

RELACIONES FILOGENÉTICAS ENTRE LAS ESPECIES CHILENAS DE *SOPHORA* (PAPILIONACEAE)

Raúl C. Peña * y Bruce K. Cassels **

* Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. U. Católica. Casilla 144 D, Santiago, Chile.

** Facultad de Ciencias Universidad de Chile, Casilla 653 Santiago, Chile

PALABRAS CLAVE: *Sophora*, Papilionaceae, alcaloides quinolicidínicos, cladística.

ABSTRACT

Phylogenetic affinities between Chilean *Sophora* species are not clear. We suggest a new hypothesis for the origin of the section *Edwardsia*. Parsimony analysis allows a South American origin to be established for the species of this section. The shortest tree was obtained using morphological characters only. The seed alkaloids did not provide useful information for the filiation of *Edwardsia* species. Two branches are recognized: one of them includes *S. chrysophylla*, *S. denudata*, *S. howinsula*, *S. tetraptera*, y *S. toromiro*; the other one includes *S. fernandeziana*, *S. macnabiana* y *S. microphylla*, which are clearly distinguishable. *Sophora macrocarpa*, an ancient element of the South American flora, is closely related to species belonging to the section *Sophora* represented in the region by *S. linearifolia* y *S. rhynchocarpa*. Sections *Calia* y *Styphnolobium* are clearly related to each other, both morphologically and chemically.

INTRODUCCION

El género *Sophora* comprende unas 45-50 especies, 10 de ellas se incluyen en la sección *Edwardsia*. Yakovlev (1967), basándose principalmente sobre argumentos morfológicos restableció los géneros *Calia* y *Styphnolobium*; una década después Tsoong & Ma (1981) incluyeron, a su vez, *Calia* en el género *Styphnolobium*. Sousa & Rudd (1983) en su revisión de *Styphnolobium* ($2n=28$), reconocieron que este taxon está muy relacionado con *Calia*, aunque su número cromosómico contrasta con el compartido por *Sophora* y *Calia* que es de $2n=18$ (cf. Palomino et al. 1993). Bailey (1974) estudiando la composición de los polisacáridos de las semillas, encontró apoyo para esta separación y reconoció como géneros distintos a *Calia*, *Sophora* (la mayoría representantes de la sección *Edwardsia*) y *Styphnolobium*. *Calia* no contiene galactomananos, lo que la hace distinta a *Styphnolobium* (i.e. *Sophora affinis* Torrey et A.Gray), sus semillas contienen almidón o amiloide y polímeros de galactosa y arabinosa, en tanto que las semillas de *Sophora tomentosa* (Sección *Sophora*) contiene polímeros de galactosa-arabinosa. Recientemente A. S. Cerezo (com. personal) confirmó que las especies de *Edwardsia* contienen arabinogalactanos como principal polisacárido. Murray (1986), estudió los patrones electroforéticos de las proteínas seminales de *Sophora microphylla* y *Sophora macrocarpa*, encontrándolos indistinguibles. Aunque se ha establecido que el patrón de proteínas de *Pisum* es muy parecido al de *Sophora macrocarpa*, Murray & Porter (1980) postulan que *Sophora macnabiana* y

Sophora macrocarpa, ambas especies chilenas, derivarían de los taxa que crecen en Nueva Zelanda, en relación a ello parece más razonable concluir que la electroforésis de las proteínas de las semillas no permite distinguir ni siquiera géneros distantes en Papilionaceae. Por otro lado, Markham & Godley (1972) al estudiar la afinidad de la composición de los flavonoides foliares no encontraron evidencias suficientes para separar la especie chilena *Sophora macnabiana* de la neozelandesa *Sophora microphylla*. Los estudios quimiotaxónomicos pioneros realizados por Briggs & al. (1937, 1948) reconocieron a *Sophora microphylla* var. *fulvida* Allan, *Sophora chathamica* Cockayne y a material de *Sophora* de Anawhata, Nueva Zelanda, como especies separadas sobre la base de la composición de los alcaloides de las semillas. Urzúa & Cassels (1970), empleando el mismo criterio, encontraron que *Sophora macnabiana* (syn. *Sophora microphylla* de Chile) se diferencia del material anteriormente analizado proveniente de Nueva Zelanda. Estos estudios no puede considerarse ya como adecuados debido a lo grueso de la metodología analítica y el hecho que se basaron en muestras individuales.

El presente trabajo tiene como objetivo integrar los caracteres morfológicos con la composición de alcaloides -analizados por cromatografía de gas líquido a nivel individual- en un esquema que brinde una base más segura a nuestra hipótesis sobre el origen y las afinidades de las especies de *Sophora* sección *Edwardsia* (Peña et al. 1993).

MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron los siguientes taxa, todos considerados a nivel específico según Allan (1961), Yakovlev (1967), Green (1970) e Isely (1981): *Sophora chrysophylla* (Salisb.) Seem., (incluida *Sophora unifoliata* (Rock) Degg. et Scherff.), *Sophora denudata* Bory, *Sophora fernandeziana* (Phil.) Skottsb., *Sophora howinsula* (Oliv.) Green, *Sophora macnabiana* (Grah.) Skottsb., *Sophora macrocarpa* J.E.Sm., *Sophora masafuerana* (Phil.) Skottsb., *Sophora microphylla* Ait. (incluyendo *Sophora chathamica*), *Sophora prostrata* Buchan., *Sophora tetraptera* J.Mill., *Sophora toromiro* (Phil.) Skottsb. (todos incluidos en la sección *Edwardsia*), *Sophora tomentosa* L., *Sophora linearifolia* Griseb., y *Sophora rhynchocarpa* Griseb. (Secc. *Sophora*), *Sophora secundiflora* Lag. ex DC. (Secc. *Calia*) y *Sophora japonica* L. (Secc. *Styphnolobium*). Ejemplares testigos se depositaron en el Herbario de Escuela de Química y Farmacia (SQF). Se emplearon las semillas maduras de las especies de las localidades que se muestran en la [Tabla 2](#) en la extracción y determinación de los alcaloides.

Procedimiento de Extracción: Las semillas secas (1-5 dependiendo del tamaño) se molieron groseramente y se extrajeron con metano hasta reacción negativa con Dragendorff. El residuo concentrado se disolvió en 1% de ácido sulfúrico, saturado con NaCl, y se extrajo con cloroformo. La parte acuosa se alcalinizó con bicarbonato de sodio y se sometió a partición con cloroformo. El extracto clorofórmico de la fase acuosa se secó con sulfato de sodio y se concentró a sequedad. La cromatografía gas-líquido se realizó con una columna capilar de 20 m tipo SE-30, a temperatura constante de 120 °C, durante 3 minutos, seguido de incremento a velocidad constante de 6 °C/min hasta 210°C, y finalmente por un plateau de 20' de duración. El detector selectivo N/P se mantuvo a 250°C. Se inyectó cafeína con cada muestra como estándar interno. Se disponía de muestras auténticas de los siguientes alcaloides: baptifolina, citisina, N-metilcitisina, matrina y 5-hidroximatrina. La anagirina y

la rombifolina se identificaron por comparación con los tiempos de retención de la literatura.

Los caracteres se polarizaron por la técnica del out-group. Los estados de los caracteres se muestran en el [Apéndice 1](#).

RESULTADOS

El cladograma

La matriz de datos derivada de la [Tabla 1](#) se analizó usando el paquete de programa PAUP versión 2.4 de Swofford (1985). Se escogió *Styphnolobium* como ancestro y se aplicó la opción de Lundberg. Esta técnica minimiza las homoplasias debidas al out-group. El árbol más corto tiene 68 pasos de largo, índice de consistencia 0,412, para 21 caracteres y 16 taxa ([Fig. 1](#)). Un análisis heurístico que requirió sólo de 52 pasos, 16 menos que el cladograma original, se obtuvo usando 16 caracteres, eliminando los caracteres 5, 7, 9 y 13. Esta estrategia apoya un origen neozelandés para la sección *Edwardsia*. Otro desarrollo heurístico empleando sólo caracteres morfológicos (1-16) reduce aún más el largo del árbol- a 46 pasos-, veintidós menos que el original de 21 caracteres ([Fig. 1](#), [Fig. 2](#)). Índice de consistencia 0,435, con una topología que muestra dos clados en el grupo *Edwardsia* (2,9),(7,8)3 y (4,10)6)11)5). Los porcentajes de metilcitisina, citisina, matrina, soforanol, anagirina y rombifolina en los diferentes ejemplares, fueron objeto de un análisis de componentes principales. La baptifolina no fue reconocida como componente principal en este tratamiento. La distribución de las muestras en los planos F1xF2 (que dan cuenta de 52.11% de la variación total) revela la existencia de 3 grupos correspondientes a *Calia*, *Edwardsia* y *Sophora* ([Fig. 3](#)). Al considerar el tercer factor no se discriminan grupos adicionales (F3 = 10.72% de la variación).

DISCUSIÓN

Un cladograma incluyendo la composición de alcaloides de las semillas muestra el mayor número de homoplasias. La sección *Edwardsia* está representada, como grupo, por las características 6, 8, y 15 (estandarte extendido, estambres exsertos, y pétalos sin aurículas). El carácter 15 se revierte en *Sophora prostrata*. Dos ramas se definen por los caracteres 5 y 7 (pubescencia de folíolos y razón estandarte/ alas), la rama "tetraptera", con folíolos hispídos en el envés, y la rama "microphylla" con los pétalos de igual largo (con la sola excepción de *Sophora microphylla*, cuyos pétalos son desiguales). Los caracteres 4 y 13 (folíolos cortos y frutos menos pubescentes) unen a *Sophora prostrata* a esta rama. Los caracteres 11, 12 (color y cantidad de las semillas), y 13 unen al grupo "tetraptera", excluyendo a *Sophora denudata*, con el grupo "microphylla", a través de *Sophora toromiro*. El carácter 3 (largo de los folíolos) se revierte en la rama "tetraptera", si se excluye a *Sophora denudata*, que tiene folíolos largos. Los caracteres 1,3, 5, 9, 10 y 14 (todos de hábito arbóreo), con folíolos pequeños, frutos constrictos y alados, y semillas pequeñas) delimitan al clado *Edwardsia*, excluyendo *Sophora macrocarpa*.

En una discusión biogeográfica, se puede reconocer como grupo sudamericano a *Sophora* sect. *Edwardsia*, a *Sophora macrocarpa* y a las especies del Archipiélago Juan Fernández, *Sophora fernandeziana* y *Sophora masafuerana*. Otra rama liga a *Sophora macnabiana* y

Sophora toromiro a *Sophora microphylla*. Finalmente, *Sophora chrysophylla* y *Sophora denudata* que presentan algunos caracteres ancestrales (semillas anaranjadas o rojizas y un contenido relativamente bajo de citisina) quedan afuera. Los caracteres 11 y 18 (color de semillas y mayor contenido de citisina) son comunes a las especies de Nueva Zelanda y a *Sophora howinsula*, *Sophora macnabiana* y *Sophora toromiro*, que parecen ser más avanzadas, siendo *Sophora prostrata* un grupo hermano de esta última rama.

Aunque el análisis de componentes principales no permite diferenciar las especies continentales de la sección *Sophora*, de las de la sección *Edwardsia*, *Sophora macrocarpa* y *Sophora macnabiana*, morfológicamente representan una transición entre ambas secciones, presentando fuertes afinidades con las especies argentinas de la primera sección. Al considerar la flora de Juan Fernández, *Sophora fernandeziana* aparece más relacionada con *Sophora macrocarpa* (2, 4, 6-8, 10-19), pero la evolución paralela parece ser la explicación más simple. En forma similar, *Sophora masafuerana* es más afín al grupo "microphylla". Las características palinológicas de *Sophora fernandeziana* y *Sophora macrocarpa* -exina heterobrocada- contrasta con la exina homobrocada de *Sophora masafuerana*, *Sophora macnabiana*, y de la mayoría de las especies insulares de *Edwardsia* (Peña et al., 1993). Por ende, la derivación de las especies insulares, particularmente de *Sophora fernandeziana*, de estirpes continentales no puede descartarse. Sugerencias similares habían sido elaboradas para la flora de Juan Fernández (Hoffmann & Marticorena, 1987). *Sophora masafuerana* se consideró aquí como derivada de stocks de Nueva Zelanda, afines al grupo "microphylla". Las características químicas pueden dar luz al punto. Finalmente, Godley (1979) especulaba: "... the basic assumption is that *Sophora microphylla* arose in New Zealand, derived some of its present variation from *Sophora prostrata*, and that the large-leafleted southern species, *Sophora chrysophylla* of Hawaii, *Sophora macrocarpa* of Central Chile, and *Sophora tetraptera*-*Sophora howinsula* of New Zealand y Lord Howe Island, each distinct, are older". Esta posición es apoyada por nuestro análisis que incluye tanto caracteres químicos como morfológicos (Fig. 1). *Sophora prostrata*, un taxon de Nueva Zelanda retiene algunos caracteres inusualizados, especialmente las aurículas de las alas de los pétalos y el lomento prácticamente áptero, por lo que es posible que se trate de una especie relictiva en la Isla Sur; si nos referimos a nuestro tratamiento cladístico de 52 pasos, esta especie aparece en la base de la rama *Edwardsia*. Cockaine (1912, fide Godley 1979) la había considerado como una forma juvenil de *Sophora microphylla*. Los contenidos de alcaloides quinolicidínicos segregan esas dos razas de *Sophora*. Godley (1979) especulaba que *Sophora microphylla* tenía ancestros en el complejo híbrido antiguo de *Sophora tetraptera* y de *Sophora prostrata*. Nuestra información no apoya tal filiación: *Sophora prostrata* es más cercana a *Sophora tetraptera* que a *Sophora microphylla*. La composición de alcaloides de estas dos últimas especies también es más afín a las especies insulares del tipo *Sophora fernandeziana* o *Sophora toromiro*, con contenidos mayores de derivados de citisina.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Sr. Pedro León y Dr. Alan Walkowiak por el apoyo técnico de excelencia. Una muestra de baptifolina fue proporcionada generosamente por el Dr. M. Silva y matrinal, citisina, metilcitisina y 5-hidroxi-matrina fueron suministradas por la Prof. Rosa Negrete.

Este artículo fué financiado parcialmente por el Proyecto Fondecyt 1980967 (G. Montenegro y otros)

REFERENCIAS

ALLAN, H. H. 1961. Leguminosae. In: Flora of New Zealand vol. 1. pp. 480-627 K. E. Owen, Wellington, New Zealand.

BAILEY, B. H. 1974. Galactomannans y other soluble polysaccharides in *Sophora* seeds. New Zealand J. Bot. 12: 131-136.

BRIGGS, L. H. Y RICKETTS, J. 1937. *Sophora* alkaloids. Part I. The alkaloids of the seeds of *Sophora microphylla* Ait. Journal of the Chemical Society : 1795-1798.

BRIGGS, L. H. Y MANGAN, J. 1948. *Sophora* alkaloids. Part V. The alkaloids of the seeds of a possible new species from Anawhata, Nee Zealand. Journal of the Chemical Society :1889-1891.

GODLEY, E. 1979. Leonard Cockayne & evolution. New Zealand J.Bot. 17: 197-215.

GODLEY, E. 1985. Path to maturity. New Zealand J. Bot. 23: 687-706.

GREENE, P. S. 1970. Notes to the floras of Norfolk y Lord Howe Islands. J. Arn. Arbor. 51: 204-220.

HOFFMANN, A. J. Y MARTICORENA, C. 1987. La Vegetación de las Islas Oceánicas Chilenas. The Vegetation of the Chilean Oceanic Islands 127-16 En: Castilla, J. C. (ed.) Islas Oceánicas Chilenas: Conocimiento Científica y Necesidades de Investigaciones. Universidad Católica de Chile, Santiago.

ISELY, D. 1981. Leguminosae of the United States. III Subfamily Papilionoideae: Tribes Sophoreae, Podalyriaceae, Loteae. Mem. New York Bot. Gard. 25(3): 1-264.

MARKHAM, K. R. Y GODLEY, E. J. 1972. Chemotaxonomic studies in *Sophora*. An evaluation of *Sophora microphylla* Ait. New Zealand J. Bot. 10: 627-640.

MURRAY, D. R. 1986. Seed dispersal. Academic Press, Sydney, Orlando, San Diego.

MURRAY, D. R. Y PORTER, I. J. 1980. A comparative electrophoretic study of seed albumins from *Sophora microphylla* y *Pisum sativum* cultivar "Greenfast" (Leguminosae). Pl. Syst. Evol. 134 (314): 207-214.

PALOMINO, G., MARTÍNEZ, P., BERNAL, C. Y SOUSA, M. 1993. Diferencias cromosómicas entre algunas especies de los géneros *Sophora* L. y *Styphnolobium* Schott . Ann. Missouri Bot. Gard 80: 284-290.

PEÑA, R. C., ITURRIAGA L., MUJICA A. M. Y MONTENEGRO, G. 1993. Análisis micromorfológico de polen de *Sophora* (Papilionaceae). Hipótesis filogenética sobre el origen de la sección *Edwardsia*. *Gayana, Bot.* 50(2): 57-65

SOUSA, S. M. Y RUDD, V. 1993. Revisión del género *Styphnolobium* (Leguminosae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 77(3): 573-577.

SWOFFORD, D. L. 1985. PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony user's manual. Illinois Natural History Survey, Champaign, Illinois.

TSOONG, P.-CH. Y MA. CH.-Y. 1980. A study of the genus *Sophora* Linne. *Acta Phytotaxonomica Sinica* 19 (1):1-22, 143-166.

URZÚA, A. Y CASSELS, B. K. 1970. Alkaloids of *Sophora tetraptera*, sensu Reiche. *Phytochemistry* 9: 2365-2367.

YAKOVLEV, G. H. 1967. Systematical y geographical studies of genus *Sophora* and allied genera. *Proceedings of the Leningrad Chemical-Pharmaceutical Institute* 21: 42-62.

Se ruega citar el artículo original:

PEÑA, R. C. & B. K. CASSELS (1996). Phylogenetic relationships among chilean *Sophora* species. *Biochem. Syst. and Ecol.* 24 (7/8): 725-733 .