

Estructura genética y variación geográfica en caracteres ecofisiológicos de *Arbutus unedo* L.

X. Santiso^{1,*}

(1) Departamento de Biología Celular e Ecología, área de Ecología. Facultad de Biología, Universidade de Santiago de Compostela. 15782, A Coruña, España.

* Autor de correspondencia: X. Santiso [xabier.santiso@gmail.com]

> Recibido el 16 de agosto de 2015 - Aceptado el 03 de noviembre de 2015

Santiso, X. 2015. Estructura genética y variación geográfica en caracteres ecofisiológicos de *Arbutus unedo* L. *Ecosistemas* 24(3): 93-97. Doi.: 10.7818/ECOS.2015.24-3.12

La variación intraespecífica

La variación intraespecífica es un elemento de variabilidad que no siempre se ha considerado en Ecología, muchos modelos de interacción asumen que todos los individuos coespecíficos son intercambiables (Bolnick et al. 2011). Sin embargo, esta simplificación no es correcta, pues se ha demostrado que la consideración de la variación intraespecífica resulta imprescindible para comprender la estructura de las comunidades. En este contexto, el estudio de una especie con un amplio rango de distribución, como *Arbutus unedo* L. (el madroño) parece particularmente pertinente para analizar esta variación. Así, a lo largo de su distribución, alrededor del Mediterráneo y a lo largo de la fachada Atlántica, desde Marruecos hasta Irlanda (Fig. 1), el madroño crece en hábitats y climas claramente contrastados.

Para esta tesis doctoral hemos muestreado 23 poblaciones en 9 países (Tabla 1, Fig. 1). En primer término determinamos la variación entre poblaciones en caracteres relacionados con la reproducción: peso medio de los frutos (de 1.46 g a 74.75 g), peso medio de las semillas (de 0.94 g a 2.27 g), viabilidad de las semillas (del 56 % al 100 %) y tasa de germinación (del 6 % al 86 %). A continuación llevamos a cabo análisis de diversidad genética, un estudio filogeográfico y otro de genética de poblaciones; de diversidad ecofisiológica, respuestas a variaciones en la disponibilidad de agua y nutrientes; y de capacidad adaptativa, mediante la comparación Q_{ST} - F_{ST} .

Filogeografía

El estudio filogeográfico del madroño en el Mediterráneo debe contextualizarse considerando los patrones previamente descritos en esta área, como la existencia de refugios glaciares en las grandes penínsulas del Mediterráneo, el incremento de diversidad genética del Oeste hacia el Este o el determinante papel de los estrechos (Gibraltar, Sicilia) en la dispersión de las especies (Conord et al. 2012). Además, también debe considerarse su pertenencia a la "flora Lusitánica", especies que habitan la península ibérica e Irlanda, pero ausentes en países intermedios como Inglaterra (Sealy 1949). El origen del madroño irlandés, todavía incierto, previamente se había planteado que pudiera ser a través de la fachada Atlántica de Francia.

En la reconstrucción filogeográfica, usando ADN del cloroplasto, demostramos que en *A. unedo* se observan dos clados genéticos, uno Atlántico y otro Mediterráneo (Fig. 1), cuyo ancestro común más reciente es anterior al último máximo glacial, en torno a los 700 mil años. Los refugios glaciares serían el Norte de África-península ibérica (clado Atlántico) y el Oeste del Mediterráneo (clado Mediterráneo). Ambos clados se expandieron posteriormente hacia el Este, y el Atlántico también hacia el Norte (Fig. 1). Asimismo, se observa que el Oeste del Mediterráneo es menos diverso que el Este, contrariamente a la tendencia general. Asimismo, los estrechos de Gibraltar y Sicilia han actuado como conectores ocasionales entre Europa y el Norte de África, el cual mantuvo una composición genética particular. Por último vemos que el origen más probable para la población irlandesa es la península ibérica, contrariamente a lo que se había propuesto.

Genética de poblaciones

Tras reconstruir la historia de la especie, el uso de marcadores nucleares, AFLPs, permite examinar la estructura y flujo genético actual de la especie. Un fenómeno determinante en este sentido es la existencia del denominado aislamiento por distancia (IBD), correlación entre la distancia geográfica y la genética, clave en la generación de diferenciación entre poblaciones. Otro fenómeno habitual es el denominado efecto centro-periferia (Vucetich y Waite 2003), según el cual las poblaciones situadas en los extremos del rango de distribución (como Irlanda en nuestro caso) tienden a empobrecerse. *Arbutus unedo*, con su amplio rango de distribución, supone un caso excelente para comprobar la existencia de estos patrones. Asimismo, las contrastadas condiciones climáticas de este rango podrían dar lugar a la diferenciación genética entre regiones.

Nuestros resultados demuestran que el madroño manifiesta un patrón IBD más fuerte en la fachada Atlántica que alrededor del Mediterráneo. Esto, conjuntamente con el gradual descenso de la diversidad que se observa en el noroeste de la península ibérica y especialmente en Irlanda (concordando con su condición periférica), apoya una colonización por etapas, hacia el Norte, por la costa Atlántica de Europa y es coherente con el origen ibérico de la población irlandesa. Asimismo, la estructura genética de la

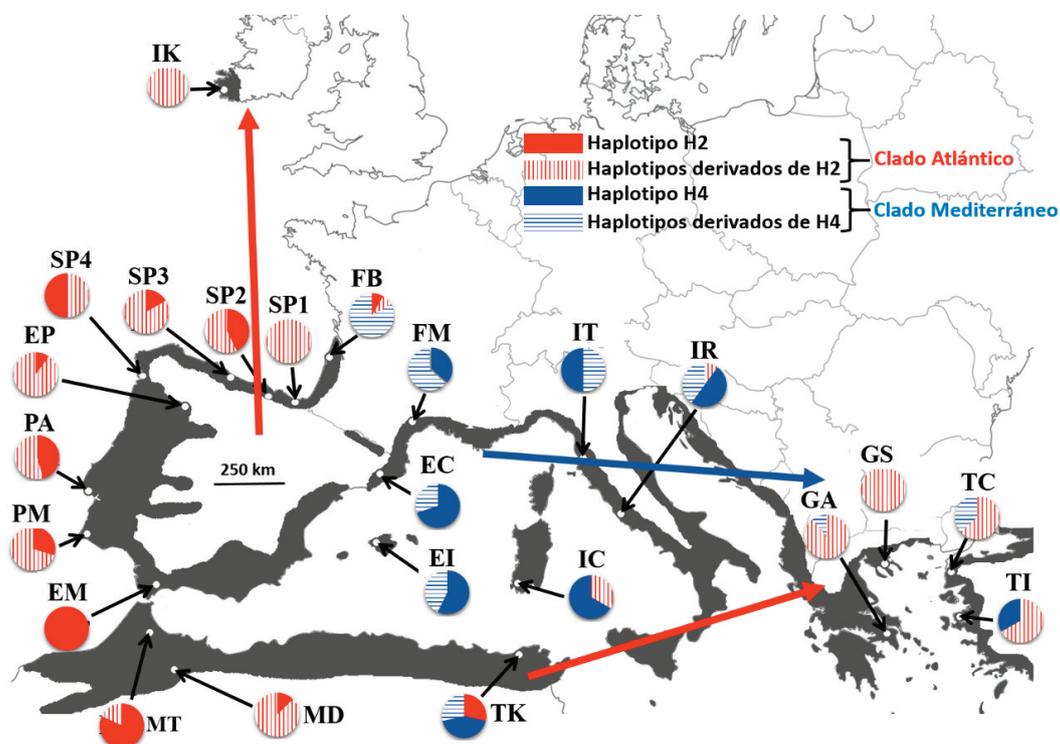


Figura 1. Rango de distribución (en gris) de *Arbutus unedo* y frecuencia poblacional de los haplotipos ancestrales (obtenidos con ADN del cloroplasto), H2 y H4, así como del grupo de haplotipos derivado de cada uno de ellos. Cada haplotipo ancestral, conjuntamente con los haplotipos derivados del mismo, constituyen cada uno de los dos clados genéticos que se han determinado, el clado Atlántico (rojo) y el clado Mediterráneo (azul). Las flechas rojas y azules denotan el movimiento que se deduce para los individuos de cada uno de los clados.

Tabla 1. Poblaciones muestreadas a lo largo del rango de distribución de *Arbutus unedo*. Se indica el código asignado y las coordenadas UTM correspondientes.

País	Poblaciones	Código	Coordenadas
Irlanda	Killarney	IK	29U 465211 5763297
Francia	Bordeaux	FB	30T 643276 4939413
	Montpellier	FM	31T 531757 4829416
España	Botaleku	SP1	30T 573213 4792097
	Balmaseda	SP2	30T 485165 4778410
	La Franca	SP3	30T 372037 4805531
	Tomiño	SP4	29T 515032 4641671
	Ponferrada	EP	29T 705440 4722721
	Malaga	EM	30S 376766 4076446
	Montseny	EC	31T 454080 4620578
	Esporles	EI	31S 461243 4392754
Portugal	Arrabida	PA	29S 497741 4257559
	Monchique	PM	29S 538873 4126983
Marruecos	Tanger	MT	30S 267001 3940810
	Debdou	MD	30S 492658 3759875
Italia	Orciatico	IT	32T 637192 4811775
	Roma	IR	33T 279753 4619932
	Cagliari	IC	32S 491121 4333556
Túnez	Kroumerie	TK	32S 470929 4061547
Grecia	Atenas	GA	34S 746586 4206313
	Sithonia	GS	34T 739962 4452294
Turquía	Çannakale	TC	35T 459279 4441142
	Izmir	TI	35S 458841 4254352

especies muestra una división en siete linajes (Fig. 2) que conforman dos grupos, el Atlántico y el Mediterráneo, lo cual es coherente con la existencia de refugios separados para cada grupo en la época glacial.

Respuestas ecofisiológicas: Nutrientes y agua

El análisis de las respuestas ecofisiológicas a factores ambientales es fundamental dados los predichos cambios ambientales (IPCC 2013). Estas modificaciones afectarán a la distribución, fenología y fisiología de las plantas, que es el aspecto del que nos ocupamos en este apartado. Tanto los nutrientes como el agua son dos elementos cuya ausencia es especialmente nociva. En este sentido, cuantificar si la respuesta a las variaciones en estos elementos es diferente en rasgos estructurales y fisiológicos, o si es diferente entre las diversas poblaciones de madroño, será fundamental para determinar la estrategia de adaptación de la especie.

Nuestros resultados, usando el índice de plasticidad fenotípica (PPI), demuestran que la respuesta a la disponibilidad de nutrientes fue más intensa en los rasgos estructurales (biomasas) que en los fisiológicos (Fig. 3), la especie optimiza la alocaación de recursos manteniendo la fisiología estable (Santiso y Retuerto 2015). Por otra parte, ante las variaciones hídricas se observó plasticidad estructural y en rasgos fisiológicos de intercambio gaseoso (mejora la eficiencia en el uso del agua en condiciones de sequía), la estrategia combina la variación en la alocaación de biomasas y cierta adaptación fisiológica. Por otra parte, se observó que, ante ambos factores, la capacidad plástica es uniforme entre las poblaciones de madroño (Fig. 3), por lo que ninguna será especialmente favorecida o perjudicada como consecuencia de cambios en la disponibilidad de agua o nutrientes.

Comparación Q_{ST} - F_{ST}

La comparación entre la variación en rasgos cuantitativos, Q_{ST} , con la variación genética neutral, F_{ST} , es una herramienta mediante

la cual se puede determinar el tipo de selección al que se ha visto sometida una especie. Si el Q_{ST} es mayor que el F_{ST} (los rasgos cuantitativos divergen más que la variación genética neutral) se deduce la existencia de selección divergente y si el Q_{ST} es inferior al F_{ST} , existe selección estabilizante (Whitlock 2008). Además, mediante el cálculo del Q_{ST} , llevado a cabo con relaciones de parentesco entre plántulas bien definidas, se obtiene la varianza genética aditiva (V_A), la cual cuantifica el potencial evolutivo de la especie. El amplio y diverso rango de distribución de *A. unedo* lo convierten en un candidato idóneo para analizar los efectos de la selección natural y determinar su V_A .

Nuestros resultados, tras el análisis de 12 rasgos de diferente naturaleza, indican que el Q_{ST} fue significativamente inferior al F_{ST} en seis de ellos (Fig. 4), denotando un importante papel de la selección estabilizante (Santiso et al. 2015), la especie muestra una respuesta homogénea a lo largo de su rango de distribución. Asimismo, se observa un potencial evolutivo elevado (alta V_A) en diversos de estos rasgos (biomasas, AEF, densidad estomática y fotosíntesis), lo cual indica que la especie posee, en diversos e importantes rasgos, una buena capacidad de adaptación al cambio.

Conclusiones

El madroño posee una gran habilidad de dispersión, pues ha migrado a lo largo de miles de kilómetros y cruzado estrechos de mar (Gibraltar y Sicilia) o el mar Celta, que separa a la península ibérica de Irlanda. Sorprendentemente, esta capacidad no eliminó la división genética entre el Este y el Oeste del Mediterráneo. Asimismo, las respuestas a las modificaciones en agua y nutrientes son poco variables entre poblaciones, lo cual es coherente con la observada selección estabilizante, produciendo que ninguna población sea más o menos susceptible a los cambios. Por último, *A. unedo* mostró un elevado grado de plasticidad en rasgos clave que, conjuntamente con el demostrado potencial evolutivo, serán determinantes para que la especie pueda afrontar con garantías los futuros cambios ambientales.

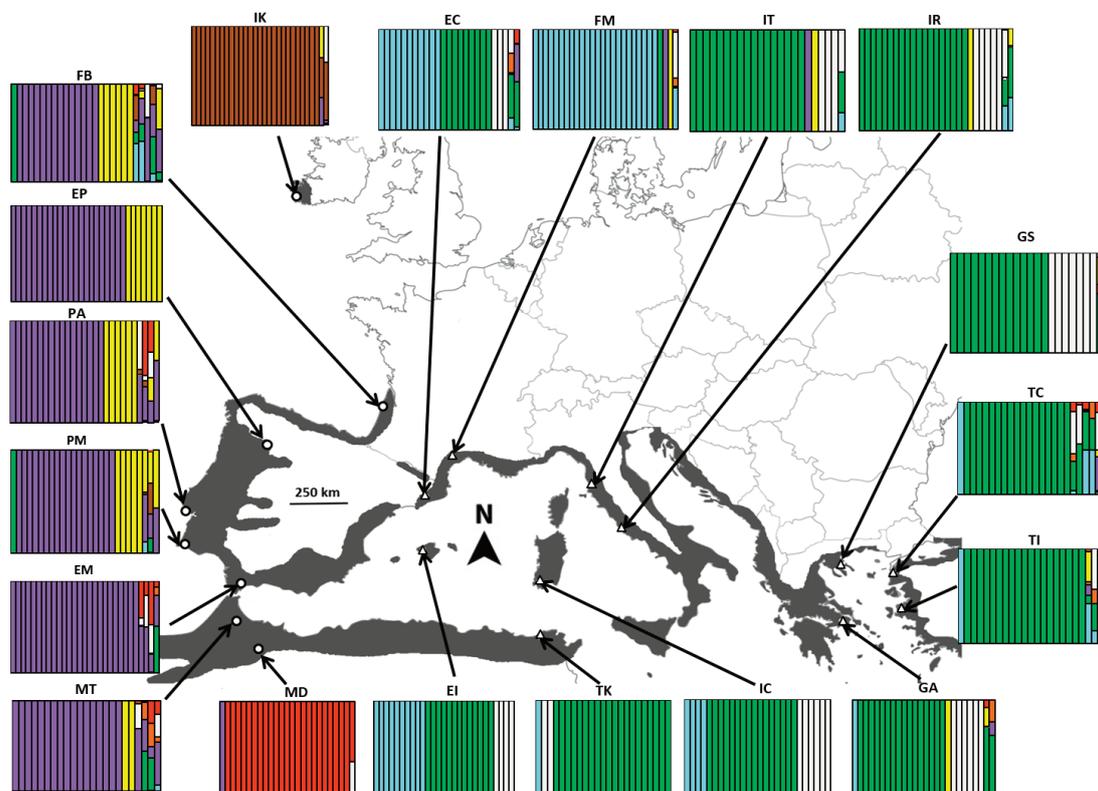


Figura 2. Estructura genética de cada una de las poblaciones muestreadas de *Arbutus unedo* en base al análisis espacial bayesiano realizado con BAPS. Cada barra vertical de los histogramas representa la ascendencia genética de un individuo. El total de linajes genéticos descritos es siete ($P=0.979$). Estos siete linajes se dividen en dos grupos, el Atlántico, estando la localización de sus poblaciones representadas con círculos, y el Mediterráneo, cuyas poblaciones se representan con triángulos.

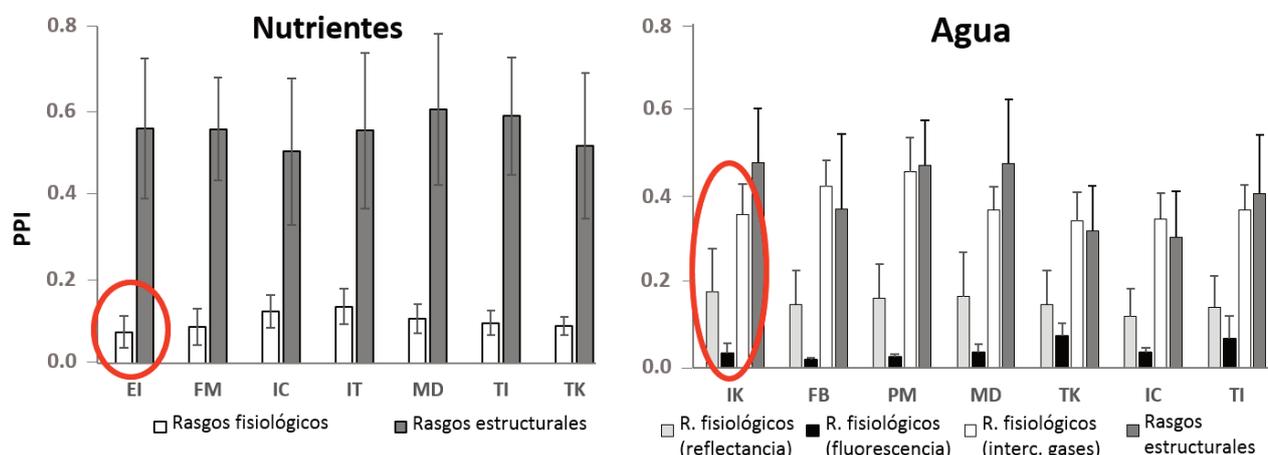


Figura 3. Valores de índice de plasticidad fenotípica (PPI) (\pm error standard) de plantas de diferentes procedencias de *Arbutus unedo* en respuesta a contrastados niveles de nutrientes (izquierda) y agua (derecha). En la izquierda (nutrientes) se observa de forma separada las respuestas de los rasgos estructurales y fisiológicos. En la derecha (agua) se observa de forma separada la respuesta de los rasgos estructurales y los fisiológicos se dividen en tres grupos (reflectancia, fluorescencia e intercambio gaseoso).

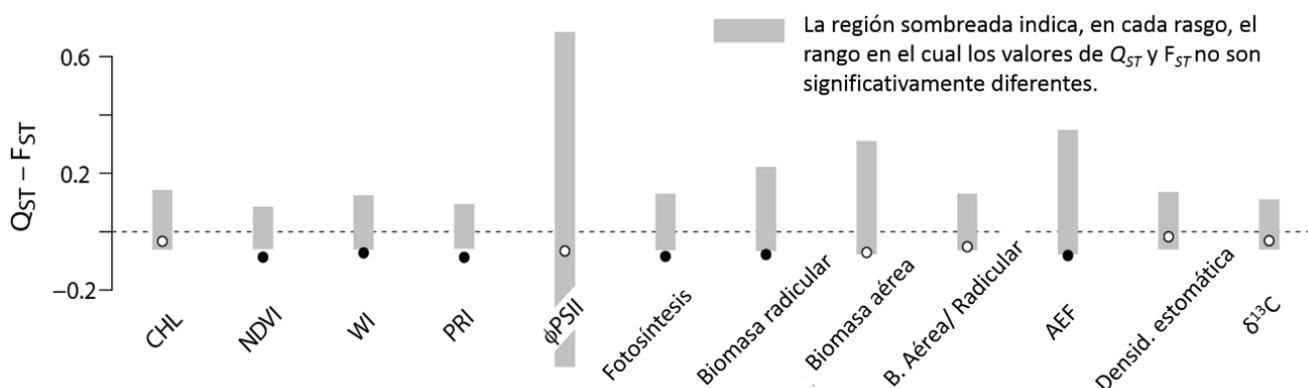


Figura 4. Resultado de la comparación $Q_{ST} - F_{ST}$ para cada rasgo, en el conjunto de poblaciones de *Arbutus unedo*. Se muestra la región (en gris) en donde se cumple la hipótesis de que $Q_{ST} = F_{ST}$. Cuando el valor de Q_{ST} está por debajo de la región sombreada (puntos negros), como ocurre en seis rasgos, se deduce que este Q_{ST} es significativamente inferior al F_{ST} (selección estabilizante). Para los rasgos en que no se dan estas diferencias significativas, el valor de Q_{ST} se muestra como un círculo blanco. CHL = Índice de clorofilas; NDVI = Índice de vigorosidad de la vegetación; WI = Índice de contenido hídrico; PRI = Índice de reflectancia fotoquímica; $\Phi PSII$ = Índice del rendimiento cuántico efectivo del fotosistema II; AEF = Área específica foliar; $\delta^{13}C$ = Composición isotópica de Carbono 13.

Agradecimientos

Esta tesis ha sido financiada por el proyecto CGL2009-11356 (Ministerio de Ciencia e Innovación) y la beca FPU AP-2009-0962 (Ministerio de Educación).

Referencias

- Bolnick, D.I., Amarasekare, P., Araújo, M.S., Bürger, R., Levine, J.M., Novak, M. et al. 2011. Why intraspecific trait variation matters in community ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 26: 183-192.
- Conord, C., Gurevitch, J., Fady, B. 2012. Large-scale longitudinal gradients of genetic diversity: a meta-analysis across six phyla in the Mediterranean basin. *Ecology and Evolution* 2: 2600-2614.
- IPCC 2013. *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. T.F. Stocker, D. Qin, G.-K. Plattner,

M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex, Midgley, P.M. (eds). Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido / New York, NY, Estados Unidos.

- Santiso, X., Retuerto, R. 2015. Low among-provenance differences in structural and functional plasticity in response to nutrients in saplings of the circum-Mediterranean tree *Arbutus unedo* L. *Tree physiology*. DOI, 10.1093/treephys/tpv081.
- Santiso, X., Lopez, L., Gilbert, K.J., Barreiro, R., Whitlock, M.C., Retuerto, R. 2015. Patterns of genetic variation within and among populations in *Arbutus unedo* and its relation with selection and evolvability. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 17: 185-192.
- Sealy, J.R. 1949. *Arbutus unedo*. *The Journal of Ecology* 37: 365-388.
- Vucetich, J.A., Waite, T.A. 2003. Spatial patterns of demography and genetic processes across the species' range: null hypotheses for landscape conservation genetics. *Conservation genetics* 4: 639-645.
- Whitlock, M.C. 2008. Evolutionary inference from Q_{ST} . *Molecular Ecology* 17: 1885-1896.

XABIER SANTISO**Estructura genética y variación geográfica en caracteres ecofisiológicos de *Arbutus unedo* L.**

Tesis Doctoral

Facultad de Biología de la Universidad de Santiago de Compostela

Julio 2012

Directores: Rubén Retuerto Franco y Rodolfo Barreiro Lozano

Publicaciones resultantes de la tesis

Santiso, X., Retuerto, R. 2015. Low among-provenance differences in structural and functional plasticity in response to nutrients in saplings of the circum-Mediterranean tree *Arbutus unedo* L. *Tree physiology*. DOI, 10.1093/treephys/tpv081.

Santiso, X., Lopez, L., Gilbert, K.J., Barreiro, R., Whitlock, M.C., Retuerto, R. 2015. Patterns of genetic variation within and among populations in *Arbutus unedo* and its relation with selection and evolvability. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 17: 185-192.