

IMPLEMENTACIÓN DE UN RODAL SEMILLERO DE *Prosopis chilensis* (Mol.) STUNTZ PARA OBTENCIÓN DE SEMILLA DE CATEGORÍA SELECCIONADA EN SAUJIL, CATAMARCA,

IMPLEMENTATION OF A SEED STAND OF *Prosopis chilensis* (Mol.) STUNTZ FOR OBTAINING SEEDS OF SELECTED CATEGORY IN SAUJIL, CATAMARCA, ARGENTINA.

Graciela E. Verzino

Ing Agr, MSc, Prof. Asoc. (Jubilada) Silvicultura, Fac. Cs. Agrop., Univ. Nac. de Córdoba; C.C. 509, (5000) Córdoba.
gverzino@agro.unc.edu.ar

Javier E. Frassoni

Ing Agr, Prof. Asistente Silvicultura, Fac. Cs. Agrop., Univ. Nac. de Córdoba, C.C. 509, (5000) Córdoba
javierfrassoni@agro.unc.edu.ar

Nidia Castillo

Bióloga, Contratada por el Proyecto GEF 090118. nidiaacastillo_11@yahoo.com.ar

Jacqueline Joseau

Ing Agr, Dra en Cs. Agropecuarias, Prof. Asoc. Silvicultura, Fac. Cs. Agrop., Univ. Nac. de Córdoba; C.C. 509, (5000) Córdoba.
jjoseau@agro.unc.edu.ar

Juan J. Cólica

Ing Agr, AER Andalgalá INTA.
colica.juan@inta.gob.ar

Diego López Lauenstein

Ing Agr, Mgter Cs. Agrop., CIAP, INTA, Camino 60 Cuadras, Km 5,5, (5119) Córdoba
lopez.diego@inta.gob.ar

Aníbal Verga

Ing Agr, Dr en Cs. Forestales, AER La Rioja INTA.
anibal.r.verga@gmail.com

Fecha de Recepción: 29/11/2019 // Fecha de Aceptación: 02/12/2020

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue implementar un rodal de *Prosopis chilensis* para producción de semilla de categoría Seleccionada en Saujil, Catamarca. Se recolectaron y midieron hojas y frutos del rodal seleccionado. El análisis multivariado de las variables de hojas y el análisis de isoenzimas de semillas (ADH) permitieron identificar árboles fuera de tipo que se eliminaron mediante raleo genético. Después del raleo, se cosecharon nuevamente frutos del rodal y se realizó el análisis de isoenzimas de las semillas, el que mostró una disminución de individuos heterocigotas (ADH - A23 *P. chilensis* x *P. flexuosa*) de 2,38 a 1,67% y homocigotas no deseados (ADH - A22 *P. flexuosa*) del 2,38 al 0%, valores aceptables por la Resolución 374/14, que establece las condiciones mínimas admisibles de homogeneidad genética para el comercio de semillas. El rodal de Saujil, Catamarca, se encuentra, actualmente, en condiciones de ser registrado en INASE para producción de semilla de categoría Seleccionada. De esta manera, trabajando para obtener semilla pura y uniforme se comienza a salvar la restricción histórica que existe en Argentina para lograr buenas plantaciones forestales de especies nativas del género *Prosopis*.

Palabras clave: bosque nativo, isoenzima, algarrobo chileno, comercialización de semilla

SUMMARY

The objective of this work was to implement a stand of *Prosopis chilensis* for the production of Selected category seed in Saujil, Catamarca. Leaves and fruits of stand trees were collected and measured. Multivariate analysis of leaf variables and the analysis of seed isozymes (ADH) allowed identifying out-of-type trees that were eliminated by genetic thinning. After thinning, fruits were harvested again and isoenzyme analysis was performed on the seeds, which showed a decrease of heterozygous individuals (ADH - A23 *P. chilensis* x *P. flexuosa*) from 2.38 to 1.67% and homozygous (ADH - A22 *P. flexuosa*) from 2.38 to 0%, values acceptable by Resolution 374/14, which establishes the minimum admissible conditions of genetic homogeneity for seed trade. The Saujil, Catamarca stand is currently in a position to be registered in INASE for the production of Selected category seed. In this way, working to obtain pure and uniform seed begins to save the historical restriction that exists in Argentina to achieve good forest plantations of native species of the genus *Prosopis*.

Key words: native forest, isozyme, Chilean carob tree, seed trade

INTRODUCCIÓN

Son ampliamente conocidas las características excepcionales de *Prosopis chilensis*, tanto por la cantidad de bienes que proporciona como por sus valiosos servicios ambientales. Gracias a su aptitud maderera, ha sido incorporada desde hace más de 10 años, junto a otras especies del género, a los programas de promoción que subsidian sus plantaciones.

Sin embargo, existe una seria restricción para el desarrollo forestal a gran escala: Por ser aún una especie “silvestre” posee una variación genética demasiado amplia para el cultivo (VERZINO *et al.*, 2003; VERGA, 2005). Por otra parte, constituye, conjuntamente con *P. flexuosa*, *P. alba* y *P. nigra*, un complejo de especies afines que hibridan entre sí (JOSEAU *et al.*, 2005), por lo que la cosecha de frutos produce materiales segregantes y, en las forestaciones de *P. chilensis*, se observa gran desuniformidad en velocidad y hábito de crecimiento. La gran diversidad observada obliga a reducir la variabilidad mediante la constitución de unidades genéticas discretas, más estables y uniformes. Uno de los mecanismos utilizados en el mundo es la implementación de rodales semilleros a partir de la aplicación de prácticas de manejo específicas sobre el bosque nativo (VERGA 2014).

Para analizar la variabilidad genética en poblaciones naturales se comenzó a utilizar, hacia 1960, la técnica de electroforesis en geles de enzimas (isoenzimas). Así, para describir la variación inter-específica de un rodal se puede utilizar el análisis isoenzimático de semillas mediante el marcador isoenzimático alcohol deshidrogenasa (ADH). El análisis de ADH permite determinar, a partir de una muestra de semillas de un rodal, qué proporción proviene de cruzamientos inter-específicos entre los grupos de algarrobos “blancos”, *P. alba* y *P. chilensis*, y “negros”, *P. nigra* y *P. flexuosa* (llamados así por la coloración de sus frutos).

Por otro lado, mediante el análisis morfológico de hojas y frutos (JOSEAU *et al.*, 2005, VERGA *et al.*, 2009) es posible identificar los individuos del algarrobal que no pertenecen a la especie deseada o bien que presumiblemente pueden ser de origen híbrido. Esto es debido a que los algarrobos muestran una fuerte correlación entre sus características morfológicas de hoja y fruto y su base genética, especialmente aquella relacionada con su origen específico (SAIDMAN, 1986; VERGA, 1995 y 2001; JOSEAU *et al.*, 2005; VERGA and GREGORIUS, 2007).

La enzima ADH presenta, en el género *Prosopis*, dos loci. El locus de mayor velocidad de migración, identificado con la letra “A”, posee tres alelos denominados 1, 2 y 3, por su velocidad decreciente de migración. Este sistema enzimático tiene la particularidad de que el alelo ADH-A-2 está prácticamente fijado en los algarrobos “negros”, mientras que en los “blancos” es el alelo ADH-A-3 el que presenta frecuencias cercanas a 1. Así, *Prosopis alba* muestra una conformación ADH-A-33 (SAIDMAN 1986), al igual que *Prosopis chilensis*, mientras que *P. flexuosa* y *P. nigra* muestran una conformación ADH-A-22 (VERGA 1995, JOSEAU *et al.*, 2005). Existe, asimismo, una alta correlación entre los genotipos para el locus ADH-A y caracteres

morfológicos de hoja y fruto, de tal forma que individuos homocigotas ADH-A-22 y ADH-A-33 responden a caracteres morfológicos de la especie respectiva, mientras que los heterocigotas ADH-A-23 aparecen con morfología intermedia entre ambas especies (VERGA 1995, JOSEAU *et al.*, 2005).

La frecuencia del alelo ADH-A-2 (propio de los algarrobos “negros”) en una muestra de semilla cosechada de un algarrobal de algarrobo “blanco” puede utilizarse como un índice del grado de cruzamientos inter-específicos que se producen en el rodal analizado, y por lo tanto del “grado de hibridación del rodal”. Del mismo modo la frecuencia del alelo ADH-A-3 en un algarrobal “negro” será índice del intercambio genético con los algarrobos “blancos” (VERGA 2014).

A pesar de la intensa degradación y pérdida sufrida por los bosques de *P. chilensis* en el país, existen aún relictos de la especie pura que, mediante manejo, pueden ser transformados en rodales semilleros genéticamente estables, para producir semillas adecuadas para reforestación y para programas de mejoramiento forestal, esto es semilla de categoría Seleccionada. El objetivo del presente trabajo fue implementar un rodal semillero de *Prosopis chilensis* para obtención de semilla de categoría Seleccionada en Saujil, Catamarca.

MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de información disponible en el Banco Nacional de Germoplasma de *Prosopis*, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba (BNGP, FCA, UNC), así como en INTA, informantes locales e imágenes de Google Earth, se definieron itinerarios de viajes exploratorios y de cosecha en las provincias de Córdoba, La Rioja y Catamarca. Se ubicaron áreas potenciales productoras de semillas teniendo en cuenta la composición específica del rodal, las características morfológicas y sanitarias de los árboles, la accesibilidad, las condiciones legales de los establecimientos donde estaban ubicados los rodales y la predisposición de sus propietarios.

La tarea fue llevada a cabo por el BNGP, conjuntamente con el Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP) y la Agencia de Extensión Rural Andalgalá del INTA. Se ubicó un rodal relativamente puro de *P. chilensis* a orillas de un curso temporario de agua, en el establecimiento agrícola Palampa S.A., a dos km de Saujil, en Catamarca, propiedad del Sr. Alberto Rosanigo.

Se realizaron estudios morfológicos y genéticos exploratorios para definir y delimitar el rodal semillero utilizando la metodología descrita por VERGA *et al.*, (2009) y JOSEAU *et al.*, (2005), basada en el análisis morfológico de hojas y frutos y el análisis isoenzimático de semillas.

En primer lugar se efectuó un pre-muestreo, durante el cual se cosecharon frutos y hojas de 6 árboles. Cada árbol se numeró con pintura, se geo-referenció y se fotografió. El material vegetativo se acondicionó para su escaneo (5 hojas adultas por árbol) e incorporación al Herbario ACOR (FCA, UNC). De cada muestra de frutos, se

extrajeron 5 vainas completas, de buena sanidad, y se midieron manualmente. El resto de los frutos se trillaron y se extrajeron semillas para el análisis genético y para su almacenamiento en el banco pasivo del BNGP (dos muestras de 60 g), previo análisis de poder germinativo. En gabinete se efectuó el análisis morfológico del material muestreado (frutos y hojas) mediante el Programa Hojas 3.4 (VERGA 2010). En la Tabla 1 se describen las variables medidas en hojas y frutos.

En laboratorio se evaluó la pureza específica de los individuos mediante el marcador isoenzimático alcohol deshidrogenasa (ADH). Los análisis isoenzimáticos y el análisis multivariado sobre las variables de hojas y frutos, utilizando los softwares Infostat (DI RIENZO *et al.*, 2012) y NTSYSpc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System versión 2), permitieron adelantar que el rodal tenía un alto grado de pureza específica.

Al año siguiente, se tomaron muestras de hojas de todos los árboles del rodal (58) para efectuar los análisis morfológicos y se cosecharon frutos de todos los árboles

que fructificaron (22) para llevar a cabo los análisis morfológicos e isoenzimáticos, además de la conservación posterior de las semillas en banco pasivo. Al igual que en el pre-muestreo, todos los individuos fueron geo-referenciados, fotografiados y numerados con pintura. Mediante análisis multivariado de las variables de hojas, con el auxilio de los análisis isoenzimáticos para ADH, se identificaron los individuos fuera de tipo (6) que se eliminaron mediante raleo genético. Meses después, se cosecharon frutos de la fructificación posterior al raleo y se realizaron nuevamente los análisis isoenzimáticos para verificar si se habían modificado las frecuencias alélicas del rodal.

En la figura 1 se visualiza el rodal, con todos los árboles que fueron numerados, geo-referenciados, fotografiados, muestreadas sus hojas y, en aquellos que produjeron frutos, cosechados sus frutos.

Tabla 1. Variables de hojas y frutos consideradas para el análisis morfológico de los rodales.
Table 1. Leaf and pod traits used for morphological analysis of stands.

Nomenclatura	Variable y unidad de medida
Lpe	Longitud del pecíolo (cm)
Npi	Número de pares de pinas (cantidad)
Lpi	Longitud de la pina (cm)
Nfol	Número de pares de foliólulos por pina (cantidad)
Difol	Distancia entre foliólulos. Se calcula mediante: LPI/NFOL (cm)
Lfol	Longitud del foliólulo (cm)
Afol	Ancho del foliólulo (cm)
L-Afol	Relación Longitud/Ancho de foliólulo. Se calcula dividiendo LFOL/AFOL
ArFol	Área del foliólulo (cm ²)
Ap-Tot	Relación área del ápice del foliólulo (1/3 del Largo de foliólulo) /área total del foliólulo.
ArTot	Índice de Área total de la hoja. Se calcula: ArFol x 2 x Nfol x 2 x Npi
LFr	Largo de fruto (cm)
AFr	Ancho de fruto (cm)
GFr	Grosor de fruto (mm)
Forma	Forma de fruto
Color	Color de fruto
Borde	Borde de fruto

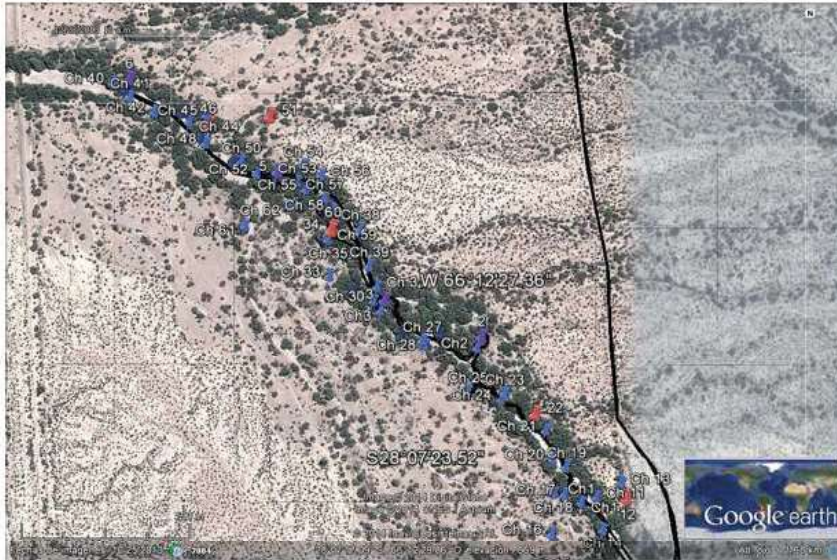


Figura 1. Rodal semillero de *P. chilensis*, a 2 km de Saujil, Catamarca. Imagen tomada de Google Earth (2016). En azul los árboles semilleros, en rojo los árboles que se talaron.

Figure 1. *P. chilensis* stand, 2 km from Saujil, Catamarca. Google Earth satellite image (2016) In blue the seed trees, in red the trees that were cut.



b)



c)

a) Figura 2. a) Árbol 1 del rodal de *P. chilensis* en Palampa, Catamarca; a la derecha sus hojas (b) y frutos (c) dispuestos para medición con el programa Hojas 3.4.

Figure 2. a) Tree 1 of the *P. chilensis* stand in Palampa, Catamarca; on the right its leaves (b) and fruits (c) arranged for measurement with the Hojas 3.4 program.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 2 describe la ubicación geográfica del rodal y las características generales de topografía, suelo y clima. La tabla 3 muestra los valores de media (Med), máximo (Máx) y mínimo (Mín) y de desviación estándar (DS) de las variables altura total y DAP de los árboles.

Describe, además, la distribución etaria aparente y cantidad de fustes por árbol.

El dendrograma del gráfico 1 muestra la agrupación de árboles según similitud en términos de variables seleccionadas de hoja. Se señalan los árboles que fueron marcados para ser extraídos, teniendo en cuenta la distancia Euclídea a la que se encuentran del resto (árboles 46, 51, 22, 60, 34 y 12).

La tabla 4 muestra la frecuencia genotípica y alélica del rodal antes y después del raleo genético.

El análisis de ADH, realizado sobre las semillas de 22 árboles, mostró una disminución de individuos heterocigotas (ADH – A23 – Híbrido *P. chilensis* x *P. flexuosa*) de 2,38 a 1,67% y homocigotas (ADH – A22 *P. flexuosa*) de 2,38 a 0%, valores aceptables por la Resolución INASE 374/14, que establece las condiciones mínimas admisibles de homogeneidad genética de la especie para la comercialización de sus semillas.

Como se puede apreciar, el raleo de los árboles fuera de tipo (raleo genético) identificados mediante análisis morfológico de hojas (JOSEAU *et al.*, 2005, VERGA *et al.*, 2009), mejoró la uniformidad de la semilla, tal cual lo describiera VERGA (2014) para cinco especies del género *Prosopis*.

Tabla 2. Características ambientales generales del sitio del rodal de *P. chilensis*, Saujil, Catamarca.
Table 2. General environmental characteristics of the stand site of *P. chilensis*, Saujil, Catamarca.

Coordenadas/ Altura m.s.n.m.	Región/Provincia Nombre del estable- cimiento	Topografía y suelo	Clima
-28°07'13.63" S -66°12'35.43" O 875 m.s.n.m.	Monte Septentrional. Saujil/Catamarca Palampa S.A.	Cambortides típico, Suelo llano, pendiente 3% a 10%, arenoso. Junto a margen de curso agua temporario. pH:8	Precipitaciones:150mm Temp. media Ene/Jul 28°C/10°C Máx y Mín abs: 45°C/ -5°C.

Tabla 3. Estadística descriptiva del rodal seleccionado de *Prosopis chilensis*, Saujil, Catamarca.
Table 3. Descriptive statistics of the selected stand of *P. chilensis*, Saujil, Catamarca.

Altura [m]			DAP [m]			Distribución etaria [%]			Cantidad de Fustes [%]				
Med	Máx	Mín	DS	Med	Máx	Mín	DS	J	Ad	Añ	1	2-3	4-5
7,72	11,2	4,64	1,63	0,44	0,85	0,11	0,21	41	44	15	7	33	60

Referencias: J: Juvenil; Ad: Adulto; Añ: Año.
References: J: Young; Ad: Adult; Añ: Old.

Tabla 4: Frecuencia genotípica y alélica del rodal de *P. chilensis* propiedad de Palampa S.A., Catamarca.
Table 4. Genotypic and allelic frequency of the *P. chilensis* stand owned by Palampa S.A., Catamarca.

Frecuencia Genotípica					
Antes del raleo genético			Después del raleo genético		
Genotipo	N° Indiv.	Frecuencia	Genotipo	N° Indiv.	Frecuencia
33	40	95,24	33	59	98,33
23	1	2,38	23	1	1,67
22	1	2,38	22	0	0,00
Total	42	100,00		60	100,00

Frecuencia Alélica					
Antes del raleo genético			Después del raleo genético		
Alelo	N° Alelos	Frecuencia	Alelo	N° Alelos	Frecuencia
3	81	96,43	3	119	99,17
2	3	3,57	2	1	0,83
Total	84	100,00		120	100,00

Referencias: Genotipo 33: *P. chilensis*; Genotipo 22: *P. flexuosa*; Genotipo 23: Híbrido.
References: Genotype 33: *P. chilensis*; Genotype 22: *P. flexuosa*; Genotype 23: Hybrid.

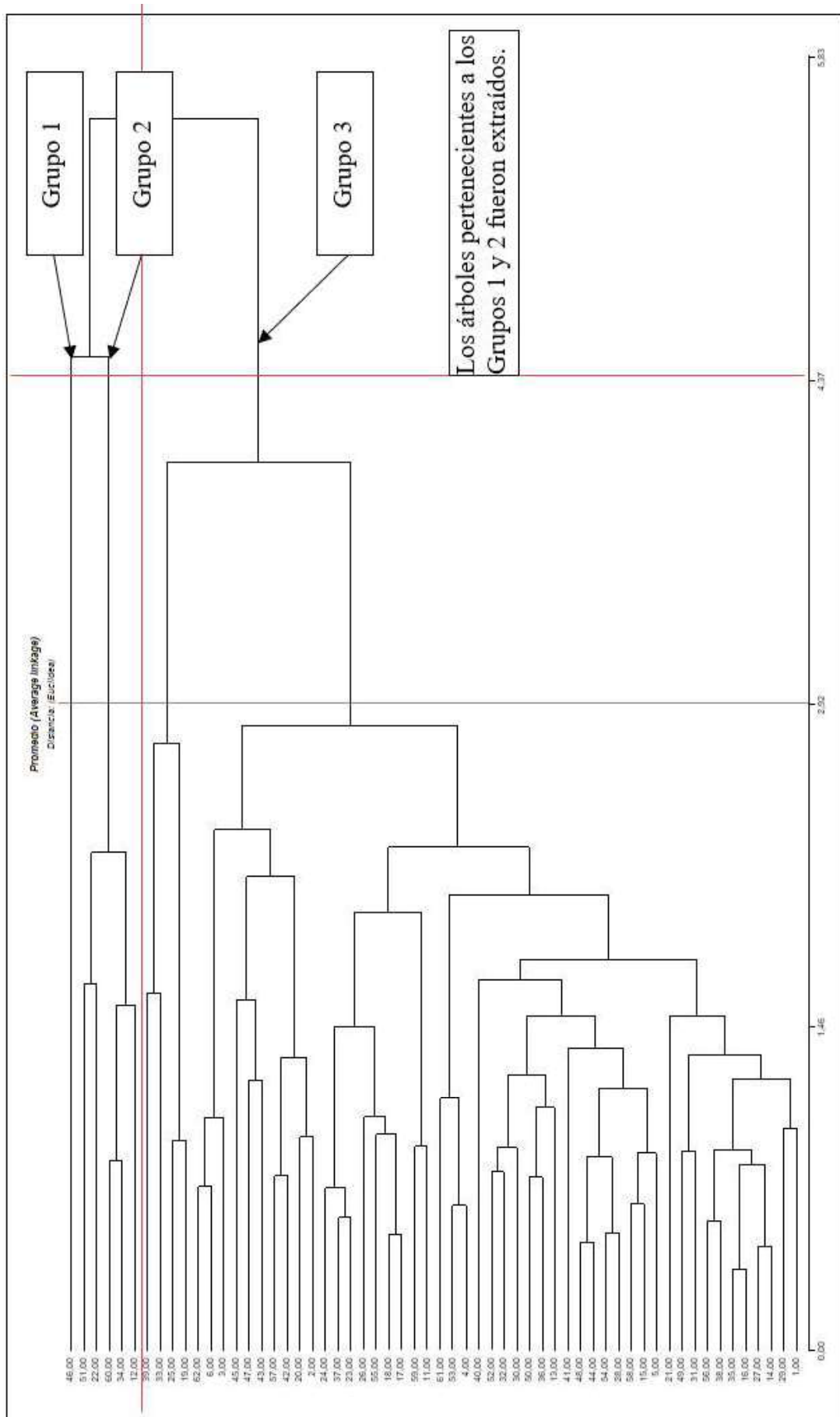


Gráfico 1. Dendrograma de hojas de *P. chilensis*. Análisis de conglomerados. Promedio (Average linkage). Distancia Euclídea. Correlación cofenética= 0,860. Variables estandarizadas. Casos omitidos 0. Variables seleccionadas.= NFOL, NPI, Afol, L_afol, Arfol, Difol.

Graph 1 . Leaf dendrogram of *P. chilensis*. Cluster Analysis. Average linkage. Euclidean distance. Cofenetic correlation = 0.860. Standardized variables. Cases read 58. Cases omitted 0. Selected variables. = NFOL, NPI, Afol, L_afol, Arfol, Difol.

CONCLUSIÓN

La implementación de un rodal de *P. chilensis* para la obtención de semilla de Categoría Seleccionada es factible siguiendo la secuencia de ubicación del rodal, premuestreo, análisis morfológico de hojas y frutos, aplicación del análisis de isoenzimas (ADH) a semillas, raleo genético de árboles fuera de tipo y nuevo análisis de ADH de semillas, posterior al raleo. El rodal de Saujil, Catamarca, se encuentra, actualmente, en condiciones de ser registrado en INASE para producción de semilla de categoría Seleccionada. De esta manera, trabajando para obtener semilla pura y uniforme se comienza a salvar la restricción histórica que existe en Argentina para lograr buenas plantaciones forestales de especies nativas del género *Prosopis*.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Alberto Rosanigo, propietario de Palampa S.A., por su buena predisposición para la realización del presente proyecto. Al Fondo para el Medio Ambiente Mundial (Proyecto Conservación de la Biodiversidad en Paisajes Productivos Forestales GEF 090118 T.F.), a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la UNC y al INTA (CIAP y AER Andalgalá) por el financiamiento brindado para su ejecución. Al personal de la Unidad Para el Cambio Rural (UCAR) del MAGyP de la Nación, por su permanente asistencia y soporte administrativo.

BIBLIOGRAFÍA

- DI RIENZO, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M. y Robledo, C. W. 2012. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, UNC, Argentina. URL <<http://www.infostat.com.ar>>
- JOSEAU, M. J., Verga, A. R. y Díaz, M. del P. 2005. Caracterización morfológica y genética de poblaciones del género *Prosopis* del Chaco Semiárido del Norte de Córdoba y Sur de Santiago del Estero. BAG. Revista Sociedad Argentina de Genética. Actas XXXIV Congreso Argentino de Genética. Volumen XVII. Sept 2005. 191 pp
- 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 Genetica* 35, pp 3-10.
- VERGA, A. 1995. "Genetische Untersuchungen an *Prosopis chilensis* und *P. flexuosa* (Mimosaceae) im trockenen Chaco Argentinien. Göttingen Research Notes in Forest Genetics. Abteilung für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung der Universität Göttingen Nro. 19, 96 pp.
- VERGAA. R. 2001. Clave para la identificación de híbridos entre *Prosopis chilensis* y *P. flexuosa* sobre la base de caracteres cuantitativos. *Multequina* 10, pp 17-22.
- VERGA, A. 2005. Recursos Genéticos, Mejoramiento y Conservación de Especies del Género *Prosopis* en Mejores árboles para más forestadores: El Programa de Producción de Material de Propagación Mejorado y el Mejoramiento Genético en el Proyecto Forestal de Desarrollo Edición: Carlos A. Norberto. SAGPyA-BIRF.
- VERGA, A. 2010. Programa HOJA. Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales, CIAP, INTA. Distribución gratuita.
- VERGA, A. 2014. Rodales semilleros de *Prosopis* a partir del bosque nativo. *Revista de Ciencias Forestales. Quebracho* 22 (1, 2), pp 125-138.
- VERGA A. and Gregorius H.R. 2007. Comparing morphological with genetic distances between populations: A new method and its application to the *Prosopis chilensis* – *P. flexuosa* complex. *Silvae Genetica*, 56 (2), pp 45-51.
- VERGA, A., López Lauenstein, D., López, C., Navall, M., Joseau, J., Gómez C., Royo, O., Degano, W. y Marcó M. 2009. Caracterización morfológica de los algarrobos (*Prosopis* sp.) en las regiones fitogeográficas Chaqueña y Espinal norte de Argentina. *Revista de Ciencias Forestales. Quebracho* 17 (1, 2), pp 31-40.
- VERZINO, G., Carranza, C., Joseau, J., Ledesma, M. y Di Rienzo, J. 2003. Genetic adaptive variation of *Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz. Preliminary results from one test-site. *Forest Ecology and Management* 175, pp 119-129.