

COMPARACION SEROLOGICA DE PROTEINAS SEMINALES EN ONCE ESPECIES ARGENTINAS DE *ERAGROSTIS* (GRAMINEAE)¹

Por CARLOS B. VILLAMIL² y SOFIA R. GONZALEZ³

Summary A serological comparison was made using proteinaceous seed material from 14 populations of 11 species of the genus *Eragrostis* Wolf by means of the two-dimensional immuno-diffusion technique. A group of taxa including *Eragrostis barrelieri* J. Daveau, *E. neomexicana* Vasey, *E. orthoclada* Hackel, *E. pectinacea* (Michx.) Nees, *E. pilosa* (L.) Beauv. and two forms of *E. virescens* Nees exhibited identical serological properties, and taxa included within this group could not be differentiated by the technique employed. Another group of three species (*E. cilianensis* (All.) Vign., *E. curvula* (Schrader) Nees and *E. lugens* Nees) showed a lower degree of serological correspondence with the former. Two other species (*E. airoides* Nees and *E. tenuifolia* (A. Rich.) Steud.) showed no serological affinities with the rest of the taxa investigated. These results demonstrate the feasibility of using macromolecular characters as an additional source of information for the systematic treatment of the genus *Eragrostis*.

INTRODUCCION

El género *Eragrostis* Wolf comprende unas 250 especies (Mabberley, 1987), de las cuales alrededor de 30 crecen espontáneamente en la Argentina, desde Jujuy hasta el norte de la Patagonia (Nicora y Rúgolo, 1987). Algunas especies son elementos conspicuos de pastoreos naturales; otras se comportan como plantas antropófilas en áreas rurales y urbanas, o como malezas de importancia secundaria, particularmente en cultivos hortícolas y en jardines.

Se trata de un género de considerable complejidad cuyo tratamiento sistemático resulta problemático debido a la difícil caracterización de algunas especies cuando se utilizan caracteres convencionales, y a dificultades para delimitar el género de otros afines (Jacobs, 1987).

En este estudio se pretende contribuir al esclarecimiento de la sistemática del género mediante el aporte de datos comparativos sobre las propiedades antigénicas de las proteínas seminales. Los datos obtenidos a partir de esta fuente de información han sido hasta ahora muy poco utilizados en las

gramíneas cloroides (Bekele y Lester, 1981; Fairbrothers y Johnson, 1961; Lester y Bekele, 1981). La aplicación de nuevos métodos conduce frecuentemente a la obtención de datos que no concuerdan con los obtenidos mediante la utilización de los caracteres convencionales, y es entonces donde se abre la posibilidad de desarrollar criterios integrados para una mejor comprensión de los grupos en estudio. No existen en el país antecedentes sobre la utilización de técnicas serológicas con fines sistemáticos en especies espontáneas de la tribu *Eragrosteae*.

MATERIALES Y METODOS

Colección y limpieza de cariopses: Cariopses maduros de 11 especies de *Eragrostis* fueron coleccionados de 13 poblaciones espontáneas y una cultivada en las localidades y años indicados en la tabla 1. Se coleccionaron sólo semillas provenientes de poblaciones consideradas puras, es decir, para las cuales no se detectó en el campo la presencia de taxones afines. Las panojas fueron lavadas con agitación bajo agua corriente, lográndose así el desprendimiento de los cariopses maduros que fueron inmediatamente recuperados, y extendidos sobre el papel para su rápido secado a temperatura ambiente. Las muestras obtenidas, prácticamente libres de impurezas, fueron almacenadas a temperatura ambiente en frascos de plástico hasta el momento de su empleo. Se realizó en todos los casos una prueba de germinación, y se utilizaron sólo muestras que conservaban un poder germinativo no inferior al 80%.

¹ Trabajo realizado en el Departamento de Biología, Universidad Nacional del Sur, 8000, Bahía Blanca, Argentina, con el auxilio de un subsidio otorgado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (PID 3109400/88).

² Cátedra de Botánica II.

³ Cátedra de Inmunología.

Tabla 1.— Materiales empleados: taxón, ejemplar de herbario, localidad y año de colección de la muestra.

| Taxón y ejemplar de herbario ¹ | Localidad, provincia y año de recolección ² |
|--|--|
| Eragrostis airoides Nees CBV 4104 | Daireaux, B 1986 |
| E. barrelieri J. Davean CBV 4065 | Bahía Blanca, B 1986 |
| E. cilianensis (All.) Vign. SL 4242 | C. de Patagones, B 1981 |
| E. curvula (Schrader) Nees cv. "Ermelo" (cultivada) | Guatraché, L 1981 |
| E. lugens Nees CBV 6051 | Dorrego, B 1988 |
| E. neomexicana Vasey CBV 6049 | Dorrego, B 1988 |
| E. neomexicana Vasey CBV 6505 | Mar Chiquita, B 1989 |
| E. orthoclada Hackel CBV 2931 | El Quemado, Y 1983 |
| E. pectinacea (Michx.) Nees CBV 6550 | Tres Arroyos, B 1989 |
| E. pilosa (L.) Beauv. CBV 4063 | Bahía Blanca, B 1986 |
| E. tenuifolia (A. Rich.) ex Steud. CBV 2933 | San Pedro, Y 1983 |
| E. virescens Presl "c" ³ CBV 5871 | Tres Arroyos, B 1988 |
| E. virescens Presl "d" ⁴ CBV 5956 1/2 | Tres Arroyos, B 1988 |
| E. virescens Presl "d" CBV 6050 | Dorrego, B 1988 |

¹ Los materiales de referencia se hallan depositados en el Herbario del Departamento de Biología, Universidad Nacional del Sur (BBB). CBV: herbario de C. B. Villamil; SL: herbario de Sergio Lamberto.

² B: Provincia de Buenos Aires; L: Provincia de La Pampa; Y: Provincia de Jujuy.

³ "c": forma de panoja contraída.

⁴ "d": forma de panoja difusa.

Preparación de polvos acetónicos: Los cariopses fueron molidos en mortero de porcelana hasta ser reducidos a un polvo capaz de atravesar un tamiz calibrado de bronce (malla N° 60). Una parte del polvo obtenido fue suspendido en cinco partes (p/v) de éter de petróleo por dos veces consecutivas durante 30 minutos a 4° C, y el sobrenadante desechado. El procedimiento anterior fue repetido empleando acetona en lugar de éter de petróleo, y la muestra secada al aire. El polvillo obtenido ("polvo acetónico") fue conservado en frascos plásticos a 4° C hasta el momento de su utilización.

Preparación de extractos: Los extractos usados como antígenos se obtuvieron suspendiendo una

parte de polvo acetónico en cinco partes (p/v) de buffer Tris-Glicina (pH: 8,2) y dejando en reposo a 4° C por 24 horas. La mezcla fue resuspendida y centrifugada a 5000 r.p.m., y el sobrenadante ("extracto crudo") fue congelado a -19°C hasta el momento de su utilización para la técnica de Ouchterlony (Carpenter, 1965); o liofilizado en porciones de 5 ml y conservado a -19°C hasta el momento de su utilización como inóculo. La concentración proteica de los extractos crudos utilizados como inóculo (tabla 2) fue estimada colorimétricamente por el método del Commassie Blue (Spector, 1978).

Preparación de antisueros: Los inóculos se prepararon reconstituyendo cada porción de liofilizado con 0,5 ml de agua destilada y emulsionando con volúmenes iguales de adyuvante completo de Freund (Margni, 1982). En conejos (hembras de 1,5 kg, raza Neozelandés) se inyectaron subcutáneamente 0,5 ml de la emulsión a cada lado de la columna vertebral cada cuatro días, y se realizó una sangría exploratoria a los 20 días de la primera inyección. Luego de dos meses de inoculaciones se dejó un período de descanso de un mes y se repitió el esquema anterior. La sangre se obtuvo por punción de la vena central de la oreja, y se dejó coagular espontáneamente. El suero obtenido fue fraccionado y conservado en viales de 1ml a -19°C hasta el momento de su utilización.

Método de inmunodifusión bidimensional: La reacción de inmunoprecipitación fue analizada según la técnica de Ouchterlony modificada (Carpenter, 1965). Se prepararon placas de vidrio de 7,5 cm x 7,5 cm, sobre las que se vertieron en caliente 8 ml de agar 1% en buffer veronal-veronal sódico (pH: 8,4). Una vez solidificado se cortaron diseños con un orificio central circular de 6 mm de diámetro y seis orificios periféricos de 4 mm de diámetro, equidistantes entre sí, y a 4 mm entre bordes del

Tabla 2.— Concentración proteica estimada colorimétricamente de los extractos utilizados como inóculo.

| Muestra y ejemplar de herbario | Contenido proteico (mg/ml) |
|--------------------------------|----------------------------|
| Eragrostis lugens CBV 6051 | 1,265 |
| E. neomexicana CBV 6049 | 1,585 |
| E. virescens "c" CBV 6050 | 1,230 |
| E. virescens "d" CBV 5871 | 1,080 |

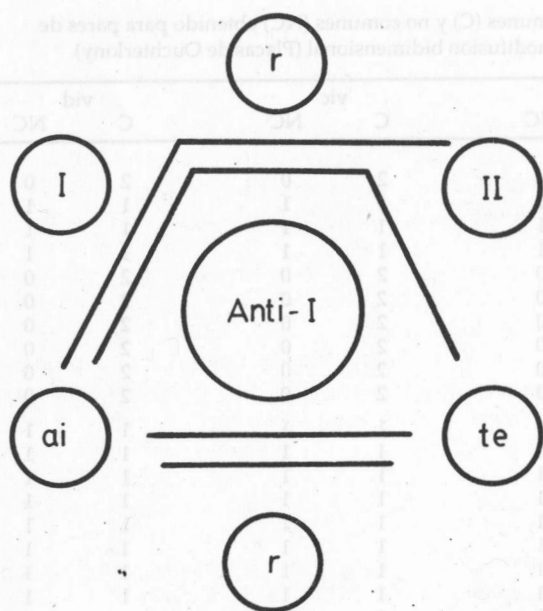


Fig. 1.— Representación diagramática de los sistemas inmunoprecipitantes obtenidos por el método de difusión en dos dimensiones (Placas de Ouchterlony) empleando antisuero contra *Eragrostis neomexicana* o *E. virescens*.

Referencias. Anti-I: Antisuero contra *E. neomexicana* o contra dos formas de *E. virescens*; r: antígeno de referencia; I: antígeno del Grupo I (*E. barrelieri*, *E. neomexicana*, *E. orthoclada*, *E. pectinacea*, *E. pilosa*, *E. virescens*); II: antígeno del Grupo II (*E. cilianensis*, *E. curvula*, *E. lugens*); ai: antígeno *E. airoides*; te: antígeno *E. tenuifolia*.

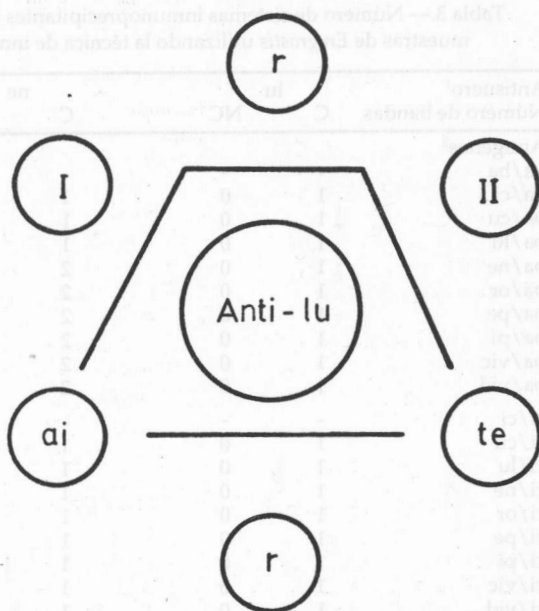


Fig. 2.— Representación diagramática de los sistemas inmunoprecipitantes obtenidos por el método de difusión en dos dimensiones (Placas de Ouchterlony) empleando antisuero contra *Eragrostis lugens*.

Referencias: Anti-lu: Antisuero contra *E. lugens*; r: antígeno de referencia; I: antígeno del Grupo I (*E. barrelieri*, *E. neomexicana*, *E. orthoclada*, *E. pectinacea*, *E. pilosa*, *E. virescens*); II: antígeno del Grupo II (*E. cilianensis*, *E. curvula*); ai: antígeno *E. airoides*; te: antígeno *E. tenuifolia*.

central. En el orificio central se sembraron 25 ul de antisuero y en los periféricos 12,5 ul de antígeno; la siembra se repitió a las dos horas, y nuevamente a las seis horas, y se dejó difundir en cámara húmeda a 45°C por 24 horas más. Las placas fueron lavadas por inmersión en solución fisiológica durante 24 horas, renovando la solución de lavado en cuatro o cinco oportunidades, y se dejaron secar a temperatura ambiente. Posteriormente se tiñeron con una solución de Amido Schwartz al 0,01% en ácido acético 2% durante 5 minutos; se decoloraron con una solución de ácido acético 4% en metanol 50%, y nuevamente se secaron al aire. Los espectros obtenidos fueron leídos con el auxilio del microscopio estereoscópico y esquematizados sobre papel (Figuras 1 y 2).

Índices de afinidad serológica entre taxones: Los índices de afinidad serológica cualitativa para cada par de taxones (Tablas 4 y 5) fueron calculados de la siguiente manera:

$$IAS = \frac{C}{C + NC}$$

donde

IAS = Índice de Afinidad Serológica
C = Número de bandas Comunes
NC = Número de bandas No Comunes

OBSERVACIONES

Los resultados obtenidos mediante la técnica de doble difusión en dos dimensiones utilizando como antígenos las proteínas seminales de *Eragrostis* indican un máximo de tres sistemas inmunoprecipitantes (bandas de precipitación) detectadas en la reacción de referencia (reacción del antisuero con el antígeno correspondiente al taxón empleado como inóculo); sólo dos de ellos pudieron utilizarse para realizar comparaciones sistemáticas; el tercero

Tabla 3.— Número de sistemas inmunoprecipitantes comunes (C) y no comunes (NC) obtenido para pares de muestras de *Eragrostis* utilizando la técnica de inmunodifusión bidimensional (Placas de Ouchterlony)

| Antisuero ¹ Número de bandas | lu | | ne | | vic | | vid | |
|--|----|----|----|----|-----|----|-----|----|
| | C | NC | C | NC | C | NC | C | NC |
| Antígenos ² | | | | | | | | |
| ba/ba | - | - | - | - | 2 | 0 | 2 | 0 |
| ba/ci | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ba/cu | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ba/lu | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ba/ne | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| ba/or | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| ba/pe | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| ba/pi | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| ba/vic | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| ba/vid | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| ci/ci | - | - | - | - | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ci/cu | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ci/lu | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ci/ne | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ci/or | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ci/pe | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ci/pi | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ci/vic | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ci/vid | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| cu/cu | - | - | - | - | 1 | 1 | 1 | 1 |
| cu/lu | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| cu/ne | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| cu/or | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| cu/pe | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| cu/pi | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| cu/vic | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| cu/vid | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| lu/lu | 1 | 0 | - | - | 1 | 1 | 1 | 1 |
| lu/ne | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| lu/or | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| lu/pe | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| lu/pi | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| lu/vic | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| lu/vid | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ne/ne | - | - | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| ne/or | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| ne/pe | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| ne/pi | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| ne/vic | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| ne/vid | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| or/or | - | - | - | - | 2 | 0 | 2 | 0 |
| or/pe | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| or/pi | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| or/vic | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| or/vid | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| pe/pe | - | - | - | - | 2 | 0 | 2 | 0 |
| pe/pi | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| pe/vic | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| pe/vid | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| pi/pi | - | - | - | - | 2 | 0 | 2 | 0 |
| pi/vic | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| pi/vid | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| vic/vic | - | - | - | - | 2 | 0 | 2 | 0 |
| vic/vid | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| vid/vid | - | - | - | - | 2 | 0 | 2 | 0 |

¹ Abreviaturas. lu: *Eragrostis lugens*; ne: *E. neomexicana*; vic: *E. virescens* (forma de panoja contraída); vid: *E. virescens* (forma de panoja difusa). ² Abreviaturas. ba: *Eragrostis barrelieri*; ci: *E. cilianensis*; cu: *E. curvula*; lu: *E. lugens*; ne: *E. neomexicana*; or: *E. orthoclada*; pe: *E. pectinacea*; pi: *E. pilosa*; vic: *E. virescens* (forma de panoja contraída); vid: *E. virescens* (forma de panoja difusa).

Tabla 4.— Índices de afinidad serológica (IAS) entre pares de muestras, obtenidos mediante la técnica de inmunodifusión bidimensional, empleando antisuero contra *Eragrostis neomexicana* o contra dos formas de *E. virescens*.

| | ai | ba | ci | cu | lu | ne | or | pe | pi | te | vic | vid |
|-----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|
| ai | - | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | 0 | 0 |
| ba | | 1 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| ci | | | 1 | 1 | 1 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0 | 0,5 | 0,5 |
| cu | | | | 1 | 1 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0 | 0,5 | 0,5 |
| lu | | | | | 1 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0 | 0,5 | 0,5 |
| ne | | | | | | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| or | | | | | | | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| pe | | | | | | | | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| pi | | | | | | | | | 1 | 0 | 1 | 1 |
| te | | | | | | | | | | - | 0 | 0 |
| vic | | | | | | | | | | | 1 | 1 |
| vid | | | | | | | | | | | | 1 |

Abreviaturas. ai: *Eragrostis airoides*; ba: *E. barrelieri*; ci: *E. cilianensis*; cu: *E. curvula*; lu: *E. lugens*; ne: *E. neomexicana*; or: *E. orthoclada*; pe: *E. pectinacea*; pi: *E. pilosa*; te: *E. tenuifolia*; vic: *E. virescens* (forma de panoja contraída); vid: *E. virescens* (forma de panoja difusa).

Tabla 5.— Índices de afinidad serológica (IAS) entre pares de muestras, obtenidos mediante la técnica de inmunodifusión bidimensional, empleando antisuero contra *Eragrostis lugens*.

| | ai | ba | ci | cu | lu | ne | or | pe | pi | te | vic | vid |
|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|
| ai | - | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| ba | | - | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| ci | | | - | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| cu | | | | - | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| lu | | | | | - | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| ne | | | | | | - | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| or | | | | | | | - | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| pe | | | | | | | | - | 1 | 0 | 1 | 1 |
| pi | | | | | | | | | - | 0 | 1 | 1 |
| te | | | | | | | | | | - | 0 | 0 |
| vic | | | | | | | | | | | - | 1 |
| vid | | | | | | | | | | | | - |

Abreviaturas. ai: *Eragrostis airoides*; ba: *E. barrelieri*; ci: *E. cilianensis*; cu: *E. curvula*; lu: *E. lugens*; ne: *E. neomexicana*; or: *E. orthoclada*; pe: *E. pectinacea*; pi: *E. pilosa*; te: *E. tenuifolia*; vic: *E. virescens* (forma de panoja contraída); vid: *E. virescens* (forma de panoja difusa).

—siempre muy débil y de aparición errática en algunas réplicas— fue desechado para la interpretación de resultados (Tablas 3, 4 y 5). Sólo un tipo de reacción ha sido observado para los pares de taxones estudiados, que corresponde a la reacción de identidad; no se detectaron en este estudio reacciones de no identidad ni reacciones de identidad parcial (Margni, 1982).

DISCUSION

El número y la intensidad de los sistemas inmunoprecipitantes obtenidos (bandas de precipitación), señala la baja inmunogenicidad de las proteínas seminales de *Eragrostis* (Tabla 3). Aun cuando se practican prolongados planes de inmunización (ver Materiales y Métodos) la reac-

ción de referencia es débil, tanto cualitativa (número de bandas) como cuantitativamente (intensidad de las bandas).

El grado de afinidad serológica entre taxones respecto de un taxón tomado como base de comparación (reacción de referencia) es:

a) directamente proporcional al número total de bandas obtenidas;

b) directamente proporcional al número de bandas idénticas (reacción de identidad);

c) inversamente proporcional al número de bandas no idénticas (Petersen y Fairbrothers, 1983).

De los resultados obtenidos se deduce que existe una considerable afinidad serológica entre nueve de las once especies estudiadas.

Utilizando antisueros contra *E. neomexicana* o *E. virescens*, las especies del conjunto formado por *Eragrostis barrelieri*, *E. cilianensis*, *E. curvula*, *E. lugens*, *E. neomexicana*, *E. orthoclada*, *E. pectinacea*, *E. pilosa*, y las dos formas de *E. virescens* evidenciaron la existencia de, al menos, un 50% de afinidad serológica, indicada por la presencia de una banda de precipitación común a todos ellos (Tabla 3). La técnica empleada no permite diferenciar los antígenos obtenidos de un conjunto de especies integrado por *E. barrelieri*, *E. neomexicana*, *E. orthoclada*, *E. pectinacea*, *E. pilosa*, y *E. virescens* (Grupo I), cuya comparación apareada señala siempre la existencia de dos sistemas inmunoprecipitantes comunes a todas ellas, es decir IAS de 100% (Tabla 4). Frente a estos antisueros, las especies del conjunto formado por *E. cilianensis*, *E. curvula* y *E. lugens* (Grupo II) presentan entre sí índices de afinidad serológica del 100%, aunque sólo alcanzan valores del 50% con respecto a los taxones del Grupo I (Tabla 4). Otras dos especies, *E. airoides* y *E. tenuifolia*, no desarrollan sistemas inmunoprecipitantes en presencia de ninguno de los tres antisueros mencionados, es decir que no revelan afinidad serológica entre sí, ni con ninguna de las especies incluidas en los grupos I y II (Fig. 1 y 2).

La utilización de proteínas seminales de *E. lugens* como agentes inmunogénicos indujo una respuesta más débil que para los otros tres taxones utilizados con el mismo fin: sólo una banda de precipitación fue detectada en la reacción de referencia y ésta fue común para nueve de los once taxones comparados (Tabla 3), indicando una total identidad inmunológica entre los taxones de los Grupos I y II, a la vez que total ausencia de la misma entre éstos y *E. airoides* o *E. tenuifolia* (Tabla 5).

La detección de una muy alta afinidad serológica entre especies de origen americano (*E. neomexicana*, *E. orthoclada*, *E. pectinacea* y *E. virescens*) y del Viejo Mundo (*E. barrelieri*, y *E. pilosa*), así como de afinidades menores con otras especies de diverso origen,

como *E. cilianensis* (región Mediterránea), *E. curvula* (Africa) y *E. lugens* (América), indica relativa uniformidad en las características serológicas del género. Esta uniformidad se manifiesta entre especies anuales (*E. barrelieri*, *E. cilianensis*, *E. neomexicana*, *E. pectinacea* y *E. pilosa*), y entre éstas y las perennes (*E. curvula*, *E. lugens* y *E. orthoclada*). Tal peculiaridad —ya observada por Bekele y Lester (1981), utilizando técnicas electroforéticas— señala la similitud entre todos estos taxones desde el punto de vista serológico. Sin embargo, del conjunto de taxones considerados quedan excluidos *E. tenuifolia*, especie africana de reciente introducción en la Argentina (Nicora y Rúgolo, 1987), cuya afinidad con el resto de las especies espontáneas de la región aún no ha sido evaluada; y *E. airoides*, especie perenne originaria de América. La inclusión de la especie mencionada en último término en el género *Eragrostis* ha sido aceptada por la mayoría de los agrostólogos sudamericanos, en base a características morfológicas de la espícula y del cariopse (Burkart, 1969; Cabrera, 1970; Nicora y Rúgolo, 1987; Rosengurt et al., 1970), pero ha sido objetada desde el punto de vista citogenético en razón de que su número cromosómico ($2n = 36$) se aparta del esperado en *Eragrostis* ($x = 10$), acercándose más a los correspondientes a *Sporobolus* ($x = 6$ ó $x = 9$) (Davidse y Pohl, 1974). La morfología de la espícula, que a veces es uniflora, pero suele tener dos o tres antecios indicaría que esta especie constituye un nexo entre ambos géneros. La falta de afinidad serológica de *E. airoides* y de *E. tenuifolia* con las demás especies estudiadas apoya la interpretación que supone polifilético el origen del género *Eragrostis* (Jacobs, 1987) y, consecuentemente, cuestiona su validez según el criterio cladístico (Stuessy, 1990).

Los resultados obtenidos en este estudio no permiten establecer correlaciones entre la procedencia geográfica de los taxones considerados y su composición proteica. Tampoco parecen indicar mayor afinidad entre las especies anuales que entre éstas, y las perennes. Por otra parte, las especies provistas de glándulas epidérmicas, como *E. cilianensis* y *E. neomexicana* (Nicora, 1941), no presentan entre sí mayor afinidad serológica que con las que no las poseen.

Tres especies americanas, una perenne (*E. lugens*) y dos anuales (*E. neomexicana* y *E. virescens*) que comparten características morfológicas tradicionalmente consideradas importantes desde el punto de vista sistemático, como la presencia de un ancho surco ventral y ornamentación similar en el cariopse, pertenecen a dos grupos serológicos distintos, que, en este caso, coinciden con la duración del ciclo vegetativo. Por el contrario; pertenecen al mismo grupo serológico especies que, como *E.*

cilianensis, *E. curoula* y *E. lugens*, se alejan claramente por su origen geográfico, ciclo de vida y características morfológicas.

Estos resultados apoyan la exclusión de *E. barrelieri* del complejo *E. cilianensis* y lo acercan, en cambio al complejo *E. pectinacea-pilosa* (Koch, 1974). Por otra parte confirman la afinidad entre algunas especies del grupo I, que, como *E. neomexicana* y *E. virescens* han sido, a veces, consideradas coespecíficas (Sánchez Vega, 1979).

En general se concluye que las proteínas seminales del género *Eragrostis* pueden utilizarse, pese a su bajo poder inmunogénico, como criterio complementario para caracterizar taxones y establecer correlaciones de nivel infragenérico. Estudios adicionales que incluyan una mayor cantidad de especies y técnicas más refinadas en la purificación de materiales antigénicos serán necesarios para una adecuada evaluación del significado de los datos serológicos en la delimitación del género y en sus relaciones con géneros afines.

AGRADECIMIENTOS

A la Bioq. Teresa Orofino, quien colaboró en la puesta a punto de la técnica de inmunodifusión empleada para este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- Bekele, E. y R. N. Lester. 1981. Biochemical Assesment of the Relationships of *Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter with some Wild *Eragrostis* Species (Gramineae). *Ann. Bot.* 48: 717-725.
- Burkart, A. 1969. *Gramíneas*. En Burkart, A. (dir.), *Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina)*, Parte 2. Colección Científica del INTA, Tomo 6, Buenos Aires.
- Cabrera, A. L. 1970. *Gramineae*. En Cabrera, A. L. (dir.), *Flora de la Provincia de Buenos Aires*, Parte 2. Colección Científica del INTA, Tomo 4, Buenos Aires.
- Carpenter, P. 1965. *Immunology and Serology*. W. B. Saunders Co. Philadelphia.
- Davidse, G. y R. W. Pohl. 1974. Chromosome numbers, meiotic behaviour and notes on Tropical American Grasses (Gramineae). *Canadian J. Bot.* 52 (2): 317-328.
- Fairbrothers D. E. & M. A. Johnson. 1961. The Precipitin Reaction as an Indicator of Relationship in Some Grasses. *Recent Adv. Bot.* 1: 116-120.
- Jacobs, S. W. L. 1987. Chloridoid Grasses. En Soderstrom, T. R., K. W. Hilu, C. S. Campbell y M. E. Barkworth (eds.) *Grass Systematics and Evolution*. Smithsonian Institution Press. Washington, DC.
- Koch, S. D. 1974. The *Eragrostis pectinacea-pilosa* Complex in North and Central America (Gramineae: Eragrostoideae). Illinois Biological Monographs 48.
- Lester, R. N. & E. Berkele, 1981. Amino Acid Composition of the Cereal Tef and Related Species of *Eragrostis* (Gramineae). *Cereal Chem.* 58 (2): 113-115.
- Mabberley, D. J. 1987. *The Plant-Book*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Margni, R. A. 1982. *Inmunología e Inmunología Química*. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.
- Nicora, E. G. 1941. Contribución al estudio histológico de las glándulas epidérmicas de algunas especies de *Eragrostis*. *Darwiniana* 5: 316-321.
- y Z. E. Rugolo de Agrasar. 1987. *Los Géneros de Gramíneas de América Austral*. Hemisferio Sur. Buenos Aires.
- Petersen, F. P. y D. E. Fairbrothers. 1983. Serological Investigation of Selected Amentiferous Taxa. *Syst. Bot.* 4 (3): 230-241.
- Rosengurt, B., B. R. Arrillaga de Maffei y P. Izaguirre de Artucio. 1970. *Gramíneas Uruguayas*. Universidad de la República, Montevideo.
- Sánchez Vega, I. 1979. Estudio Biosistemático de *Eragrostis mexicana* (Hornem.) Link, *E. neomexicana* Vasey, *E. orcuttiana* Vasey y *E. virescens* Presl: *Gramineae*. Tesis de Maestría, Colegio de Postgraduados, Chapingo.
- Spector, T. 1978. Refinement of the Commassie Blue Method of Protein Quantitation. *Anal. Biochem.* 86: 142-146.
- Stuessy, T. F. 1990. *Plant Taxonomy. The Systematic Evaluation of Comparative Data*. Columbia University Press. New York.