a cabo mediante el análisis de semillas individuales permiten estudios de variabilidad intra e interpoblacional en *Prosopis*, obteniéndose resultados que permiten arribar a conclusiones congruentes con las que dan las observaciones a campo y, en el caso de conocerse, la historia de la especie.

*Ing. A. L.*

Palacios'



**BIBLIOGRAFIA**



**BIBLIOGRAFIA:**

- Abbott, H.C. 1886. Certain chemical constituents of plants considered in relation to their morphology and evolution. *Bot.Gaz.*11:270-272.
- Aiassa, D., M.Ibáñez, M.Di Renzo, B.Spiniak y V.Ferreira. 1991. Diversidad Isoenzimática en *Echinochloa elodes*. XXII Congr. Arg. de Genética. Resúmenes:27.
- Awise, J.C. 1975. Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.* 23: 465-481.
- Baker, H.G. 1965. Characteristics and modes of origin of weeds. En Baker,H.G y G.L.Stebbins (Eds.). *The genetics of colonizing species*: 147-168.
- Ben Salem y C.Palmberg. 1985. Place and role of trees and shrubs in dry areas. En *Economic Plant for Arid Lands* 93:102. Wickens, G.E., R. Goodin y D.V.Field (Eds.).
- Bentham, H. 1875. *Prosopis*. En Revision of the suborder Mimosae. *Trans. Linn. Soc.* 30: 376-381.
- Boulter, D. 1981. Proteins of Legumes. En: *Advances in Legume Systematics*. R.M.Polhill y P.H.Raven (Eds.): 501-512.
- Bragg, L.H., J.D.Bacon, C.Mc. Millan y T.J.Mabry. 1978. Flavonoid patterns in the *Prosopis juliflora* complex. *Biochem. Syst. Ecol.*6:113-116.
- Bravo, L.D., R.A.Palacios y A.D.Burghardt. 1979. Variabilidad en *Prosopis ruscifolia*. XVII Jornadas Argentinas de Botánica. Santa Rosa (La Pampa) Resúmenes:9-10

- Britton, N.L. y J.N.Rose. 1928. Mimosaceae. North American Flora 23: 182-187.
- Brizuela, M.M., E.Zallocchi, R.A.Palacios, A.D.Burghardt, M.P.Mom, M.Rossi y S.Lewis. 1989. Sobre *Prosopis burkartii* y su posible origen híbrido. XXII Jornadas Argentinas de Botánica (Córdoba) Resúmenes: 42.
- Brown, A.H.D. y R. Marshall. 1981. Evolutionary changes accompanying colonization in plants, en Scudder, G.C.E., Reveal, J.L. Evolution Today. Proceeding of the second international congress of systematic and evolutionary biology: 351-363.
- Burghardt, A.D. 1982. Estudios electroforéticos en el género *Prosopis* (Leguminosae). XIII Congreso de la Soc. Arg. de Genética (La Plata). Resúmenes: 74.
- Burghardt, A.D. 1989. Un análisis sobre la ubicación taxonómica de *Prosopis palmeri* (Leguminosae) utilizando evidencias electroforéticas. XXII Jornadas Arg. de Botánica (Córdoba). Resúmenes: 43.
- Burghardt, A.D. 1990. Electrophoretic characterization of the american sections of *Prosopis* (Leguminosae). Inédito.
- Burghardt, A.D. 1992. Las especies de la sección Algarobia del género *Prosopis* (Leguminosae), sus relaciones a través de análisis electroforéticos de proteínas de semilla. XXIII Congr. Arg. de Genética (Pergamino). Resúmenes: 18.

- Burghardt, A.D. y R.A.Palacios. 1981. Caracterización electroforética de algunas especies de *Prosopis* (Leguminosae). XII Congr. Arg. de Genética (Salta). Resúmenes: 11.
- Burghardt, A.D. y R.A.Palacios. 1984. Variabilidad electroforética en cuatro especies de *Prosopis* (Leguminosae). XV Congr. Arg. de Genética (Corrientes). Resúmenes: 65.
- Burghardt, A.D. y R.A.Palacios. 1988. Sobre el posible origen híbrido de *Prosopis burkartii*. XIX Congr. Arg. de Genética (S.S. de Jujuy). Resúmenes: 32.
- Burghardt, A.D. y R.A.Palacios. 1989. Variabilidad en *Prosopis ruscifolia*. Un estudio electroforético de proteínas seminales. XX Congr. Arg. de Genética (Bahía Blanca). Resúmenes: 29.
- Burghardt, A.D. y R.A.Palacios. 1990. Estudio electroforético de proteínas seminales en *Prosopis* (Secc. Algarobia, serie Denudantes). XXI Congr. Arg. de Genética (Concepción del Uruguay). Resúmenes 43.
- Burghardt, A.D. y R.A.Palacios. 1991. Estudio electroforético en cuatro especies del género *Prosopis* (Leguminosae). Bol. Soc. Arg. de Botánica 27 (1-2):43-48.
- Burghardt, A.D. y R.A.Palacios. 1991. Variabilidad Intraespecífica en cuatro especies de *Prosopis* (Leguminosae) XXII Congr. Arg. de Genética (San Fernando del Valle de Catamarca) Resúmenes: 50.

- Burkart, A. 1940. Materiales para una monografía del género *Prosopis* (Leguminosae). Darwiniana 4: 57-128.
- Burkart, A. 1941. Nuevas especies de Leguminosas sudamericanas. Darwiniana 5: 66-70
- Burkart, A. 1952. Las Leguminosas Argentinas Silvestres y Cultivadas. 2º Ed. ACME. Buenos Aires.
- Burkart, A. 1964. Leguminosas Nuevas o Críticas, VI. Darwiniana 13: 428-448.
- Burkart, A. 1976. A monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae. Subfam. Mimosoideae). Jour. Arnold Arboretum 57(3):217-149 y 57(4):450-525.
- Burley, J. y P. Von Carlowitz. 1983. Multipurpose tree germplasm. Proceeding of a Planning Workshop to Discuss International Cooperation. Washington D.C. U.S.A.
- Caccavari de Filice, M.A. 1972. Granos de Polen de Leguminosas de la Argentina II. Subfam. Mimosoideae; Tribu Adenantherae. Rev. Museo Arg. Cs. Naturales B. Rivadavia. 4: 821-320.
- Cain, A.J. y G.A. Harrison. 1958. An Analysis of the taxonomist's Judgement of Affinity. Proc.Zool.Soc.Lond. 131:85. En Crisci J.V. y M.F. López Armengol.1983. Introducción a la Teoría y Práctica de la Taxonomía Numérica. Serie Biología. Monografía N°26. O.E.A.
- Carman, N.J. 1973. Systematic and ecological investigations in the genus *Prosopis* (Mimosaceae) emphasizing the natural products chemistry. Ph.D. Thesis. Univ. of Texas, Austin.

- Carman, N.J. 1977. Cap. 3. Patterns of Variation. Variation in the natural products chemistry. En "Mesquite. Its Biology in Two Desert Scrub Ecosystems" B.B.Simpson (Ed.) Dowden, Hutchinson & Ross Inc. Stroudsburg. Pennsylvania:50-54.
- Carman, N.J., S.F.Dossaji y T.J. Mabry. 1974. A population survey of aminoacids in *Prosopis* species from North and South America. *Biochem. System. Ecol.* 2:73-74.
- Carman, N.J. y T.J. Mabry. 1975. Disjunction of *Prosopis reptans* and the origin of the North American populations. *Biochem. System. Ecol.* 3:19-23.
- Castellanos, Alfredo. 1975. Cuenca potamográfica del Río de la Plata. En Sociedad Argentina de Estudios Geográficos (GAEA). Geografía de la República Argentina. Tomo 7. 2º Parte: Hidrografía. Buenos Aires.
- Castro, M.A. 1989. Estructura y Ultraestructura del leño secundario de especies argentinas del género *Prosopis* L.(Leguminosae) Tesis Doctoral. Fac. de Cs. Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
- Cohen, R., J.M.Cei y V.G.Roig. 1967. Ensayos preliminares con técnicas de precipitinas por difusión en gel de agar sobre afinidades proteínicas en el género *Prosopis* Rev. Fac. Cs. Agrarias. Univ. Nac. Cuyo 13:29-41.
- Comas, C.I., J.H.Hunziker y J.V.Crisci. 1979. Species relationships in *Bulnesia* as shown by seed protein electrophoresis. *Biochem. System. Ecol.* 7:303-308.

- Comas, C.I., A.D.Burghardt y J.H.Hunziker. 1984. Estudio electroforético de proteínas seminales en *Bulnesia retama* y *B.chilensis* y su relación con las otras especies del género. *Darwiniana* 25(1-4):227-234.
- Crisci, J.V. y M.F. López Armengol. 1983. Introducción a la Teoría y Práctica de la Taxonomía Numérica. Serie Biología. Monografía Nº 26. O.E.A.
- Crisci, J.V. y T.F.Stuessy. 1980. Determining Primitive Character States for Phylogenetic Reconstruction. *Systematic Botany* 5 (2): 112-135.
- Cronquist, A. 1957. *Bull Jard. Bot. Bruselles* 27: 13-40. En Harborne, J.B. y B.L.Turner. 1984. *Plant Chemosystematics*. Academic Press. London.
- Cronquist, A. 1988. *The Evolution and Classification of Flowering Plants*. 2º Edición. The New York Botanical Garden. Bronx.N.Y.
- Cherry, J.P., F.R.H. Katterman y J.E. Endrizzi. 1969. Comparative studies of seeds proteins of species of *Gossypium* by gel electrophoresis. *Evolution* 24:431-447.
- Cherry, J.P., F.R.H. Katterman y J.E. Endrizzi. 1971. A comparative study of seeds proteins of allopolyploids of *Gossypium* by gel electrophoresis. *Can. J. Genet. Cytol.* 13:155-158.
- Datta, A.K., J.L.Das y A.K.Biswas. 1987. Electrophoretic characterization and evaluation of proteins in control and mutant lines of *Nigella sativa*. *Cytologia*. 52: 317-322.

- Desborough, S. y S.J. Peloquin. 1966. Disc electrophoresis of tuber proteins from *Solanum* species and interspecific hybrids. *Phytochemistry* 5(4): 727-733.
- Dobzhansky, T., F.J. Ayala, G.L. Stebbins y J.W. Valentine. 1980. *Evolución*. Ediciones Omega. Barcelona.
- Edmonds, J.M. y S.M. Glidewell. 1977. Acrylamide gel electrophoresis of seeds proteins from some *Solanum* (Section *Solanum*) species. *Plant. Syst. Evol.* 127:277-291.
- Ellison, W.R., R.E. Alston y B.L. Turner. 1962. Methods of presentation of crude biochemical data for systematic purposes, with particular reference to the genus *Bahia* (Compositae). *Am. J. Bot.* 49:599-604.
- F.A.O. 1980. Recursos genéticos de especies arbóreas en las zonas áridas y semiáridas. IAO, IBPGR, Roma.
- Felker, P. 1979. Mesquite, an all-purpose leguminous arid land tree. En: Ritchie, G.A. (Ed.) *New Agricultural Crops*, American Association for the Advancement of Science, Selected Symposium 38, Westview Press, Boulder, Colorado: 89-132.
- Fontdevila, A. 1987. Taxonomía y Especiación. En: *Genética en Acuicultura*. J. Espinosa de los Monteros y U. Labarta (Eds.): 77-129.

- Genise, J., R.A. Palacios, P.S. Hoc, R. Carrizo, L. Moffat, M.P. Mom, M.A. Agulló, P. Picca y S. Torregrosa. 1990. Observaciones sobre la Biología Floral de *Prosopis* (Leguminosae, Mimosoideae). II. Fases florales y visitantes en el distrito chaqueño serrano. *Darwiniana*, 30 (1-4): 71-85.
- Gianinetto, I.B., J.L.Cabrera, J.C.Oberti y H.R.Juliani. 1975. Flavonoids compounds of the genus *Prosopis* (Leguminosae) I. *Lloydia* 38(3):265.
- Gianinetto, I.B., J.L.Cabrera, J.C.Oberti y H.R.Juliani. 1976a. Flavonoids in genus *Prosopis* (Leguminosae) II. *Phytochem.* 15:1098.
- Gianinetto, I.B., J.L.Cabrera, J.C.Oberti y H.R.Juliani. 1976b. Flavonoids in genus *Prosopis* (Leguminosae) III. *Phytochem.* 15:2027.
- Gitelli, A.M., I.B.Gianinetto, J.L.Cabrera y H.R.Juliani. 1981. Flavonoides en el género *Prosopis* (Leguminosae) IV. *An. Asoc. Quím Arg.* 69:33-36.
- Gitelli, A.M., I.B.Gianinetto, J.L.Cabrera y H.R.Juliani. 1984. Flavonoids in *Prosopis*. V. *An. Asoc. Quím. Arg.* 72(5):501-504.
- González Aguilera, J.J., P. Arriaga Martitegui y A.M. Fernández-Peralta. 1986. Differentiation in the seed protein profiles of two closely related species of *Narcissus*. *Biochem. Syst. Ecol.* 14(6): 657-659.
- Grant, V. 1981. *Plant Speciation*. 2<sup>o</sup> Edición New York, Columbia Univ. Press.



- Gray, J.R., D.E.Fairbrothers y J.A.Quinn. 1973. Biochemical and anatomical population variation in the *Danthonia sericea* complex. Bot. Gaz. 134:166-173.
- Habit, M.A. 1981. *Prosopis tamarugo*: arbusto forrajero para zonas áridas. Estudio F.A.O.: Producción y Protección Vegetal 1:143.
- Harborne, J.B. y B.L.Turner. 1984. Plant Chemosystematics. Academic Press. London.
- Hamrick, J.L. 1979. Genetic variation and longevity. En: Solbrig, O.T., G.B.Johnson y P.H.Raven (Eds.). Topics in Plant Population Biology. Columbia University Press, N.Y.: 85-113.
- Hennig, W. 1968. Elementos de una Sistemática Filogenética. Eudeba, Buenos Aires.
- Heeslop-Harrison, J. 1963. Methods of Classical Plant Taxonomy. En Swain T. 1963. Chemical Plant Taxonomy. Academic Press. London. NY: 17-40.
- Holmgren, P.K., W.Keuken y E. Schofield. 1981. Index Herbariorum. Part 1. The Herbaria of the World. En Regnum Vegetabile. Vol.106. Utrecht, Netherlands. 7ª Edición.
- Hunziker, J.H. 1967. Analysis of phylogenetic affinities and differentiation in South american *Agropyron* by cytogenetics and protein electrophoresis. Ciencia e Cultura 9 (1): 199-217.

- Hunziker, J.H. 1969. Molecular data in Plant Systematics. Systematic Biology. Proceedings of an International Conference Nat. Acad. of Sciences Washington D.C.: 280-312.
- Hunziker, J.H. 1971. El uso simultáneo de datos citogenéticos y moleculares en taxonomía experimental. Recientes Adelantos en Biología: 129-137.
- Hunziker, J.H., L.Poggio, C.A.Naranjo, R.A.Palacios y A.B.Andrada. 1975. Cytogenetics of some species and natural hybrids in *Prosopis* (Leguminosae) Can. J. Genet. Cytol.. 17:253-262.
- Hunziker, J.H., C.A.Naranjo, R.A.Palacios y L.Poggio. 1977. Cap. 3. Patterns of variation. Chromosomal cytology and hybridization. en "Mesquite. Its Biology in Two Desert Scrub Ecosystems". B.B.Simpson (Ed.) Dowden, Hutchinson y Ross Inc. Stroudsburg Pennsylvania:56-59.
- Hunziker, J.H., B.O.Saidman, C.A.Naranjo, R.A.Palacios, L.Poggio y A.D.Burghardt. 1986. Hybridization and genetic variation of Argentine species of *Prosopis*. Forest Ecol. and Management 18: 301-315.
- Hussain, A., W.Bushuk y K.W.Clark. 1989. Discrimination of cultivars of lentil (*Lens culinaris* Medic.) by electrophoresis of seed proteins. Can. J. Plant. Sci. 69: 243-246.
- Jain, S.K., C.O. Qualset, G.M. Bhatt y K.K. Wu. 1975. Geographical Patterns Of Phenotypic Diversity in a World Collection of Durum Wheats. Crop. Sci. 15 (5): 700-704.

- Johnson, B.L. 1972. Seed protein profile and the origin of the hexaploid wheats. *Am. J. Bot.* 59: 952-960.
- Johnson, B.L., D. Barnhart y O. Hall. 1967. Analysis of genome and species relationships in the polyploid wheats by protein electrophoresis. *Am. J. Bot.* 54(9):1089-1098.
- Johnson, B.L. y O. Hall. 1965. Analysis of phylogenetic affinities in Triticineae by protein electrophoresis. *Amer. J. Bot.* 52(5):506-513.
- Johnson, B.L. y M.M. Thein. 1970. Assessment of evolutionary affinities in *Gossypium* by protein electrophoresis. *Am. J. Bot.* 57: 1081-1092.
- Karlin, U. y R. Díaz. 1984. Potencialidades y Manejo de Algarrobos en Arido Subtropical Argentino. SECYT.
- Ladizinsky, G. y A. Hamel. 1980. Seed protein profiles of pigeon pea (*Cajanus cajan*) and some *Atylosia* species. *Euphytica* 29: 313-317.
- Ladizinsky, G. y T. Hymowitz. 1979. Seed protein electrophoresis in taxonomic and evolutionary studies (Review). *Theor. Appl. Genet.* 54:146-151.
- Lewontin, R.C. 1972. The Apportionment of Human Diversity. *En Evol. Biol.* 6:381-398.
- Lamprey, H.F. 1983. Unesco's integrated project on arid land. (IPAL): a silvopastoral approach. *En: Huxley, P.A. (Ed.) Plant research and Agroforestry. Int. Counc. Res. Agroforestry. Nairobi. Kenya:129-136.*

- Madriñan Polo, C., J.H. Hunziker y P. Cattaneo. 1976. Aceites de semilla de especies de *Prosopis* y *Prosopidastrum* (Leguminosas). An. Asoc. Quím Arg. 64:127-138.
- Magoja, J.L., I.G. Palacios y G. Pischedda. 1991. Variabilidad isoenzimática en una población de maíz con introgresión de teosinte perenne. XXII Congreso Argentino de Genética. Resúmenes:24.
- Marshall, D.R. y R.W. Allard. 1970. Isozyme polymorphisms in natural populations of *Avena fatua* and *A. barbata*. Heredity 25: 373-382.
- Martínez, S. 1984. Arquitectura foliar de las especies del género *Prosopis*. Darwiniana 25: 279-297.
- Mayr, E. 1942. Systematics and the origin of species. N.Y. Columbia Univ. Press.
- McNeill, J. 1976. The taxonomy and evolution of weeds. Weed Res. 16: 399-413.
- McNeill, J. 1979. Structural value: A concept used in the construction of taxonomic classifications. Taxon 28: 481-504.
- Montoya, S., B.O. Saidman y J.C. Vilardi. 1992. XXIII Cong. Arg. de Genética (Pergamino). Resúmenes: 18.
- Morello, J.H., N.E. Crudelli y M. Saraceno. 1971. Los Vinalares de Formosa (Rep. Arg.). La colonizadora leñosa *Prosopis ruscifolia* Gris. En La Vegetación de la República Argentina. Serie Fitogeográfica N°11. INTA. Buenos Aires.

- Muello, A.C. 1939. La plaga del vinal (*Prosopis ruscifolia*, Griseb.) que invade los campos de Chaco y Formosa. Rev. Ingeniería Agronómica. Nov.1939: 19-20
- Naranjo, C.A. y J.H.Hunziker. 1971. Adición de proteínas en anfiploides. Reunión Anual Soc. Arg. Genet. (Balcarce) Resúmenes:34.
- Naranjo, C.A., L. Poggio y S. Enus Zeiger. 1984. Phenol chromatography, morphology and cytogenetics in three species and natural hybrids of *Prosopis* (Leguminosae-Mimosoideae) Plant. Syst. Evol. 144:257-276.
- Nei, M., T.Maruyama y R. Chakraborty. 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. Evolution 29:1-10.
- Oard, M. y J.M.J.Dewet. 1983. Electrophoretic Variation of Seed Proteins among U.S. Populations of *Tripsacum dactyloides* Var. *dactyloides*. Biochem. Syst. Ecol. 11 (1): 41-45.
- Palacios, R.A., M.A. Agulló, M.P. Mom, S. Torregrosa y P. Picca. 1988. Especies del género. Taxonomía. En *Prosopis* en Argentina. Documento Preliminar. Ed. F.A.O Univ. Nac. de Córdoba y Univ. de Buenos Aires: 15-90
- Palacios, R.A. y L. Bravo. 1974. Estudio morfológico de las semillas de algunos *Prosopis* del Nordeste Argentino. Darwiniana 18: 437-452

- Palacios, R.A. y L. Bravo. 1981. Hibridación natural de *Prosopis* (Leguminosae) en la región chaqueña argentina. Evidencias morfológicas y cromatográficas. *Darwiniana* 23: 3-35.
- Palacios, R.A., M.M.Brizuela, A.D.Burghardt, E.M.Zallocchi y M.P.Mom. 1991. *Prosopis burkartii* and its possible hybrid origin. *Bull. Int. Group. for the Study of Mimosoideae* 19: 146-161.
- Palacios, R.A., C.Carmarán, L. Iglesias, P. Picca, S.Torregrosa y S.González. 1988. Taxonomía Numérica (descriptores). En *Prosopis en Argentina*. Documento Preliminar. Ed.FAO. Univ. Nac. Córdoba y Univ. Nac. de Bs. As.: 91-96.
- Palacios, R.A. y J.H. Hunziker. 1984. Revisión taxonómica del género *Bulnesia* (Zygophyllaceae). *Darwiniana* 25 (1-4): 299-320.
- Panda, R.C., O. Aniel Kumar y K.G.Raja Ran. 1986. The use of seed protein electrophoresis in the study of phylogenetic relationships in Chili pepper (*Capsicum* L.). *T.A.G.* : 665-670.
- Payne, W.W. 1976. Biochemistry and species problems in *Ambrosia* (Asteraceae, Ambrosiae). *Plant. Syst. Evol.* 125: 169-178.
- Pielou, E.C. 1977. *Mathematical Ecology*. John Wiley & Sons. N.Y.
- Poole, R.W. 1974. *An Introduction to Quantitative Ecology*. Mc. Graw Hill. N.Y.

- Prim, R.C. 1957. Shortest connection networks and some generalizations. *Bell. Syst. Tech. J.* 36: 1389.
- Raven, P.H. 1985. Modern Aspects of the Biological Species in Plants. En Iwatsuki, K., P.H. Raven y W.J. Block. *Modern Aspects of Species: 11-29.* University of Tokio Press. Japón.
- Raymond, S. y L. Weintraub. 1959. Acrylamide gel as supporting medium for zone electrophoresis. *Science* 130: 711.
- Rohlf, F.J. 1988. NTSYS-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis Sistem. Versión 1.40 Dep. of Ecology and Evolution. State University of New York. Stony Brook. New York. 11794.
- Roig, F.A. 1987. Arboles y arbustos en *Prosopis flexuosa* y *P. alpataco* (Leguminosae). *Parodiana* 5(1):49-64.
- Saidman, B.O. 1984. Estudio isoenzimático en especies de *Prosopis* (Leguminosae) XV Congr. Arg. de Genét. Resúmenes: 66.
- Saidman, B.O. 1985. Estudios de la variación alozimica en el género *Prosopis*. Tesis doctoral Fac. de Cs. Exactas y Nat. Univ. de Buenos Aires.
- Saidman, B.O. 1986. Isoenzymatic studies of alcohol dehydrogenase and glutamate oxalacetate transaminase in four South American species of *Prosopis* and their natural hybrids. *Silvae Genet.* 35:3-10.

- Saidman, B.O. y C.A.Naranjo. 1982 Variaciones de Esterasas en poblaciones de *Prosopis ruscifolia* (Leguminosae). Mendeliana 5:61-70.
- Saidman, B.O. y J.C.Vilardi. 1987. Analysis of the genetic similarities among seven species of *Prosopis* (Leguminosae-Mimosoideae) Theor.Appl.Genet.75:109-116.
- Sathaiah, V. y T.P.Reddy. 1985. Seed protein profiles of Castor (*Ricinus communis* L.) and some *Jatropha* species. Genet. Agrar.39:35-43.
- Simpson, G.G. 1961. Principles of animal taxonomy. Columbia University Press. En Small, E. Systematics of biological systematics (or Taxonomy of Taxonomy). Taxon 38 (3): 335-386.
- Simpson, B. 1977. Breeding Systems of dominant perennial plants of two disjunct warm desert ecosystems. Oecologia (Berl) 27: 203-226.
- Simpson, B., J.L. Neff y A.R. Moldenke. 1977. *Prosopis*. Flower as a resource. En B.Simpson (Ed.) Mesquite. Its Biology in two desert scrub ecosystems US/IBP Synthesis Series 4 Cap. 5: 84-107. Dowden, Hutchinson y Ross. Stroudsburg. Penn.
- Small, E. 1989. Systematics of Biological Systematics (or Taxonomy of Taxonomy) Taxon 38 (3): 335-356.
- Smith, P.M. 1976. Taxonomic usefulness of protein comparisons. En The Chemotaxonomy of Plants. Capitulo 10: 128-152.



- Smithies, O. 1955. Zone electrophoresis in starch gels: group variation in the serum proteins of normal human adults. *Biochem. J.* 61: 629-640.
- Sneath, P.H.A. y R.R. Sokal. 1973. *Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification*. Ed. Freeman. San Francisco.
- Sokal, R.R. 1961. Distance as a Measure of Taxonomic Similarity. *Syst. Zool.* 10: 70-73.
- Sokal, R.R. y F.J. Rohlf. 1962. The comparison of dendrograms by objective methods. *Taxon* 11: 33-40.
- Sokal, R.R. y P.H.A. Sneath. 1963. *Principles of Numerical Taxonomy*. Freeman. San Francisco.
- Solbrig, O.T. 1970. *Principles and methods of Plant Biosystematics*. Mac Millan Co. London.
- Solbrig, O.T. y K.S. Bawa. 1975. Isozyme variation in species of *Prosopis* (Leguminosae). *J. Arnold Arb. Haw. Univ.* 56:398-412.
- Solbrig, O.T. y P.D. Cantino. 1975. Reproductive adaptations in *Prosopis* (Leguminosae, Mimosoideae). *Jour. Arnold Arboretum* 56: 185-210.
- Turesson, G.. 1922. The genotypic response of the plant species to the habitat. *Hereditas* 3: 211-350. En Small, E. 1989. *Systematics of Biological Systematics (or Taxonomy of Taxonomy)* *Taxon* 38 (3): 335-356.

- Vaughan, J.G. y K.E. Denford. 1968. An acrylamide gel electrophoretic study of the seed proteins of *Brassica* and *Sinapis* species with special reference to their taxonomic value. *J. Exp. Bot.* 19: 724-732.
- Vaughan, J.G. y A. Waite. 1968. Comparative study of the seed proteins of *Brassica campestris*, *Brassica oleracea* and *Brassica nigra*. *J. Exp. Bot.* 17: 332-343.
- Vilardi, J.C., B.O. Saidman, y R.A. Palacios . 1988. Muestreo según variabilidad. En *Prosopis* en Argentina. Documento Preliminar. Ed. F.A.O. Univ. Nac. Córdoba y Univ. Nac. de Bs. As.: 119-124.
- Walters, S.M. 1963. *Methods of Classical Plant Taxonomy* En Swain, T. 1963. *Chemical Plant Taxonomy*. Academic Press London y N.Y.:1-16.
- Wallace, R.S. y D.E. Fairbrothers. 1988. Isoelectrically focussed seed proteins of populations of *Opuntia humifusa* RAF (Cactaceae) *Biochem. Syst. Ecol.* 14: 365-369.
- Watson, S. 1889. *Proc. Amer. Acad. Arts Sciences* 24: 48. En Burkart, A. 1976. A monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae. Subfam. Mimosoideae). *Jour. Arnold Arboretum* 57(3):217-149 y 57(4):450-525.
- Whitmore, D.H. y L.H. Bragg. 1979. Isozymal differentiation between two species of *Prosopis*. *Biochem. Syst. Ecol.* 7:299-302.
- Wolff, G. 1980. Investigations on the Relations Within the Family Papilionaceae on the Basis of Electrophoretic Banding Patterns. *T.A.G.* 57:225-232.

Yeo, P.F. y H. Widler-Kiefer. 1990. The chemotaxonomy of *Geranium* (Geraniaceae). *Pl. Syst. Evol.* 173: 1-15.

Zalocchi, E.M. 1988. Quimiotaxonomía: síntesis de los marcadores fenólicos conocidos. En *Prosopis* en Argentina. Documento preliminar. Ed. F.A.O Univ. Nac. Córdoba y Univ. Nac. Bs. As.: 96-105.