

COMPOSICION AMINADA EN HOJAS DE ESPECIES Y/O TIPOS GENETICOS DEL GENERO LARREA

TRIGONE, S. O. y A. RUIZ LEAL¹

S U M M A R Y

AMINO ACID COMPOSITION IN LEAVES FROM SPECIES AND / OR GENETIC TYPES OF THE GENUS LARREA

The percentage composition of free and bound amino acids and amides was shown in leaves of six species or genetic types of the creosote bush plant, e. g., *Larrea ameghinoi*, *L. divaricata*, *L. cuneifolia*, *L. nitida*, *L. aff. ameghinoi* and *Larrea ps. 26006*. Based on their soluble and insoluble aminoacid composition it was attempted to throw some light on the taxonomic ubication of two of them, designed here as *Larrea aff. ameghinoi* and *Larrea sp. BFJJE*, which differ in morphological and growth habd characters. Proline was the main free nitrogen compound. It percentage accounted for 29 to 66% of the total soluble amino compounds. Asparagine, glutamine and aspartic and gamma-aminobutyric acids were seconds by their relative abundance. Arginine were present only in *L. aff. ameghinoi* and *Larrea sp. 26006*. The bulk protein moiety —bound amino acids— was rich in leucine and phenylalanine. Proline, contrary to that observed in the soluble phase, made a poor contribution to this fraction. Differences in the relative percentage of other amino acids were found among the six groups. The level of genetic-biochemical determination of these species or types were discussed on account to the fact that they were sampled in a similar developmental stage and grown in the same ecological environment. It was concluded that the percentage amino acid composition may be used as a biochemical character of auxiliary taxonomic value for this genus under the specified conditions.

El género *Larrea*, rico en especies que varían en grados de hibridación, ploidía y recombinaciones genéticas (1, 3, 4, 5, 9, 22), permite por sí mismo estudiar la composición porcentual de determinados metabolitos —como carácter bioquímico— en relación a diferencias y similitudes taxonómicas basadas en observaciones morfológicas. Al mismo tiempo, dichos metabolitos pueden dar una idea de la reacción de distintos tipos genéticos a un mismo ambiente.

¹ Profesores del Instituto de Biología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias (U.N.C.), Mendoza, Argentina.

Si bien la composición aminada libre y ligada de las células vegetales, parece cambiar a través de la ontogenia, y ser además función de las condiciones ambientales y nutricionales (7, 13, 14, 18, 19, 20) es, sin embargo, bastante constante para una misma especie y hay ejemplos que muestran la factibilidad de interpretar su composición desde el punto de vista genético-taxonómico (15, 16).

Este trabajo tiene el propósito de mostrar en qué medida, el complemento de los amino ácidos soluble e insolubles, de diferentes especies y/o tipos genéticos del género *Larrea*, puede contribuir a la resolución de problemas taxonómicos de este género (1). Al mismo tiempo trata de proveer cierta información relativa a los principales compuestos aminados de las hojas de este género, que reviste importancia ecológica por su verdadera capacidad de adaptación a sequía.

MATERIAL Y METODO

Toma de muestras. El material vegetal - *Larrea ameghinoi*, *L. cuneifolia*, *L. nitida*, *L. divaricata*, *L. aff. ameghinoi* (herbario Ruíz LEAL, n° 25626) y *Larrea sp.* (herbario Ruíz LEAL n° 26006) - fue tomado por uno de nosotros (A.R.L.), durante una excursión realizada a la región patagónica argentina, en la localidad de Valcheta, Río Negro. Para su extracción se eligió una superficie aproximada de 500 m², que aparentemente no acusaba mayores variaciones ecológicas. En varios lugares de dicha área, las ramitas fueron obtenidas de plantas en el mismo estado de desarrollo, i. e., floración y fructificación. Las hojas, mezcladas al azar, fueron separadas por duplicado para su análisis.

Los rasgos especiales de los tipos genéticos en duda, aquí presentados, i. e., *Larrea aff. ameghinoi* (herbario Ruíz LEAL n° 25626) y *Larrea sp.* herbario Ruíz LEAL n° 26006), designadas en lo sucesivo respectivamente, como *L. aff. ameghinoi* y *Larrea sp.* n° 26006, residen en el carácter heteromorfo de las hojas y el hábito postrado.

Análisis. Los amino ácidos y amidas libres, y aquellos componentes de la fracción proteica global, fueron extraídos y determinados cuantitativamente, según el método descripto por THOMPSON y STEWARD (17), i. e. extracción con alcohol etílico 80%, hidrólisis clorhídrica del residuo insoluble, purificación a través de resina de

intercambio catiónico, separación por cromatografía bi-direccional sobre papel, y determinación cuantitativa por espectrofotometría.

Datos. Se presentan en forma de histogramas. Cada compuesto se expresa como porcentaje con respecto al contenido total de amino ácidos solubles o insolubles. Estos últimos están dados en miligramos por gramo de tejido seco. El conjunto porcentual —espectro aminado— representa la calidad de los respectivos compartimientos aminados, mientras que el contenido total señala el tamaño de dichos compartimientos.

RESULTADOS

Amino ácidos solubles. De los 17 compuestos aminados solubles determinados en las hojas de las 6 variantes (fig. 1-A), prolina se destaca por su mayor proporción relativa, sobrepasando notablemente al resto de los compuestos. Entre éstos merecen destacarse, de acuerdo a la especie o tipo genético, los ácidos dicarboxílicos aspártico y glutámico, sus respectivas amidas asparagina y glutamina, y el ácido gamma-aminobutírico.

Los 6 tipos estudiados presentan entre sí una composición porcentual bastante diferente. *L. divaricata* se caracteriza por su alta proporción de ácido gamma-aminobutírico; *L. cuneifolia* es la que contiene mayor proporción de ácido aspártico, concomitantemente con ausencia total de su amida asparagina; *L. aff. ameghinoi* posee el más alto contenido de amidas. Debe notarse que *L. aff. ameghinoi* y *L. ameghinoi* se diferencian, fundamentalmente, por la abundancia relativa de prolina, asparagina, glutamina, ácido gamma-aminobutírico, lisina y arginina. Por su parte, *Larrea sp. n° 26006* se diferencia de las demás, por su alto porcentaje de prolina —sólo igualado por *L. cuneifolia*— y por la exigua proporción del resto de los compuestos aminados solubles.

Amino ácidos insolubles. Como era de esperar, la composición porcentual del complemento aminado insoluble (fig. 1-B), no muestra el mismo grado de variación que su similar de la fase soluble, ya que configura, en su casi totalidad, la composición de la fracción proteica global de la hoja. Por esta razón, las variaciones porcentuales entre los diferentes compuestos, aunque aparentemente pequeñas, deben ser consideradas de importancia. De los 15 compuestos que forman esta fracción —las amidas y el triptofano se destruyen

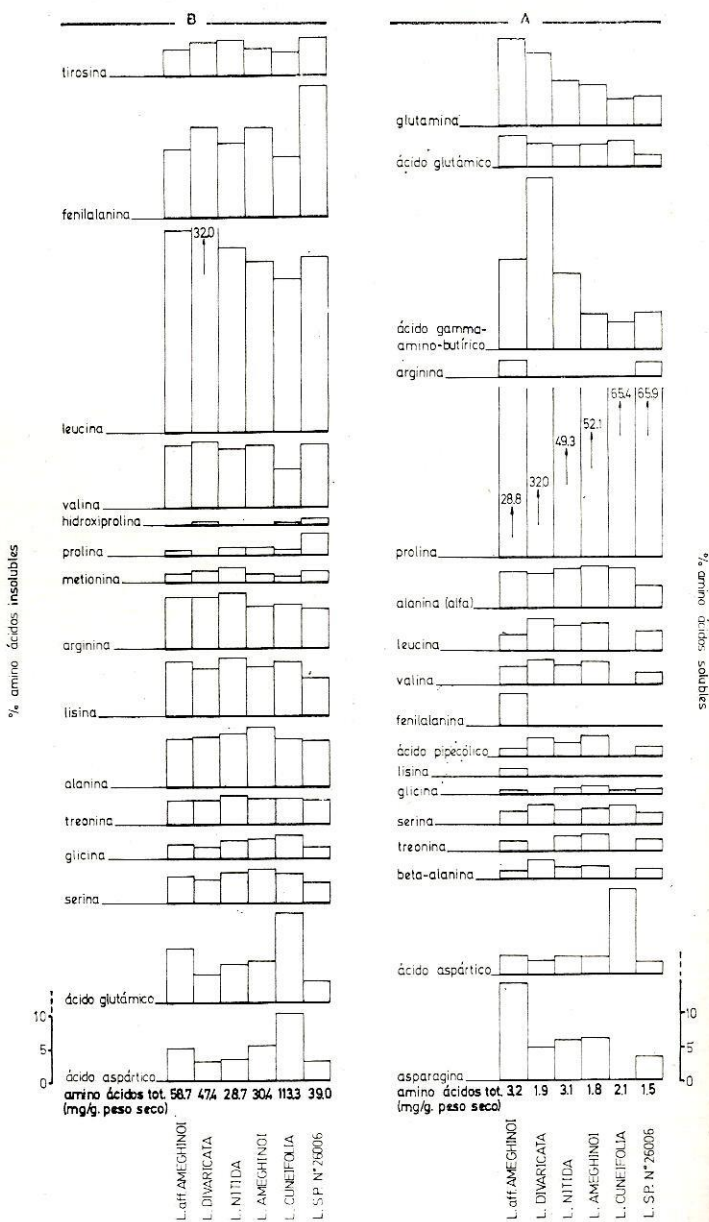


Fig. 1. — Composición porcentual del complemento aminado en hojas de distintas especies y/o tipos del género *Larrea*. A: aminoácidos y amidas libres, B: aminoácidos de la fracción proteica global.

durante la hidrólisis ácido—, los amino ácidos predominantes están representados por leucina, fenilalanina, ácidos aspártico y glutámico, lisina, arginina, alanina, valina. El porcentaje relativo de prolina ligada es muy poco significativo y no guarda paralelismo con la prolina libre.

Las características más distintivas entre los diferentes tipos examinados se deben notar, no sólo en los modelos espectrales aminados, sino también en la mayor proporción relativa de los principales compuestos. Leucina en *L. divaricata*; fenilalanina y prolina en *Larrea sp. n° 26006*; ácidos aspártico y glutámico en *L. cuneifolia*, arginina en *L. nitida*; alanina en *L. ameghinoi*.

DISCUSION

A pesar que los amino ácidos y amidas son sustancias que se presentan con tanta frecuencia en las plantas, lo que prácticamente invalidaría su valor como carácter taxonómico, el empleo de la composición porcentual de los compuestos en los compartimientos aminados soluble e insoluble, tomados como carácter bioquímico, parece tener importancia taxonómica en este estudio, ya que los modelos espectrales aminados han resultado diferentes para cada variante estudiada.

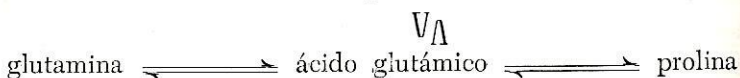
Si tipos diferentes, desde el punto de vista morfológico, crecen en un mismo ambiente y manifiestan diferencias bioquímicas, es lícito inferir que tienen entre sí diferencias genotípicas, y que los cambios señalados no se deben a respuestas plásticas. Es posible, por ejemplo, que *L. aff. ameghinoi* y *Larrea sp. n° 26006*, que presentan espectros aminados distintivos, sean razas ecológicas genéticamente adaptadas.

Teniendo en cuenta que los tipos estudiados crecieron en un mismo ambiente, y que las muestras fueron extraídas de plantas en similar estado de desarrollo, es permisible suponer que las diferencias encontradas pueden atribuirse a variaciones en intensidad de actividad de enzimas, y por tanto, indirectamente relacionadas con el potencial genético (10). Se sabe que las hojas funcionan como un reservorio de nitrógeno libre y/o proteico (2), y que dichas reservas van luego desapareciendo a medida que en la planta se van creando nuevos centros de crecimiento que demandan mucho nitrógeno. Así, la variación de los tamaños de los compartimientos aminados

de las hojas, pueden ser el resultado de riferentes actividades enzimáticas implicadas en: a) síntesis y/o utilización "in situ" de compuestos aminados; b) prevalencia de desdoblamiento proteico (12); c) importación desde otras regiones morfológicas de la planta; d) reutilización del nitrógeno libre en la síntesis de proteína (15). Según el complemento genético de cada especie y/o tipo, amino ácidos como prolina, ácido gamma-aminobutírico o las amidas asparagina y glutamina, podrían tener significación como principales donadores de nitrógeno para la síntesis de nueva proteína. Esto es especialmente cierto cuando las hojas de este género reanudan su crecimiento luego de un período de sequía (11). DUISBERG (6) comprobó que las hojas de *Larrea* que reasumen dicho crecimiento, poseen mucho más nitrógeno proteico que aquellas que no sufren sequía.

El alto contenido de prolina libre, que no guarda relación con la ligada, indicaría que las variaciones que ella experimenta son bastante independientes de cualquier cambio que ocurra en la fracción proteica global, i. e., su presencia se debe a una fuente no proteica. Tal podrían ser los metabolitos solubles, glutamina, ácidos glutámico y gamma-aminobutírico, los cuales podrían originar prolina, de acuerdo al conocido esquema —parcial— postulado por FOWDEN (8).

ácido gamma-aminobutírico



Es interesante acotar que la dominante presencia de prolina libre en las hojas, quizás tenga implicancia en la capacidad de verdadera adaptación a sequía de este género. TYANKOVA (21) encontró que la gran cantidad de prolina libre en macollos y raíces de plantas de trigo sometidas a sequía, provenía de las hojas. El alto porcentaje de prolina en el compartimiento aminado soluble, puede ser una característica química del xerofitismo del género *Larrea*.

La composición aminada que integra la fracción proteica global, responde más a variaciones de caracteres genéticos que de factores ambientales, para un mismo estado de desarrollo (15). Las diferencias apuntadas en este estudio, son factibles de atribuirse indirectamente a la actividad de diferentes genes involucrados en la síntesis de proteína estructural.

Los datos aportados muestran que el análisis porcentual de la composición aminada soluble e insoluble, de plantas en el mismo

estado de desarrollo y crecidas en un mismo ambiente, provee espectros aminados distintivos, los cuales, además de ser empleados en estudios fisiológicos, pueden servir como carácter bioquímico de valor taxonómico auxiliar, en relación a caracteres morfológicos diferenciales que, en última instancia, pueden implicar grados de hidridación, ploidía o recombinaciones de genes. Tal puede ser el caso de los tipos en duda aquí incluidos, *Larrea aff. ameghinoi* y *Larrea sp. n° 26006*.

RESUMEN

Se muestra la composición porcentual de amino ácidos y amidas libres y ligados, en hojas de seis especies o tipos genéticos de las plantas de jarilla, e. g., *Larrea ameghinoi*, *L. divaricata*, *L. nitida*, *L. aff. ameghinoi* y *Larrea sp. n° 26006*. Sobre la base de sus respectivas composiciones de amino ácidos solubles e insolubles, se intenta arrojar luz sobre la ubicación taxonómica de dos de ellas, designadas aquí como *Larrea aff. ameghinoi* y *Larrea sp. n° 26006*, las cuales difieren del resto en caracteres morfológicos y hábito de crecimiento. Prolina fue el principal compuesto nitrogenado libre. Su porcentaje varió entre el 29% y el 66% del total de los compuestos aminados solubles. Asparagina, glutamina y los ácidos aspártico y gamma-aminobutírico, le siguieron por su abundancia relativa. Arginina apareció únicamente en *L. aff. ameghinoi* y *Larrea sp. n° 26006*. La fracción proteica global —amino ácidos ligados— resultó rica en leucina y fenilalanina. Prolina, contrariamente a lo observado en la fase soluble, contribuyó muy poco a esta fracción. Otras diferencias, en el porcentaje relativo de los restantes compuestos, se encontró entre los seis grupos. El nivel de determinación genética-bioquímica de estas especies o tipos, se discute de acuerdo al hecho de haber sido muestreadas en un estado similar de desarrollo y crecidas en un mismo ambiente ecológico. Se concluye que la composición aminada porcentual puede ser empleada como un carácter bioquímico de valor taxonómico auxiliar para este género, bajo las condiciones especificadas.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — BARBOUR, M. G. 1969. Patterns of genetic similarity between *Larrea divaricata* of North and South America. *The American Midland Naturalist*. 81 (1): 54-67.
- 2 — CARR, D. J. and J. S. PATE. 1967. Ageing in the whole plant. *Symp Soc. Exp. Biol.* 21: 559 - 600.

- 3 — COVAS, G. 1970. Híbrido interespecífico natural *Larrea divaricata* x *Larrea cuneifolia*. *Apuntes para la flora de La Pampa*. Rca. Argentina. Est. Exp. de Anguil, La Pampa. N° 45: 177 - 178.
- 4 — COVAS, G. 1949. Estudios cariológicos en antófitas. III. *Darwiniana*. 9: 158 - 162.
- 5 — — — — —, y B. SCHNACK. 1946. Número de cromosomas en antófitas de la región de Cuyo (República Argentina). *Rev. Argentina de Agronomía*. 13: 153 - 166.
- 6 — DUISBERG, P. C. 1952. Some relationships between xerophytism and the content of resin; nordihydroguaiaretic acid and protein of *Larrea divaricata* CAV. *Plant Physiol.* 27 (4): 679 - 777.
- 7 — FOWDEN, L. and F. C. STEWARD. 1957. Nitrogenous compounds and nitrogen metabolism in the *Liliaceae*. I. The occurrence of soluble nitrogenous compounds. *Ann. Bot.*, N. S. 21 (8): 53 - 84.
- 8 — — — — —. 1965. Amino acid biosynthesis. En *Biosynthetic Pathways in Higher Plants*. Ed. J. B. PRIDHAM y T. SWAIN. Academic Press. pp. 73-79.
- 9 — HUNZIKER, J. H. PALACIOS, R. A.; y A. SORIANO, 1969. Hibridación natural en especies sudamericanas de *Larrea* (*Zygophyllaceae*) *Kurtzianas* 5: 55 - 66.
- 10 — MIEGE, M. N. 1968. Constitution chimique des plantes et, systématique: Significacón taxonomique de la connaissance des protéines et acides nucléiques. *Candollea*. 23 (2): 229 - 256.
- 11 — RUNYON, E. H. 1934. The organization of the creosote bush with respect to drought. *Ecology*. 15: 128 - 138.
- 12 — SIMOLA, L. K. 1968. Comparative studies on the amino acid pools of three *Lathyrus* species. *Acta bot. fenn.* 81: 4 - 59.
- 13 — STEWARD, F. C.; CRANE, F.; MILLAR, K.; ZACHARIUS, R. M. RABSON, R.; AND D. MARGOLIS. 1959. Nutritional and environmental effects on the nitrogen metabolism of plants. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 13:148-176.
- 14 — — — — —; HULME, A. C.; FREIBERG, S. R.; HEGARTY, M. P.; POLLARD, J. K.; RABSON, R.; AND R. A. BARR. 1960. Physiological investigation on the banana plant. *Ann. Bot.*, N. S. 24(93):83-157.
- 15 — STEWARD, F. C. AND D. DURZAN. 1965. Metabolism of nitrogenous compounds. En: *Plant Physiology, a treatise*. Ed. F. C. STEWARD. Vol. IV-A. pp. 379-636.
- 16 — — — — —. AND J. K. POLLARD. 1956. Some further observations on glutamyl and related compounds in plants. En: *Inorganic Nitrogen Metabolism*. Ed. W. D. McELROY y B. GLASS. pp. 377-407.
- 17 — THOMPSON, J. F. AND F. C. STEWARD. 1951. Investigación on nitrogen compounds and nitrogen metabolism in plants. I. II. *Plant Physiol.* 26: 275-297 y 421-440.
- 18 — TRIONE, S. O. 1968. Estudios sobre el metabolismo del nitrógeno en plantas de papa decaídas ecológicamente por acción de altas temperaturas. *Rev. Fac. C. Agrarias* (Mendoza). 14 (1-2): 39-57.
- 19 — — — — —. 1969. Cambios en la posición de los compartimientos nitrogenados soluble e insoluble del pericarpio y semilla de la vid desde antesis a maduración. *Phyton*. 26(2):135-150.
- 20 — — — — —. y G. ALMELA PONS. 1970. Forma de acumulación del nitrógeno soluble en tubérculos de papa provenientes de plantas sometidas a diferentes regímenes de sequía. *Rev. Fac. C. Agrarias* (Mendoza). 17 (1-2):27-34.
- 21 — TYANKOVA, L. 1967. On the origin of free proline in organs of wheat plants affected entirely or partially by drought. *Comp. Rend. Académ. Bulgare des Sci.* 20(9):955-958.
- 22 — YANG, T. W. 1967. Ecotypic variation in *Larrea divaricata*. *Amer. J. Bot.* 54:1041-1044.