



Genética de la conservación del endemismo extremo pirenaico *Glandora oleifolia* (Boraginaceae)

Jordi López-Pujol¹ · Alberto del Hoyo² · Blanca Lasso de la Vega³

¹BioC, GreB, Institut Botànic de Barcelona (CSIC-ICUB), Passeig del Migdia s/n, 08038 Barcelona. jlopez@ibb.csic.es

²Jardí Botànic Marimurtra, Fundació Privada Carl Faust, Passeig de Carles Faust 9, Ap. Correos 112, 17300 Blanes, Girona

³Jardín Botánico-Histórico La Concepción, Camino del Jardín Botánico 3, 29014 Málaga

RESUMEN

Glandora oleifolia (Lapeyr.) D.C.Thomas [= *Lithodora oleifolia* (Lapeyr.) Griseb.] constituye uno de los endemismos más restringidos de la península Ibérica, puesto que cuenta con una única población (dividida en dos núcleos separados por apenas 5 km) localizada en la Alta Garrotxa, en el Pirineo gerundense. *Glandora oleifolia* está catalogada como VU en la Lista Roja 2008 de la Flora Vascular Española y goza de protección legal en Cataluña (está incluida en el reciente Catálogo de flora amenazada de esta comunidad autónoma). Como parte de un plan de conservación *ex situ* que está elaborando el Jardín Botánico Marimurtra (JBMiM) para este taxón amenazado, se ha estudiado su diversidad genética mediante aloenzimas y RAPDs. Para ambos marcadores, los niveles de variabilidad genética intrapoblacional mostraron unos valores muy pequeños, tal y como se espera para los endemismos de área muy reducida. La divergencia genética entre los dos núcleos poblacionales también resultó ser muy reducida, inferior al 10% con ambos marcadores. La exigua área de distribución de esta borraginácea, a pesar de su moderado tamaño poblacional (unos 5.000 individuos), junto con tan pequeña variabilidad genética, la convierte en un taxón con un elevado riesgo de extinción. Por otra parte, la especie está sometida a una enorme presión antrópica (sobrefrecuentación), mientras que la baja producción de semillas debido a la escasa actividad de los polinizadores constituye una amenaza adicional.

Comunicació en forma de pòster presentada al **IV Congreso de Biología de la Conservación de Plantas** (Almería, 15-18/09/2009)

Citació recomanada: López-Pujol, C., del Hoyo, A. & Lasso de la Vega, B. 2009. *Genética de la conservación del endemismo extremo pirenaico Glandora oleifolia* (Boraginaceae). *IV Congreso de Biología de la Conservación de Plantas*. Almería, 15-18/09/2009. Portal de Biologia de la Conservació de plantes. Laboratori de Botànica, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona. URI: <http://hdl.handle.net/2445/XXXXX>

Aquesta obra està subjecta a una llicència de [Reconeixement-NoComercial-SenseObraDerivada 3.0 Espanya de Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es/)



Genética de la conservación del endemismo extremo pirenaico *Glandora oleifolia* (Boraginaceae)

Jordi López-Pujol¹, Alberto del Hoyo², Blanca Lasso de la Vega³

¹BioC, GrEB, Institut Botànic de Barcelona (CSIC-ICUB), Passeig del Migdia s/n, 08038 Barcelona

²Jardí Botànic Marimurtra, Fundació Privada Carl Faust, Passeig de Carles Faust 9, Ap. Correos 112, 17300 Blanes, Girona

³Jardín Botánico-Histórico La Concepción, Camino del Jardín Botánico 3, 29014 Málaga



INTRODUCCIÓN

Glandora oleifolia (Lapeyr.) D.C.Thomas es un arbusto bajo, de matas ascendentes y ramificadas, con flores azules y dimórficas, existiendo unas con estilo largo y estambres cortos (forma longistila) y otras con estilo corto y estambres largos (forma brevistila). Esta especie habita zonas rupícolas de naturaleza calcárea del Pirineo gerundense, entre 400 y 900 metros, y solamente se conocen dos núcleos (Sant Aniol, SAN; Toll de Monars; TOL), ambos dentro del EIN de la Alta Garrotxa, sumando un total de unos 10.000 individuos. La especie está catalogada como VU en la Lista Roja 2008 de la Flora Vasculosa Española y goza de protección legal en Cataluña (está incluida en el reciente Catálogo de flora amenazada de esta comunidad autónoma). La principal amenaza que presenta se debe a la pérdida de hábitat por competencia con el boj (*Buxus sempervirens*) y a la hiperfrecuentación de excursionistas a la zona, sobretodo a Sant Aniol d'Aguja.

Con el fin de determinar los niveles de variabilidad y diferenciación genética de este endemismo, se realizaron análisis moleculares con marcadores aloenzimáticos y RAPD.

MATERIAL Y MÉTODOS

Aloenzimas: Mediante la técnica de electroforesis de aloenzimas con geles de almidón, se resolvieron 9 sistemas enzimáticos (AAT, GDH, IDH, LDH, MDH, ME, PGI, PGM y SKD), obteniéndose un total de 13 loci, de los cuales únicamente 4 (*Idh-1*, *Idh-2*, *Mdh-1* y *Pgm-2*) mostraron polimorfismo.

Una vez se estimaron las frecuencias alélicas para todos los loci, se calcularon los diferentes parámetros descriptores básicos de variabilidad genética (P , A , A_p , H_o y H_e), así como los niveles de diferenciación genética entre poblaciones (F_{ST}).

RAPD: Se analizaron 10 marcadores RAPD de Operon (C02, C14, C15, C16, C17, C19, C20, J04, J07, L01) para un volumen total de 10 µl que contenía 1x PCR buffer (Bioline), 3,5 mM MgCl₂ (Bioline), 0,2mM de cada dNTP (Bioline), 0,2µM de primer, 0,9 U de *Taq* DNA polimerasa (Bioline) y 50 ng de ADN. El programa de amplificación consistió en un primer paso de desnaturalización de 1' a 92 °C, seguido por 45 ciclos de 92 °C durante 10", 35 °C durante 10" y 72 °C durante 1', y un paso final de elongación 72 °C durante 2'. Los productos de la PCR fueron separados mediante electroforesis en agarosa al 2% y teñidos con bromuro de etidio.

Se analizó la presencia/ausencia de fragmentos RAPD y los datos fueron entrados en forma de matriz binaria como variables discretas (0 y 1). La estructura genética de la población fue analizada mediante AMOVA y se realizó un test de asignación poblacional con STRUCTURE.

Aloenzimas	Variabilidad Genética					Diferenciación Genética
	P	A	A _p	H _o	H _e	F _{ST}
SAN	30,8	1,69	3,25	0,076 (0,040)	0,098 (0,046)	
TOL	0,0	1,00	0,0	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	
Media	15,4	1,34	1,62	0,038	0,049	0,094

RAPD's	Variabilidad Genética		Diferenciación Genética
	P	H _e	F _{ST}
SAN	66	0,195	
TOL	40	0,185	
<i>L. oleifolia</i>	73	0,195	0,04

SAN: Sant Aniol; TOL: Toll de Monars



Test de asignación poblacional. K = 2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

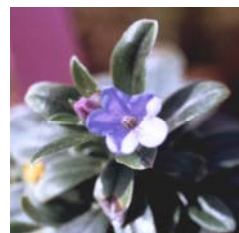
Los valores de variabilidad genética intrapoblacional obtenidos han resultado ser muy bajos, tal y como era de esperar para un endemismo con distribución muy reducida, a pesar de ser una especie alogama. Su condición de taxón relicto (la especie podría haberse originado durante el Mioceno; Weigend et al. 2009, *Mol. Phylogen. Evol.* 52: 755-768) podría explicar los bajos niveles de diversidad detectados. Las fuertes oscilaciones climáticas del Pleistoceno podrían haber producido importantes oscilaciones demográficas (cuellos de botella repetidos) y la muy probable extinción de poblaciones en un entorno pirenaico glacial (cabe destacar el hecho que *G. oleifolia*, que es la especie basal del género, sea la más restringida geográficamente), con la consiguiente pérdida de alelos y el aumento de la endogamia.

La divergencia genética entre las dos poblaciones resultó ser muy reducida, inferior al 10% con ambos marcadores. Este dato es indicativo de la existencia de cierto flujo génico entre las poblaciones (lo cual resulta bastante factible dada la proximidad geográfica de las dos poblaciones) o bien puede deberse a un episodio de fragmentación reciente.

IMPLICACIONES EN CONSERVACIÓN

Resulta preocupante la desaparición de individuos adultos inventariados (debido, por ejemplo, al pisoteo). El escaso número de individuos jóvenes y la baja producción de semillas observados en la población natural pueden relacionarse con una limitación de polen y/o polinizadores (Ferrero, 2006, *Lithodora* 2006: 10). Por este motivo, se propone como actuación *in situ* la restricción en el número de visitantes a Sant Aniol durante la época de floración, que podría constituir una estrategia adecuada para favorecer la actividad de los polinizadores.

En relación a la conservación *ex situ* de la especie, se propone un muestreo exhaustivo de la población más variable (SAN), dado el escaso grado de diferenciación genética existente entre las dos poblaciones y la menor variabilidad genética detectada en TOL. Estas semillas podrían utilizarse en futuros planes de refuerzo de la especie en el caso que se observase una importante reducción en el número de individuos. La escasa producción de semillas aconseja la realización de estudios de germinación.



Forma longistila



Forma brevistila



Competencia entre *L. oleifolia* y *Buxus sempervirens*

NOTA TAXONÓMICA

En una reciente filogenia del género *Lithodora* realizada por Thomas et al. (2008: *Taxon* 57, 79-97) con marcadores cloroplásticos, nucleares y morfológicos, se propone dividir el género en dos. Esta división se basa en la polifilia observada en su filogenia y en una serie de caracteres morfológicos de la estructura de la semilla y la flor. Como consecuencia de este cambio, *Lithodora oleifolia* se transfiere a un nuevo género como *Glandora oleifolia* (Lapeyr.) D.C.Thomas.