

TRABAJO CIENTÍFICO

Transferibilidad de marcadores SSRs y análisis preliminar de la diversidad genética de *Schinopsis balansae*

Transferability of SSRs markers and preliminary analysis of the genetic diversity of Schinopsis balansae

F. C. de Diego^{1,2,3,4}; R. H. Fortunato^{2,3} y S. L. Torales¹

¹ Instituto de Recursos Biológicos, Centro de Investigación en Recursos Naturales. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Nicolás Repetto y de Los Reseros S/N, Hurlingham B1686IGC, Buenos Aires, Argentina. E-mail: dediego.fernando@inta.gob.ar; torales.susana@inta.gob.ar

² Instituto de Botánica Darwinion (CONICET/ANCEFYN), Labardén 200, Casilla de Correo 22, B1642HYD San Isidro, Buenos Aires, Argentina. E-mail: renee.fortunato@darwin.edu.ar

³ Escuela Superior de Ingeniería, Informática y Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Morón.

⁴ Departamento de Tecnología, Universidad Nacional de Luján

Recibido en junio de 2024; Aceptado en abril de 2025

RESUMEN

El quebracho colorado chaqueño (*Schinopsis balansae* Engl.), es una especie de gran relevancia económica y ecológica en el Chaco Húmedo argentino, sin embargo, carece de herramientas moleculares que permitan conocer su diversidad genética. Debido a que el desarrollo de estas herramientas es un proceso relativamente largo y costoso se optó por la transferencia de marcadores microsatélites (SSRs) desde especies afines. El objetivo de este estudio es transferir microsatélites y determinar su utilidad comparando parámetros genéticos en 78 individuos. Con esta metodología, se obtuvieron seis marcadores microsatélites polimórficos que constituyen las primeras herramientas moleculares de relevancia desarrolladas para esta especie. Los valores de contenido de información polimórfica (PIC) variaron desde 0.208 hasta 0.584, el número de alelos por locus fue de 6.333, con un número efectivo de alelos (Ne) promedio de 4.749. Asimismo, se realizó la caracterización de la diversidad genética de cuatro poblaciones con distintos manejos silvícolas. Los resultados evidenciaron una mayor diversidad genética en la población conservada y una reducción progresiva en aquellas sometidas a un manejo silvícola más intensivo, lo que sugiere un impacto negativo de la explotación en la diversidad genética de la especie. Estos hallazgos destacan la importancia de considerar la diversidad genética en el diseño de estrategias de conservación y manejo sustentable del recurso.

Palabras clave: Quebracho colorado chaqueño, microsatélites, polimorfismo genético, poblaciones selectas, análisis de varianza molecular (AMOVA).

ABSTRACT

The 'quebracho colorado chaqueño' (*Schinopsis balansae* Engl.) is a species of relevant economic and ecological importance in the Argentine Humid Chaco though it lacks molecular tools that allow for its genetic diversity being known. Since the development of such tools is a relatively long and expensive process, the transferability of microsatellite markers (SSR) from similar species was chosen. The objective of this study is to transfer microsatellites and use them to compare genetic parameters in 78 individuals. Out of this methodology, six polymorphic microsatellite markers, the first relevant molecular tools developed for this species, were obtained. Their Polymorphic information content (PIC) ranged from 0.208 to 0.584, the number of alleles per locus was 6,333, with an average effective number of alleles (NE) of 4,749. Likewise, the genetic diversity of four populations with different forestry practices was characterized. The results showed greater genetic diversity in the conserved population and a progressive reduction in those subjected to more intensive silvicultural management that together suggest a negative impact of exploitation on the genetic diversity of the species. These findings highlight the importance of considering genetic diversity in the design of conservation strategies and sustainable resource management.

Key words: Quebracho colorado chaqueño, microsatellites, genetic polymorphism, analysis of molecular variance (AMOVA).

Abreviaturas:

SSR: secuencias simples repetitivas. (microsatélite)
AMOVA: análisis de varianza molecular
PIC: contenido de información polimórfica
Ne: número efectivo de alelos
HO: heterocigosidad observada
HE: heterocigosidad esperada
FIS: coeficiente de endogamia
Na: número de alelos
ng: nanogramos
Rs: riqueza alélica
Ae: alelos exclusivos
PCR: reacción en cadena de la polimerasa

1. INTRODUCCIÓN

Comprender el estado de la diversidad genética de las poblaciones de árboles nativos es crucial para la gestión sostenible de los recursos forestales, pero en el caso del 'quebracho colorado chaqueño' (*Schinopsis balansae* Engl.), una especie que ha sido objeto de una intensa explotación, sin embargo, existen pocos antecedentes de estudios genéticos (Vesprini *et al.*, 2006, 2011; Mogni *et al.*, 2016). Los marcadores moleculares son herramientas útiles para este propósito, pero aún no se han desarrollado para este género. Una estrategia exitosa para otras especies ha sido la transferencia de marcadores moleculares de grupos taxonómicos filogenéticamente cercanos (Wu *et al.*, 2020; Karci, 2023). Los microsatélites (SSR: secuencias simples repetitivas) son secuencias de ADN cortas y repetitivas, utilizadas con frecuencia en estudios de diversidad genética por ser codominantes, polimórficos y por encontrarse en áreas conservadas del genoma.

Esta especie habita en la porción más húmeda del Gran Chaco Americano, en el Distrito del Chaco Húmedo (Barkley y Meyer, 1973; Muñoz, 1990; Valentini, 1960); posee crecimiento lento llegando a alcanzar alturas de 24 metros y diámetros de tronco de un metro. El corte para su uso se alcanza a partir de 50 o 60 años de crecimiento, y su madera cuenta con abundantes taninos condensados, siendo casi imputrescible (Giménez y Moglia, 2003). El quebracho colorado chaqueño ha sufrido un proceso de más de 150 años de explotación y fragmentación (Alzugaray y Vesprini, 2023). La expansión de la frontera agrícola y la ganadería silvopastoril continúan afectando su hábitat, mientras que la presión de la tala selectiva, que elimina los ejemplares con mejores características fenotípicas, podría generar erosión genética (Diéring, 2003; Carnevale *et al.*, 2007; Cáceres, 2015; Torrella *et al.*, 2015). La aplicación de diferentes manejos silvícolas puede reducir la diversidad genética de una población de árboles (Sola *et al.*, 2016). La actividad silvopastoril ha preservado una masa forestal de importante riqueza, aunque posiblemente el ramoneo tenga un efecto en la regeneración de este reservorio (Barret, 1998; Barberis *et al.*, 2012).

Dada la importancia económica y ecológica del quebracho, resulta relevante explorar la variabilidad genética de sus poblaciones. El desarrollo reciente de tecnologías genómicas ha facilitado la obtención de nuevos marcadores SSR altamente transferibles entre especies arbóreas, acelerando estudios sobre genética de conservación y diversidad genética en especies leñosas (Soldati *et al.*, 2014; Parthiban *et al.*, 2018; Sanchez-Gomez *et al.*, 2020; Roque *et al.*, 2023; Soldati *et al.*, 2024). El género *Schinopsis* Engl., perteneciente a la familia Anacardiaceae, tiene parientes filogenéticamente cercanos (Pell *et al.*, 2010) como *Pistacia* L., *Astronium* Jacq. y *Myracrodruon* Allemão, que cuentan con microsatélites ya desarrollados, tanto genómicos (gSSRs) como genéticos (eSSR). El objetivo de este trabajo es obtener marcadores y caracterizar de forma preliminar la diversidad genética de poblaciones selectas en el Chaco Húmedo argentino.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y muestreo

Se analizaron 78 individuos de cuatro poblaciones ubicadas en las provincias de Santa Fe, Chaco y Corrientes, representando diferentes manejos silvícolas e historias de uso. Estos manejos incluyen: sistema silvopastoril en la población REC en Reconquista, Santa Fe (29° 08' 48"S; 59° 43' 07"O), donde los quebrachos son la especie dominante, sin regeneración natural evidente debido a la alta carga ganadera; plantación forestal en la población FO en Presidencia de la Plaza, Chaco (27° 05' 02"S; 59° 27' 36"O); remanente de una extracción muy intensiva en la población CO1 en El Sombrero, Corrientes (27° 37' 09"S; 58° 44' 31"O), aislada de otros fragmentos de bosque, y por último la población NAT, en Presidencia de la Plaza, Chaco, conservada sin explotación, lindera al Parque Nacional Chaco (26° 51' 51"S; 59° 33' 55"O). Debido a que la especie tiene posibilidad de hibridarse con el quebracho colorado santiagueño (*Schinopsis lorentzii* (Griseb.) Engl.) se dejó sin muestrear en la zona de simpatria de ambas especies. La colección del material vegetal se realizó tratando de evitar la inclusión de especímenes que estuvieran espacialmente cercanos, asumiendo una posible relación de parentesco genético.

Extracción de ADN y transferibilidad de marcadores

Se extrajo el ADN a partir de hojas jóvenes secadas en silica gel a campo, siguiendo el protocolo desarrollado para el género *Schinopsis* (Mogni *et al.*, 2016). Inicialmente las pruebas de transferibilidad se realizaron en una muestra de ocho individuos de diferentes poblaciones para cada marcador. Se ensayó la transferencia de 99 marcadores microsatélites desarrollados en especies afines de la familia *Anacardiácea*: *Astronium graveolens* Jacq. (Sanchez-Gomez *et al.*, 2020) y *A. fraxinifolium* Schott (Cornacini *et al.*, 2021), que es el género más cercano a *Schinopsis* (Pell *et al.*, 2010), y otros representantes filogenéticamente relacionados: *Myracrodrum urundeuoa* Allemão (Souza *et al.*, 2018; Caetano, *et al.*, 2005); *Schinus molle* L. (Lemos Souza *et al.*, 2018) y *Pistacia vera* L. (Ziya Motalebipour *et al.*, 2016; Karci *et al.*, 2020).

Amplificación y visualización de microsatélites

Las secuencias de los cebadores, motivos repetidos y condiciones de amplificación por PCR optimizadas para los marcadores utilizados en el estudio se detallan en la Tabla 1. Los productos de PCR fueron visualizados mediante electroforesis en gel de poliacrilamida desnaturalizante estándar al 6 % y se tiñeron con nitrato de plata, siguiendo el protocolo de Benbouza *et al.* (2006). La selección de los SSRs a utilizar se realizó en base al nivel de polimorfismo (mínimo de tres alelos) y a la claridad del patrón de bandas. La estimación del número de pares de bases de los fragmentos se realizó mediante un marcador de ADN (Invitrogen) de 10 pb, y luego utilizando el software GEL empleando el programa Gel (Dr. Jorge Dubcosvsky -UC. Davis, CA, USA, comunicación personal) que interpola los valores de PM según la referencia utilizada.

Tabla 1. Características de microsatélites desarrollados en especies de Anacardiáceas transferidos a *S. balansae* y condiciones de amplificación

Nombre Locus	Secuencia primers (5'-3')	Motivo repetido	Tamaño de amplicon esperado	Tamaño de amplicon observado	Temperatura a annealing (°C)	MgCl ₂ (mM)	Número de ciclos	Templado (ng)
Aro18	F: TGACACTGCATCCGTAAGTG R: CTGCCTGAAATTTGGAAAGA	TATC(7)	253–285	214–238	59	2,5	45	10
Ast38	F: CGTCCCGAGGTCTATGTGAT R: GAGAACCCTGGCCATGTGAG	(TG)9	106–120	100–112	56	3,5	36	10
Ast45	F: GGAATAGAGGCTTGGTTGA R: CAAAAATGGCCCAAGTATGT	(AC)9	132–150	116–130	56	3,0	38	10
Ast1b	F: GCGTCTTGCAATTTAGAGAGAA R: TGTCTTCAGGTGTTTCAGC	(CT)11	174–176	146–166	57	2,5	35	10
CUPVSiirt1405	F: CTGCGTGATGAAGCACAAT R: AGTTCCTCAAAGGGTTGATGT	(AT)12	208	183–235	58	3,0	39	20
CUPVES T 1887	F: CTCTATTTCATCACCCGTTTC R: AGGAATTTCTGGGAAGCTGAGTT	(CAT)8	154–179	125–133	55–45	4,5	37	10

Análisis de diversidad genética

Para caracterizar la diversidad genética de las poblaciones estudiadas y evaluar los marcadores moleculares aplicados se estimaron diferentes parámetros: número de alelos por locus (NA), número efectivo de alelos por locus (NE), número de alelos exclusivos (Ae), heterocigosidad observada (HO), heterocigosidad esperada (HE). Además, se estimó el FIS a nivel poblacional (coeficiente de endogamia) y se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) para evaluar la distribución de la variabilidad genética dentro y entre poblaciones. Estos análisis fueron realizados mediante el programa GenAlEx versión 6.5 (Peakall y Smouse, 2012). Se analizó también la riqueza alélica (Rs), entendida como una medida del número de alelos independientemente del tamaño de cada población, utilizando el paquete de software FSTAT (Goudet, 2003). Además, se describió el contenido de información polimórfica (PIC) de cada marcador utilizando el programa Cervus 3.0.3 software (Kalinowski *et al.*, 2007).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En total, se lograron transferir 38 SSRs, siendo 28 monomórficos, cuatro polimórficos con únicamente dos alelos o con patrones atípicos o complejos, y seis SSRs polimórficos que fueron seleccionados para realizar el estudio de diversidad genética. Estos valores son similares a los obtenidos por otros trabajos de transferencia de microsatélites entre géneros filogenéticamente cercanos (Krishna y Puppala, 2004; Barbará *et al.*, 2007; Soldati *et al.*, 2014., Fasanella *et al.*, 2019). De los seis marcadores seleccionados, cinco fueron de origen genómico: Aro18 (Souza *et al.*, 2018), Ast38, Ast45, Ast1b (Sanchez-Gomez *et al.*, 2020) y CUPVSiirt1405 (Ziya Motalebipour *et al.*, 2016) y uno génico, desarrollado a partir de un transcriptoma, CUPVEST1887 (Karci *et al.*, 2020). En total se detectaron 37 alelos. Para los loci genómicos, los niveles de polimorfismo (Na) variaron de cinco a ocho, con un promedio de 6.333, y el número efectivo de alelos (Ne) tuvo un promedio de 4.749 (Tabla 2). La heterocigosidad observada (Ho) osciló entre 0.169 y 0.556, mientras que la esperada (He) varió entre 0.215 y 0.646. El valor de PIC promedio fue de 0.460, destacándose los marcadores Ast45, Aro18, CPVSiirt1405 como altamente informativos (PIC > 0.5), según los criterios de Botstein *et al.* (1980), que considera un valor de PIC mayor a 0.5 como altamente polimórfico, menor a 0.25 poco polimórfico e intermedio entre 0.25 y 0.5. El número de alelos detectados por locus, la heterocigosidad y el PIC descriptos en este trabajo, se encuentran dentro del rango de valores obtenido en estudios de otras especies leñosas de la región, como *Neltuma Raf. spp.* = *Prosopis* L. (Pomponio *et al.*, 2015), *Aspidosperma quebracho-blanco Schltdl.* (Botelho *et al.*, 2021) y para otras Anacardiáceas (Sanchez-Gomez *et al.*, 2020; Nunes-dos-Santos *et al.*, 2021).

Tabla 2. Valores de diversidad genética de SSRs en 78 individuos de *S. balansae*

Nombre Locus	Na	Ne	Rs	Ho	He	PIC	FIS	H-W
Aro18	7	2.364	5.631	0.459	0.577	0.548	0.163	NS
Ast38	5	2.144	3.348	0.234	0.215	0.208	-0.192	NS
Ast45	5	1.275	4.164	0.429	0.646	0.584	0.297	NS
Ast1b	7	2.828	4.949	0.556	0.534	0.499	-0.061	NS
CUPVSiirt1405	8	2.198	6.305	0.487	0.545	0.526	0.034	NS
CUPVEST1887	5	1.738	4.096	0.169	0.425	0.395	0.587	S
Media	6.333	2.091	4.749	0.389	0.490	0.460	0.165	-
Desvío estándar	1.329	0.533	1.093	0.152	0.153	0.139	0.282	-

Na: número de alelos; Ne: número de alelos efectivos; Rs: riqueza alélica; Ho: heterocigosidad observada; He: heterocigosidad esperada; PIC: contenido de información polimórfica; H-W: equilibrio de Hardy-Weinberg (NS: No significativo; S: Significativo)

El único marcador génico, CUPVEST1887, presentó una menor heterocigosidad observada y esperada en comparación con los marcadores genómicos, lo que puede deberse a la mayor conservación de las regiones transcritas. Por otro lado, cuatro de los seis marcadores cuentan con un motivo repetido de dinucleótidos. Estos motivos son más comunes en los genomas que los motivos tri o tetranucleótidos (Kalia *et al.* 2011; Cao *et al.* 2016; Gutiérrez *et al.* 2017) y muestran valores significativamente más altos de He y Ho en comparación con otros motivos (Merritt *et al.* 2015), volviéndolos útiles para estudios de diversidad genética.

En cuanto a la diversidad genética de las poblaciones estudiadas (Tabla 3), la heterocigosidad observada (Ho) varía entre las poblaciones, siendo más alta en la población conservada NAT (0.569) y más baja en la población remanente CO1 (0.314). De manera similar, la heterocigosidad esperada (He) sigue un patrón comparable, con el valor más alto en NAT (0.554) y el más bajo en CO1 (0.271). En términos de número de alelos (Na), la población forestada FO tiene la mayor diversidad alélica con 28 alelos, mientras que CO1 tiene el menor número con 20 alelos. Además, NAT es la que presenta mayor cantidad de alelos privados con 5, mientras que CO1 no posee ninguno. El coeficiente de endogamia (FIS) revela que las poblaciones NAT (-0.114) y FO (-0.026) tienen un valor negativo, sugiriendo un exceso de heterocigotos, mientras que la población CO1 (0.215) y la población REC del establecimiento silvopastoril (0.302) muestran valores positivos, indicando cierto nivel de endogamia.

Tabla 3. Caracterización de la diversidad genética de las poblaciones

Población	Situación de manejo	N	Na	Ne	Rs	Ae	Ho	He	FIS
REC	Silvopastoril	20	23	14.001	22.551	1	0.342	0.509	0.302
CO1	Remanente	17	20	8.862	20.000	0	0.314	0.271	0.215
FO	Forestación	21	28	12.982	27.065	2	0.328	0.464	-0.026
NAT	Conservada	20	26	14.098	27.583	5	0.569	0.554	-0.114
Media	-	19.5	24.25	12.486	24.299	2.00	0.388	0.449	0.094
Desvío estándar	-	1.73	3.5	2.468	3.650	2.16	0.121	0.124	0.196

N: tamaño poblacional; Na: número de alelos; Ne: número de alelos efectivos; Rs: riqueza alélica; Ae: alelos exclusivos; Ho: heterocigosidad observada; He: heterocigosidad esperada; Fis: coeficiente de endogamia.

Los patrones observados en los parámetros genéticos reflejan el impacto de distintos factores ecológicos y antrópicos en la diversidad genética de las poblaciones. La mayor riqueza alélica y heterocigosidad en NAT sugieren que la conservación efectiva de su hábitat ha favorecido el mantenimiento de su acervo genético. La población FO, establecida mediante forestación, presentó también una alta diversidad alélica, lo que podría explicarse por la introducción de individuos provenientes de diversos orígenes genéticos durante la plantación. Por otro lado, los bajos valores de diversidad genética en CO1, sumados a un FIS elevado, se asocian directamente

con la fragmentación del hábitat y la reducción del tamaño poblacional efectivo causada por la explotación forestal intensiva sumado a que esta población se encuentra en el extremo de la distribución de la especie. Estas condiciones generan cuellos de botella genéticos, disminuyen la conectividad y favorecen la endogamia, especialmente porque limitan la participación reproductiva efectiva, dado que en esta especie los individuos jóvenes rara vez florecen (Alzugaray y Vesprini, 2023). En REC el elevado FIS podría estar relacionado con la alta carga ganadera, que dificulta la regeneración natural al limitar el establecimiento de plántulas y afectar la dinámica poblacional, favoreciendo la reproducción entre individuos cercanos y aumentando la endogamia (Diéring, 2003). Estas observaciones coinciden con estudios realizados en otras especies arbóreas sometidas a explotación intensiva o fragmentación, como *Araucaria angustifolia* (Bittencourt y Sebbenn, 2009; Gauchat *et al.*, 2020), *Cedrela lilloi* (Inza, 2010), *Prosopis chilensis* (Contreras *et al.*, 2021), *Pinus patula* (Alfonso-Corrado *et al.*, 2014) y *Quercus crassifolia* (Gorgonio-Ramírez *et al.*, 2017).

Por otro lado, los resultados del AMOVA muestran una mayor proporción de variabilidad genética dentro de las poblaciones (91 %), y una baja diferenciación entre poblaciones (9 %). Estos resultados son consistentes con lo descrito por Hamrick *et al.*, 1992 en especies leñosas con polinización anemófila y amplia distribución, y otros estudios realizados en *Prosopis* spp. (Pomponio *et al.*, 2015) y *Aspidosperma quebracho-blanco* (Botelho *et al.*, 2021).

4. CONCLUSIONES

El presente estudio demuestra que la transferencia de microsatélites (SSRs) de especies afines es una metodología eficaz para la obtención de marcadores polimórficos aplicables al análisis de la diversidad genética en *S. balansae*. Su aplicación permitió identificar diferencias entre las poblaciones en parámetros clave, como la heterocigosidad, la riqueza alélica y el coeficiente de endogamia (FIS), evidenciando el impacto del manejo silvícola en la diversidad genética de la especie. Los resultados evidenciaron una mayor diversidad genética en la población conservada y una reducción progresiva en aquellas sometidas a un manejo silvícola más intensivo, lo que sugiere una relación directa entre la explotación y la diversidad genética de las poblaciones. La caracterización preliminar realizada sugiere que es necesario aplicar estrategias específicas de conservación de la diversidad genética a nivel poblacional, como priorizar la protección de áreas con mayor diversidad genética y establecer programas iniciales de restauración en áreas de intensa explotación con individuos provenientes de las poblaciones mejor conservadas.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arbo, M. M. 1974. El polen de las palmeras argentinas. *Bonplandia* 3(3): 171-193.
- Bernardello, L. y M. C. Luján. 1997. Pollen morphology of tribe Lycieae: *Grabowskia*, *Lycium*, *Phrodus* (Solanaceae). *Review of Palaeobotany and Palynology* 96(3-4): 305-315.
- Brodshneider, R. y K. Crailsheim. 2010. Nutrition and health in honey bees. *Apidologie* 41: 278-294.
- Caramuti, V. E. 2006. Análisis palinológico de algunas Heliantheae (Compositae) de la provincia de La Pampa (Argentina). *Polen* (15): 5-15.

- Carrizo, E. del V.; M. O. Palacio; H. J. Muller; M. F. Epstein Vittar y F. N. Céspedes. 2015. Flora de interés apícola en la flora del departamento Ojo de Agua, Santiago del Estero, Argentina. *Quebracho* 23(1,2): 15-26.
- Céspedes, F. N.; N. A. Olivera; E. del V. Carrizo y M. O. Palacio. 2015a. Análisis polínico de mieles del departamento Quebrachos, Santiago del Estero, Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 50 (Supl.): 240 p.
- Céspedes, F. N.; N. A. Olivera; E. del V. Carrizo y M. O. Palacio. 2015b. Reference collection of pollen from plant species of the Quebrachos department, Santiago del Estero. *Biocell* 39 (Suppl 5).
- Céspedes, F. N. 2021. *Beneficios de los recursos florísticos en la economía familiar de apicultores del departamento Silípica, Santiago del Estero, Argentina*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Santiago del Estero. 261 p.
- Céspedes, F. N.; M. Coronel; P. A. Grimaldi y E. del V. Carrizo. 2021. Caracterización de las unidades de producción apícolas presentes en el departamento Silípica Santiago del Estero. *Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA* 7: 157-163.
- Céspedes, F. N.; P. A. Grimaldi y A. H. Ladio. 2023. Between flowers, humans, and honeybees: Local ecological knowledge associated with apiculture in two areas of Silpica department, Santiago del Estero, Argentina. *ELEMENTA Science of the Anthropocene* 11(1): 2-21.
- Céspedes, F. N. y P. A. Grimaldi. 2024. Preferencias florales de *Apis mellifera*: estudio en dos áreas del Departamento Silípica (Santiago del Estero, Argentina). *Bonplandia* 33: 175-207.
- Chianetta, P. 2020. *Abejas nativas sin aguijón en el monte santiagueño*. REDAF. 36 p.
- Cilla, G.; A. Guzmán; P. Marozzi; J. Gallardo; S. Morend y P. A. Grimaldi. 2018. Abordaje participativo para el estudio de la flora apícola: importancia de la vegetación herbácea como base forrajera para las colonias de *Apis mellifera* L. En: *Libro de resumen del IV Congreso del foro de Universidades Nacionales para la Agricultura Familiar*. Ediciones INTA. 97-98 p.
- Cuadrado, G. A. 1993. Granos de polen de Chenopodiaceae del nordeste argentino, géneros *Atriplex*, *Chenopodium*, *Holmbergia*, *Salicornia* y *Suaeda*. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 29(1-2): 15-23.
- Cuadrado, G. A. 2003. Palinología de los géneros *Modiola*, *Modiolastrum* y *Tropidococcus* (Malvaceae). *Bonplandia* 12(1-4): 67-82.
- Cuadrado, G. A. y A. R. M. Boilini. 2006. Palinología de los géneros *Tarasa* y *Wissadula* (Malvaceae, Malveae) de Argentina. *Bonplandia* 15(3-4): 167-187.
- Danforth, B. N.; S. Sipes; J. Fang y S. G. Brady. 2006. The history of early bee diversification based of five genes plus morphology. *PNAS* 103(41): 15118-15123.
- Diodato, L.; A. Fuster. y M. Maldonado. 2008. Valor y beneficios de las abejas nativas, (Hymenoptera: Apoidea), en los bosques del Chaco Semiárido, Argentina. *Quebracho* 15: 15-20.
- Erdtman, G. 1960. The acetolysis method. A revised description. *Svensk Botanisk Tidskrift* 54: 561-564.

- Espeche, M. L.; M. A. García y N. J. F. Reyes. 2020. Estudio palinológico en especies de *Erythrina* (Fabaceae) presentes en Argentina. *Lilloa* 57(2): 144-155.
- Fabroni, M.; L. R. Mautino; C. B. Flores; R. S. Troncoso Sarmiento; E. Tapia y J. G. Benci Arqued. 2015. Caracterización palinológica de cinco especies de *Senna* Mill. (Fabaceae) de los valles Calchaquíes, provincia de Salta, Argentina. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales* 17(2): 109-118.
- Fagúndez, G. A. 2011. *Estudio de los recursos nectaríferos y poliníferos utilizados por Apis mellifera L. en diferentes ecosistemas del departamento Diamante (Entre Ríos)*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca.
- Farrell, E. E.; L. R. Mautino y S. S. Garalla. 2020. Morfología polínica de las Nyctaginaceae nativas de Argentina. *Darwiniana*, ns 8(1): 292-308.
- Fernández, I. y M. J. Díez. 1990. Algunas consideraciones sobre terminología palinológica. I, polaridad y simetría. *Lagascalia* 16(1): 51-60.
- Forcone, A. y S. Ruppel. 2012. Polen de interés apícola del Noroeste de Santa Cruz (Patagonia Argentina): aspectos morfológicos. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 47(1-2): 77-86.
- Gamerro, J. C. y R. H. Fortunato. 2001. Morfología del polen de las especies argentinas de *Bauhinia* (Cercideae, Caesalpinioideae, Fabaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 88(1): 144-158.
- Garalla, S. y G. A. Cuadrado. 2007. Pollen morphology of *Austrocylindropuntia* Backeb, *Maihueniopsis* Speng., *Opuntia* Mill. and *Tephrocactus* Lem. (Cactaceae, Opuntioideae) of Argentina. *Review of Palaeobotany and Palynology* 146: 1-17.
- Jiménez, C. R. 2004. *Origen floral de mieles santiagueñas*. Trabajo final de pregrado. Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Universidad Nacional de Santiago del Estero. 37 p.
- Lattar, E. y G. Cuadrado. 2010. Estudios palinológicos de especies argentinas de los géneros *Cereus*, *Cleistocactus*, *Denmoza*, *Echinopsis* y *Monvillea* (Cactaceae, Cactoideae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 45(1-2): 93-107.
- Louveaux, J.; A. Maurizio y G. Vorwohl. 1978. Methods of melissopalynology. *Bee World* 59: 139-157.
- Michener, C. D. 2007. *The Bees of the World*. 2da edición. The Johns Hopkins University Press, Baltimore. 953 p.
- Moggio, M. 2022. *Modelación de la distribución potencial de Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae) en Santiago del Estero, Argentina*. Tesis de Grado. Universidad Nacional de Santiago del Estero.
- Morello, J.; S. Matteucci y A. Rodríguez. 2012. *Ecorregiones y complejos ecosistémicos argentinos*. Orientación Gráfica Editora, Buenos Aires. 752 p.
- Naab, O. A. 2004. *Estudio aeropalínológico del Parque Nacional Lihúé Calel*. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires.
- Nitiu, D. S.; A. C. Mallo; I. Medina y C. Parisi. 2019. Atlas de pólenes alérgicos de Buenos Aires, Argentina. *Archivos de Alergia e Inmunología Clínica* 50(2): 67-88.

- Palacio, M. O.; E. Roger y S. O. Vecchioli. 2016. *Plantas leñosas nativas de interés apícola en la Flora de Santiago del Estero*. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Nacional de Santiago del Estero. 141 p.
- Palacio, M. O. 2021. Flora leñosa de importancia para abejas nativas en el Departamento Figueroa, Santiago del Estero. *Quebracho* 29(1,2): 71-77.
- Persano Oddo, L.; M. L. Piana y G. R. D'Albore. 2007. *I mieli regionali italiani. Caratterizzazione melissopalinoologica*. Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali. Roma, Italia. 145 p.
- Povilauskas, L. 2016. Palinología forense: aportes a la investigación criminal en Argentina. *Mendoza Forense* 2(1): 13-19.
- Povilauskas, L. 2022. Identificación de Polen en Cultivos y la Escena del Crimen. *Skopein: La justicia en manos de la ciencia* 26: 23-31.
- R Core Team. 2021. *R: A Language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Sáenz Laín, C. 2004. Glosario de términos palinológicos. *Lazaroa* 25: 93-112.
- Salgado, C. R. 2006. *Flora melífera de la provincia del Chaco*. Editado por PROSAP y Ministerio de Producción del Chaco. 60 p.
- Sánchez, A. C. y L. C. Lupo. 2009. Asteraceae de interés en la Melisopalinoología. Bosque Montano de las Yungas (Jujuy- Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 44(1-2): 57-64.
- Soejarto, D. D. y R. Fonnegra. 1972. Polen: Diversidad en formas y tamaños. *Actualidades Biológicas* 1(1): 2-13.
- Sosa, M.; A. Panseri y C. Salgado Laurenti. 2012. Pollen morphology of eight species of *Stemodia* (Plantaginaceae) from South America. *Palynology* 36: 1-9.
- Sosa, M. y C. Salgado Laurenti. 2016. Valor taxonómico del polen en Scrophulariaceae sensu lato. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 51(2): 299-321.
- Suárez, C. F.; V. Y. Mogni; S. S. Garralla; D. E. Prado y O. G. Martínez. 2019. Morfología polínica de las especies chaqueñas del género *Schinopsis* Engl. (Anacardiaceae) y sus implicancias taxonómicas. *Hoehnea* 46(2): e762018.
- Tamame, M. A. 2011. *Estudio de la composición, disponibilidad y calidad de los recursos apícolas del Noroeste de La Pampa, provincia fitogeográfica del monte (República Argentina)*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Pampa.
- Tellería, M.; N. Roque; V. Funk; I. Ventosa y G. Sancho. 2013. Pollen morphology and its taxonomic significance in the tribe Gochnatieae (Compositae, Gochnatioideae). *Plant Systematics and Evolution* 299: 935-948.
- Tellería, M. C. 2017. Spines vs. microspines: an overview of the sculpture exine in selected basal and derived Asteraceae with focus on Asteroideae. *Journal of Plant Research* 130(6): 1023-1033.

- Vega, A. J. y M. Dematteis. 2011. Pollen morphology of some species of *Vernonanthura* (Asteraceae, Vernonieae) from southern South America. *Palynology* 35(1): 94-102.
- Vossler, F. G. 2012. *Estudio palinológico de las reservas alimentarias (miel y masas de polen) de "abejas nativas sin aguijón" (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): un aporte al conocimiento de la interacción abeja-planta en el chaco seco de Argentina*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata.
- Walker, J. W. y J. Doyle. 1975. The bases of Angiosperm phylogeny: Palynology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 62: 664-723.
- Westerkamp, C. 1996. Pollen in Bee-Flower relations. *Botanica Acta* 109: 325-332.
- Wickham, H.; W. Chang y M. H. Wickham. 2016. Package "ggplot2". Create elegant data visualisations using the grammar of graphics. Version 2(1): 1-189.
- Wingenroth, M. C. 2011. *Flora Polínica de Mendoza (Tomo I): La Asunción, Lavalle (32°33'21"S / 68°14'45"O)*. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación, Mendoza. 178 p.
- Zelaya, P. V.; A. Arias; C. Brandan; C. Molineri y S. Brazp. 2022. Listening inside the trees: A novel and simple method to find active nest of stingless bees (Hymenoptera: Apidae, Meliponini) in Dry Chaco forests. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 81(4): 83-88.

