

Estructura genética de *Viola cazorlensis*. Implicaciones en conservación.

José L. Cánovas¹,
Juan F. Jiménez¹, Juan B. Vera¹,
Juan F. Mota², Antonio Catalán³,
José A. López-Donate³
& Pedro Sánchez-Gómez¹

¹ Departamento de Biología Vegetal (Botánica).
Universidad de Murcia. 30100 Murcia. Spain
(fjimenez@um.es).

² Departamento de Biología Vegetal y Ecología.
Universidad de Almería. 04120 Almería. Spain.

³ Delegación Provincial de Agricultura y Medio Ambiente.
Consejería de Agricultura y Medio Ambiente de Castilla
La Mancha. 02017 Albacete. Spain.

INTRODUCCIÓN

Viola cazorlensis Gand. es un endemismo del Sureste ibérico localizado en las provincias de Jaén, Albacete y Murcia. Suele aparecer en poblaciones aisladas debido al hábitat que ocupa (roquedos calizo-dolomíticos y litosuelos, en altitudes entre 900 y 2000 metros), con numerosas poblaciones desde unos pocos individuos hasta varios centenares o miles, siempre en extensiones reducidas.

Esta especie está protegida tanto a nivel europeo como en las tres Comunidades Autónomas en las que aparece, por lo que el estudio de su variabilidad y estructura genética es muy importante a la hora de definir medidas de conservación eficientes.

El objetivo de este trabajo es intentar reconocer los valores de diversidad genética de las poblaciones y la distribución de la variabilidad genética de las mismas. Para la consecución de estos objetivos se han utilizado los marcadores moleculares ISSR, una herramienta muy utilizada en numerosos estudios taxonómicos con especies amenazadas o raras (Wolfe & Liston, 1998), y la secuenciación de los espaciadores plastidiales *trnT-trnL* y *trnL-trnF* (Taberlet et al. 1991). Los resultados obtenidos nos pueden ser muy útiles a la hora de establecer medidas de gestión y conservación para esta planta.



Viola cazorlensis en la naturaleza. Izquierda arriba, individuo en fisura de roca en Sierra Mágina; Abajo izquierda, Hábitat de la población de El Yelmo; Derecha, Individuo sobre litosuelos en Sierra Mágina.



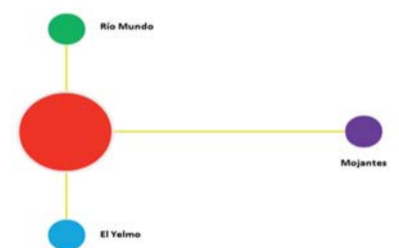
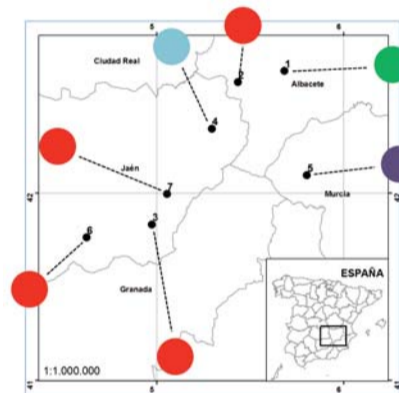
MATERIAL Y MÉTODOS

Se han recolectado un total de 209 individuos procedentes de 7 poblaciones repartidas por el área de distribución de la especie: 4 poblaciones de Jaén, 2 de Albacete y 1 de Murcia.

Para el estudio de la variabilidad genética intrapoblacional y la diferenciación interpoblacional se han seleccionado 5 cebadores ISSR elegidos de un pool de 18, debido a que eran los que daban productos de amplificación reproducibles y suficientemente polimórficos; y para la secuenciación de los espaciadores plastidiales se han utilizado 2 parejas de cebadores universales.

Las bandas obtenidas con el marcador ISSR han sido incluidas en una matriz binaria de presencia/ausencia, utilizada como base para la realización de la matriz de distancias (Nei & Li, 1979); y el estudio de otros estadísticos (PCO; AMOVA; UPGMA) realizados con los programas SPSS 11.0 (Norusis, 1990), MVSP 3.2d y ARLEQUIN 1.1 (Schneider et al. 1997). Para la realización de redes de parsimonia se ha utilizado el programa Network 4.6. Las secuencias de los espaciadores plastidiales han sido analizadas con los programas Chromas Lite 2.01 y BioEdit 7.0.9 (Hall, 1999).

Distribución de los diferentes haplotipos en las poblaciones utilizando redes de parsimonia.

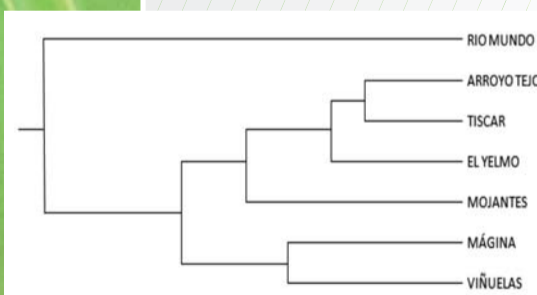
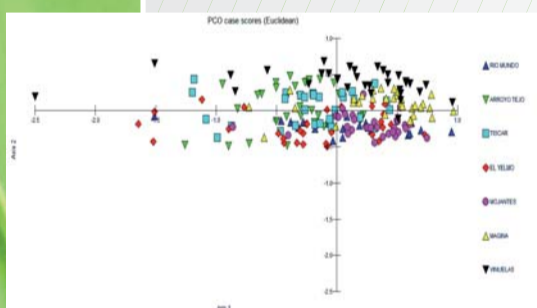


RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de los 5 cebadores ISSR se ha obtenido un total de 100 bandas, de las cuales 98 (98%) son polimórficas. No se han localizado bandas marcadoras de población. Los valores de diversidad genética obtenidos con el programa POPGENE indican que las poblaciones no se encuentran empobrecidas genéticamente, de hecho, al menos el 60% de los loci de todas las poblaciones son polimórficos. Además, el AMOVA indica que el 86,44% de la variación genética se encuentra dentro de las poblaciones. En cuanto al PCO y al análisis de agrupamientos realizado con el UPGMA no se observa ningún patrón con respecto a su localización geográfica.

El análisis de los marcadores plastidiales indica la presencia de 4 haplotipos. Tres de las poblaciones presentan un haplotipo único, mientras que el último haplotipo aparece en las 4 poblaciones restantes, por lo que parece que estas tres poblaciones están diferenciándose poco a poco de un núcleo más grande. Dos de los haplotipos se diferencian únicamente en una mutación mientras que la población de Mojante presenta un haplotipo con 4 mutaciones.

Herrera & Bazaga (2008), en un estudio con marcadores AFLP realizado a varias poblaciones de Cazorla observaron que no existía ningún patrón en la estructuración genética de las poblaciones, debido a que se comportaban como una metapoblación en la que existe flujo génico, muy posiblemente facilitado por el polinizador principal de esta especie, una polilla colibrí (*Macroglossum stellatarum*) de hábitos migratorios. En nuestro caso, esta hipótesis se confirma, pues la ausencia de estructuración genética se mantiene en todo el área de distribución de la especie, al menos a nivel nuclear. La aparición de diferentes haplotipos, más diferentes cuanto mayor es la distancia geográfica, indica, que al menos a nivel del cloroplasto si se está empezando a observar cierta diferenciación genética. Este hecho sugiere que el polinizador principal es muy efectivo a la hora de favorecer el flujo génico entre las poblaciones, pero únicamente a nivel nuclear (mediante el transporte de polen), ya que a nivel del cloroplasto no es tan efectivo este flujo génico, posiblemente debido a la ausencia de transporte de semillas a larga distancia.



BIBLIOGRAFÍA

Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Window 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series 41: 95-98.

Herrea CM & Bazaga P. 2008. Population-genomic approach reveals adaptive floral divergence in discrete population of a hawk moth-pollinated violet. Molecular Ecology 17: 5378-5390.

Nei M & Li W-H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of National Academic of Sciences USA, 76: 5269-5273.

Norusis MJ. 1990. SPSS advanced statistics user's guide. SPSS Inc. Chicago.

Schneider S, Kueffer JM, Roessli D & Excoffier L. 1997. Arlequin v1.1: A software for population genetic analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Geneva.

Taberlet P, Gielly L, Patou G & Bouvet J. 1991. Universal primers for amplification of three noncoding regions of chloroplast DNA. Plant Molecular Biology 17: 1105-1109.

Wolfe AD & Liston A. 1998. Contributions of PCR-based methods to plant systematics and Evolutionary Biology. In Molecular Systematics II: DNA sequencing. Soltis DE, Soltis P & Doyle JJ. (eds). Kluwer Academic Publishers.

Agradecimientos

A Eduardo Picazo por la recolección de muestras de las poblaciones de Albacete.

Este trabajo ha sido financiado con cargo a fondos del proyecto PEPLAN en el marco de un Convenio entre la Universidad de Murcia y la Consejería de Universidades, Empresa e Investigación de la Región de Murcia.