

LA ELECTROFORESIS DE PROTEÍNAS SEMINALES COMO EVIDENCIA DEL ORIGEN HÍBRIDO DE *PROSOPIS ABBREVIATA* (MIMOSACEAE)

ALICIA DIANA BURGHARDT^{1,2}, SHIRLEY MARY ESPERT¹
y RAMÓN ANTONIO PALACIOS^{1,2}

Summary: Seed protein electrophoresis as an evidence of the hybrid origin of *Prosopis abbreviata* (Mimosaceae). In the genus *Prosopis* L., the frequent interspecific hybridization led to systematic problems because some hybrids were considered as new species due to the ignorance of their origin. The case of *Prosopis abbreviata*, a spiny bush with intermediate morphological features to those of *P. torquata* and *P. strombulifera*, is analyzed. Seed protein patterns from individuals of these three taxa, which grow in the same region near Jáchal (province of San Juan, Argentina), are presented in this work. The protein profiles were obtained by denaturant polyacrilamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), following by a Coomassie Blue staining. A total of 34 bands were observed in the three entities. The protein pattern of *P. abbreviata* shows an almost complete addition of the bands found in the other two taxa, which constitutes a strong evidence of its hybrid origin, that is correlated with morphological data obtained in previous studies, and with a low pollen fertility of the putative hybrid. Moreover, in the offspring of the individuals of *P. abbreviata*, a high frequency of seed protein patterns similar to those of *P. torquata* could be observed, which lead to the assumption of introgression towards the latter species, being *P. abbreviata* an intermediary.

Key words: *Prosopis*, hybridization, seed protein electrophoresis, Mimosaceae.

Resumen: En el género *Prosopis* L., la frecuente hibridación interespecífica produjo problemas sistemáticos debido a que algunos híbridos han recibido nominación específica por desconocerse su verdadero origen. Aquí se analiza el caso de *Prosopis abbreviata*, arbusto espinoso morfológicamente intermedio entre *P. torquata* y *P. strombulifera*. En este trabajo se presentan los patrones de proteínas seminales de individuos morfológicamente afines a cada uno de los tres *taxa*, simpátridas en los alrededores de Jáchal (Provincia de San Juan, Argentina). Los perfiles proteicos se obtuvieron por electroforesis en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturizantes (SDS-PAGE) y posterior tinción con Azul de Coomassie. Se observó un total de 34 bandas en las tres entidades. El patrón proteico de *P. abbreviata* muestra una adición casi completa de las bandas halladas en los otros dos *taxa*, lo cual constituye una fuerte evidencia de su origen híbrido, que se corresponde con los datos morfológicos obtenidos en estudios previos y la baja fertilidad del polen. Además, se pudo comprobar, en la descendencia de los individuos de *P. abbreviata*, la aparición de una alta frecuencia de patrones polipeptídicos semejantes a los de *P. torquata* lo cual induciría a pensar en una mayor probabilidad de introgresión hacia esta última, actuando *P. abbreviata* como intermediario.

Palabras clave: *Prosopis*, hibridación, electroforesis de proteínas seminales, Mimosaceae.

INTRODUCCIÓN

El género *Prosopis* cuenta con aproximadamente 45 especies distribuidas principalmente en Amé-

rica, encontrándose también en el sudoeste de Asia y en África, de donde parece haber sido originario (Burkart, 1976).

En el Continente Americano, se hallan representadas tres de las cinco secciones reconocidas por Burkart (1976): *Strombocarpa*, *Monilicarpa* y *Algarobia*.

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

1 Grupo de Estudio de Plantas Vasculares. Depto. de Biodiversidad y Biología Experimental. Fac. de Ciencias Exactas y Naturales. Univ. de Buenos Aires. Ciudad Universitaria. C1428EHA Buenos Aires. Rep. Argentina.
2 Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. E-mail: alibu@bg.fcen.uba.ar

1986; Palacios *et al.*, 1988), trece de las cuales son endémicas, constituyendo algunas de ellas endemismos muy restringidos, como *P. argentina* Burk., *P. calingastana* Burk., *P. castellanosii* Burk. y *P. abbreviata* Benth. (Hunziker *et al.*, 1975).

Los problemas de delimitación de las especies en el género se dan, fundamentalmente, debido a las escasas discontinuidades morfológicas y aparición de formas transicionales originadas, presuntamente, por hibridación interespecífica e introgresión. Al parecer, no existen barreras de aislamiento reproductivo muy desarrolladas entre algunas de sus especies (Palacios & Bravo, 1981; Naranjo *et al.*, 1984; Hunziker *et al.*, 1975, 1977, 1986; Burghardt & Palacios, 1988; Palacios *et al.*, 1991; Burghardt *et al.*, 2003).

La existencia de hibridación interespecífica en algunos casos podría conducir a la aparición de enjambres híbridos, en los cuales la ocurrencia de introgresión dificultaría la identificación de los individuos involucrados.

En muchas oportunidades, las entidades híbridas han recibido nominación específica por desconocerse su verdadero origen, como ocurre en el caso de *P. burkartii* Muñoz (Picca *et al.*, 1990; Palacios *et al.*, 1991), *P. vinalillo* Stuck. (Palacios & Bravo, 1981) y *P. chilensis* (Molina) Stuntz var. *riojana* Burkart (Mollard & Palacios, 1998; Burghardt *et al.*, 2003).

El origen híbrido de *Prosopis abbreviata* fue sugerido por Burkart (1976) y Hunziker *et al.* (1977), y fue estudiado morfológicamente por Mollard *et al.* (2000 a, b). Los ejemplares de esta entidad son arbustos espinosos que crecen en el centro oeste de la República Argentina. Su distribución geográfica parece estar muy restringida, hecho que fue atribuido a la tala indiscriminada para el uso como combustible (Burkart, 1940). Sin embargo, la arquitectura arbustiva de los individuos, con ramas finas y espinosas hace poco probable su uso con este fin. Una explicación alternativa sería el origen híbrido de *P. abbreviata*. La esterilidad de los individuos que la componen y la transferencia de polen desde sus presuntos progenitores (Mollard *et al.* 2000b) impedirían su establecimiento y dispersión.

Luego de numerosos viajes de campo buscando infructuosamente individuos atribuibles a *P. abbreviata* en los lugares citados por Burkart (1976), fueron localizados varios individuos en las afueras de Jáchal (provincia de San Juan) creciendo en simpatria con individuos de *P. torquata* (Cav. ex Lag.) DC y *P. strombulifera* (Lam.) Benth. *Prosopis*

abbreviata presenta características morfológicas intermedias entre ambas especies, siendo, a veces, muy dificultosa la determinación.

Sobre la base de los trabajos arriba citados, se planteó el objetivo de analizar los patrones electroforéticos de proteínas seminales de individuos pertenecientes a las tres entidades: *P. strombulifera*, *P. torquata* y *P. abbreviata* para obtener nuevas evidencias del posible origen híbrido de esta última. Esta técnica ha demostrado ser de suma utilidad en estudios taxonómicos de Leguminosas en general (Maquet *et al.*, 1999; Espert & Burghardt, 2003) y de *Prosopis* en particular (Burghardt & Palacios, 1997; Burghardt, 2000), habiéndose encontrado adición de bandas en casos de hibridación (Burghardt & Palacios, 1988; Burghardt *et al.*, 2003; Palacios *et al.*, 1991).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material analizado

Se analizaron semillas provenientes de los tres taxa mencionados. Todo el material procede de Argentina y se encuentra depositado en el Herbario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires (BAFC)

Prosopis abbreviata: Prov. San Juan: Dpto. Jáchal, Jáchal, 19-I-1998, R.A. Palacios 2865 al 2868, 22-II-1998, R.A. Palacios 2836, 2909 y 2910.

Prosopis strombulifera: Prov. San Juan: Dpto. Jáchal, Jáchal, 19-I-1998, R.A. Palacios 2855 al 2859.

Prosopis torquata: Prov. San Juan: Dpto. Jáchal, Jáchal, 19-I-1998, R.A. Palacios 2860 al 2864.

Análisis electroforético

Se llevó a cabo electroforesis vertical en geles de poliacrilamida, en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE) y posterior tinción con Azul de Coomassie (Espert & Burghardt, 2003). Las muestras de proteínas fueron obtenidas de semillas individuales siguiendo el procedimiento descrito por Espert & Burghardt (2003) y se analizaron al menos 10 semillas por árbol.

Sobre la base de los resultados obtenidos en numerosas corridas se elaboró un patrón de fracciones proteicas característico de cada especie. Para ello se consideraron como presentes aquellas bandas que se encontraron en por lo menos un individuo de la especie, definiéndose al patrón característico como la suma de todas las bandas halladas, numerándolas en forma creciente desde el punto de siembra.

RESULTADOS

En la Fig. 1 se observa un electroforegrama conteniendo muestras de cinco individuos de cada una de las entidades analizadas, resultado de la corrida en gel, posteriormente teñido con Azul de Coomassie.

En la Fig. 2 se representa el patrón de fracciones proteicas característico de cada una de las entidades, elaborado luego de la observación de varias corridas electroforéticas.

El total de bandas hallado en las tres entidades asciende a 34, siete de las cuales (5, 10, 14, 26, 27, 33 y 34) son compartidas por todas ellas.

Prosopis torquata presenta 24 bandas polipeptídicas de las cuales, siete son las constan-

tes en el grupo y 17 tienen sus homólogas en *P. abbreviata* (1, 2, 3, 4, 8, 9, 11, 12, 13, 16, 17, 18, 21, 22, 23, 29 y 32).

Prosopis strombulifera presenta 16 fracciones proteicas, de las cuales una es exclusiva (24). Además de las siete bandas constantes en el grupo, comparte ocho con *P. abbreviata* (6, 7, 15, 19, 20, 25, 28 y 30).

El patrón polipeptídico de *P. abbreviata* consta de 33 bandas. Una de ellas (31) es exclusiva y constante (es decir, aparece en todos los individuos analizados de esta entidad), por lo tanto puede ser definida como una banda marcadora de la especie. El resto del perfil muestra una adición casi completa de las bandas halladas en las otras dos entidades.

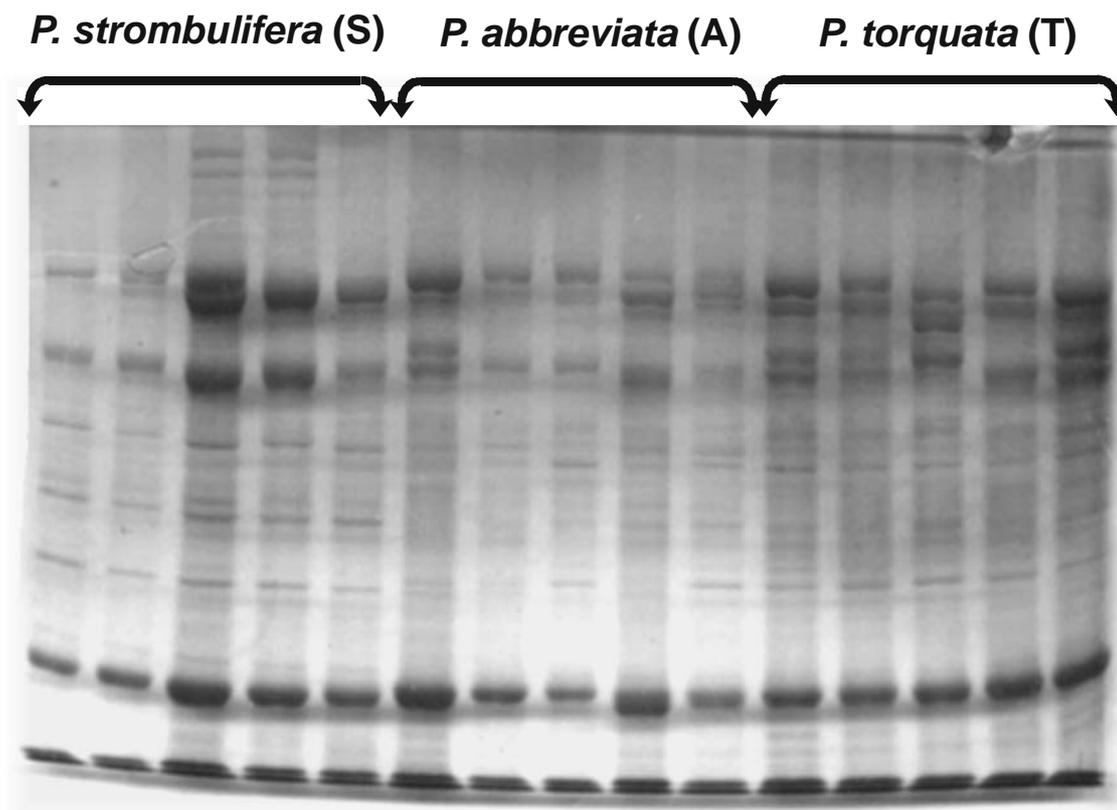


Fig. 1. Electroforegrama mostrando los patrones polipeptídicos de *Prosopis strombulifera*, *P. abbreviata* y *P. torquata*.

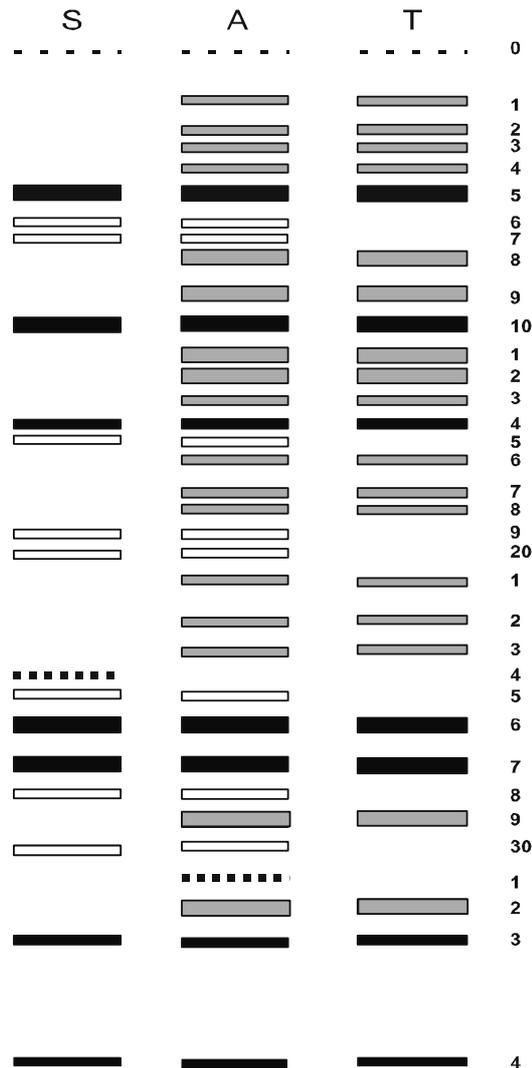


Fig. 2. Esquema de los perfiles proteicos de cada una de las especies. S: *Prosopis strombulifera*; A: *P. abbreviata*; T: *P. torquata*. ■ Bandas compartidas por las tres entidades. □ Bandas compartidas por *P. abbreviata* y *P. strombulifera*. ▨ Bandas compartidas por *P. abbreviata* y *P. torquata*. ● Bandas exclusivas de cada especie.

DISCUSIÓN

Numerosos autores han utilizado la electroforesis de proteínas seminales para determinar los antecesores de aloploidoides de origen conocido o desconocido y el posible origen de varios híbridos interespecíficos. Una de las características típicas de los patrones polipeptídicos es la aditividad de las bandas de los progenitores en los perfiles de los híbridos o especies de origen híbrido (Cherry *et al.*, 1971; Naranjo & Hunziker, 1971; Edmonds & Glidewell, 1977; Yeo & Widler-Kiefer, 1990)

Los individuos de *P. abbreviata*, que tienen

morfología intermedia entre los de *P. torquata* y *P. strombulifera* en especial en lo referido a la forma del fruto y características de la inflorescencia (Mollard *et al.*, 2000a), presentan un perfil proteico que muestra una adición casi completa de las bandas halladas en los otros dos *taxa* analizados en el presente trabajo. Este hecho constituye una fuerte evidencia del origen híbrido de aquellos individuos atribuibles a *P. abbreviata* encontrados en Jáchal, la cual se corresponde con los datos morfológicos obtenidos en estudios previos y su baja viabilidad polínica.

Los resultados aquí presentados confirman que *P. abbreviata* es una entidad producida por hibridación.

A. D. Burghardt et al., Origen híbrido de *Prosopis abbreviata*

dación entre *P. torquata* y *P. strombulifera*.

El bajo número de ejemplares atribuibles por sus caracteres morfológicos a *P. abbreviata*, los datos morfológicos previos, la baja fertilidad del polen y las evidencias aquí presentadas permiten inferir que se trata de híbridos F1 entre *P. torquata* y *P. strombulifera*. Su escasa distribución geográfica podría deberse, entonces, a su naturaleza híbrida más que a la explotación indiscriminada como señalara Burkart (1940).

Por otro lado, en la descendencia de los individuos de *P. abbreviata* estudiados se pudo comprobar la aparición de una alta frecuencia de patrones polipeptídicos semejantes al de *P. torquata*, lo que indicaría que, al menos en parte, habrían sido fertilizados por polen de esta última especie.

Este hecho induce a pensar en una mayor probabilidad de introgresión hacia *P. torquata*, actuando *P. abbreviata* como intermediario y progenitor femenino. Este resultado es congruente con la gran variabilidad morfológica citada por Burkart (1940) para *P. torquata*, la cual pudo haber sido en algún caso, como en éste, originada por introgresión de genes de *P. strombulifera*.

BIBLIOGRAFÍA

- BURGHARDT, A. D. & R. A. PALACIOS. 1988. Sobre el posible origen híbrido de *Prosopis burkartii*. XIX Congreso Argentino de Genética (S.S. de Jujuy) Resúmenes: 32.
- BURGHARDT, A. D. & R. A. PALACIOS. 1997. Electrophoretic characterization of the American sections of *Prosopis* (Leguminosae). *Bull. Int. Group Study Mimosoideae* 20: 71-83.
- BURGHARDT, A. D. 2000. Estudio electroforético de proteínas de semilla en *Prosopis* (Leguminosae) II: Sección Strombocarpa. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 35: 149-156.
- BURGHARDT, A. D., S. M. ESPERT & R. A. PALACIOS. 2003. Las proteínas seminales como evidencia del origen híbrido de *Prosopis chilensis* var *riojana* (Mimosaceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 38 (Supl.): 242.
- BURKART, A. 1940. Materiales para una monografía del género *Prosopis* (Leguminosae). *Darwiniana* 4: 57-128.
- BURKART, A. 1976. A monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae. Subfam. Mimosoideae). *J. Arnold Arboret.* 57: 217-249, 450-525.
- CHERRY, J. P., F. R. H. KATTERMAN & J. E. ENDRIZZI. 1971. A comparative study of seed proteins of allopolyploids of *Gossypium* by gel electrophoresis. *Canad. J. Genet. Cytol.* 13: 155-158.
- EDMONDS, J. M. & S. M. GLIDEWELL. 1977. Acrylamide gel electrophoresis of seed proteins from some *Solanum* (Section *Solanum*) species. *Plant Syst. Evol.* 127: 277-291.
- ESPERT, S. M. & A. D. BURGHARDT. 2003. Electrophoretic analysis of seed proteins in *Phaseolinae* (Fabaceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 38: 311-317.
- HUNZIKER, J. H., L. POGGIO, C. A. NARANJO, R. A. PALACIOS & A. B. ANDRADA. 1975. Cytogenetics of some species and natural hybrids in *Prosopis* (Leguminosae) *Canad. J. Genet. Cytol.* 17:253-262.
- HUNZIKER, J. H., C. A. NARANJO, R. A. PALACIOS & L. POGGIO. 1977. Patterns of variation. Chromosomal cytology and hybridization. In: B. B. Simpson (ed.), *Mezquite. Its biology in two desert shrub ecosystems* 3: 56-59. Dowden, Hutchinson & Ross Inc. Stroudsburg, Pennsylvania.
- HUNZIKER, J. H., B. O. SAIDMAN, C. A. NARANJO, R. A. PALACIOS, L. POGGIO & A. D. BURGHARDT. 1986. Hybridization and genetic variation of Argentine species of *Prosopis*. *Forest Ecol. Manag.* 16:301-315.
- MAQUET, A., X. VEKEMANS & J. P. BAUDOIN. 1999. Phylogenetic study on wild allies of Lima bean, *Phaseolus lunatus* (Fabaceae), and implications on its origin. *Plant Syst. Evol.* 218: 1-2.
- MOLLARD, F. P. O. & R. A. PALACIOS. 1998. *Prosopis chilensis* var. *riojana* Burkart y su posible origen híbrido. XXVI Jornadas Argentinas de Botánica. Resúmenes: 266.
- MOLLARD, F. P. O., P. S. HOC & R. A. PALACIOS. 2000a. *Prosopis abbreviata* (Mimosaceae) y su presunto origen híbrido. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 35: 305-313.
- MOLLARD, F. P. O., P. S. HOC & R. A. PALACIOS. 2000b. *Prosopis abbreviata* Bentham, evidencias palinológicas sobre su presunto origen híbrido. *Multequina* 9: 1-6.
- NARANJO, C. A. & J. H. HUNZIKER. 1971. Adición de proteínas en anfiploides. *Reunión Anual Soc. Arg. de Genética*. (Balcarce) Resúmenes: 34.
- NARANJO, C. A., L. POGGIO & 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.
- PALACIOS, R. A. & 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. A. AGULLÓ, M. P. MOM, S. TORREGROSA & P. PICCA. 1988. Especies del género. Taxonomía. In F.A.O (ed.), *Prosopis en Argentina*. Documento Preliminar: 15-90 Univ. Nac. de Córdoba y Univ. de Buenos Aires.
- PALACIOS, R. A., M. M. BRIZUELA, A. D. BURGHARDT, E. M. ZALLOCHI & M. P. MOM. 1991. *Prosopis burkartii* and its possible hybrid origin. *Bull. Int. Group Study Mimosoideae* 19: 146-161.
- PICCA, P., P. S. HOC, M. A. AGULLO & R. A. PALACIOS. 1990. Pollen vitality and morphology in three *Prosopis* species. *Bull. Int. Group Study Mimosoideae* 18: 124-134.
- YEO, P. F. & H. WIDLER-KIEFER. 1990. The chemotaxonomy of *Geranium* (Geraniaceae). *Plant Syst. Evol.* 173: 1-15

Recibido el 13 de Abril de 2004, aceptado el 28 de Mayo de 2004.