

DIFERENCIACION A NIVEL SUBESPECIFICO DE LAS POBLACIONES
MARROQUIES DE ABIES PINSAPO BOISS. MEDIANTE UN ESTUDIO
ISOENZIMATICO

F.J. García; L. Pascual & F. Perfectti

Dpto. de Genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada. Campus Fuentenueva.
18071-GRANADA (España)

Resumen

En este trabajo se analizan las relaciones filogenéticas y taxonómicas de las poblaciones de *Abies pinsapo* Boiss. de España y Marruecos mediante un estudio con marcadores isoenzimáticos, ya que desde la descripción de las poblaciones marroquíes de pinsapo la situación taxonómica de estas y de las españolas ha sido muy discutida. Se ha demostrado que las dos poblaciones africanas deben considerarse dentro de un sólo nivel subspecífico con respecto a las poblaciones españolas.

P.C.: Isoenzimas, Filogenia, Taxonomía, Especiación, *Abies*

Abstract

Phylogenetic and taxonomic relationships in *Abies pinsapo* Boiss. from Spanish and Moroccan populations are presented in this report. The study have been carried out using isozymes markers. There have been a great deal of controversy about the origin of *A. pinsapo* populations from Morocco since their discovery. We have demonstrated that both studied Moroccan populations must be considered at the same subspecific level respect to the spanish ones.

K.W.: Isozymes, Phylogeny, Taxonomy, Speciation, *Abies*

INTRODUCCION

El pinsapo (*Abies pinsapo* Boiss.) es un endemismo bético-norteafricano con poblaciones cuyas relaciones filogenéticas son difíciles de definir por los sistemas tradicionales de la Botánica clásica, es decir, mediante la utilización de caracteres morfológicos o anatómicos. Dichos caracteres, generalmente cuantitativos, tienen una gran influencia ambiental, siendo a veces marcadores poco fiables en la taxonomía de las especies.

Desde el descubrimiento de la primera población marroquí de pinsapo, en Jbel

Tissouka, ésta fue considerada como una especie diferente, *Abies marocana*, por TRABUT (1906). La segunda población marroquí descubierta en los años cuarenta en Jbel Tazaot (SANCHEZ COZAR, 1946), fue asignada como una posible var. tazaotana.

Distintos autores han discutido el encuadre taxonómico de las poblaciones de pinsapo, asignando a las poblaciones africanas un nivel específico o subespecífico. Actualmente las dos poblaciones del Rif marroquí son consideradas como dos diferentes variedades de pinsapo: Jbel Tissouka, *A. pinsapo* var. *marocana* (Trabut) Ceballos y Bolaños, y Jbel Tazaot, *A. pinsapo* var. *tazaotana* (H. del Villar) Pourtet, (FARJON, 1990). Las poblaciones españolas, con tres núcleos principales en Sierra de las Nieves y Sierra Bermeja (Málaga) y Sierra del Pinar, Grazalema (Cádiz) serían la variedad tipo.

La utilización de marcadores isoenzimáticos es de gran utilidad para el estudio taxonómico y filogenético de las poblaciones de pinsapo. Trabajos similares se han realizado en otras coníferas (MILLAR ET AL, 1988; JACOBS ET AL, 1984).

MATERIAL Y METODOS

La técnica empleada en este estudio ha sido la electroforesis de isoenzimas en gel de almidón (CHELIAK & PITEL, 1984). Se han analizado un total de 15 sistemas enzimáticos en 4 tampones diferentes:

- Tampón Morpholina pH 6.1; para los enzimas MDH, LAP e IDH.
- Tampón Tris-histidina pH 7.0; ME, ACO, 6PGD, SKDH, DIA, ADH.
- Tampón LiOH pH 8.1 8.3; PGI, GDH, PGM, TPI.
- Tampón Tris-citrato pH 8.0 8.8; GOT, G6PD.

El material vegetal, cuyo extracto ha sido sometido a electroforesis, ha sido el megagametofito de las semillas, de carácter haploide. Ya que este endospermo haploide representa un único producto gamético, con la misma constitución que el gameto femenino, es utilizado para inferir el genotipo del árbol. Para la determinación genotípica se analizan 6 megagametofitos por individuo.

Se realizó un muestreo al azar de todas las poblaciones naturales de pinsapo, obteniéndose semillas fértiles del siguiente número de árboles por población:

- Jbel Tissouka	114
- Jbel Tazaot	102
- Sierra de las Nieves	104
- Sierra del Pinar	114
- Sierra Bermeja	64

RESULTADOS Y DISCUSION

La interpretación genética de los zimogramas nos ha permitido identificar un gen modificador y 31 loci que codifican para los 15 sistemas enzimáticos analizados.

De los 32 genes computados, 18 se presentan como monomórficos en todas las poblaciones: ACO, ADH, DIA-1, DIA-2, DIA-3, ME-1, ME-2, GDH, GOT-1, G6PD-2, IDH-2, MDH-2, 6PGD-1, 6PGD-2, PGI-1, PGM-2, SKDH-2, TPI-1. Los 14 loci restantes son variables, mostrando de dos a cuatro alelos por locus, en al menos una población, (Fig. 1).

Se han hallado las frecuencias alélicas para cada loci, y a partir de ellas se han calculado las distancias genéticas entre las poblaciones utilizando los parámetros de distancia e identidad genética de Nei(1978), (Tabla 1). Se han obtenido también las distancias genéticas

entre las poblaciones agrupadas por países (Tabla 2). Para observar más claramente las relaciones de similitud entre poblaciones se ha realizado un análisis de cluster por el procedimiento UPGMA de la matriz de distancias (Fig. 2).

A partir de este análisis se observan 2 cluster principales, que se corresponden con las poblaciones marroquíes y las españolas. Este dato, unido al hecho de una distancia genética media más de diez veces mayor entre las poblaciones de ambos lados del estrecho que entre las poblaciones de un mismo país, nos permite definir 2 taxones diferentes. El patrón de bandas de la MDH es el que mejor discrimina esta situación ya que en las poblaciones marroquíes aparecen sólo 2 zonas de actividad, correspondientes a los loci MDH-1 y MDH-2, mientras que en las españolas aparece generalmente una banda intermedia MDH-1/2, que es interpretada como un heterodímero intergénico formado por la unión de subunidades de los loci MDH-1 y MDH-2, (Fig. 1). Un patrón similar con heterodímero intergénico ocurre en otras especies de abetos, EL-KASSABY (1981).

El aislamiento geográfico entre estos dos grupos de poblaciones (españolas y marroquíes), la ausencia de flujo génico entre ellas, y las diferencias a nivel génico, indicarían que se está produciendo un cierto grado de divergencia evolutiva, pudiéndose sospechar que los 2 grupos se encuentran en proceso de especiación geográfica. Debido a que las fuerzas evolutivas han tenido un acervo genético muy limitado para actuar, tal como el que observamos actualmente, es decir, la presencia de una baja variabilidad genética puesta de manifiesto por el gran nº de loci monomórficos que son idénticos en todas las poblaciones, el proceso de diferenciación sería muy lento y por tanto todavía no han divergido a nivel de especie.

La existencia de 2 variedades en Marruecos (var. *marocana* y var. *tazaotana*) queda así mismo descartada ya que la distancia genética entre sus poblaciones es mínima y similar a la existente entre las poblaciones españolas. Por tanto las 2 poblaciones africanas deben considerarse dentro de un sólo nivel subespecífico, variedad o subespecie, con respecto a las poblaciones españolas.

BIBLIOGRAFIA

- CHELIAK, W.M. & PITEL, J.A. (1984). *Techniques for starch gel electrophoresis enzymes from forest tree species*. Canadian Forestry Service.
- EL-KASSABY, Y.A. (1981). Genetic interpretation of malate dehydrogenase isozymes in some conifer species. *J. Hered.* 72:451-452.
- FARJON, A. (1990). *Pinaceae*.
- JACOBS, B.F.; WERTH, C.R. & GUTTMAN, S.I. (1984). Genetic relationships in *Abies* (fir) of eastern United States: an electrophoretic study. *Can. J. Bot.* 62: 609-616.
- MILLAR, C.I.; STRAUSS, S.H.; CONKLE, M.T. & WESTFALL, R.D. (1988). Allozyme differentiation and biosystematics of the Californian closed-cone pines (*Pinus* subsect. *Oocarpae*). *Systematic Botany* 13: 351-370.
- SANCHEZ COZAR, S. (1946). El *Abies* del Tazaot. *Rev. de la Real Academia de Ciencias*, XL:449-468.
- TRABUT, M.L. (1906). Sur la presence d'un *Abies* nouveau au Maroc (*Abies marocana*). *Bull. Soc. Bot. Fr.* 53:154-156.

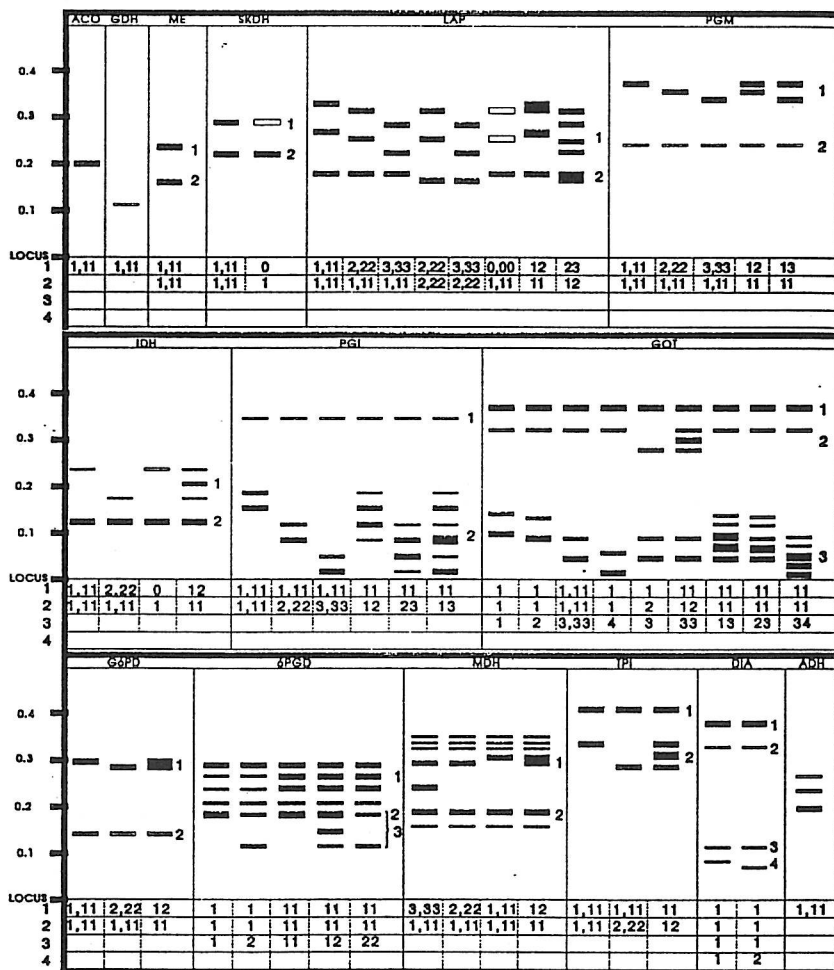


Figura 1. Diagrama de los fenotipos isoenzimáticos en megagametofitos y embriones para 15 sistemas enzimáticos en pinsapo. Las bandas huecas corresponden a alelos nulos. Los genotipos de los megagametofitos (ej. 1) y embriones (ej. 11) son indicados separados por comas.

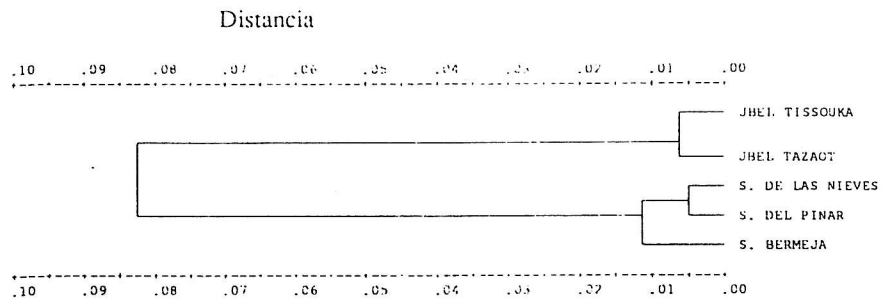


Figura 2. Cluster UPGMA.
Coeficiente usado: Distancia genética de Nei (1978).

Población	1	2	3	4	5
1. Jbel Tissouka	-----	0.995	0.919	0.920	0.916
2. Jbel Tazaot	0.006	-----	0.917	0.926	0.925
3. S. de las Nieves	0.084	0.086	-----	0.995	0.985
4. S. del Pinar	0.083	0.077	0.005	-----	0.992
5. S. Bermeja	0.088	0.078	0.015	0.008	-----

Tabla nº 1. Matriz de identidades y distancias genéticas.
Encima de la diagonal: Identidad genética Nei (1978).
Debajo de la diagonal: Distancia genética Nei (1978).

País	Nº de pob.	1	2
1. Marruecos	2	0.006 (0.006-0.006)	-----
2. España	3	0.083 (0.077-0.088)	0.009 (0.005-0.015)

Tabla nº 2. Matriz de medias de distancias genéticas
entre poblaciones agrupadas por países.
Distancia genética Nei (1978).

CONGRESO
FORESTAL ESPAÑOL
Lourizán 1993

PONENCIAS Y COMUNICACIONES

PONTEVEDRA, 14 al 18 Junio de 1993

TOMO II

Mesa Temática II. El Monte Productor

Edición Científica a cargo de

Francisco Javier Silva-Pando y Guillermo Vega Alonso