

**Biodiversidad morfológico-reproductiva y
genética del género endémico canario
Parolinia Webb (Brassicaceae)**



Olga Fernández-Palacios Acosta

Tesis Doctoral

Las Palmas de Gran Canaria, julio 2009

INDICE

INTRODUCCIÓN AL ESTUDIO DE PAROLINIA. ANTECEDENTES. CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES Y POBLACIONES NATURALES

Introducción al estudio de <i>Parolinia</i>	3
1. <i>Parolinia</i> . Antecedentes y justificación.....	6
1.1. Brassicaceae. taxonomía y relaciones filogenéticas.....	6
1.1.1. Taxonomía y sistemática de las Brassicaceae.....	7
1.2. Sistemática y relaciones del género <i>Parolinia</i> Webb.....	7
2. Flora canaria. Origen y biogeografía	11
2.1. Canarias. Edad geológica y flora	12
2.1.1. Archipiélago canario. Historia geológica y vegetación	13
2.2. Flora canaria, biogeografía y origen.....	20
2.3. Especiación y evolución en Macaronesia	21
3. Descripción de las especies. Corología y poblaciones estudiadas	24
3.1. Descripción, corología y poblaciones.....	28
3.1.1. <i>Parolinia ornata</i> Webb	28
3.1.2. <i>Parolinia schizogynoides</i> Svent.,	38
3.1.3. <i>Parolinia intermedia</i> Svent. & Bramwell	42
3.1.4. <i>Parolinia platypetala</i> Kunkel	49
3.1.5. <i>Parolinia filifolia</i> Kunkel.....	54
3.1.6. <i>Parolinia glabriuscula</i> Montelongo & Bramwell	63
3.1.7. <i>Parolinia aridanae</i> Santos <i>nomen nudum</i>	67
3.1.8. Poblaciones no adscritas morfológicamente a ninguna de las especies descritas	71
3.2. Distancias entre poblaciones. Barreras altitudinales y perfiles orográficos	77
4. Biodiversidad y sistemática.....	93
4.1. Nuevo enfoque de los estudios de biodiversidad. Sistemática vegetal y deep morphology	95
4.2. Biología de poblaciones. Biodiversidad y micro-evolución. Fundamentos biológicos	96
4.3. Biología reproductiva, biodiversidad y población natural. Aplicaciones a la conservación	97
4.3.1. Biodiversidad, sistemas de reproducción y componente filogenético	98
4.3.2. Biología reproductiva, biodiversidad y micro-evolución. Población natural	99
4.3.3. Biodiversidad macro y micro-morfológica. Palinología y Citogenética.....	103
4.3.4. Biodiversidad genética y electroforesis de isoenzimas	105
4.3.5. Biología reproductiva y diversidad genética en Canarias. Antecedentes y perspectivas actuales. Aplicaciones a la conservación.....	107
4.4. Análisis de datos y configuración de matrices	110
4.4.1. Tratamiento previo de los datos. Análisis univariante	111
4.4.2. Relaciones entre grupos y variables. Coeficientes de similitud y correlación....	112
4.4.3. Estadística multivariante y taxonomía numérica	113

CAPÍTULO I. CICLO VITAL Y FENOLOGÍA ESTACIONAL. FENOLOGÍA FLORAL, DE LA INFLORESCENCIA Y DEL FRUTO

1. Introducción a los estudios fenológicos	117
1.1. Ciclo vital y fenología estacional	117
1.2. Fenología floral y dicogamia	118
1.2.1. Dicogamia intrafloral. Tipos	119
1.3. Inflorescencia. fenología y dicogamia	121
1.3.1. Dicogamia interfloral. Tipos	122
1.4. Origen de la dicogamia. Causas y fuerzas selectivas.....	124
1.4.1. Interferencias y auto-fecundación	124
1.4.2. Exposición prolongada de polen	124
1.4.3. Liberación y recepción simultánea de polen	124
1.4.4. Interferencias entre polen-estigma	124
1.5. Fenología floral y hercogamia	126
1.6. Dicogamia y hercogamia. Brassicaceae. Antecedentes	126

1.6.1. Antecedentes en dicogamia.....	126
1.6.2. Antecedentes en hercogamia	127
2. Objetivos.....	127
3. Material y métodos	129
3.1. Fenología estacional y ciclo vital	129
3.2. Fenología floral y dicogamia.....	130
3.2.1. Fases del ciclo floral y selección de los marcadores morfológicos externos	131
3.2.2. Detección de la dicogamia o separación temporal de la fase masculina y femenina.....	131
3.2.3. Detección de hercogamia o separación espacial del androceo y gineceo	132
3.3. Fenología del fruto	133
3.4. Inflorescencia. Fenología y dicogamia	133
4. Resultados.....	136
4.1. Fenología estacional y ciclo vital	136
4.2. Fenología floral y dicogamia.....	143
4.2.1. Estadio 0. Yema.....	143
4.2.2. Estadio 1. Botón cerrado	146
4.2.3. Estadio 2. Botón abierto.....	150
4.2.4. Estadio 3. Flor joven no expandida	153
4.2.5. Estadio 4. Flor expandida con androceo expuesto. Fase masculina	158
4.2.6. Estadio 5. Flor con gineceo expuesto. Fase masculina y femenina.....	165
4.2.7. Estadio 6. Flor madura. Fase femenina.....	177
4.2.8. Estadio 7. Flor marchita con pérdida de verticilos.....	184
4.2.9. Evaluación global y resumen. Dicogamia y longevidad de la flor.....	187
4.3. Fenología del fruto	196
4.3.1. Estadio 8. Gineceo sin verticilos.....	197
4.3.2. Estadio 9. Gineceo con las astas al mismo nivel del estigma	200
4.3.3. Estadio 10. Gineceos con las astas superando al estigma	201
4.3.4. Estadio 11. Fruto verde.....	202
4.3.5. Estadio 12. Fruto maduro y lignificación	204
4.4. Inflorescencia. Fenología y dicogamia	207
4.4.1. Desarrollo y estructura de la inflorescencia. Dicogamia inter-floral.....	207
4.4.2. Inflorescencia. Oferta floral por día	211
4.4.3. Nivel individuo. Disposición floral e inflorescencias.....	214
5. Discusión y conclusiones	225
1. Fenología estacional y ciclo vital	225
Fenología estacional. Filogenia y factores ambientales	225
Fenología estacional y ciclo vital. Cambio climático	226
2. Fenología floral. fases de la flor.....	227
Reconsideración de las fases masculina y femenina de la flor	228
Duración del ciclo de la flor y longevidad.....	228
Flor y síndromes de polinización asociados a la dicogamia	229
<i>Parolinia</i> . Dicogamia incompleta y fuerzas evolutivas.....	231
3. Inflorescencia. dicogamia interfloral	233
Inflorescencia	233
Individuo	233
4. Fenología del fruto y dispersión de semillas.....	234

CAPÍTULO II. SISTEMAS DE CRUZAMIENTO Y EFICACIA REPRODUCTIVA DE LAS POBLACIONES NATURALES

1. Sistemas de cruzamiento. Introducción	239
1.1 Sistemas de cruzamiento. Autogamia y xenogamia.....	239
1.1.1. Autogamia. Endogamia y pérdida de vigor (<i>inbreeding depression</i>)	240
1.1.2. Xenogamia. Heterosis y pérdida de vigor por <i>outbreeding depression</i>	242
1.1.3. Sistemas de cruzamiento. Evolución e <i>inbreeding depression</i>	243
1.1.4. Auto-alo-xenogamia e <i>inbreeding depression</i> . Incidencia y evaluación	245
1.2. Sistemas de cruzamiento y de auto-Incompatibilidad	247
1.2.1. Clasificación de los sistemas de auto-incompatibilidad y características.....	247
1.2.2. Principales tipos de auto-incompatibilidad.....	247
1.2.3. Evolución, mantenimiento y pérdida de los sistemas de auto-incompatibilidad	

.....	253
1.2.4. Sistemas de cruzamiento y de auto-incompatibilidad. Antecedentes en la familia	255
1.2.5. Sistemas de cruzamiento y auto-incompatibilidad en islas	257
1.3. Eficacia reproductiva de las poblaciones naturales. Sistemas de cruzamiento.....	258
1.3.1. Éxito y Esfuerzo reproductivo	259
1.3.2. Éxito reproductivo global (ORS) o Eficacia Reproductiva	261
1.3.3. Antecedentes de eficacia reproductiva e <i>inbreeding depression</i> en Brassicaceae	262
2. Objetivos	262
3. Material y métodos	265
3.1. Evaluación indirecta de los sistemas de cruzamiento. autogamia y xenogamia	266
3.1.1. Niveles de alogamia según <i>ratio</i> Polen/Óvulo	266
3.1.2. Índice OCI de alogamia	269
3.1.3. Cicatrices por infrutescencia.....	270
3.2. Evaluación directa de los sistemas de cruzamiento: experimentos de polinización	271
3.2.1. Cruzamientos experimentales. Polinizaciones dentro y entre individuos	272
3.2.2. Interpretación de los resultados según los niveles de fecundación observados	274
3.2.3. Resultados de los cruces y recogida de material	275
3.2.4. Cruces experimentales: índice de auto-incompatibilidad y tasa de autogamia S	276
3.2.5. Medida de la pérdida de vigor por endogamia (nivel de <i>inbreeding depression</i>)	278
3.3. Eficacia reproductiva de las poblaciones naturales	279
3.3.1. Infrutescencia, frutos y semillas. Pre-selección, muestreos y almacenamiento	280
3.3.2. Estimación del Éxito Reproductivo Pre-emergente (PERS).....	281
3.3.3. Éxito Reproductivo Post-emergente (PoERS).....	284
3.3.4. Eficacia reproductiva global (ORS) y pérdida de vigor (<i>inbreeding depression</i>)	286
3.4. Análisis de datos	287
4. Resultados	289
4.1. Evaluación indirecta de los sistemas de cruzamiento. Niveles de autogamia y xenogamia	289
4.1.1. Niveles de alogamia según recursos del androceo y gineceo	289
4.1.2. Índice OCI de alogamia	295
4.1.3. Cicatrices por infrutescencia y auto-incompatibilidad	295
4.2. Evaluación directa de los sistemas de cruzamiento. Cruces experimentales. Auto-incompatibilidad, autogamia y agamospermia	297
4.2.1. Polinizaciones experimentales y niveles de fecundación.....	297
4.2.2. Cruces experimentales. Producción de frutos y semillas.....	301
4.2.3. Índice ISI de auto-incompatibilidad.....	303
4.2.4. Tasa S de autogamia.....	306
4.2.5. Sistemas de Cruzamiento y niveles de <i>inbreeding depression</i> (δ).....	308
4.3 Eficacia reproductiva en las poblaciones naturales	309
4.3.1. Éxito Reproductivo Pre-emergente (PERS). Inflorescencia.....	309
4.3.2. Producción de semillas según la longitud de las valvas: <i>ratio</i> S/O	312
4.3.3. Éxito reproductivo pre-emergente (PERS) de <i>P. glabriuscula</i> . Nivel individuo..	314
4.3.4. Medidas cualitativas de fecundidad. Peso de las semillas.....	314
4.3.5. Éxito Reproductivo Post-emergente (PoERS).....	315
4.3.6. Eficacia reproductiva global (ORS) y pérdida de vigor (<i>inbreeding depression</i>)	320
4.4. Sistemas de cruzamiento y eficacia reproductiva análisis de correlación	321
4.4.1. Correlación entre los recursos del androceo y gineceo y caracteres florales....	321
4.4.2. Correlación de las variables implicadas en los sistemas de cruzamiento y eficacia reproductiva	323
4.4.3. Correlaciones de la eficacia reproductiva.....	326
5. Discusión y conclusiones	331
1. Sistemas de cruzamiento. Autogamia y xenogamia	331
<i>Parolinia</i> . Niveles de xenogamia y <i>ratio</i> Polen/Óvulo. Tendencias evolutivas	331
<i>Parolinia</i> . Auto-incompatibilidad y tasas de xenogamia	333

<i>Parolinia</i> . Apomixia y agamospermia.....	337
2. Eficacia reproductiva de las poblaciones naturales.....	337
<i>Parolinia</i> . Éxito Reproductivo Pre-emergente y sistemas de cruzamiento.....	337
<i>Parolinia</i> . Éxito Reproductivo Post-emergente y sistemas de cruzamiento.....	338
Sistemas de Cruzamiento y eficacia reproductiva. <i>Inbreeding depression</i>	339
Auto-incompatibilidad, cuello de botella y reducción del éxito reproductivo.....	340

CAPÍTULO III. DIVERSIDAD GENÉTICA Y ESTRUCTURA DE LAS POBLACIONES NATURALES

1. Biología y genética de poblaciones.....	345
1.1. Genética y talla efectiva de las poblaciones.....	346
1.1.1. Talla efectiva de las poblaciones naturales (N_e).....	346
1.1.2. Fluctuaciones de las poblaciones naturales. Causas intrínsecas.....	347
1.1.3. Fluctuaciones de las poblaciones naturales. Causas extrínsecas.....	349
1.2. La diversidad genética y electroforesis de isoenzimas.....	353
1.2.1. Antecedentes en Brassicaceae.....	356
2. Objetivos.....	357
3. Material y métodos.....	359
3.1. Muestreo y almacenamiento de material.....	359
3.2. Descripción de la técnica de electroforesis de isoenzimas.....	360
3.2.1. Fundamento y desarrollo de la técnica.....	360
3.3. Interpretación de las isoenzimas.....	362
3.4. Parámetros de variabilidad genética.....	362
3.5. Mantenimiento y desviación de parámetros genéticos en las poblaciones naturales.....	364
3.5.1. Test de cuello de botella o exceso de heterocigotos.....	364
3.5.2. Test de Neutralidad de Ewens-Watterson.....	364
3.5.3. Probabilidad de pérdida de alelos.....	364
3.5.4. Análisis de autocorrelación espacial.....	365
3.6. Estructura de las poblaciones.....	366
3.6.1. Índice de Fijación (F_{IS}) o coeficiente de <i>inbreeding</i> y tasa de alogamia (t).....	366
3.6.2. <i>Inbreeding depression</i> (δ) o pérdida de vigor por endogamia.....	366
3.6.3. Tamaño efectivo de la población (N_e).....	367
3.6.4. Desviación del equilibrio Hardy-Weinberg. Test de la Chi-cuadrado.....	367
3.6.5. Estructura genética. Flujo génico (Nm).....	367
3.7. Distancia genética entre poblaciones.....	369
3.7.1. Relaciones de identidad y distancia genética. Taxonomía numérica.....	369
3.7.2. Test de Mantel.....	370
3.7.3. Tasas de mutación y tiempo de divergencia entre poblaciones y especies.....	370
3.8. Análisis de correlación entre la diversidad genética y sistemas de cruzamiento.....	371
3.8.1. Correlaciones entre la diversidad genética y parámetros asociados a los sistemas de cruzamiento y eficacia reproductiva de las poblaciones naturales.....	371
3.8.2. Correlación de los indicadores de diversidad genética y parámetros asociados a los sistemas de cruzamiento, cromosomas y talla poblacional en la familia Brassicaceae.....	371
4. Resultados.....	373
4.1. Interpretación de isoenzimas. Bandas múltiples.....	373
4.1.1. Duplicaciones. Evidencias indirectas: bandas múltiples, número de <i>loci</i> , número de alelos e intensidad de bandas.....	373
4.1.2. Interpretación asumida. Enzimas monómeras y dímeras.....	376
4.1.3. Enzimas monómeras y dímeras estudiadas e interpretación.....	377
4.2. Parámetros de variabilidad genética.....	386
4.2.1. <i>Loc</i> i interpretados y parámetros cualitativos.....	386
4.2.2. Indicadores básicos de variabilidad genética en las poblaciones y especies.....	393
4.3. Mantenimiento de la diversidad genética.....	396
4.3.1. Test de cuello de botella o exceso de heterocigotos.....	396
4.3.2. Test de Neutralidad y selección natural.....	398
4.3.4. Autocorrelación espacial.....	398
4.4. Estructura de las poblaciones.....	400
4.4.1. Coeficiente de autogamia o índice de fijación F_{IS} y tasa de alogamia (t).....	400

4.4.2. Desviación del equilibrio Hardy-Weinberg. Test de Chi-cuadrado χ^2	401
4.4.3. Estructura genética (G_{ST} y F_{ST}) y flujo génico (N_m) de poblaciones y taxones ..	403
4.5. Diversidad y estructura genética. Aplicaciones a la conservación	406
4.5.1. Pérdida de alelos por muestreo.....	406
4.5.2. Estructura genética (G_{ST}) y aplicaciones a la conservación.....	408
4.6. Identidad y distancia genética entre poblaciones (Nei, 1972).....	408
4.6.1. Distancia genética (D_{NEI}) y geográfica.....	408
4.6.2. Distancia genética y tiempo de divergencia	417
4.7. Diversidad genética. estructura y distancia geográfica.....	418
4.7.1. Distancia genética y distancias geográficas. Flujo génico y alelos compartidos	418
4.8. Diversidad genética y sistemas de cruzamiento. Correlaciones.....	420
4.8.1. <i>Parolinia</i> . Parámetros genéticos, sistemas de cruzamiento y eficacia reproductiva	420
4.8.2. Brassicaceae. Correlaciones y análisis de varianza de la diversidad genética y parámetros asociados a los sistemas de cruzamiento (SSI).	422
5. Discusión y conclusiones	425
1. Duplicaciones genéticas.....	425
2. Diversidad genética y sistemas de cruzamiento. Adscripción filogenética	426
<i>Parolinia</i> . Relaciones de la diversidad genética, sistemas de cruzamiento (SSI) y talla poblacional.....	427
Brassicaceae. Relaciones de la diversidad genética, sistemas de cruzamiento (SSI), cromosomas, talla poblacional y rango geográfico	428
Taxones de otras familias presentes en Canarias y otras islas oceánicas.....	431
3. estructura genética (G_{ST}), mantenimiento y evolución de las poblaciones naturales de <i>Parolinia</i>	432
Desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg. Causas intrínsecas	432
Desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg. Causas extrínsecas	434
4. <i>Parolinia</i> . diversidad genética y filogenia molecular	437
Relaciones de similitud, distancia genética, taxonomía numérica y árboles.....	438
Neighbour Joining.....	438
Diversidad genética y filogenia molecular de <i>Parolinia</i>	439
5. Diversidad y estructura genética. aplicaciones a la conservación	441
Probabilidad de pérdida de alelos raros y muestreo	441
Estructura genética y muestreo	441

CAPÍTULO IV. DIVERSIDAD MORFOLÓGICA-REPRODUCTIVA. MICRO-MARCADORES

1. Biodiversidad, sistemática y morfometrías	445
1.1. Biodiversidad. nuevo enfoque de la sistemática	445
1.2. Morfometrías y Sistemática vegetal	446
1.2.1. Morfometrías tradicionales y morfometrías geométricas	447
1.3. Morfometrías. antecedentes en Brassicaceae.....	449
1.3.1. Caracteres diagnósticos en otros taxones de Brassicaceae.....	449
1.3.2. Tendencias evolutivas de la flor y fruto	451
1.3.3. Taxonomía Numérica	452
1.3. 4. Palinología en la familia Brassicaceae.....	452
1.3.5. Cromosomas y nivel de ploidía en Brassicaceae.....	453
2. Objetivos	454
3. Material y métodos.....	456
3.1. Material recolectado	456
3.1.1. Diseño y configuración de los muestreos.....	456
3.2. Almacenamiento de material, tratamientos y técnicas de pre-observación y pre-selección de caracteres.....	457
3.2.1. Caracteres vegetativos.....	458
3.2.2. Caracteres reproductivos. Inflorescencia y flor	459
3.2.3. Caracteres microscópicos del androceo y gineceo. Papilas estigmáticas y Polen	461
3.2.4. Caracteres reproductivos. Infrutescencia, frutos y semillas	466
3.2.5. Citogenética. Mitosis: número de cromosomas y cariotipos	468
3.3. Definición y codificación de los caracteres.....	469

3.3.1. Caracteres vegetativos.	469
3.3.2. Caracteres reproductivos de la flor.	470
3.3.3. Caracteres reproductivos de las infrutescencias, frutos y semillas.	474
3.3.4. Caracteres microscópicos. Papilas estigmáticas y recursos del androceo y gineceo.....	477
3.3.5. Palinología. Caracteres Polínicos.....	479
3.3.6. Citogenética. Mitosis: número de cromosomas y cariotipos.....	479
3.4. Obtención de datos, biometrías y morfometrías.....	480
3.4.1. Macro y Micro-morfología y análisis de imagen.....	480
3.4.2. Palinología. Caracteres Polínicos.....	480
3.4.3. Citogenética. Número de cromosomas y elaboración de cariotipos.....	481
3.5. Ordenación y tratamiento de los datos obtenidos. conformación y configuración de matrices.....	482
3.5.1. Valoración de los datos y configuración de matrices. Primeros análisis.....	482
3.5.2. Relaciones entre grupos de caracteres o variables. Análisis de correlación.....	485
3.6. Análisis multivariante. sistemática y taxonomía numérica.....	486
3.6.1. Estadística multivariante, taxonomía numérica.....	486
3.6.2. Relaciones de similitud y técnicas de agrupación: Fenogramas y MST.....	487
3.6.3. Relaciones de similitud y técnicas de ordenación.....	487
3.6.4. Relaciones filogenéticas preliminares de los taxones y poblaciones. Método Neighbor-Joining.....	490
3.6.5. Comparación de matrices o niveles estructurales de las poblaciones naturales.....	490
3.6.6. Taxonomía numérica, congruencia taxonómica y niveles estructurales.....	491
3.6.7. Tiempos de divergencia. Relaciones teóricas entre la distancia genética, distancia taxonómica y el tiempo evolutivo de ambas.....	492
4. Resultados.....	494
4.1. Análisis de caracteres morfológicos y correlaciones.....	494
4.1.1. Pruebas de ajuste y análisis de varianza.....	494
4.1.2. Correlaciones de la biodiversidad macro y micro-morfológica.....	495
4.2. Taxonomía numérica y macro-caracteres.....	502
4.2.1. Macro-caracteres. Análisis discriminante (137 y 136).....	502
4.2.2. Nivel poblacional (16 y 14 UTOs). Análisis multivariante (137 y 136).....	508
4.2.3. Depuración de macro-caracteres. Análisis Discriminante (126 y 125).....	515
4.2.4. Nivel poblacional (16 y 14 UTOs). Análisis multivariante (126 y 125).....	517
4.2.5. Depuración de macro-caracteres. Análisis Discriminante (120 y 119).....	517
4.2.6. Nivel poblacional (16 y 14 UTOs). Análisis multivariante (120 y 119).....	521
4.3. Taxonomía numérica con macro & microcaracteres.....	530
4.3.1. Nivel poblacional. Macro-Micro-caracteres. Análisis multivariante (155).....	530
4.3.2. Nivel poblacional. Macro-Micro-caracteres. Análisis multivariante (144).....	535
4.3.3. Macro y micro-caracteres. Análisis Discriminante (152 y 151).....	537
4.3.4. Nivel poblacional. Macro-Micro-caracteres. Análisis multivariante (152 y 151).....	542
4.3.5. Macro y micro-caracteres. Análisis Discriminante (141 y 140).....	549
4.3.6. Nivel poblacional. Macro-Micro-caracteres. Análisis multivariante (141 y 140).....	549
4.3.7. Depuración de macro y micro-caracteres. Análisis Discriminante (138 y 137).....	550
4.3.8. Nivel poblacional. Macro-Micro-caracteres. Análisis multivariante (138 y 137).....	551
4.3.9. Depuración de macro y micro-caracteres. Análisis Discriminante (135 y 134).....	551
4.3.10. Nivel poblacional. Macro-Micro-caracteres. Análisis multivariante (135 y 134).....	557
4.3.11. Depuración de macro y micro-caracteres. Análisis Discriminante (132 y 131).....	563
4.3.11. Nivel poblacional. Macro-Micro-caracteres. Análisis multivariante (132 y 131).....	563
4.3.12. Correlaciones y Depuración de caracteres. Análisis Discriminantes (125 y 124).....	564
4.3.13. Nivel poblacional. Macro-Micro-caracteres. Análisis multivariante (125 y 124).....	569
4.3.14. Correlaciones y Depuración de caracteres. Análisis Discriminante (111 y 110).....	575
4.3.10. Nivel poblacional. Macro-Micro-caracteres. Análisis multivariante (111 y 110).....	576
5. Congruencia taxonómica. Similitud y diversidad morfológica.....	576
5.1. Congruencia taxonómica y taxonomía numérica.....	576
5.1.1. Taxones y macro-caracteres. Análisis discriminante y multivariante.....	577
5.1.2. Taxones y macro & micro-caracteres. Análisis discriminante y multivariante.....	578
5.1.3. Análisis de caracteres. Factores y modelos (AD).....	581
5.1.4. Análisis de caracteres y factores. Valor diagnóstico.....	585

5.1.5. Discriminación y relaciones de los taxones. Caracteres implicados	593
5.2. Congruencia taxonómica y distorsiones (MST)	595
5.2.1. Taxonomía Numérica, macro-caracteres y MST	597
5.2.2. Taxonomía Numérica, macro y micro-caracteres y MST	598
5.3. Inferencias filogenéticas. Neighbor-joining.....	601
5.3.1. Árboles <i>Neighbor-Joining</i> con macro y micro caracteres (155 y 152)	602
5.3.2. Árboles <i>Neighbor-Joining</i> con macro y micro caracteres (144 y 135)	602
5.3.3. <i>Neighbor-Joining</i> con macro y micro caracteres (125).....	603
5.4. Diversidad morfológica. correlaciones	604
5.4.1. Correlaciones de la biodiversidad morfológica y sistemas de cruzamiento	604
5.4.2. Correlaciones entre la diversidad morfológica y diversidad genética	607
6. Citogenética. diversidad cromosómica	609
6.1. Diversidad cromosómica y taxones.....	609
6.1.1. Cariotipos, idiogramas y mixoploidía	609
6.1.2. Relaciones de similitud (UPGMA)	613
7. Palinología. Poblaciones y taxones	614
7.1. Tipos polínicos. Poblaciones y taxones	614
7.1.1. Tipo polínico normal 3-colpado longiaxo	614
7.1.2. Polimorfismos polínicos. Descripción y presencia en otros grupos	614
7.1.3. Tetradas y Microsporogénesis. Tipo 3-colpado normal y polimorfismos	619
7.1.4. Polimorfismos y series polínicas.....	619
8. Discusión y conclusiones	628
1. Análisis de caracteres morfológicos. Relaciones y tendencias.....	628
Asociaciones entre las flores frutos y semillas de <i>Parolinia</i> y sistemas de cruzamiento	628
Relaciones de la diversidad morfológica de frutos y semillas, eficacia reproductiva, sistemas de cruzamiento y pérdida de vigor	631
Relaciones entre los caracteres morfológicos, genéticos y sistemas de cruzamiento	633
2. Taxones y relaciones de similitud	634
Caracterización de taxones y relaciones de similitud morfológica	635
Taxones. Diversidad genética y morfológica en <i>Parolinia</i>	637
3. Diversidad cromosómica y taxones.....	638
4. Palinología. poblaciones y taxones	639
Polimorfismos polínicos, significado biológico y duplicaciones genéticas	640
Polimorfismos polínicos, filogenia y diversificación en angiospermas	641
V. CONCLUSIONES	679
1. Fenología estacional y floral.....	679
Fenología estacional o ciclo vital	679
Fenología floral o desarrollo de la flor y fructificación	679
2. Sistemas de cruzamiento y eficacia reproductiva	681
Atributos y recursos florales, tasas de alogamia y niveles de auto-incompatibilidad... ..	682
Sistemas de cruzamiento, eficacia reproductiva y pérdida de vigor en las poblaciones naturales	682
3. Diversidad genética, sistemas de cruzamiento y estructura de las poblaciones naturales	683
Diversidad genética y sistemas de cruzamiento	683
Diversidad y estructura genética (G_{ST}), flujo génico (Nm) y relaciones taxonómicas. Factores abióticos implicados en el mantenimiento y evolución de las poblaciones... ..	684
4. Diversidad morfológico-reproductiva. micro-marcadores de biodiversidad	686
Caracterización de taxones y relaciones de similitud morfológica	688
Taxones. Diversidad morfológica y genética en <i>Parolinia</i>	691
Diversidad cromosómica y taxones	693
Palinología. Poblaciones y taxones.....	693
Investigación futura y conservación.....	696
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	699

Introducción al estudio de *Parolinia*



Antecedentes Especies y Poblaciones Naturales Biodiversidad y Biología de Poblaciones



INTRODUCCIÓN AL ESTUDIO DE PAROLINIA

Parolinia, género exclusivo de Canarias (Brassicaceae) situado durante mucho tiempo en la tribu Matthioleae (SCHULZ, 1936), ha sido recientemente ubicado en la tribu Euclidieae II junto con otros géneros relacionados, según estudios moleculares de ADN-ITS (WARWICK *et al.*, 2007).

Está formado actualmente por 7 especies, cuatro de ellas en la isla de Gran Canaria (*P. ornata* Webb, *P. platypetala* Kunkel, *P. filifolia* Kunkel y *P. glabriuscula* Montelongo & Bramwell) y las tres restantes en las islas occidentales de Tenerife (*P. intermedia* Svent & Bramwell), La Gomera (*P. schizogynoides* Svent) y La Palma (*P. aridanae* Santos *nomen nudum*). De acuerdo con las listas rojas de especies amenazadas, todas excepto *P. ornata*, están catalogadas de alguna manera en peligro (BRAMWELL & RODRIGO, 1984; GÓMEZ CAMPO *et al.*, 1996; WALTER & GILLET, 1998; BELTRAN *et al.*, 1999; VVAA, 2000; BAÑARES *et al.*, 2003).

Presumiblemente diploide con $2n=22$ se caracteriza por su hábito leñoso y aparente uniformidad tanto en sus caracteres vegetativos como reproductivos, con síndromes de polinización aparentemente uniformes (BORGÉN, 1969; BRAMWELL *et al.*, 1972a; FEBLES, 1989). En principio, constituye un ejemplo donde ha primado la diversificación de los caracteres reproductivos (flor, frutos, semillas, etc.) sobre los vegetativos (hábito, hojas, tricomas, etc.).

Su distribución en las islas es fundamentalmente restringida, ocupando siempre el mismo tipo de hábitat en laderas secas y soleadas del piso basal con ligeras variantes (BRAMWELL, 1970) y supuestamente con las mismas o similares presiones de selección, al tratarse de taxones con situaciones ecológicas similares aislados por barreras geográficas.

El género *Parolinia* se ha considerado tradicionalmente como un ejemplo de diversificación por vicarianza (BRAMWELL, 1972a) entendida actualmente como producto de la interacción entre procesos de deriva genética y presiones ambientales similares de “estasis ecológico”, proporcionando un modelo para evaluar este tipo de diversificación. Según algunos autores la *similitud fenotípica* y *funcional* de la biodiversidad entre especies estrechamente relacionadas, se puede producir porque un ancestro común, ante *nichos ecológicos* similares, da lugar a fenotipos también similares (BARRETT *et al.*, 1997). El *estasis ambiental* provoca una selección estabilizadora equivalente, donde los fenotipos permanecen sin cambios o con evolución paralela, y las especies resultantes mantienen su parecido (BARRETT *et al.*, 1997).

Hasta el momento en que se iniciaron los estudios en el género *Parolinia*, no se tenía información alguna de los niveles de variabilidad micro-morfológico-reproductiva, diversidad genética y sistemas de cruzamiento en ninguna de las especies (PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2002; FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 2002a, b, 2004, 2005a, b, 2007 y 2008). Como en la mayoría de los endemismos canarios y macaronésicos, apenas existe información a nivel poblacional, de las peculiaridades del ciclo vital y fenología floral, longevidad de la flor, sistemas de auto-incompatibilidad, sistemas de cruzamiento y eficacia reproductiva, cuestiones básicas para la detección de posibles problemas de erosión micro-morfológica-reproductiva en sus poblaciones naturales e imprescindibles para el diseño de estrategias eficaces de conservación y gestión, de los endemismos en peligro.

La sorprendente y apabullante diversidad genética de *Parolinia* detectada por isoenzimas (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 2004 y 2007) puede estar relacionada al sistema de auto-incompatibilidad homomórfica de la familia que, al mismo tiempo que provoca limitaciones entre los apareamientos de los individuos de una población, está favoreciendo su biodiversidad.

Este estudio que comprende 17 poblaciones naturales de las 7 especies que constituyen actualmente el género, se enmarca bajo una perspectiva multidisciplinaria con análisis de su biodiversidad y estructuración tanto *genética* como *micro-morfológico-reproductiva*, asumiendo como hipótesis y premisa fundamental, que la *adscripción filogenética* y la historia evolutiva de los grupos vegetales está determinando los niveles de biodiversidad y sistemas de cruzamiento (WEBB, 1984; KARRON, 1987; GITZENDANNER & SOLTIS, 2000).

Se asume por tanto, que los caracteres florales y reproductivos controlan el flujo génico (polínico o de semillas) y apareamientos entre los individuos de las poblaciones naturales, siendo los responsables decisivos del éxito reproductivo y niveles de diversidad en su descendencia.

Esta es la razón que justifica que para el conocimiento real de la biodiversidad a niveles infra-genéricos se consideren indispensables estudios comparativos de especies congéneres de distinto rango de distribución, que al mismo tiempo constituye el fundamento básico para la conservación y estrategias de recuperación en aquellas especies con problemas de erosión.

Siguiendo estos criterios se asume que para la correcta interpretación y valoración de la biodiversidad de una determinada especie existen varios factores cuyo conocimiento e incidencia es esencial, sobre todo si se consideran sus aplicaciones a la conservación (RICHARDS, 1986 y 1997; AVISE & HAMRICK, 1996; HAMRICK & GODT, 1996; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BARRETT *et al.*, 1997; BRIGGS & WALTERS, 1997; GIVNISH, 1997 y 1998; BARRETT, 1998a; GRANT, 1998; GODT & HAMRICK, 1999; GITZENDANNER & SOLTIS, 2000; CRAWFORD *et al.*, 2001; ANDERSON *et al.*, 2002; PÉREZ DE PAZ, 2002; PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007a):

1. La *adscripción filogenética*, principalmente referida a categorías taxonómicas de familias y géneros porque condiciona y está íntimamente relacionada con la historia evolutiva de los taxones y de sus sistemas de cruzamiento (sistemas sexuales: hermafroditismo, dioecia, monoecia y/o sistemas de auto-incompatibilidad) de manera que el conocimiento de la biodiversidad de una determinada especie, requiere la confrontación con taxones del mismo grupo mediante la valoración de:

- Los *sistemas de reproducción y de cruzamiento* que determinan la configuración genética de la descendencia según presencia de reproducción vegetativa (*apomixia*) y/o reproducción sexual con apareamiento de individuos (*mating systems*) controlados por los sistemas sexuales y mecanismos de auto-incompatibilidad de los taxones en cuestión (RICHARDS, 1986 y 1997; AVISE & HAMRICK, 1996; HAMRICK & GODT, 1996; ANDERSON *et al.*, 2001 y 2002).

En Brassicaceae, el *sistema de auto-incompatibilidad esporofítico homomórfico* (SSI) cuyo control genético desde el esporofito diploide se debe generalmente a un *locus* de múltiples alelos, se considera el más eficaz y exigente de los sistemas toda vez que el rechazo del auto-polen (que comparte los mismos alelos S del gineceo) tiene lugar ya en el estigma impidiendo la formación de tubos polínicos. Al mismo tiempo, se considera el más flexible de los sistemas de auto-incompatibilidad, donde la posibilidad de un mayor número de alelos S en poblaciones grandes, puede permitir un mayor número de cruzamientos fértiles (GIBBS, 1986 y 1988; RICHARDS, 1986 y 1997; BARRETT, 1988; BYERS & MEAGHER, 1992; LEACH & MAYO, 2005).

- El *número cromosómico y nivel de ploidía*: directamente relacionado con la historia evolutiva de los taxones puede repercutir tanto en la reproducción asexual como sexual. Siguiendo a RICHARDS (1997) que asume un sólo *locus* heterocigoto por cromosoma homólogo ignorando la variabilidad por recombinación: el número mínimo potencial de

gametos y *cigotos* diferentes generados por un parental diploide sería igual a 2^n y $(2^n)^2$, respectivamente, siendo n el número haploide de cromosomas. *Parolinia* con $2n=22$ puede generar como mínimo 2.048 gametos y consecuentemente 4.194.304 cigotos diferentes (PÉREZ DE PAZ, 2002; PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007a).

2. Otros factores extrínsecos a los grupos vegetales, como la *talla poblacional* y rango de distribución geográfica, suelen estar supeditados a la filogenia (KARRON, 1987; GITZEDANNER & SOLTIS, 2000) influyendo principalmente a niveles infragenéricos donde la diversidad de las especies suele depender de los sistemas de reproducción y después de la talla poblacional y rango geográfico. Es desde esta perspectiva donde únicamente se deba considerar válida su confrontación y desde donde tenga sentido que un mayor número de individuos, según talla poblacional o rango geográfico, genere mayor variabilidad y biodiversidad.

La INVESTIGACIÓN de esta Memoria Doctoral viene JUSTIFICADA en base a un doble objetivo:

i) Obtener la mayor información o conocimiento de la BIODIVERSIDAD del género endémico *Parolinia* y del estado actual de las POBLACIONES NATURALES de sus especies, tanto desde la perspectiva genética (isoenzimas) como morfológico-reproductiva (macro y micro-morfológica) aportando información acerca de la estructura y dinámica de las poblaciones, permitiendo además establecer directrices para que las estrategias de conservación de las especies amenazadas sean verdaderamente efectivas y adecuadas.

ii) Contribuir al conocimiento de la BIODIVERSIDAD de los *endemismos canarios* tanto en lo que se refiere a estudios *taxonómicos* y *sistemáticos* dirigidos al conocimiento y relaciones con otras Floras (de su origen) y de su evolución una vez que colonizaron las islas.

Con este estudio *multidisciplinar* de *biodiversidad poblacional* (macro y micro-morfológico-reproductiva y genética) bajo la perspectiva de la Biología de la Conservación, se contribuye además a las colecciones de herbarios, planta viva y bases de datos, destinados a la investigación botánica y conservación de la Flora Canaria.



1. PAROLINIA. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

El presente estudio, se centra en las 7 especies del género *Parolinia* Webb, una de ellas no descrita (*P. aridanae* Santos *nomen nudum*) adoptando el sistema de clasificación tribal de SCHULZ (1936) el más utilizado hasta la actualidad pero que puede ser sustituido en un futuro próximo por el de AL-SHEBBAZ *et al.* (2006) y WARWICK *et al.* (2007) cuyo fundamento se basa tanto en filogenias moleculares como en filogenias morfológicas.

Antes de introducirnos en el género *Parolinia* vamos a situarlo en la familia Brassicaceae, integrada por unos 350 géneros y 3500 especies que se distribuyen en todos los continentes excepto en el Antártico, principalmente en las regiones templadas del hemisferio Norte y más especialmente en los países de la cuenca Mediterránea, centro y SO de Asia.

En los trópicos la distribución no es homogénea y está limitada a las regiones montañosas y alpinas (HEYWODD *et al.*, 2007). Los centros más importantes de diversificación se encuentran en la región Irano-Turaniana (150 géneros y 900 especies con 530 endemismos) y región Mediterránea (113 géneros, 650 especies con 290 endemismos). América del Norte (99 géneros y 778 especies con 600 endemismos) y la región Saharo-Síndica (65 géneros y 180 especies con 62 endemismos) muestran una reducción significativa en la diversidad de especies (HEDGE, 1976; APPEL & AL-SHEHBAZ, 2003; HEYWODD *et al.* 2007) seguida por América del Sur con 40 géneros y 340 especies.

La familia está más escasamente representada en el hemisferio Sur, con géneros como *Draba*, *Lepidium* y *Cardamine* algunos de ellos incluso endémicos de estas regiones. En África del Sur se han contabilizado unos 15 géneros y por los menos 100 especies y en Australia y Nueva Zelanda unos 19 géneros con unas 114 especies (APPEL & AL-SHEHBAZ, 2003; HEYWODD *et al.*, 2007).

Este patrón global proporciona una cierta evidencia del origen de la familia en la región Irano-Turaniana. Siguiendo las ideas básicas de HEDGE (1976) el origen de las Brassicaceae se encuentra en la zona que abarca desde el Mediterráneo hasta la región Irano-Turaniana. Esta región extraordinariamente diversa ecológicamente, tanto altitudinal como geológicamente incluye la mayoría de la diversidad taxonómica con un 62% ó 72% de los géneros, generalmente con solo tres, cinco o menos especies (KOCH & KIEFER, 2006).

1.1. BRASSICACEAE. TAXONOMIA Y RELACIONES FILOGENÉTICAS

Según CRONQUIST (1988) la familia está enmarcada dentro de la clase Dillenidae, en el orden Capparales junto con las familias Tovariaceae, Capparaceae, Moringaceae y Resedaceae, pero la filogenia molecular (STEVENS, 2001) coloca a la familia dentro de las Eudicotiledóneas centrales, concretamente en las Eu-rosidae II y en el orden Brassicales junto con las familias Capparaceae, Resedaceae, Akaniaceae, Tovariaceae y otras más.

Las Crucíferas constituyen una gran grupo extrañamente homogéneo que posee grandes dificultades para la clasificación hasta el punto que hay pocas familias en las que haya un mayor y más variado rango de caracteres taxonómicos. A pesar de su uniformidad hay un buen número de caracteres a partir de los cuales se pueden construir modelos de clasificación (tradicionalmente se han utilizado unos 20 caracteres con 6 ó más estados ampliamente distribuidos en la familia). No debiera sorprender por lo tanto, que diferentes autores hayan utilizado características diferentes. El resultado es que en esta familia hay muchos sistemas de clasificación que dependen de los caracteres utilizados (HEDGE, 1976).

1.1.1. Taxonomía y sistemática de las Brassicaceae

Aunque la familia Brassicaceae, fácilmente reconocible por su corola cruciforme, estambres tetradínamos y su característico fruto en silicua, es una de las pocas familias de plantas superiores que ha sido reconocida a través de la historia, sin embargo las relaciones intergenéricas son difíciles y se mantienen sin resolver.

1.1.1.1. Historia taxonómica y tribus de la familia. Sistemática y filogenia molecular

La gran familia de las Brassicaceae se ha dividido en diferentes tribus que han ido variando a lo largo del tiempo, existiendo hasta 7 clasificaciones diferentes (HEDGE, 1976). Según Hedge aunque la realidad de las tribus pueda ser discutible, se deben considerar como referencias útiles menos naturales de lo que generalmente se ha asumido.

El primer tratamiento completo de la familia fue hecho por De Candolle en 1821, quien basó su clasificación en algunos caracteres altamente variables como el fruto y el embrión. Posteriormente SCHULZ en 1936, considerado como el fundador de la clasificación moderna, por lo menos a nivel genérico, empleó un gran número de caracteres (caliz, pétalos, ovario, nectarios, estigma, septo, cotiledones, raíz, longitud del fruto, indumento, anteras y filamentos) para delimitar las tribus y las subtribus (HEDGE, 1976). Aunque la clasificación de Schulz ha sido modificada, continúa siendo la más utilizada en la actualidad sin embargo sus contenidos han sido invalidados y se ha demostrado recientemente que determinados caracteres morfológicos están sujetos a convergencia. Muchas de las relaciones tribales no son naturales y aunque la mayoría de las características florales conforman la misma fórmula floral básica, varios autores señalan posibles desviaciones (HALL, SYTSMA & ILTIS, 2002).

Además de las características florales y del fruto (HALL, SYTSMA & ILTIS, 2002) que situaba el origen de la familia en el Nuevo Mundo con ancestros comunes a la familia Capparaceae, hay una fuerte evidencia molecular que sostiene a la familia Brassicaceae como monofilética, hermana de Cleomaceae (Capparaceae) que se ha desarrollado en el Viejo Mundo (KOCH *et al.*, 2003; MITCHELL-OLDS *et al.*, 2005; BEILSTEIN *et al.*, 2006).

Asimismo se ha demostrado con estudios moleculares (BEILSTEIN *et al.*, 2006), que casi todas las subdivisiones de la familia son polifiléticas y artificiales, reagrupando y redistribuyendo una serie de géneros previamente clasificados por SCHULZ (1936).

1.2. SISTEMÁTICA Y RELACIONES DEL GÉNERO *PAROLINIA* WEBB

El género *Parolinia*, descrito por WEBB (1840) para la isla de Gran Canaria y considerado monotípico durante largo tiempo, fué situado en la Tribu Matthioleae (SCHULZ, 1936), Hesperideae (Prantl en DE DALLA TORRE & HARMS, 1963) aunque recientes estudios de filogenia molecular (AL-SHEHBAZ *et al.*, 2006; WARWICK *et al.*, 2007) han encuadrado al género en la Tribu Euclidieae II (Tabla 1).

La primera clasificación de la tribu Matthioleae que hizo Schulz (1936) fue en relación al estigma, separando a los géneros en dos grandes grupos: a) *estigma capitado* y b) *estigma capitado decurrente*.

a) Los géneros incluidos en el grupo con *estigma capitado* son: *Solms-Laubachia* con 9 especies se distribuye en China (número básico $x=7$ y número de cromosomas $2n=14, 28$), *Aubrieta* con 12 especies de la región mediterránea ($x=8$ y $2n=16, 32$), *Iodanthus* con una especie y *Pseudocamelina* con seis especies ($x=7$ y $2n=14$) se distribuyen ambas en la Norteamérica atlántica, *Notoceras* con una única especie en la región mediterránea ($x=11$ y

2n= 22) y *Tetracme* con 10 especies de Asia central (x= 7 y 2n= 14, 28).

b) El grupo de géneros con *stigma capitado lobulado decurrente* además de *Parolinia* exclusivo de Canarias con 7 especies (x= 11 y 2n= 22), incluye a Euclidae II con géneros como *Diceratella* con 11 especies distribuidas desde África del Este hasta Irán y *Morettia* con cuatro especies que se distribuyen desde África del Norte hasta África del Este y Arabia ambas también con número básico x= 11 y 2n= 22.

TABLA 1. CLASIFICACIÓN TRIBAL Y POSICIÓN DE PAROLINIA

Matthioleae Schulz, 1936	Hesperideae Prantl en De Dalla Torre & Harms, 1963	Euclidae Al-Shehbaz, Beilstein & Kellogg, 2006	Euclidae II Warwick et al., 2007
<i>Cithareloma</i> Bunge	<i>Cithareloma</i>	<i>Cithareloma</i>	<i>Cithareloma</i>
<i>Diceratella</i> Boiss.	<i>Diceratella</i>	<i>Diceratella</i>	<i>Diceratella</i>
<i>Morettia</i> DC.	<i>Morettia</i>	<i>Morettia</i>	<i>Morettia</i>
<i>Notoceras</i> R.Br.	<i>Notoceras</i>	<i>Notoceras</i>	<i>Notoceras</i>
<i>Parolinia</i> Webb	<i>Parolinia</i>	<i>Parolinia</i>	<i>Parolinia</i>
<i>Aubrieta</i> Adans.	<i>Eremobium</i> Boiss	<i>Eremobium</i>	<i>Eremobium</i>
<i>Tetracme</i> Bunge	<i>Malcomia</i> R.Br	<i>Malcomia</i>	<i>Malcomia</i> (EA)
<i>Solms-Laubachia</i> Muschl.	<i>Tetracme</i>	<i>Tetracme</i>	<i>Maresia</i>
<i>Lonchophora</i> Durieu	<i>Anastatica</i> (L.) L	<i>Solms-Laubachia</i>	—
<i>Matthiola</i> R.Br.	<i>Pugionium</i> Gaert	<i>Notothlaspi</i> Hook.f	—
<i>Iodanthus</i> Torrey et Gray	<i>Cryptospora</i> Kar et Kir	<i>Desideria</i> Pamp.	—
<i>Chorispora</i> R.Br. ex DC	<i>Farsetia</i> Turra	<i>Leiospora</i> (Mey) Dvorák	—
<i>Hesperidanthus</i> (Rob) Rydb	<i>Octoceras</i> Bunge	<i>Shangrilaia</i> Al-Shehbaz, Yue & Sun	—
<i>Parrya</i> R.Br.	<i>Lepidostemom</i> Hook.f & Thoms	<i>Maresia</i> Pomel	—
<i>Diptychocarpus</i> Trautv	<i>Braya</i> Sternb et Hope	<i>Neoturularia</i> Hedge & Léonard	—
<i>Pseudocamelina</i> (Boiss) Busc	<i>Euclidium</i> R.Br.	<i>Braya</i>	—
<i>Veselskya</i> Opiz.	<i>Fedtschenkoa</i> Regel	<i>Rhammatophyllum</i> Schluz	—
	<i>Leptaleum</i> DC.	<i>Cryptospora</i> Kar. & Kir.	—
—	<i>Atelanthera</i> Hook.f & Thomson	<i>Leptaleum</i>	—
—	<i>Streptoloma</i> Bunge	<i>Atelanthera</i>	—
—	—	<i>Euclidium</i> R.Br.	—
—	—	<i>Anastatica</i> L.	—
—	—	<i>Dilophia</i> Thomson	—
—	—	<i>Veselskya</i>	—

Incluye también a *Matthiola* con 48 especies y distribuida desde la región mediterránea oriental hasta Asia Central y Sudáfrica (x= 5, 6, 7, 8 y 2n= 10, 11, 12, 14, 16, 24, 26), *Veselskya* con una única especie en Afganistán, *Lonchophora* (= *Matthiola*) de África del Norte con 3 especies (n= 10), *Hesperidanthus* de la Norteamérica pacífica con 5 especies (x= 11 y n=11, 20±), *Chorispora* con 11 especies desde el Mediterráneo oriental hasta Asia Central (x= 7, 9 y 2n= 14, 18, 28), *Diptychocarpus* con una única especie en Asia Central (x= 7 y 2n= 14), *Cithareloma* con 2 especies en Turquestán, Pakistán e Irán (x=13 y 2n=26) y *Parrya* con 34 especies (x= 7 y 2n= 14, 21, 28) y amplia distribución desde Asia Central, Ártico y Norteamérica.

En Macaronesia la Tribu Matthioleae Schulz (SCHULZ, 1936) comprende los géneros *Matthiola*, *Notoceras* y *Parolinia* (Fig. 1). Los frutos de estos géneros mantienen características similares a otros miembros de la Tribu, tratándose de silicuas con o sin cuernos.

Matthiola R.Br. es un género principalmente norteafricano con alrededor de 48 taxones tanto leñosos como herbáceos, que se distribuyen a lo largo de todo el Mediterráneo (región

Irano-Turaniana, región Sáhara-Síndica, región del Norte de África) y Este de África. Es en África dónde exhibe la mayor diversidad taxonómica (especialmente en Turquía y región Irano-Turaniana) con uno de sus taxones (*M. stelligera*) en Sudáfrica (NORDENSTAM, 1980). Debido a esta discontinuidad *Matthiola* es considerado como un ejemplo de disyunción entre el Norte y Sur de África. Se muestra principalmente diploide aunque a veces puede ser tetraploide con diferentes y variados números básicos ($x = 5, 6, 7, 8$) y tipos polínicos diferentes (aperturados e inaperturados). En Macaronesia se encuentran 6 taxones del género *Matthiola* de los que sólo dos son endémicos: *M. maderensis* Lowe (exclusivo de Madeira) y *M. bolleana* Webb ex Christ. (presente únicamente en Fuerteventura y Lanzarote, las dos islas Canarias más orientales).

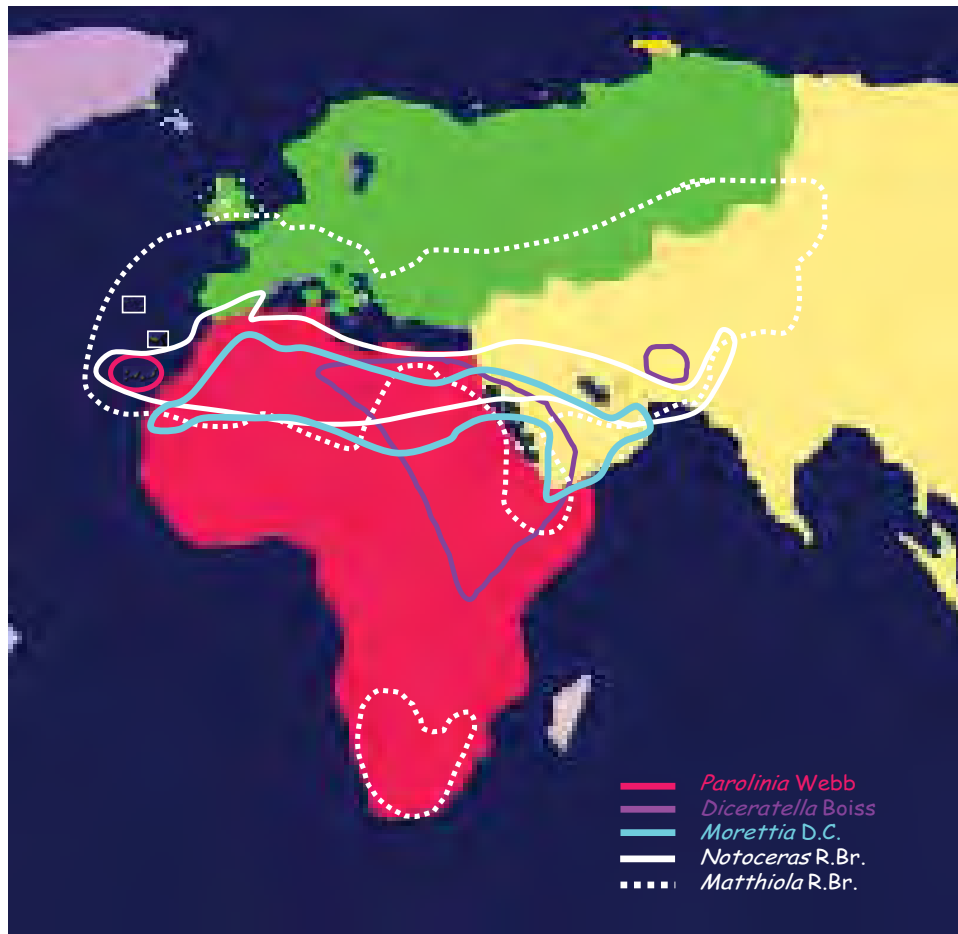


Figura 1. Biogeografía de *Parolinia*. Géneros relacionados, *Diceratella*, *Morettia*, *Notoceras* y *Matthiola* (HEDGE, 1976 modificado).

Notoceras género monotípico y herbáceo con distribución Saharo-Síndica alcanza el Mediterráneo y Macaronesia (HEDGE 1976; HANSEN & SUNDING, 1993).

Según recientes estudios morfológicos y de filogenia molecular, *Matthiola* se separa del resto de los géneros macaronésicos *Notoceras* y *Parolinia* que se sitúan en un clado independiente reconocido como tribu (Euclidieae II) junto con los géneros *Cithareloma*, *Diceratella*, *Morettia*, *Eremobium*, *Malcomia* euroasiáticas y *Maresia* (AL-SHEBAZ *et al.*, 2006; WARWICK *et al.*, 2007).

Este clado consta a su vez de dos subclados, uno africano que incluye a *Diceratella*, *Morettia* y *Parolinia*, con número básico de cromosomas común ($x = 11$) y otro euroasiático con

con número básico variable ($x= 7, 8, 10, 11, 13$ y 14) y que incluye el resto de los géneros y *Notoceras* (con distribución saharosíndica y $x= 11$). En este subclado se distinguen los géneros: *Cithareloma* con especies en Irán y Paquistán ($x= 13, 2n= 26$), *Eremobium* ($x= 8, 10, 13$) con especies en Argelia ($2n= 20$), Arabia ($2n= 26$) e Irán ($2n= 16$), *Maresia* ($2n= 28$) y por último especies euroasiáticas del género *Malcomia* ($x= 7, 8$ y 10).

Parolinia ya ha sido relacionada con estos dos géneros sáharo-síndicos, *Diceratella* y *Morettia*, con los que comparte no sólo caracteres citogenéticos ($2n= 22$) sino también palinológicos (REESE 1957; HUMPHRIES *et al.*, 1978; JONSELL, 1978 y 1979; PÉREZ DE PAZ, 1981; ARYAMAVID, 1983; BRAMWELL, 1986; FEBLES, 1989; PÉREZ DE PAZ & FERNANDEZ-PALACIOS, 2008; FERNANDEZ-PALACIOS, FEBLES & PÉREZ DE PAZ, 2008).

Diceratella es un género leñoso con distribución disyunta (Fig. 1) en el Sur de Irán (2 especies) y en las regiones áridas del NE tropical de África (6 especies), en contraste con *Morettia* (4 especies) herbáceo y de más amplia distribución (JONSELL, 1978 y 1979).

Además de la filogenia molecular de Brassicaceae de WARWICK *et al.* (2007), uno de los últimos trabajos de filogenia molecular de secuencias (*ITS1+2*) que incluye todos los taxones de *Parolinia* (JAÉN *et al.*, 2007) muestra que el árbol consenso mayoritario resultante resuelve las relaciones de *Parolinia*, señalando como géneros más cercanos a *Diceratella* (NE-África) y *Morettia* (Sáhara y Arabia). Asimismo, señala a *Parolinia* como género monofilético lo que explica su presencia en Canarias por un único evento colonizador, pero no resuelve la evolución post-colonizadora una vez que llegó a las islas.



2. FLORA CANARIA. ORIGEN Y BIOGEOGRAFÍA

Para entender mejor la Flora Canaria, es conveniente hacer algunas consideraciones acerca de su biogeografía y disyunciones florísticas a su vez directamente dependientes de su origen geológico.

Las Islas Canarias, junto con los Archipiélagos de Azores, Madeira, Salvajes y Cabo Verde (Fig. 2 y Tabla 2), constituyen un área natural donde se asientan gran número de seres vivos que presentan curiosas afinidades y que ha recibido el nombre de *Macaronesia* (SUNDING, 1979; SANTOS, 1983a), actualmente en discusión (RIVAS *et al.*, 1993; FERNÁNDEZ-PALACIOS & DIAS, 2001). Este término (que procede de los vocablos griegos makaro=feliz, nesia=islas) fue introducido por el botánico Philip-Barker Webb en el siglo pasado, coautor con Sabin Berthelot, de la *Historia Natural de las Islas Canarias*, estudio monumental en su género y que ha sido base y guía para todos los naturalistas y especialistas posteriores.



Figura 2.- Región Macaronésica. Formada por los archipiélagos de Azores, Madeira, Salvajes, Canarias y Cabo Verde.

Los Archipiélagos Macaronésicos, situados en el océano Atlántico entre los 14.8° y 39.7° de latitud Norte y los 13.4° y 30.9° de longitud Oeste, están separados de los continentes más cercanos por distancias que varían entre 96 km (en el caso de la isla de Fuerteventura respecto de la costa africana) y 1370 km (que separan Azores de Europa).

Todos tienen un origen volcánico, variando sus edades entre los 27 Ma de las Salvajes, los 20 Ma que se le atribuyen a las islas Canarias más viejas y los 8 Ma de las Azores. El archipiélago de Cabo Verde, tradicionalmente considerado como el más antiguo (rocas con 100 Ma de antigüedad y fósiles marinos en la isla de Maio) es probablemente más joven que el canario, considerándose hoy en día con una edad entre 8-10 Ma (FERNÁNDEZ-PALACIOS & DIAS, 2001). Actualmente se considera que ha habido vulcanismo subaéreo histórico en los últimos 500 años en los archipiélagos de Azores (San Miguel, Terceira, San Jorge, Pico y Faial), Canarias (Lanzarote, Tenerife y La Palma) y Cabo Verde en Fogo

(FERNÁNDEZ-PALACIOS & DIAS, 2001).

La superficie y altitud varía desde 4 km² y 154 metros de altitud en las islas Salvajes hasta los 7447 km² de superficie y 3718 m de altitud en las Islas Canarias (Tabla 2).

TABLA 2. CARACTERÍSTICAS GEOGRÁFICAS DE LOS ARCHIPIÉLAGOS MACARONÉSICOS (Fernández-Palacios & Dias, 2001)					
Archipiélago	Canarias	Madeira	Salvajes	Azores	Cabo Verde
Número de islas (> 1km ²)	11	4	2	9	13
Latitud (°N)	28-29	32-33	30	37-40	15-17
Altitud máxima (msm)	3718	1846	154	2351	2835
Área (km ²)	7447	815	4	2388	3580
Distancia al continente (km)	96	630	388	1370	570
Edad (Ma)	20.5	15	24-27	8.1	10.3

El archipiélago de Azores florísticamente posee unos 67 endemismos donde las Brassicaceae solo suponen una especie endémica para el género *Cardamine* (SILVA, *et al*, 2005). Los archipiélagos de Madeira y Salvajes, con unos 165 endemismos, poseen 12 taxones endémicos de Brassicaceae, 10 en Madeira pertenecientes a los géneros *Crambe* (1), *Erysimum* (2), *Matthiola* (1) y el género endémico *Sinapidendron* (6) y 2 taxones endémicos del género *Lobularia* en Salvajes (JARDIM & FRANCISCO, 2000). En el archipiélago de Cabo Verde, con unos 82 taxones endémicos, la familia Brassicaceae contribuye con tres géneros: *Diplotaxis* (10), *Erysimum* (1) y *Lobularia* (5) según BROCHMANN *et al.* (1997).

El conjunto de archipiélagos macaronésicos y en particular Canarias, a pesar de su proximidad al continente africano, se consideran en la actualidad como un conjunto de islas oceánicas que dado su origen volcánico y peculiares características de clima, orografía y vegetación, se mantienen aisladas y desconectadas geológica y a veces biogeográficamente de las masas continentales más cercanas. Al mismo tiempo, dichas características las asemeja y acerca a otros archipiélagos oceánicos con múltiples y variados hábitats y numerosas especies endémicas, lejanos en cuanto al espacio, tales como Hawaii, Juan Fernández, Galápagos, estas últimas cruciales y definitivas para Darwin, ante el descubrimiento y posterior identificación de formas vivas como consecuencias evolutivas relacionadas al aislamiento, presiones selectivas y diferentes hábitats (WILLIAMSON, 1981).

2.1. CANARIAS. EDAD GEOLÓGICA Y FLORA

El archipiélago canario, situado entre los 27° 38'-29° 25' de latitud N y 13° 20'-18° 9' de longitud O, está formado por 7 islas mayores: El Hierro, La Palma y La Gomera situadas al Oeste, Tenerife y Gran Canaria en una situación central y Fuerteventura y Lanzarote en el Este (Fig. 3 y Tabla 3); incluye además seis islotes: La Graciosa, Lobos, Montaña Clara, Alegranza, Roque del Este y Roque del Oeste (Fig. 3), conformando un archipiélago alargado cuyo extremo más oriental dista unos 100 km de la costa africana. En conjunto suponen una superficie de ≈ 7500 km² con actividad magmática importante.

Las características climáticas especiales de la corriente fría del Golfo, los vientos alisios, junto con la altitud y accidentada orografía, son responsables de las diferencias climáticas entre las vertientes N-NE y S-SO, responsables a su vez de la gran diversidad

microclimática que con las diferencias geológicas da lugar a una heterogeneidad de hábitats, desde acantilados costeros y zona basal hasta zonas de alta montaña y cinturón subalpino en las Islas de Tenerife y La Palma (VEGA, 1992). Esto explica la riqueza *florística* de dichas islas con una flora vascular potencial estimada en unas 1300 especies de las cuales 570 especies (735 taxones) son endémicas del archipiélago canario (incluyendo diversos taxones pendientes de publicación y revisiones recientes o propuestas taxonómicas de distintos autores). La flora endémica, caracterizada fundamentalmente por su hábito leñoso frente a sus parientes continentales supone, por tanto, aproximadamente un 40% de la flora vascular canaria, al que hay que añadir los endemismos macaronésicos y canario-africanos que elevan este porcentaje a un 50% (SANTOS-GUERRA, 2001).

En estas islas la familia Brassicaceae se encuentra representada por 8 géneros con especies endémicas, de los cuales sólo *Parolinia* es género endémico. En general, no constituyen ejemplos de gran diversificación *Brassica* (1), *Erucastrum* (2), *Erysimum* (4), *Lobularia* (2 especies y 5 subespecies), *Matthiola* (1), a excepción de *Crambe* con 13 endemismos, *Descurainia* con 7 y *Parolinia* también con 7 especies.

TABLA 3. CARACTERÍSTICAS GEOGRÁFICAS DEL ARCHIPIÉLAGO CANARIO
(Fernández-Palacios & Martín Esquivel, 2001, modificado)

Isla	Altitud máxima (msm)	Área (km ²)	Distancia continente (km)	Edad (Ma)
Lanzarote	670	807	125	15.5
Fuerteventura	807	1655	95	20.5
Gran Canaria	1948	1560	196	10-15
Tenerife	3718	2034	284	5-7.5
La Gomera	1487	370	333	8-12
La Palma	2426	708	416	1.5-2
El Hierro	1501	269	383	0.8

El género endémico *Parolinia* Webb se distribuye en cuatro de las 7 islas del archipiélago canario, cuya formación, características geológicas y climatológicas podrían ayudar a entender su diversificación en las islas razón por la que se describen a continuación:

2.1.1. Archipiélago canario. Historia geológica y vegetación

La *historia magmática* del archipiélago canario es bastante dilatada en el tiempo, comenzando las primeras manifestaciones volcánicas submarinas hace unos 35 Ma

A lo largo de este tiempo se pueden distinguir dos fases o periodos principales de construcción de cada uno de los edificios insulares: una etapa submarina o pre-insular, que conforma más del 80% del cuerpo de cada isla siendo aún insuficientemente conocida, y una etapa subaérea, mejor conocida, que constituye la supraestructura visible de cada isla.

Las unidades estructurales más antiguas son los denominados complejos *basales* que representan un conjunto de materiales formados en ambiente oceánico y sólo aflorantes actualmente en las islas de La Palma, La Gomera y Fuerteventura, mientras que en las restantes islas, se supone que constituyen su base no emergida.

La emersión de los edificios isleños se produce por un proceso de levantamiento diferencial en este sector del Atlántico de edad poco conocida. Posteriormente comienza un prolongado periodo erosivo, tras el cual se inicial los episodios subaéreos.

La naturaleza geoquímica y petrológica de los materiales volcánicos del archipiélago canario se caracteriza por presentar asociaciones magmáticas alcalinas, que se corresponden plenamente con las características de otras islas oceánicas, así como un mayor espectro composicional de rocas volcánicas.



Figura 3.- Archipiélago canario, formado por 7 islas y 6 islotes, situado a unos 96 Km del continente africano con unos 20 Ma de antigüedad.

2.1.1.1. Gran Canaria. Historia geológica

Con una superficie de unos 1560 km² es la tercera isla en extensión del archipiélago y también una de las de mayor altura, con su punto más elevado a 1948 msn en el Pico de las Nieves, situado en su zona central (Tabla 3). La isla en lo que concierne al menos a su parte subáerea, es enteramente de constitución volcánica.

2.1.1.1.1. Historia geológica

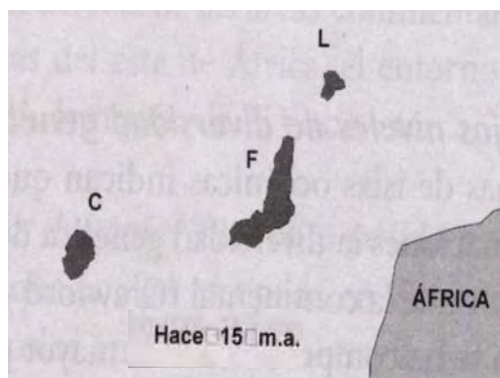
Tras su emersión que comienza hace unos 14-15 Ma, es decir en el Mioceno medio, han tenido lugar diversas etapas o fases constructivas, caracterizadas por ciclos o episodios volcánicos bien definidos que fueron edificando la isla.

Entre dichos episodios se suceden de manera repetitiva fases de erosión o destrucción de las estructuras volcánicas originadas previamente, que han ido definiendo la superficie de Gran Canaria hasta como se la conoce actualmente (Tabla 4).

Estos episodios se han englobado en tres grandes ciclos: Ciclo I o de escudo, Ciclo II o Roque Nublo, Ciclo III o Post Roque Nublo y episodios recientes (I.T.G.E., 1992; SALAS PASCUAL, 2003):

- *Ciclo I o de escudo*: constituye la fase volcánica inicial en el mioceno hace unos 14.5 Ma como muchas islas oceánicas. Durante su desarrollo extruyó un inmenso volumen de lavas que formaron la mayoría volumétrica de lo que hoy es Gran Canaria (Fig. 4) y su colapso dio lugar al inicio de la gran caldera de Tejada.

Las primeras emisiones corresponden a una serie basáltica alcalina que se va diferenciando a productos cada vez más sálicos con extrusión de lavas e ignimbritas



traquíticas y riolíticas peralcalinas. Según GRAFCAN (2008), las poblaciones naturales estudiadas (Tabla 3.1) que presentan afloramientos de este periodo son Degollada de Tasartico (PFT), Barranco de Veneguera (POVE) y Barranco de Agaete (POA).

El episodio final, hace unos 8.7 Ma, fue una vasta erupción también de lavas e ignimbritas de composición traqui-fonolítica. Las poblaciones naturales estudiadas que presentan afloramientos de este periodo son: Inagua (PFI), Barranco de Mogán (POM), Barranco de La Aldea (PFA), Barranco Los Vicentillos (POV) y Barranco de Tirajana (POS).

Se continúa con un *primer periodo erosivo* de calma sin actividad volcánica (8.7-5.3 Ma) en el que las fuerzas erosivas actuaron sobre el relieve recién creado modelando el paisaje en profundos barrancos con grandes estratos y terrazas sedimentarias en su desembocadura. Entre ellos, los más importantes y que continúan hasta hoy, son los de La Aldea, Tirajana, Arguineguín y Las Palmas (ITGE, 1992; MANGAS VIÑUELA, 1994; SALAS PASCUAL, 2003).

TABLA 4. HISTORIA GEOLÓGICA DE GRAN CANARIA			
en negrita las poblaciones estudiadas (I.T.G.E., 1992; Salas Pascual, 1994)			
FUSTER <i>et al.</i> (1968)	SCHIMINCKE (1976, 1987) LIETZ & SCHIMINCKE (1975) McDOUGALL & SCHIMINCKE (1976)	ITGE: MAGNA (1990)	
SERIE BASÁLTICA I	FASE I F. Horgazales, F. Güigüi, Degollada Tasartico, Bco. Veneguera, Bco. Agaete	F. BASÁLTICA 14.5-14.1 Ma	CICLO I 14.5-8.7 Ma
COMPLEJO TRAQUÍTICO SIENÍTICO	F. Tejada, F. Montaña del Horno, F. Mogán, Montaña de Inagua	F. TRAQUI-RIOLÍTICA 12.6-8.7 Ma	
SERIE FONOLÍTICA	F. Montaña del Horno, F. Fataga, F. Cruz Grande. Bco. La Aldea, Bco. Los Vicentillos y Bco. Tirajana	F. FONOLÍTICA 12.6- 8.7 Ma	
Periodo erosivo (8.7-5.3 Ma)			
SERIE PRE-ROQUE NUBLO	FORMACIÓN EL TABLERO	F. PRE-ROQUE NUBLO 5.3-5 Ma	CICLO II ROQUE NUBLO 4.4-3.7 Ma
	FASE II Grupo Roque Nublo	CICLO II ROQUE NUBLO 4.4-3.7 Ma	
SERIE ROQUE NUBLO	F. Listos, F. Mesa del Junquillo, Riscos de Chapín		
SERIE ORDANCHÍTICA	F. Tenteniguada		
Periodo erosivo (3.1-2.9 Ma)			
SERIE BASÁLTICA II	FASE III F. Los Llanos, F. Llanos de la Pez	CICLO III POST-ROQUE NUBLO 2.9-0.6 Ma	CICLO III POST-ROQUE NUBLO 2.9-0.6 Ma
SERIE BASÁLTICA III	F. Los Pechos, Bco. Guayadeque, Bco. Agaete, Riscos de Chapín y Bco. Tirajana		
SERIE BASÁLTICA IV	F. post-Los Llanos, La Calderilla, F. Basaníticas, Cuaternarias, Bco. Agaete y Caldera Bandama		
CICLO RECIENTE < 0.3 Ma			

- *Ciclo II o Roque Nublo*: parece ser que tiene dos periodos. Durante el primero o PRE-ROQUE NUBLO (5.3-5.0 Ma) hay emisiones puntuales de lavas basálticas, basaníticas y nefeliníticas de pequeño volumen posiblemente dispersas por toda la isla (Fig. 4).

Posteriormente (4.4-3.7 Ma) se produce la gran emisión de este ciclo desde el centro de la isla que la componen una serie continua de basanitas y tetrifitas haüynicas aunque, en sus inicios, también lavas basálticas. En este ciclo tuvieron lugar una serie de fenómenos explosivos violentos que originaron grandes coladas piroclásticas de brechas explosivas que se intercalaron con lavas y que afectaron a prácticamente toda la isla emergida entonces. Las poblaciones naturales que presentan afloramientos de este periodo son la Mesa del Junquillo (PFS), Riscos de Chapín (PFCH) y Barranco de Tirajana (POS).

A continuación se inicia otro periodo de calma volcánica (3.1-2.9 Ma) y *segundo periodo erosivo* que en el S y SO de la isla llega hasta nuestros días mientras que en el resto destaca la formación de la caldera de Tirajana cuyos materiales sedimentarios holocénicos que llegan a Fataga, Sta. Lucía, Caldera de Tenteniguada y Tejeda estarán sometidos a los efectos del ciclo III.

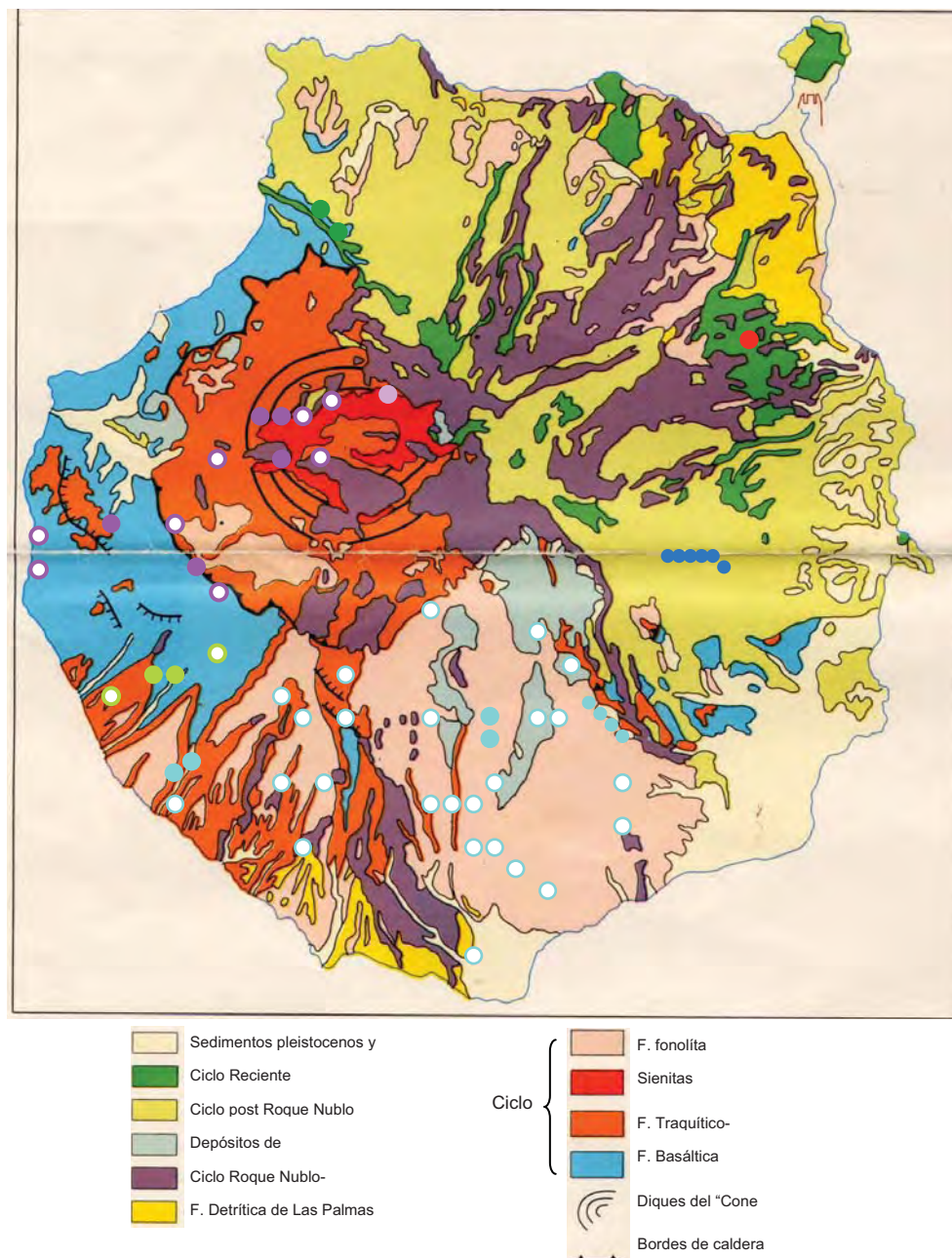


Figura 4.- Gran Canaria, esquema regional de las fases de formación de la isla (I.T.G.E., 1992; SALAS PASCUAL, 1994) con la superposición de las poblaciones naturales estudiadas de las especies de *Parolinia*.

- *Ciclo III o Post Roque Nublo*: este ciclo (2.9-0.6 Ma) marcado por emisiones más alcalinas de lavas nefeliniticas, basaníticas, basálticas y nefríticas que cubrieron las de ciclos anteriores (Fig. 4), la emisión de esta serie volumétricamente más pequeña se restringe casi exclusivamente a la mitad NE de Gran Canaria según el eje NO-SE en la que

posiblemente se vieran afectadas las poblaciones naturales estudiadas como Los Berrazales o Barranco de Agaete (POA), Barranco de Guayadeque (PPG), Barranco de Tirajana (POS) y Riscos de Chapín (PFCH).

- *Episodios Recientes*: Comienza hace unos 300 mil años (Holoceno) sin grandes lapsus con el ciclo anterior y de forma casi continua (I.T.G.E., 1992). Se localiza principalmente en el NO-SE de GC afectando a El Sao, Fagajesto, Pinos de Galdar, Los Marteles, La Lechuza, Bco. de Agaete (POA) y la Caldera de Bandama (PGB).

Aunque petroquímicamente no se diferencia del ciclo anterior, la conservación de sus conos de emisión y coladas o malpaíses, el negro de sus piroclastos (lavas mayoritariamente basáníticas) y algunas dataciones son la base para separarlos.

2.1.1.1.2. Unidades geomorfológicas de Gran Canaria: Paleotamarán (SO) y Neotamarán (NE)

Según la geología, edad y clima diferente, la isla de Gran Canaria se considera una isla madura (14-15 Ma) en la que se pueden percibir con cierta claridad dos unidades geomorfológicas distintas (Fig. 5a).

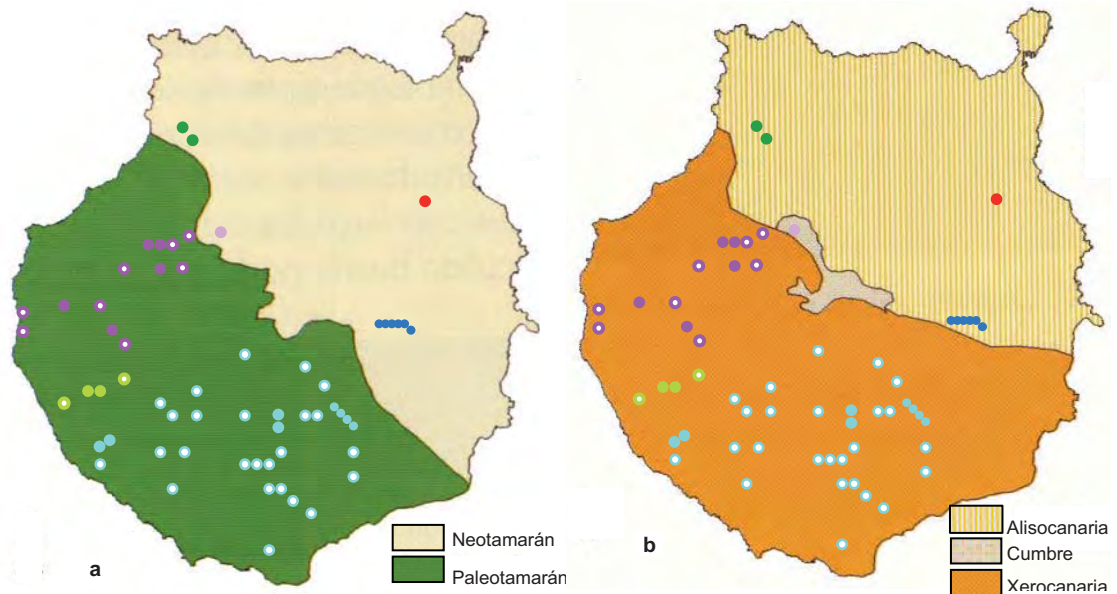


Figura 5.- Unidades geomorfológicas: Paleotamarán (SO) y Neotamarán (NE). Geología, edad y clima diferente (a). Unidades bioclimáticas (b): Xenocanaria (Paleotamarán), Cumbre y Alisocanaria o Neotamarán (SANTANA & PÉREZ CHACÓN, 1991, modificado).

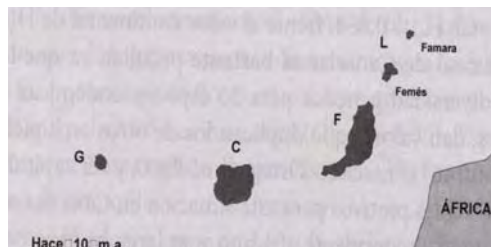
Cada unidad ocupa zonas geológicamente diferentes, climáticamente casi opuestas y de antigüedad diversa. Trazando una diagonal entre Agaete y Arinaga la isla se divide en dos mitades casi iguales: *Neotamarán*, influida por el alisio, geológicamente reciente (5 Ma) y rica en materiales basálticos, y por otro lado, *Paleotamarán* sin influencia de los alisios, geológicamente antigua (10 Ma) compuesta por materiales ácidos y básicos y modelada de abruptos relieves derivados del edificio escudo original (SALAS PASCUAL, 2003).

Coincidiendo en parte con esta división clásica se ha propuesto en Gran Canaria la existencia de tres unidades bioclimáticas (Fig. 5b): *Alisocanaria* que coincide con Neotamarán, *Cumbre*, zona entre los 1.300-1.400 msm y *Xenocanaria* equivalente a Paleotamarán (SANTANA & PÉREZ CHACÓN, 1991).

2.1.1.2. La Gomera. Historia geológica

Se considera una isla madura de unos 8-12 Ma que se construyó como un edificio volcánico en escudo de estructura cuculiforme. El paso del tiempo desde su construcción, ha ocasionado el modelado de relieves derivados, destacando la gran meseta central y una red radial de barrancos muy desarrollada (HANSEN MACHIN, 1993).

Geomorfológicamente, es un macizo antiguo de carácter volcánico, con formaciones volcánicas complejas edificadas por sucesión duradera de múltiples episodios eruptivos, sobre las que la erosión ha actuado prolongadamente. Aunque las formas volcánicas originales han sido desmanteladas, la erosión ha puesto en evidencia la importancia de las estructuras geológicas en el relieve actual (AROZENA & VILLALBA, 1993). Las figuras del texto y la Fig. 6 muestran la formación de la isla de La Gomera en relación a Gran Canaria.

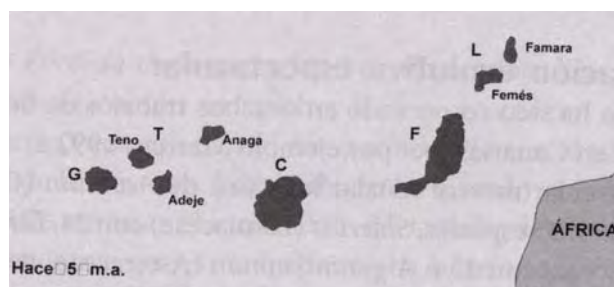


La población estudiada de *Parolinia schizogynoides* (PS) se encuentra en los basaltos antiguos del barranco de Argaga (Mioceno: 8-6 Ma).

2.1.1.3. Tenerife. Historia geológica

Es una isla joven de unos 5-7.5 Ma, que combina tres estructuras en dorsal hasta confluir formando un escudo, sobre el que a su vez, colapsa la caldera de hundimiento de Las Cañadas.

Los sectores más antiguos de la isla como Anaga y Teno, son macizos antiguos que han derivado de viejas dorsales (HANSEN, 1993). La actividad volcánica inicial, que se prolongó 3.5 Ma, se detuvo antes en Teno que en Anaga. Luego cesó la efusión de nuevos materiales y dominó la disección de estos relieves esenciales o macizos antiguos. El macizo de Adeje, de reducida entidad morfológica por su escasa envergadura original y posterior desmantelamiento, se une al dorso



meridional de Las Cañadas en un conjunto de rampas y pequeñas cadenas de volcanes (PÉREZ GONZÁLEZ, 1993). La figura del texto y Fig. 6 muestran la formación de la isla de Tenerife (Anaga, Teno y Adeje) hace unos 5 y 7.5 Ma en relación a Gran Canaria y La Gomera (CARRACEDO, 1999; MARRERO & FRANCISCO-ORTEGA, 2001a).

La población de la Punta de Teno (PIT), *locus classicus* de *Parolinia intermedia*, se encuentra en material básico reciente de la serie III (Cuaternario) hace unos 500.000 años. Esta especie se encuentra también en Adeje (Cañadas, Serie II, Cuaternario ≈ 800.000 años) y Montaña de Guaza (Serie III, Cuaternario ≈ 670.000 años).

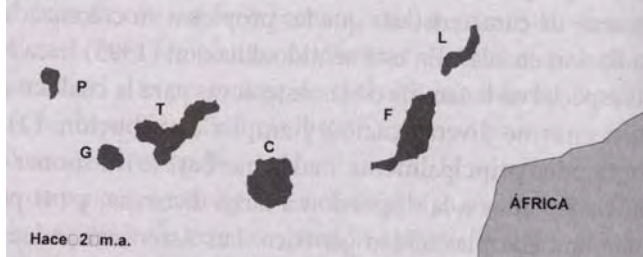
La población de la Punta de Teno (PIT), *locus classicus* de *Parolinia intermedia*, se encuentra en material básico reciente de la serie III (Cuaternario) hace unos 500.000 años. Esta especie se encuentra también en Adeje (Cañadas, Serie II, Cuaternario ≈ 800.000 años) y Montaña de Guaza (Serie III, Cuaternario ≈ 670.000 años).

2.1.1.4. La Palma. Historia geológica

Es una isla joven de 1.5-2 Ma, que presenta una morfología combinada con dos partes bien diferenciadas: la mitad Norte, más antigua, es un edificio en escudo en cuya cúpula se ha excavado la caldera erosiva de Taburiente. La mitad Sur, más joven, presenta un desarrollo longitudinal consecuencia de la construcción de un edificio tipo dorsal, de cubierta

a dos aguas (HANSEN MACHIN, 1993).

La contrastada geomorfología está estrechamente ligada a la historia volcánica de la isla y es consecuencia de las relaciones espaciales y temporales entre la actividad eruptiva y los procesos erosivos. De dicha historia resultan extensas áreas caracterizadas por la mayor importancia de uno u otro elemento, aunque hay sectores en los que el paisaje está definido por los dos tipos de procesos: volcanes y barrancos (AROZENA & GARCÍA RODRÍGUEZ, 1993). La figura del texto y Fig. 6 muestran la formación de la isla de La Palma en relación a Gran Canaria, La Gomera y Tenerife hace unos 2 Ma (CARRACEDO, 1999; MARRERO & FRANCISCO-ORTEGA, 2001a).



Parolinia aridanae (PA), *nomen nudum* se encuentra relegada a laderas xéricas del Oeste de la isla (Serie IV, Holoceno-Pleistoceno) posiblemente con menos de 600 000 años y más de 150 000 años.

2.1.1.5. Colonización de las islas

La historia de la colonización de las islas Canarias se da por iniciada desde que emergen, y su cobertura vegetal está lógicamente relacionada con la historia de la vegetación y acontecimientos climático-geológicos de las áreas más cercanas: Sur de Europa (con enfriamiento progresivo desde el Plioceno hasta las glaciaciones del Cuaternario, con fases interglaciales templado-cálidas o cálidas) y el NE de África, principalmente en el Cuaternario con períodos pluviales y fases inter-pluviales cálidas y secas.

Hasta la desecación del Sahara, las islas Canarias se habían convertido en refugio,

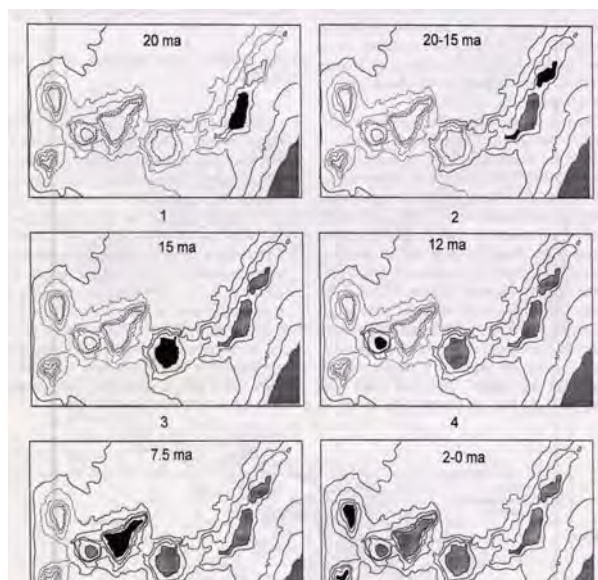


Figura 6.- Formación de las islas Canarias (CARRACEDO, 1999)

tanto para la empobrecida Flora Mediterráneo-Terciaria, como para algunos elementos africanos tropicales y subtropicales que se mantuvieron acantonados en algunas Islas Macaronésicas, donde a su vez se han encontrado algunos elementos relacionados con la Vegetación Xerofítica-Terciaria proveniente del África del Sur (MALEY, 1980; NEUMANN, 1991).

Hace 5 Ma, en África tropical y occidental, junto con la desecación del Mediterráneo, se generaliza el clima seco que sufre grandes oscilaciones hasta hace 4-3 Ma con el más amplio patrón de la vegetación del Este de África (húmedo-seco). Posteriormente

(2 Ma) los periodos secos se hacen más patentes y la primera gran glaciación del Hemisferio Norte evidencia el mayor descenso de temperaturas en África tropical. Las

grandes glaciaciones (1 Ma) generan climas secos en África tropical con periodos húmedos interglaciares, hasta hace 40 mil años que las oscilaciones climáticas templado-frías provocan la expansión de algunos bosques de montaña alternando con máximos niveles de frío y aridez en África tropical (20-15 mil años) que se vuelven más húmedos y templados en el Cuaternario (final del Pleistoceno y Holoceno) hace unos 10 mil años (Rognon & Coudé y Kingdon en MARRERO & FRANCISCO ORTEGA, 2001a).

No obstante, es preciso tener en cuenta que la edad geológica de las islas no condiciona necesariamente la antigüedad de su biota endémica, puesto que han podido servir de último refugio a especies relicticas más extensamente distribuidas (laurisilva canaria) o que habiéndose originado en islas o zonas de islas actualmente desaparecidas, pueden haber colonizado sucesivamente zonas o islas de más reciente formación, como parece ser también el caso de la biota hawaiana (FERNÁNDEZ-PALACIOS & MARTÍN ESQUIVEL, 2001).

2.2. FLORA CANARIA, BIOGEOGRAFÍA Y ORIGEN

Para conocer el origen y naturaleza de la Flora endémica, se consideran fundamentales los estudios biogeográficos acerca de las distribuciones vegetales en sus grupos taxonómicos principales, y en particular, los que presentan grandes disyunciones actuales, cuya causa principal se atribuye a la extinción de ciertos miembros del grupo actualmente discontinuo, como resultado de los cambios climáticos y geológicos en sus áreas respectivas. Cabría destacar la importancia vital de los mecanismos de dispersión a larga distancia en el proceso de colonización de las islas oceánicas. Para la Flora de Canarias se han citado como ejemplos de anemocoria la dispersión de semillas diminutas y aladas como las de *Parolinia* (BRAMWELL, 1986).

La región biogeográfica de Macaronesia, puede ser subdividida en dos subregiones con un origen parcialmente diferente de sus floras, por una parte los cuatro archipiélagos del norte y, por la otra, las islas de Cabo Verde. El grupo del norte comparte una alta proporción de especies, mientras que el archipiélago de Cabo Verde tiene un espectro biogeográfico diferente (SUNDING, 1979).

La flora actual de los Archipiélagos del norte puede dividirse en una serie de elementos florísticos (geoelementos) de los cuales la mayor proporción presenta afinidades con la flora del Mediterráneo. Existen grandes disyunciones biogeográficas con el Este y Sur de África, Este de Asia (India), Australia, Norte y Sur de América, que se han explicado como el resultado de una ruptura de áreas de distribución más amplias de floras tropicales terciarias (SANTOS, 2001) y/o dispersión a larga distancia. Se ha demostrado que una gran parte del elemento endémico macaronésico y canario constituye un relicto de la flora terciaria del Sur de Europa-Norte de África de la que se conocen fósiles Mediterráneos.

A través de los grandes cambios climáticos del último periodo terciario y cuaternario, esta flora tropical/subtropical con pocas excepciones llegó a extinguirse en Europa y áreas tropicales más al Este, sobreviviendo en refugios más favorables como Macaronesia.

Desde este punto de vista, la diversidad biológica se contempla como un hecho histórico que transcurre en tres dimensiones: forma, espacio y tiempo, en el que la diversidad sería el resultado de la historia de la vida en un área determinada, expresada en los cambios de forma, a través del espacio y del tiempo (MORRONE & CRISCI, 1992).

Si se admite que las Islas Canarias nunca estuvieron unidas al continente africano, y

que su colonización florística se debió a mecanismos de dispersión a larga distancia, es fácil entender el carácter disarmónico de esta Flora (BRAMWELL, 1986) con elementos de diversa procedencia en cuanto a las formas (diversidad), al espacio (distribución) y al tiempo (filogenia). Dichos elementos han sido analizados, en una primera época, bajo el prisma de las grandes disyunciones (BRAMWELL, 1976; SUNDING, 1979; SANTOS, 2001) entre las que se pueden distinguir las relacionadas a los cambios climáticos del Terciario y Cuaternario:

- * Macaronesia-Mediterráneo Occidental: *Echium*, *Isoplexis*, *Matthiola*, etc.
- * Macaronesia-Mediterráneo Oriental: *Echium*, *Convolvulus*, *Bosea*, *Parolinia*, etc.
- * Macaronesia-Saharo-Síndico-Este África: *Canarina*, *Androcymbium*, *Parolinia*, etc.
- * Macaronesia-Suráfrica: *Hagenia*, *Plocama*, *Phyllis*, *Androcymbium*, *Camptoloma*, *Echium-Lobostemon*, etc.

La flora canaria es por su origen y actuales relaciones de carácter mediterráneo occidental (europeo y norteafricano) aunque con un componente antiguo tropical-terciario de origen mesógeno y otro componente africano extramediterráneo. Comprende 156 familias y 758 géneros, la mayoría de los cuales presentes en la región mediterránea a excepción de algunos relictos, como *Apollonias*, *Ocotea* o *Persea*, algunas familias actualmente tropicales (Myrsinaceae, Sapotaceae o Theaceae), géneros endémicos y otros géneros de afinidad africana como *Campylanthus*, *Camptoloma*, *Canarina*, *Ceropegia*, etc (SANTOS, 2001).

2.3. ESPECIACIÓN Y EVOLUCIÓN EN MACARONESIA

La evolución en las islas se muestra en términos generales de micro-evolución, proceso centrado en la especiación o formación de especies, secciones o en ocasiones géneros (DOBZHANSKY *et al*, 1980; WILLIAMSON, 1981; MARRERO & FRANCISCO-ORTEGA, 2001b).

La especiación en islas oceánicas, no tiene evidencias de ser fundamentalmente distinta, pero sí de ser mucho más rápida que en situaciones continentales, lo que hace que su estudio sea de una gran importancia. No solo restringe el número de factores que hace que la selección no sea tan fuerte, sino que aporta otras ventajas como: el aislamiento, edades geológicas conocidas, alta concentración de endemismos en áreas reducidas, bajo índice de poblaciones y de competitividad, altos índices de supervivencia, etc. Por tales características han sido consideradas varias veces como lugares de creación de especies y auténticos *laboratorios naturales para los estudios de evolución* (WILLIS, 1970; BRAMWELL, 1975; DOBZHANSKY *et al*, 1980; CRAWFORD *et al*, 1987; etc.).

Se parte de la base que la evolución se consolida cuando los cambios producidos en las frecuencias génicas de un genotipo que dependen de fuerzas evolutivas primarias como las *mutaciones*, *flujo génico*, *selección* y *deriva genética* se hacen hereditarios (Ayala y Grant *in* JEANMONOD, 1984). Según esto, las distintas formas de evolución y modelos de especiación se contemplan como procesos genéticos que discurren condicionados de forma extrínseca, según variables geográficas y de forma intrínseca por requisitos biológicos directamente relacionados a *mecanismos reproductivos*, o debidos a la propia dinámica de la genética de poblaciones. Desde el primer momento de la colonización se ha considerado que las floras insulares inician una historia evolutiva propia, independiente de la continental, y hasta cierto punto también de la de las islas próximas. Las bases genéticas de este proceso de especiación se consideran indispensables para abordar el presente estudio, que permite

interpretar ciertas características de los organismos insulares. No todas las especies colonizadoras evolucionan de la misma manera y presentan modelos diferentes según los distintos grupos taxonómicos.

En el archipiélago canario algunos endemismos de reconocida antigüedad no se han diversificado a lo largo de la historia evolutiva o ha sucedido de forma tan lenta y sin divergencia aparente que hace patente la anagénesis reforzando la idea que el modelo de evolución anagenético es mucho más importante en islas oceánicas de lo que se creía previamente en ambientes relativamente uniformes (BRAMWELL, 1990; MARRERO, 1992a; STUESSY *et al.*, 2006). Algunos de tales endemismos considerados como paleoendemismos se suelen encontrar presentes en varias islas del Archipiélago con hábitat generalmente similar perteneciente a un determinado nivel bioclimático o piso de vegetación, citando como ejemplos algunos géneros monotípicos taxonómicamente aislados con marcada distribución disyunta tales como *Neochamaelea*, *Plocama*, *Canarina*, *Semele*, etc.

Por el contrario otros géneros que presentan una gran diversificación (cladogénesis) con un elevado número de especies e incluso secciones endémicas, han sido ejemplos clásicos de evolución cromosómica o radiación adaptativa y/o vicarianza: *Aeonium* (LEMS, 1960; MORT *et al.*, 2001 y 2002; FAIRFIELD, MORT & SANTOS GUERRA, 2004), *Argyranthemum* (HUMPHRIES, 1979; FRANCISCO-ORTEGA *et al.*, 1995, 1996, 1997a y b, 1999a y 2001), *Asteriscus*, (FRANCISCO-ORTEGA *et al.*, 1999b; GOERTZEN *et al.*, 2002), *Cheirolophus* (SUSANNA, GARNATJE & GARCÍA-JACAS, 1999), *Cistus* (GUZMÁN & VARGAS, 2005), *Convolvulus* (CARINE *et al.*, 2004; CARINE, 2005), *Crambe* (FRANCISCO-ORTEGA *et al.*, 1999b y 2002), *Descurainia* (GOODSON, SANTOS-GUERRA & JANSEN, 2006), *Echium* (LEMS & HOLZAPFEL, 1968a; BRAMWELL, 1975; ALDRIDGE, 1981; PEREZ DE PAZ, 1993, 1996 y 1998; BÖHLE *et al.*, 1994; BÖHLE, HILGER & MARTIN, 1996), *Euphorbia* (PEREZ DE PAZ & ROCA, 1978; MOLERO *et al.*, 2002; STEINMANN & PORTER, 2002), *Lotus* (ORTEGA, 1976, ALLAN *et al.*, 2004), *Micromeria* (PÉREZ DE PAZ, 1978; BRÄUCHLER *et al.*, 2005), *Sideritis* (MARRERO, 1992b; PÉREZ DE PAZ, 1992; BARBER *et al.*, 2000, 2002), *Sonchus* (ALDRIDGE, 1978; KIM *et al.*, 1996 y 1999; LEE *et al.*, 2005), *Teline* (PERCY & CRONK, 2002), etc. La radiación adaptativa y la vicarianza se diferencian en que en la radiación adaptativa, la diversificación, como consecuencia de las presiones ecológicas diferentes, es un proceso positivo donde la respuesta genética al estímulo ambiental es el factor principal.

En cambio, la vicarianza (BRAMWELL, 1972) que es la evolución divergente en la que el aislamiento geográfico ha sido un factor muy importante, es quizás un proceso más pasivo donde la interacción entre la deriva genética produce el establecimiento de caracteres distintivos en las poblaciones que ocupan hábitats ecológicos similares.

Actualmente se entiende como la posible interacción entre la deriva genética y/o procesos selectivos de respuesta a presiones ambientales similares de estasis ecológico. Según algunos autores la similitud fenotípica y funcional de la BIODIVERSIDAD entre especies estrechamente relacionadas se puede producir porque un ancestro común transmite fenotipos similares ante nichos ecológicos también similares (BARRETT, HARDER & WORLEY, 1997). La similitud de nichos suele producir una selección similar, de manera que las especies continúan pareciéndose porque el estasis ambiental provoca una selección estabilizadora equivalente, donde los fenotipos permanecen sin cambios o con evolución paralela. No obstante la similitud morfológica entre las especies puede permanecer en el tiempo si los caracteres resisten a la selección, aunque ocupen ambientes diferentes (inercia filogenética). Entre las islas de un archipiélago como el canario con zonas

de condiciones ecológicas parecidas y vegetación similar, se espera un alto grado de evolución vicariante (BRAMWELL, 1972; MARRERO, 1992a) proporcionando el género *Parolinia* un modelo adecuado para evaluar este tipo de diversificación.

Se ha postulado como hipótesis para los procesos de *diversificación insular* que, después de la llegada de un colonizador va diversificando a medida que se establece en la gran variedad de hábitats de las islas volcánicas. Estos cambios evolutivos, que hacen patente la cladogénesis (BRAMWELL, 1990) han sido considerados como eventos de especiación, directamente relacionados con procesos genéticos como la *deriva genética* (cambios en frecuencias alélicas, efecto fundador o cuello de botella) con reducción de la variabilidad respecto de la población colonizadora, que no induce por sí misma a la especiación, pero permite que ocurra en los casos de supervivencia por: i) *divergencia* o proceso continuo con cambios no muy rápidos e intervención de cualquier tipo de selección y radiación (en el caso de múltiples divergencias) y ii) *transilience* o reajuste genético rápido con nuevas recombinaciones que conducen a discontinuidades drásticas sin que intervenga la selección, considerándose también como un tipo de mutación inducida por deriva con cambios discontinuos sin selección natural (DOBZHANSKY *et al.*, 1980; Templeton *in* JEANMONOD, 1984). Estos acontecimientos genéticos se consideran protagonistas en los archipiélagos oceánicos como Canarias ((WILLIAMSON, 1981; JEANMONOD, 1984; CRAWFORD *et al.*, 1987; MARRERO & FRANCISCO-ORTEGA, 2001b) donde entre las distintas islas, tomaría protagonismo la *deriva genética* por efecto fundador en el proceso de colonización, siendo determinante también el efecto de cuello de botella, como consecuencia de situaciones adversas (climáticas, degradación ambiental, actividad volcánica) que pueden incomunicar los extremos de una población primitiva.

La gran explosión de filogenias moleculares con taxones macaronésicos ha vertido una considerable información acerca del origen de esta flora, pero no así de la ruta evolutiva entre y dentro de las islas una vez que colonizaron el archipiélago. Bajo este último aspecto se revelan con grandes expectativas y potencialmente importantes, los estudios poblacionales con marcadores moleculares y técnicas de filogeografía, que ponen de manifiesto y detectan la ruta y los procesos de divergencia y evolución poblacional en las islas (especiación) como se ha puesto de manifiesto en los estudios de fauna terrestre (REES *et al.*, 200; CONTRERAS-DÍAZ, 2004; OROMÍ, 2007). Cada modelo evolutivo será el resultado de la combinación de algunos de los factores genéticos y geográficos, ligados a su vez a la *biología reproductiva* de los táxones, y consecuentemente, al conjunto de sus principales agentes de diversidad (EHRENDORFER, 1979; KEVAN, 1984; KNOX, 1987; BARRETT, 1998; GRANT, 1998). Se ha considerado como hipótesis muy posible apoyada por los estudios moleculares que la radiación en estos archipiélagos tiene lugar desde las islas o zonas más antiguas, que actuarían como centros de divergencia aunque puede haber excepciones con aparente colonización desde islas más jóvenes producto de la extinción.

Para un mejor conocimiento en el estudio de la diversidad vegetal y proceso de especiación por *vicarianza* en islas (deriva genética, aislamiento geográfico y reproductivo), se ha creído conveniente la elección del género *Parolinia* en Canarias, tanto por el desconocimiento absoluto en su biología reproductiva y diversidad morfológica-genética como también por la posibilidad de estudiar un género relativamente pequeño en cuanto número de especies, que además de estar representado en cuatro islas, muestra una gran diversificación en una ellas y presenta una escasa representación en las tres restantes, proporcionando también distinto rango de distribución y de talla poblacional a efectos de sus aplicaciones a la conservación.



3. DESCRIPCIÓN DE LAS ESPECIES. COROLOGÍA Y POBLACIONES ESTUDIADAS

El género *Parolinia* está formado por 7 especies, seis de las cuales han sido descritas (*P. ornata* Webb, *P. schizogynoides* Svent, *P. intermedia* Svent & Bramwell, *P. platypetala* Kunkel, *P. filifolia* Kunkel y *P. glabriuscula* Montelongo & Bramwell) y una, *P. aridanae* Santos, permanece como *nomen nudum*.

Todas las especies excepto *P. ornata*, están catalogadas de alguna manera en peligro (Tabla 5) de acuerdo con las listas rojas de especies amenazadas (BRAMWELL & RODRIGO, 1984; GÓMEZ CAMPO *et al.*, 1996; WALTER & GILLET, 1998; BELTRAN *et al.*, 1999; VVAA, 2000; BAÑARES *et al.*, 2003).

TABLA 5. CATEGORÍAS Y GRADO DE AMENAZA						
(NT= ni rara ni amenazada; V y VU = vulnerable; E y EN = en peligro; CR = en peligro crítico)						
TAXON	Bramwell & Rodrigo (1984)	Gómez-Campo <i>et al.</i> (1996)	Walter & Gillett (1998)	Beltrán <i>et al.</i> (1999)	VVAA (2000)	Bañares <i>et al.</i> (2003)
<i>P. ornata</i>	NT	—	—	—	—	—
<i>P. schizogynoides</i>	V	V	E	VU	VU	VU
<i>P. intermedia</i>	V	V	V	—	VU	VU
<i>P. platypetala</i>	—	V	V	—	EN	CR
<i>P. filifolia</i>	V	V	V	—	EN	EN
<i>P. glabriuscula</i>	—	—	—	—	CR	CR
<i>P. aridanae</i>	—	E	E	—	CR	CR

Recientemente (septiembre 2007) *P. ornata* también ha sido propuesta formalmente para ser incluida en el Atlas y Libro Rojo de la Flora Vasculosa Amenazada de España (AFA) según recomendaciones derivadas de estudios de biodiversidad (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 2007).

Este apartado está dedicado en primer lugar a las *descripciones originales* de las distintas especies conocidas hasta el momento, siguiendo un orden cronológico, toda vez que así se ha utilizado por los distintos autores para poner de manifiesto las diferencias de los nuevos taxones.

Las diferencias entre las especies están principalmente vinculadas a caracteres del fruto (tipo de apéndice y tamaño), longitudes de hoja y flores (BRAMWELL, 1970; BRAMWELL & BRAMWELL, 2001; MONTELONGO, BRAMWELL & FERNÁNDEZ-PALACIOS, 2003).

La revisión detallada de las descripciones originales permite observar las diferencias en los caracteres vegetativos y reproductivos de las siete especies del género, como se muestra en la Tabla 6.

Se muestran también los antecedentes corológicos de las especies y se caracteriza cada una de las *poblaciones naturales* seleccionadas para este estudio (Tabla 3.1), detallando las asociaciones o núcleos de individuos elegidos para la recolección del material y observaciones fenológicas. Los datos corológicos se han obtenido a partir de la base de

datos y Herbario (LPA) del JBCVC, así como de otras fuentes bibliográficas y comunicaciones personales.

En la elección de los núcleos (N) se tuvo en cuenta la distribución de los individuos en la población, representando tanto los extremos como las zonas intermedias. En las poblaciones de Gran Canaria, además, los individuos en estudio fueron etiquetados para facilitar posteriores re-muestreos y observaciones fenológicas.

Asimismo, se tomaron las distancias entre los individuos (de tronco a tronco) con el objeto de representar en un mapa su distribución espacial dentro de la población, asignando a cada uno un par coordenadas cartesianas.



Algunas poblaciones tradicionalmente adscritas a *P. ornata* no encajan morfológicamente con las características de esta especie. En Gran Canaria se han asignado a este taxon las localidades del barranco de Agaete (POA), San Nicolás de Tolentino-La Aldea (PFA) y Barranco de Veneguera (POVE), y en la isla de Tenerife (PIG) la montaña de Guaza (SVTENIUS, 1948; KUNKEL, 1969; BRAMWELL & BRAMWELL, 2001; pliegos herbario LPA: Sventenius y Wildpret).

Como se ha puesto de manifiesto en los recientes estudios morfológicos del género (FERNÁNDEZ-PALACIOS, PÉREZ DE PAZ & FEBLES, 2005a, b, c), PFA ha sido asignada a *P. filifolia* y PIG a *P. intermedia*, mientras que POA y POVE cuyas características morfológicas no encajan con las especies ya descritas, se mantienen de forma independiente, al igual que la población de los Riscos de Chapín (PFCH) no atribuida a ningún taxon en particular en los pliegos de herbario del JBCVC (LPA).

Esto justifica y evidencia la necesidad de un nuevo replanteamiento en las adscripciones taxonómicas de las respectivas poblaciones naturales de *Parolinia* y consecuentemente su revisión taxonómica y corología general.

TABLA 6. *Parolinia*. Comparación entre las especies según descripciones originales

ESPECIES / CARACTERES		<i>P. ornata</i> Webb	<i>P. schyzogynoides</i> Svent.	<i>P. intermedia</i> Svent. & Bramw.	<i>P. platypetala</i> Kunk.	<i>P. filifolia</i> Kunk.	<i>P. glabriuscula</i> Mont. & Bramw.	<i>P. aridanae</i> Santos <i>nomen nudum</i>
CARACTERES VEGETATIVOS	HÁBITO	Arbusto tallo recto leñoso	Subarbusto compacto ramoso 30-80cm	Arbusto ramoso 1.30-2m	Arbusto tallo recto ramoso ½ superior 1.5m	Arbusto hasta 2.5 m tallo recto	Arbusto compacto ramoso 0.8-1.5 m	Arbusto compacto muy ramificado > 2m
	RAMA	erecta, cilíndrica, delgada muchas hojas en ápice jóvenes blanco-tomentosa maduras marrón oscuro	horizontal o erecto-patente muchas hojas en ápice jóv blanco-panosa mad. grisáceo-lutescente	erecta jóv blanco-panosa mad. corteza cenicienta	ascendente o suberecta, grácil hojas en ápice jóv blanco-tomentosa mad. marrón oscura-glabra	erecta, grácil muchas hojas en ápice jóv. blanquecina mad. glabra	algo péndulas jóv. blanco-panosa mad. castaño-grisácea	delgada muchas hojas
	HOJA	sésil, ascendente, en orden quincuncial linear o sublanceolada-linear, entera, ápice obtuso haz acanalado envés uninervio long. 2.5-3.75 cm ancho 2 mm	linear, algo obtusa, base atenuada, algo crasa acanalada estrellado-blanco-panosa long. 1.5-2.5 cm ancho 2-4 mm	alterna, linear, ápice obtuso base atenuada, algo crasa, joven acanalada estrellado-panosa long. 3-6 cm ancho 2 mm	sésil, ascendente linear o estrechamente oblanceolada, ápice algo agudo, haz acanalado estrellado-blanco tomentosa long. 1.3-4 cm ancho 0.5-2 mm	erecta filiforme, ápice obtuso haz algo acanalado estrellado-blanco tomentosa long. 8-1.5 cm ancho 0.8-1 mm	alterna, verde ligeramente glauca, linear, ápice agudo, base atenuada estrellado-panosa long. 2-7 cm ancho 1.5-2.5 mm	linear, blanquecina long. > 2 cm
CARACTERES REPRODUCTIVOS	INFLORESCENCIA	—	racimo simple, erecto long. 4-8 cm	racimo simple, erecto long. 8-15 cm	racimo terminal o subterminal 6-10 flores agregadas long. 5 cm	erectas 2-3 flores terminales	racimo simple, erecta a ligeramente curva long. 5-15 cm	racimo abundantes flores
	PEDICELO FLORAL	corto	igual al sépalo	—	long. 2.5-4 mm	long. 2-4 mm	igual al sépalo	—
	YEMA	agregadas en ápice de rama a modo de espiga conoidea long. 8mm	subcuadrangular-prismática-truncada	—	estrechamente cónica con costillas	estrechamente oblonga	prismático-cuadrangular-truncada	—
	CÁLIZ	tomentoso, base abombada	—	—	blanco-tomentoso long. 8 mm	verde, con pelo estrellado long. 5 mm	con pelo blanco estrellado	—
	SÉPALO	linear-lanceolado, cóncavo, navicular base en forma saco ápice obtuso subcuculado margen entero, escarioso	muy cóncavo ápice cuculado blanco-panoso long. 3 mm ancho 1 mm	lanceolado ápice obtuso blanco-panoso long. 3 mm ancho 1 mm	oblongo-linear obtuso margen escarioso ancho 1.5 mm	oblongo-linear obtuso margen escarioso ancho 0.5 mm	oblongo muy cóncavo en la base ápice acumulado long. 4.5-5 mm ancho 1.3-1.5 mm	—
	PÉTALO	unguiculado espatulado-lanceolado ápice redondeado margen hialino crespado-subcrenulado, rosado long. casi doble que sépalos	linear-espatulado ápice redondeado blanco, rosáceo en senescencia long. 6 mm ancho 2 mm	ancho espatulado ápice casi obtuso, rosa, raro blanco long. 7-8 mm ancho 2-2.5 mm	largamente unguiculado, espatulado, margen irregularmente crenulado rosado long. 13-15 mm ancho 5 mm	largamente unguiculado oblanceolado blanco long. 10-12 mm ancho 1.2 mm	linear-espatulado ápice redondeado, blanco rosáceo en senescencia long. 9-10 mm ancho 1.8-2.0 mm	flores pequeñas: rosado-liláceas ≈10mm

TABLA 6 (cont.). *Parolinia*. Comparación entre las especies según descripciones originales

ESPECIES / CARACTERES		<i>P. ornata</i> Webb	<i>P. schyzogynoides</i> Svent.	<i>P. intermedia</i> Svent. & Bramw.	<i>P. platypetala</i> Kunk.	<i>P. filifolia</i> Kunk.	<i>P. glabriuscula</i> Mont. & Bramw.	<i>P. aridanae</i> Santos <i>nomen nudum</i>	
CARACTERES REPRODUCTIVOS	ANDROCEO	FILAMENTO ESTAMINAL	glabro, sin dientes ápice tubulado más ancho hacia la base	laterales más cortos que los medios long. 3 mm	más estrecho en el ápice long. 2-3 mm	—	—	más ancho en la base medios: long: 3-3.5 mm laterales: long. 2-2.2 mm	—
		ANTERA	ovado- elongada ápice atenuado lóculos angostos unidos ápice base divergente bisaccata	lanceolada-elíptica, algo obtusa base cordiforme long. 1 mm	triangular, obtusa base cordiforme long. 1.5 mm	—	—	oblongo-cordiforme long. ≈1.2 mm	—
	GINECEO	OVARIO	sésil, cilíndrico-subtetragónico ápice obtuso lanoso corto	estrellado piloso long. ≈ 1mm	grácil long. 1.5mm	—	—	albo- panoso long. 1.5 mm	—
		ESTILO	cilíndrico columnar, craso persistente en la silicua	glabro, corto persistente en la silicua	—	persistente en la silicua alargado, coronado long. 2 mm	persistente en la silicua alargado long. 1.5–3 mm,	glabro persistente en la silicua ápice ligeramente bifido long. ≈1 mm	—
		ESTIGMA	capitado, subdecurrente, no dividido o bilobulado en la silicua: bifido con lóbulos unidos en la base	capitado, subplano en la silicua: con corona corta dimidiada	capitado, subplano	—	—	capitado, subplano	—
	SILICUA	SILICUA	en racimo corto recta o curvada, subcilíndrica, lanosa long. 10-12 mm ancho 2 mm	recurvada blanco-tomentosa long. 12-15 mm ancho 2-2.5 mm	recurvada blanco-tomentosa long. 18 mm	blanco- tomentosa long. 10-12 mm	recta o ligeramente curva marrón palida long. 8 mm	recurvada, glabriuscula long. 11-18 mm ancho 1.5 mm	fructificación abundante
		VALVA	carinada, rígida, septada indehiscente 8 semillas/valva, uni-seriada	agudo-gibosa en la base dehiscente en el 2º año 2-3 semillas (raro 4)/valva	base gibosa 4-5 semillas/valva	4-8 semillas/valva	3-5 semillas/valva	brevemente agudo-gibosa en la base 4-5 semillas/valva	—
		ASTAS o CUERNOS	ápice bifido interior plano, exterior convexo	ápice bifido o trifido recto o recurvado long. ≈ a las valvas	ápice profundamente bifido ligeramente curvado long. ≈ a las valvas	brevemente bilobado long. 10 mm	brevemente bifida ensanchada long. 7mm	ápice entero agudo ligeramente recurvado long. < a las valvas	—
	SEMILLA	redondeada-ovada, margen hialino	elíptica o redondeada color castaño-blanco- foveolado margen blanco alado	subcuadrada color castaño margen alado escarioso	plana color castaño alada, margen hialino estrecho long. 1.5 mm ancho 1 mm	—	color castaño	elíptico ± recto- cuadrangular, color castaño margen alado escarioso long. 1.6-2.2 mm ancho 1-1.2 mm	escasas en cada fruto, pero numerosas en el conjunto de la planta

Especies y poblaciones naturales

3.1. DESCRIPCIÓN, COROLOGÍA Y POBLACIONES

Se comienza con *Parolinia ornata* Webb como especie tipo del género.

3.1.1. *Parolinia ornata* Webb

3.1.1.1. Descripción original (*Ann.Sci.Nat.Bot.sér.2,13, marzo 1840: pp. 133-134,137, lám.3*)

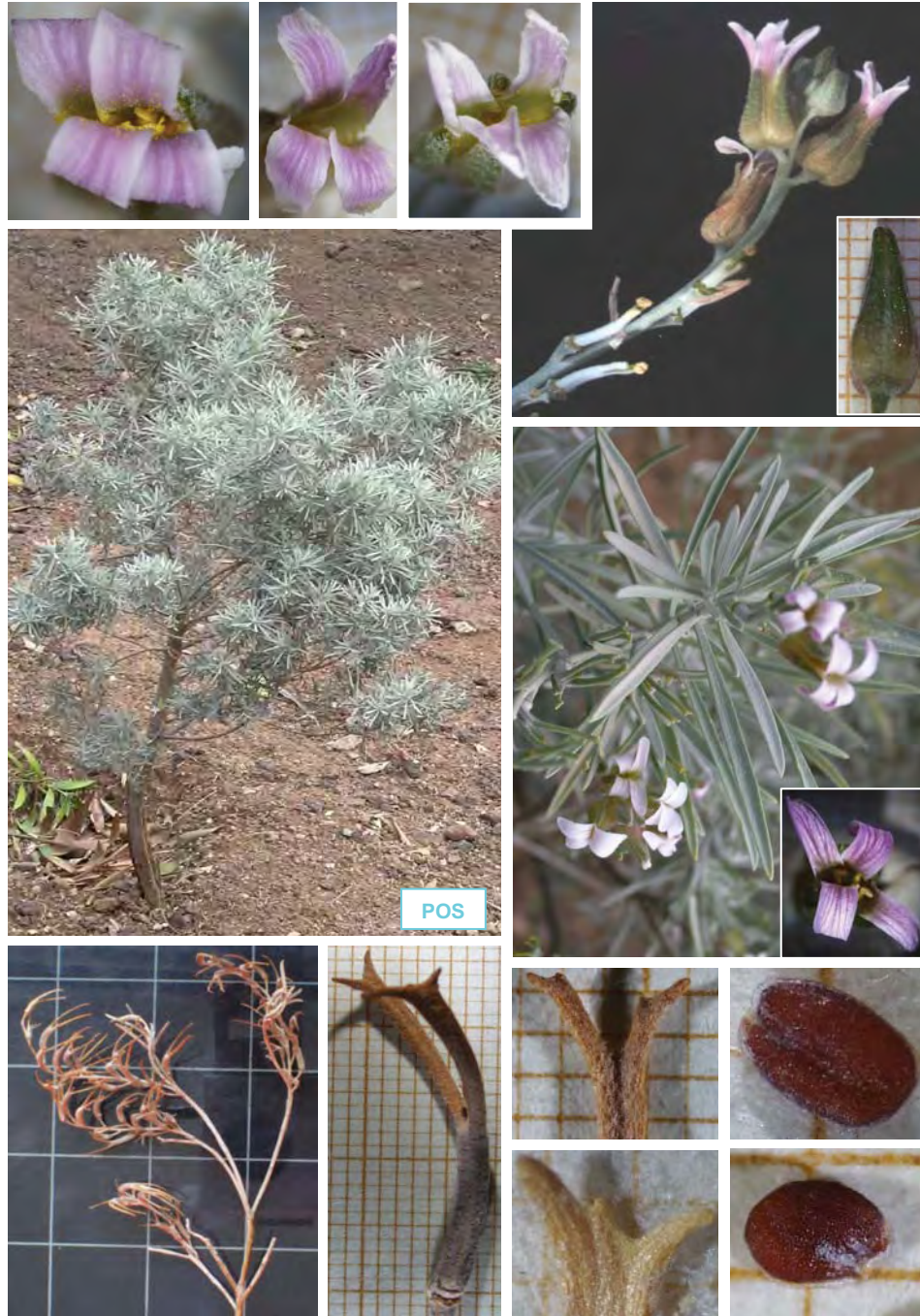
Arbusto erecto, leñoso, tomentoso, blanquecino, como *Matthiola*. *Ramas* rectas, cilíndricas, delgadas, las inferiores con cicatrices de las hojas, marrón oscuro, brillantes, corteza delgada, leño duro, de color oro, radios de la médula frecuentemente apiñados, las superiores blanco-tomentosas, rectas, con muchas hojas. *Hojas* sésiles, dispuestas en orden quincuncial, 1-1 1/2 pulgadas de longitud, 2 mm de ancho, lineares o sublanceolado-lineares, enteras, ápice obtuso, haz acanalado, envés univervio, ascendentes, rectas, algo



rígidas. *Flores* brevemente pediceladas, yemas con forma conoidea, 8mm de longitud, agregadas en el ápice de las ramas, a modo de espiga. *Cáliz* tomentoso, base abombada, casi iguales, casi patente, foliolos linear-lanceolados, cóncavos, naviculares, nervios anastomosados, margen escarioso, entero, base en forma de saco, gradualmente angosto hacia el ápice, ápice obtuso, subcuculado. *Corola* longitud casi del doble que el cáliz. *Pétalos* rosados, venas con ápice dicótomo, nerviación anastomosada, margen crespado, subcrenulado, limbo espatulado-lanceolado, ápice redondeado, unguiculado, limbo con margen hialino, atenuado. *Filamento* glabro, sin dientes, ápice subulado, más ancho hacia la base. *Antera* ovado-elongada, con el ápice atenuado, base divergente, unida al filamento por la base, lóculos angostos atenuados hacia la parte superior y unidas ápice. *Glándula hipogina* 4,

grandes, solitarias, situadas entre la base del estambre corto y la base del estambre largo. *Ovario* corto, sésil, cilíndrico-subtetragónico, brevemente subdimidiado, lanoso, ápice obtuso, pluri-ovulado, placentas nerviformes, incluidas. *Estilo* cilíndrico, columnar, craso. *Estigma* capitado, subdecurrente por ambos lados, no dividido o bilobulado, en fructificación manifiestamente bifido, lóbulos unido en la base. *Silicuas* en racimo corto, rectas, arqueadas, subcilíndricas, lanosas, 10-12 mm longitud, 2 mm de ancho. *Valvas* carinadas, rígidas, indehiscentes, con un *cuerno* estiloideo, ápice glanduloso, bifurcado, interiormente plano, exteriormente convexo, silicua corta escasamente elongada, con el estilo persistente en la madurez. *Placenta* nerviforme, incluida. Tabique de separación completo, duro, craso, opaco, con 1-nervio en el medio. *Semilla* en 8 lóculos, 1-seriada, encerradas en cada valva

y separadas por septos, redondeada-ovada, comprimida por ambas partes, levemente punctulada-estriada, rodeadas por un margen hialino, testa acuosa sumergida mucilaginosa. *Cotiledones* acumbentes, ovado-elípticos, plano. *Radícula* con forma de clavo, subaguda (Tabla 6).



- *Hábitat*: lugares rocosos muy áridos en la isla de Gran Canaria entre plantas de *Cneorum pulverulentum*, con las que tiene gran similitud.

Aunque en el *holotypus* se describe su hábitat: "*HAB. locis petrosis aridissimis insulae Canariae inter dumeta Cneori pulverulenti, cui facie simillima*", no se menciona su *locus classicus* (WEBB, 1840; LA SERNA & LEÓN, 1980).

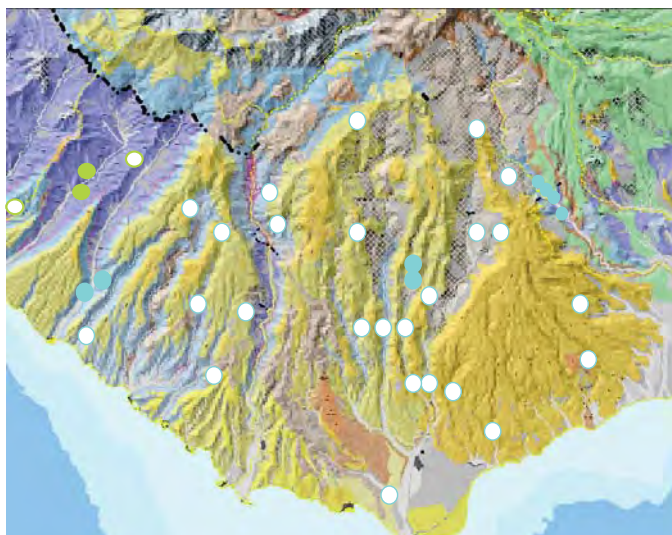
3.1.1.2. Estado de conservación

Categoría de amenaza: sin categoría UICN para España.

Medidas de conservación: no existe medida de conservación para la especie, aunque recientemente se ha propuesto su inclusión en las listas rojas. Algunas de sus poblaciones se encuentran dentro de Espacios Naturales protegidos y Lugares de Importancia Comunitaria (LIC), algunos incluidos en la Reserva de la Biosfera (RB): Parque Natural de Pilancones (RB, LIC-ES7010010), Monumento Natural de Tauro (RB, LIC-ES0000113, LIC-ES7011004), Paisaje Protegido de Fataga (RB, LIC-ES7010025) y Amurga (LIC-ES7010055).

3.1.1.3. Distribución y Corología. Antecedentes

Endemismo grancanario, citado como abundante y de amplia distribución en los barrancos del SE al SO de la isla, desde el barranco de Tirajana hasta el barranco de Mogán (ver mapa adjunto donde se muestra su corología y se señalan en color turquesa relleno las poblaciones analizadas).



Tradicionalmente se le ha considerado propia de los barrancos secos y soleados del sur y oeste de Gran Canaria entre 100 y 500 msm (SVENTENIUS, 1948; KUNKEL, 1969; BRAMWELL, 1970) en comunidades xerofíticas pertenecientes a la asociación *Rubio-Euphorbetum canariense* (Rivas & Esteve, en BRAMWELL, 1970).

Como antecedentes corológicos históricos de esta especie se citan en KUNKEL (1969): Pitard y Proust (1908) en Gran Canaria (Webb 1840) y Lanzarote (Hartung); Lindinger (1926) en Gran Canaria (Webb, 1840). Burchard (1929) en Fuerteventura (Bolle), Lanzarote (Hartung) y Gran Canaria, Agaete (Fritsch). Sventenius (1948) confirma Agaete, cita su presencia en Tenerife (alrededores de Chio), así como en los alrededores de San Nicolás de Tolentino, en el Barranco de Fataga y en el Barranco de Los Vicentes en Gran Canaria. Lems (1960) en Lanzarote, Fuerteventura, Gran Canaria y Tenerife. Lid (1968) en el Barranco de Agaete y Barranco de Los Vicentes (Hultén) en Gran Canaria Sunding (no publicado) entre Agaete y Hoya de Pineda en Gran Canaria. Kunkel (1969) en el Barranco de Arguineguín y Barranco de Tirajana-Presa de La Sorrueda (Santa Lucía) en Gran Canaria. Posteriormente KUNKEL (1975) cita especialmente el barranco de Ayagaures.

En BARQUÍN DÍEZ & VOGGENREITER (1988), además de los antecedentes corológicos ya citados por Kunkel (1969), se citan a Bramwell (1970), Kunkel (1977), Kunkel & Kunkel (1979) y Bramwell & Bramwell (1983). Como antecedentes citogenéticos se cita a Bramwell *et al.* (1972) y palinológicos a Pérez de Paz (1980).

Como se ha mencionado anteriormente, la especie no tiene *locus classicus* conocido.

Cabe citar las siguientes localidades (coordenadas UTM 1x1) consideradas para la especie (Base datos del JBCVC): 28RDR4976: Bco. Hondo, Tirajana, 400 m, O (Inventario 64, realizado el 04/05/1999); 28RDS2789: Agaete (Marrero & Montelongo, 1995); 28RDR4581, 28RDR4681, 28RDR4976, 28RDR4978: Amurga (O. Saturno); 28RDR4982: Riscos Bco. Tirajana, transecto del Bco. (Inventario 63, realizado el 23/04/1999, Navarro *et al.*); 28RDR4884: Santa Lucía de Tirajana, Fortaleza Grande de Ansite, E, 510 msm (Inventario pág. 177, Beltrán Tejera *et al.*, 1999); 28RDR4883: Bco. Tirajana, 200 m., SO, 45° (Inventario 12, 10x10 m, realizado el 14/05/1997: Navarro *et al.*); 28RDR4784: Barranco de Tirajana (O. Fernández); 28RDR4978: Bco. del Ahogado, Amurga, transecto del fondo del Bco. (Inventario 49, realizado el 10/06/1998: Navarro *et al.*); 28RDR4077: Alto de La Gorra, alrededores (Inv. 89, realizado el 29/05/2001: Navarro *et al.*); 28RDR4275, 28RDR4276: Barranco de Fataga (Svent, 1948:7); 28RDR4168: cerca de Maspalomas (19.III.1947, Sventenius, ORT 9353); 28RDR4982: Barranco de Tirajana (Marrero & Montelongo, 1995); 28RDR4280: Barranco Los Vicentillos, 450 m., SE (Inventario 46, realizado el 15/05/1998); 28RDR4281: Barranco Los Vicentillos, por encima de la pista, 450 m., SE (Inventario 101, realizado el 10/08/2001); 28RDR4282: Barranco Los Vicentillos: (Navarro *et al.* 1998); 28RDR3283: Transecto Degollada de Cortadores-Degollada de Las Yeguas, 700-750 m., S (Inventario 50, realizado el 8/10/1998: Navarro *et al.*); 28RDR3378: El Pílon, sobre el Lomo del Pinillo, Barranco de Arguineguín, 500 m, E (Inventario 185, realizado el 02/07/2002, F. Oliva, C. Suárez y J. Naranjo); 28RDR3382: Andenes de Los Gavilanes, sobre Barranco Arguineguín (Inventario 146, realizado el 30/04/2002); 28RDR3475: Barranco de Arguineguín (inventario 5 tabla 8 (18.II.2000), alt.:125 m ; exp.: SE, Del Arco, Salas *et al.*, 2002); 28RDR3478: Debajo del Lomo del Pinillo, Barranco de Arguineguín, 200 m, E-NE (Inventario 186. realizado el 02/07/2002: J. Navarro, F. Oliva, C. Suárez y J. Naranjo); 28RDR3582: Barranco de Arguineguín, Debajo de Excusa Barajas, 230 m., SO. (Inventario 186, realizado el 04/07/2002, B. Navarro, J. Naranjo, F. Oliva y C. Suárez); 28RDR3584: Peñón de Excusa Barajas, 900-950 m., SE, abundante en la ladera (Inventario 115, B. Navarro, J. Naranjo, C. Suárez, I. Santana, F. Oliva y B. Vilches, realizado el 16/01/2002); 28RDR2677: comienzo Barranco de Taurito, 60 m, N (Inventario 106, realizado el 23/08/2001); 28RDR3986: Pinar de Pilancones, a la altura de la pista que va a Montaña del Rey después del Barranco del Arco (Inventario 159, realizado el 15/05/2002); 28RDR3982: Pinar de Pilancones, Montaña de Pino Eugenio 950 m.(Inventario 164, realizado el 15/05/2002); Montaña La Data (Bramwell, com. pers.)

Como se ha dicho anteriormente no se han incluido en esta especie las poblaciones citadas para: San Nicolás de Tolentino (PFA), el barranco de Agaete (POA) y el barranco de Veneguera (POVE), en Gran Canaria (SVENTENIUS, 1948; KUNKEL, 1969; BRAMWELL & BRAMWELL, 2001) y montaña de Guaza (PIG) en Tenerife (Wildpret, LPA), toda vez que los recientes estudios morfológicos del género, señalan que no se corresponden con este taxon (FERNÁNDEZ-PALACIOS, PÉREZ DE PAZ & FEBLES, 2005a, b, c).

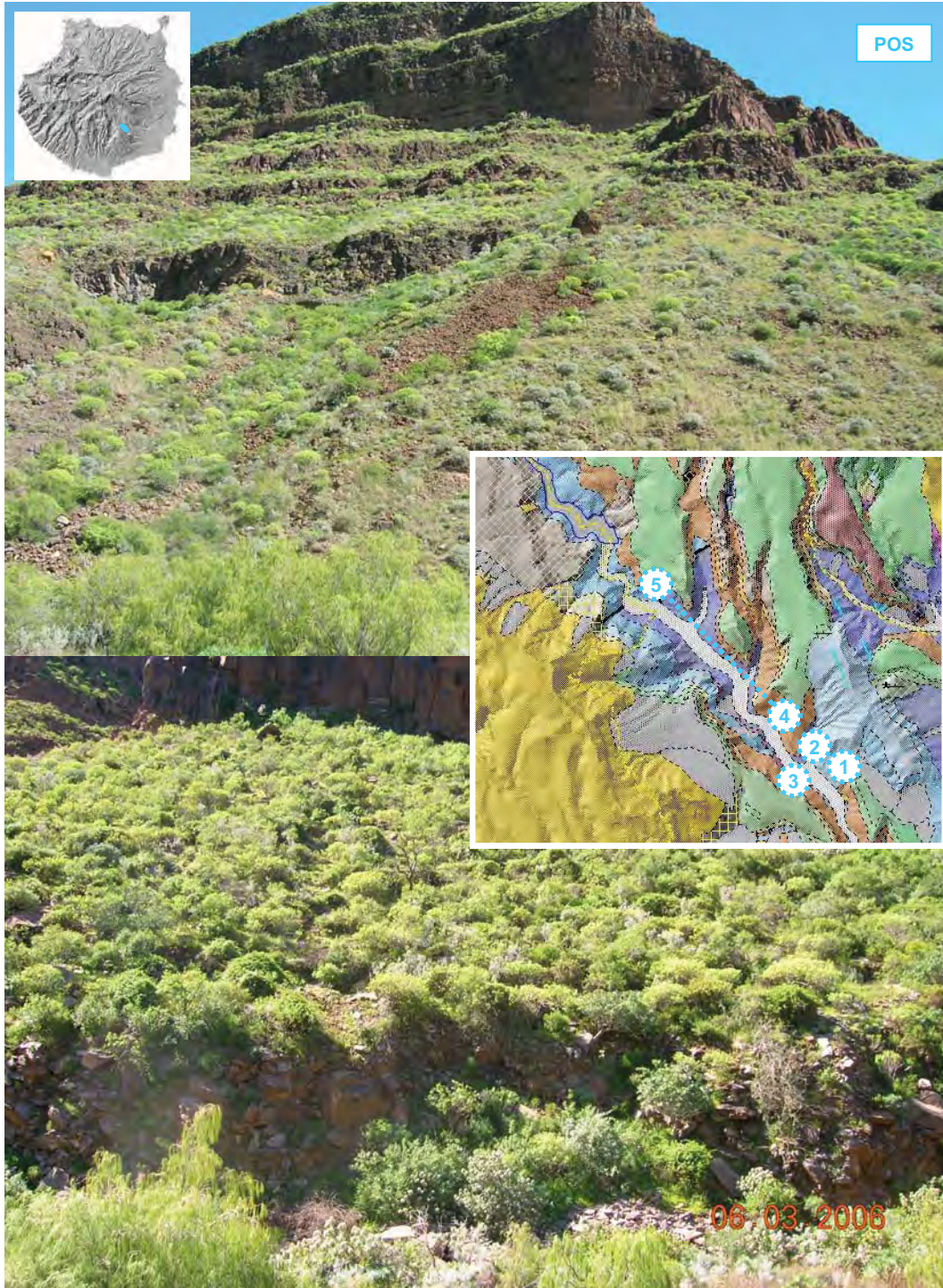
3.1.1.4. Caracterización de las poblaciones estudiadas

En la elección de poblaciones se ha tenido en cuenta el espectro de distribución de la especie, representando tanto los extremos como su fracción intermedia.

De las tres poblaciones elegidas para este estudio, el barranco de Tirajana (POS) y el barranco de Mogán (POM) representan los dos extremos de su área de distribución (SE y SO) y la tercera, el barranco de Los Vicentillos representa una situación intermedia (S).

3.1.1.4.1. Barranco de Tirajana-La Sorrueda (POS)

El barranco de Tirajana es de los pocos barrancos largos de Gran Canaria que no cambia de nombre desde su nacimiento hasta su desembocadura. El valle de Tirajana, aguas arriba y desde el estrecho paso al oeste de Sardina, comienza a ensanchar su



cuenca hidrográfica y a encajonarse en profundo tajo. En este trayecto comienza a recibir pequeños tributarios que descienden de la Montaña de Las Carboneras por un lado y de Gallegos por el otro. Este gran barranco tiene la particularidad de ofrecer formas

topográficas pertenecientes a dos ciclos erosivos, uno muy antiguo al que corresponden los riscos de Amurga y, el actual, al que corresponde el cañón por donde discurre el barranco (BRAVO, 1964).

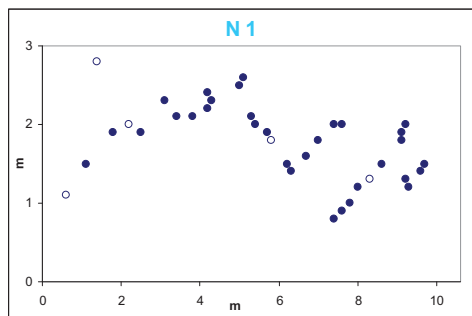
El barranco de Tirajana es un espacio natural de unas 3480 hectáreas, enclavado en los municipios de San Bartolomé y Santa Lucía de Tirajana, que comprende tres subunidades bien diferenciadas englobadas en la denominada Caldera de Tirajana: *Riscos*, *Laderas* (incluida la ladera oriental de Amurga) y *Barranco de Tirajana*, desde los riscos inmediatos al Pico de las Nieves (cota de máxima altura en la isla) hasta el pago de Aldea Blanca, cerca del litoral.

Desde el punto de vista geomorfológico este espacio incluye los sectores superior y medio de la Cuenca de Tirajana. El primero de ellos corresponde a la Caldera de Tirajana, amplio circo de típica construcción erosiva coronado por potentes planchas de aglomerado *Roque Nublo*, con paredes verticales.

El cauce medio (La Sorrueda-Sardina) posee una característica sección en “V” muy encajado, donde se destacan los testigos erosivos basálticos en forma de “cuchillos” conocidos por las fortalezas Grande y de Ansite (SANTANA & NARANJO, 1992; MONTELONGO, 1994).

- *Sinfitosociología y Fitosociología*. Piso bioclimático: Inframediterráneo desértico árido. Serie de Vegetación climatófila: *Euphorbion balsamiferae sigmetum* (DEL ARCO *et al.*, 2002; DEL ARCO & RODRÍGUEZ, 2003).

- *Esquema geológico y ciclos de formación*. CICLO I: formación basáltica (escudo): (1) Lavas y conos de tefrabasálticos alcalinos, olivínicos piroxénicos y hawaíticos indiferenciados; (3) Ignimbritas riolítico: composite flow; (5) Lavas riolíticas. CICLO II o ROQUE NUBLO: (17) Lavas y conos de tefra basaníticos. CICLO III o POST ROQUE NUBLO: (28) Lavas, conos de tefra, maars y “fallout” basaníticos, nefilínicos y localmente, melilíticos
Edad geológica: Mioceno \approx 12.6-8.7 Ma, Plioceno \approx 4.4-3.7 Ma y Plioceno-Pleistoceno \approx 2.9-0.6 Ma.
Sustrato geológico: tobas ignimbríticas y coladas riolítico-traquíticas per-alcalinas. Lavas basáltico-olivínicas, olivínico-piroxénicas y plagioclásticas, con traquibasaltos subordinados. Hawaitas, banmoreitas y mugearitas (I.T.G.E., 1990f, 1992; GRAFCAN, 2008).



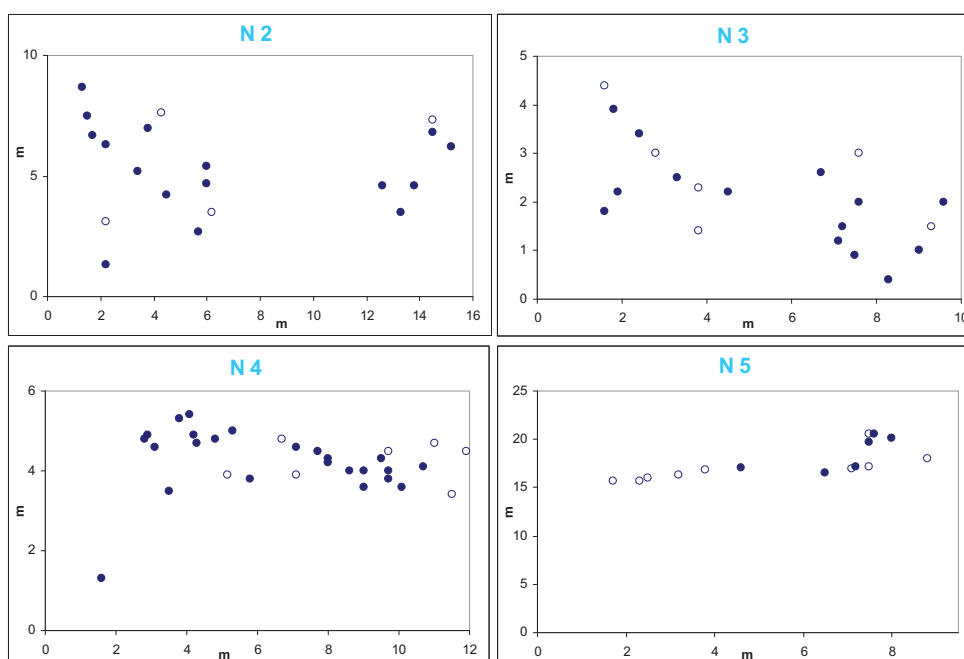
- *Suelo*. Asociación litosol y ochrept (SANCHEZ DÍAZ, 1975).

- *Inventario y características in situ*. UTM 1x1 visitadas: 28RDR4784-28RDR4883-28RDR4982. Altitud: 250-350 msm. Altitud media para los perfiles \approx 300 msm. Orientación: SO-NE. Censo: \approx 40000 individuos. Taxones acompañantes más habituales: *Aeonium percarneum*, *Allagopappus viscosissimus*, *Artemisia canariensis*, *Ceropegia fusca*, *Chamaecytisus proliferus*, *Chrysoprenanthes pendula*, *Descurainia preauxiana*, *Echium decaisnei*, *Euphorbia regis-jubae*, *Forsskhahlea angustifolia*, *Gonospermum ferulaceum*, *Kickxia scoparia*, *Kleinia neriifolia*, *Launaea arborescens*, *Lavandula minutolii*, *Lobularia canariensis*, *Micromeria helianthemifolia*, *Nauplius stenophyllus*, *Neochamaelea pulverulenta*, *Ononis angustissima* subsp. *ulcina*, *Periploca laevigata*, *Plocama pendula*, *Polycarphaea ssp.*, *Rubia fruticosa*, *Salvia canariensis*, etc.

Se escogieron cinco *núcleos poblacionales* (ver lámina y gráficas adjuntas) teniendo en cuenta el espectro de distribución de los individuos en la población, representando tanto los

extremos como su fracción intermedia. En estos núcleos se efectuó la recogida de material para los estudios de biología reproductiva y morfometrías (pliegos de herbario, obtención de imágenes y datos fenológicos, fijación de yemas, botones, flores jóvenes y maduras, y frutos), así como primordios foliares para la técnica molecular de isoenzimas, como se detallará con más precisión en los capítulos correspondientes.

La distancia máxima entre núcleos es de unos 2 km (núcleos 1 y 5). El núcleo 1 con orientación SO se encuentra a unos 250 msm y en el se muestrearon 37 individuos; contiguo a este núcleo se muestreó el núcleo 2 con unos 20 individuos escogidos en un desnivel de unos 20 metros. A unos 150 m de los núcleos anteriores se muestreó el núcleo 3 en la ladera opuesta con orientación NE donde se recolectaron 20 individuos, esta ladera está menos expuesta al sol y los taxones acompañantes de *P. ornata* difieren notablemente de la otra ladera.



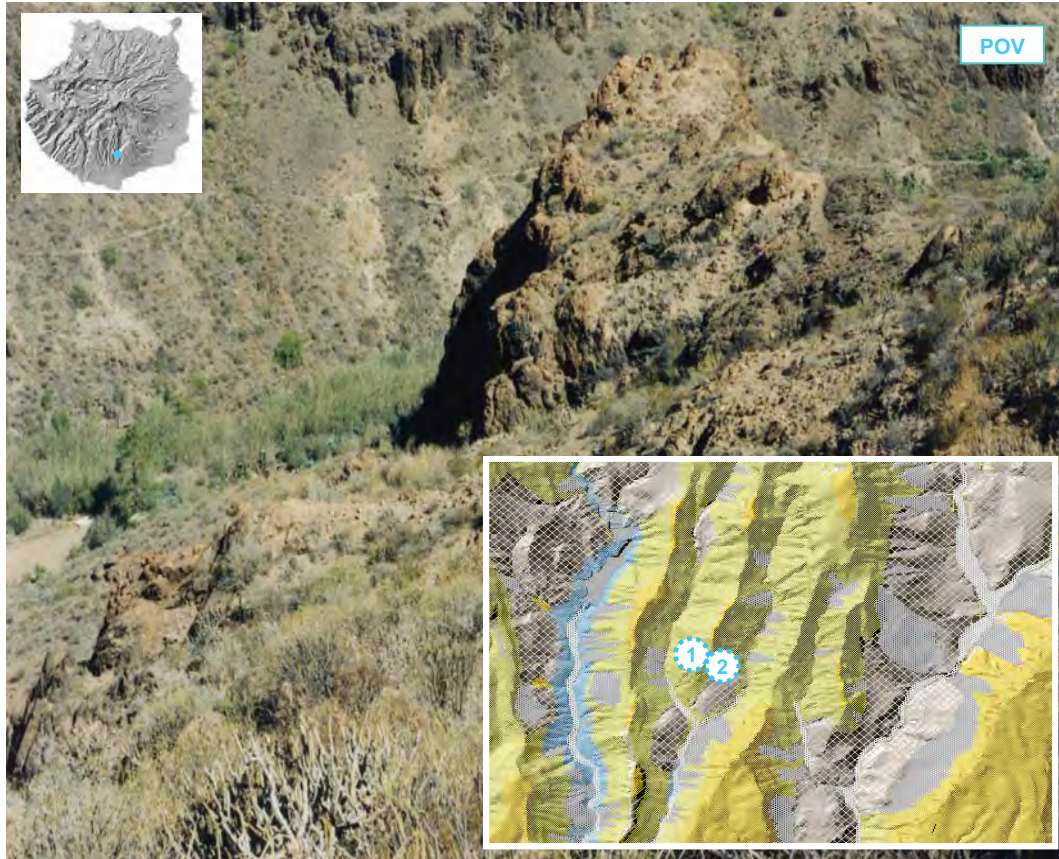
El núcleo 4 fue escogido a unos 150 m de los núcleos 1 y 2, en el se muestrearon 32 individuos. El núcleo 5, a unos 350 m del 4 y con orientación SO, se encuentra a escasos metros de la Presa de La Sorrueda y en el se muestrearon unos 15 individuos. Asimismo, a lo largo del barranco y conectando los núcleos 4 y 5 se muestreó un individuo cada 150 m, con un total de 13 individuos.

3.1.1.4.2. Barranco Los Vicentillos (POV)

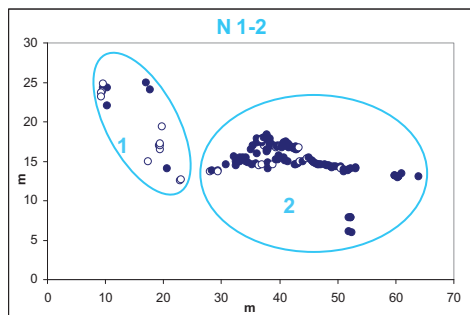
La cuenca de Ayagaures tiene un relieve muy abrupto caracterizado por profundos barrancos (barranco de La Data, Vicentillos, Chamoriscán, etc.) que recortan estrechos interfluvios de morfología muy variada: pequeñas rampas, interfluvios en cresta, cuchillos y morros.

En su origen, esta unidad fue una rampa que ha sido intensamente seccionada y desmantelada. Las culminaciones de los interfluvios actuales testigos de esta antigua estructura, se caracterizan por presentar un escalonamiento altitudinal que permite dilucidar el plano original de la paleorampa (SANTANA & NARANJO, 1992).

- *Sinfitosociología y filosociología*. Piso bioclimático: Inframediterráneo xérico semiárido-inferior. Serie de Vegetación Climatofila: *Aeonium percarnei-Euphorbia canariensis sigmetum* (DEL ARCO *et al.*, 2002; DEL ARCO & RODRÍGUEZ, 2003).



- *Esquema geológico y ciclos de formación*. CICLO I: Formación sálica (Dominio extracaldera): (7) Ignimbritas riolíticas (comencitas y pantelleritas); (13) Fonolitas nefelíticas y traquitas, predominantemente lavas. *Edad geológica*: Mioceno \approx 12.6-8.7 Ma. *Sustrato Geológico*: Ignimbritas y lavas monolítico-traquíticas peralcalinas. Depósitos de deslizamientos gravitacionales. Brechas y materiales epiclásticos (I.T.G.E. 1990d y 1992; GRAFCAN, 2008).



- *Suelo*. Asociación litosol y argid (SANCHEZ DÍAZ, 1975).

- *Inventario y características in situ*. UTM 1x1 visitadas: 28RDR4280. Altitud: 420-480 msm. Altitud media para los perfiles \approx 450 msm. Orientación: S-SO. Censo: \approx 4000 individuos.

Taxones acompañantes más habituales: *Aeonium percarneum*, *Argyranthemum adauctum* subsp. *gracile*, *Campylanthus salsoloides*, *Chamaecytisus proliferus*, *Cistus monspeliensis*, *Crysoprenanthes pendula*, *Descurainia preauxiana*, *Echium decaisnei*, *Euphorbia balsamifera*, *Kickxia scoparia*, *Kleinia neriifolia*, *Lavandula minutolii*, *Limonium preauxi*, *Lobularia canariensis*, *Neochamaelea pulverulenta*, *Plocama pendula*, *Salvia canariensis*, *Sonchus leptcephalus*, etc.

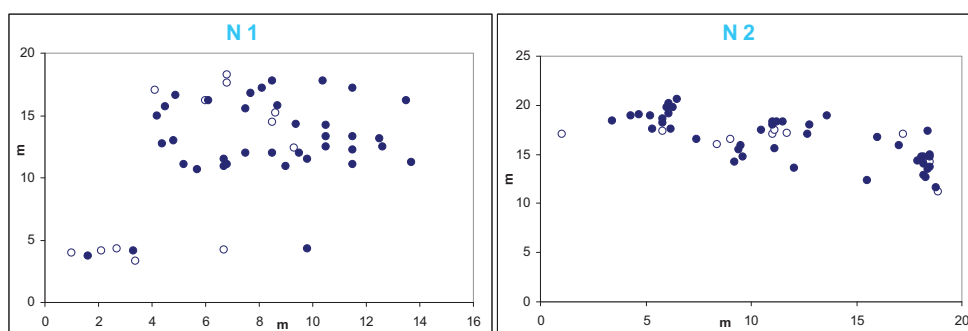
Se eligió el barranco de Los Vicentillos por representar una posición central de la distribución Sur de la especie, que se extiende desde el macizo de Amurga (extremo Este) hasta Montaña la Data (extremo Oeste), pudiéndose observar individuos agrupados en núcleos más o menos separados en las laderas de los barrancos intermedios (Fataga, Los Vicentes, Los Vicentillos y Ayagaures). En esta población se escogieron dos núcleos (ver lámina y gráfica adjunta), en el primero con orientación SO, se muestrearon 18 individuos y, en el segundo a un par de metros del anterior pero con orientación S, se muestrearon 126 individuos.

3.1.1.4.3. Barranco de Mogán (POM)

La cuenca hidrográfica de Mogán, con una superficie de unos 32 km² establece su cabecera fuera de la cumbre central y responde al tipo de cañón continuo largo y con pocos tributarios en su trayecto. Su cabecera dividida en un abanico de colectores, es sin embargo más corta. El cañón tiene paredes muy elevadas y llegan hasta la desembocadura donde, a uno y otro lado de la playa forma morros de más de 100 metros de altura cortados por la acción erosiva del mar. La cota de 100 msm penetra profundamente por el cauce bajo, conservando una pendiente uniforme (BRAVO, 1964).

El suroeste de la isla se caracteriza por la existencia de barrancos lineales de corto recorrido que discurren paralelamente y crean un relieve definido por la alternancia de barrancos de perfil suave: *barranco de Tasartico, Tasarte, Veneguera y Mogán*, y estrechos interfluvios donde se alcanza la verticalidad: Cruz de Mogán, Lomo de Veneguera, Corral de los Molinos y Montaña de Las Lobas. Las cabeceras de los barrancos (que parten del *Macizo de Inagua-Pajonales*) están conectadas por un sistema de degolladas o collados que las comunican entre sí y con el Valle de La Aldea (SANTANA & NARANJO, 1992)

- *Sinfitosociología y Fitosociología*. Piso bioclimático: Inframediterráneo desértico árido. Serie de Vegetación climatófila: *Euphorbion balsamiferae sigmetum* (DEL ARCO *et al.*, 2002; DEL ARCO & RODRÍGUEZ, 2003).

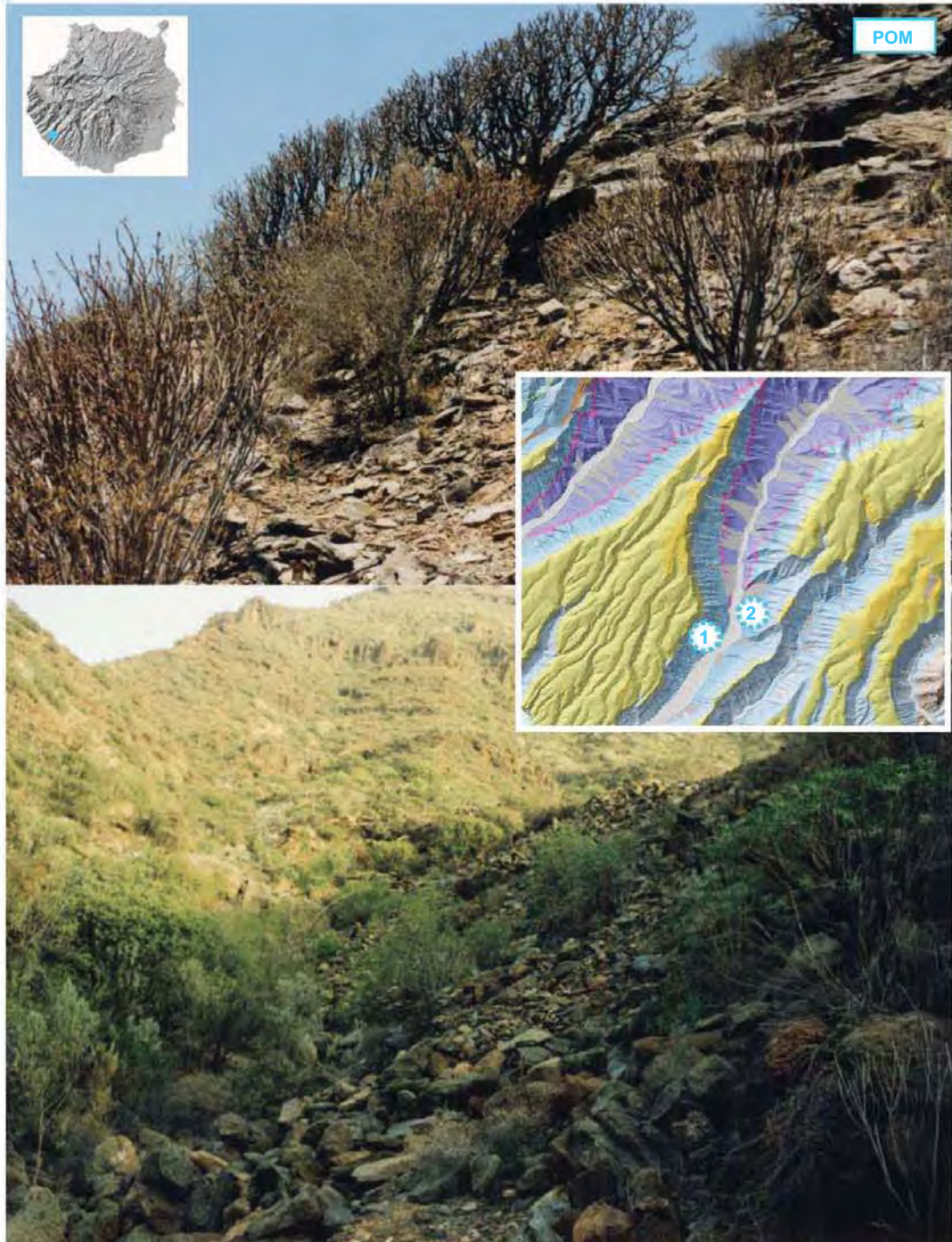


- *Esquema geológico y ciclos de formación*. CICLO I. Formación sálica: (7) Ignimbritas riolíticas (comencitas y pantelleritas) (Dominio extracaldera); formación basáltica (escudo); (1) Lavas y conos de tefrabasálticos alcalinos, olivínicos piroxénicos y hawaííticos indiferenciados; (3) Ignimbritas riolítico: composite flow; (5) Lavas riolíticas. *Edad geológica*: Mioceno ≈ 12-8.7 Ma. *Sustrato Geológico*: Ignimbritas, coladas piroclásticas y coladas riolítico traquíticas peralcalinas. Depósitos y derrubios de laderas y colusiones, a veces con arena fosilífera, conos de deyección con intercalaciones eólicas glacisconos de composición traquítico-fonolítica (I.T.G.E. 1990e, 1992; GRAFCAN, 2008).

- *Suelo*. Haptucalt (SANCHEZ DÍAZ, 1975).

- *Inventario y características in situ*. UTM 1x1 confirmadas: 28RDR2578. Altitud: 55-63 msm. Altitud media para los perfiles ≈ 60 m. Orientación: SO-NE. Censo: ≈ 200 individuos

en 2 núcleos. Taxones acompañantes más habituales: *Argyranthemum filifolium*, *Lavandula canariensis*, *Echium triste*, *Echium decaisnei*, *Euphorbia canariensis*, *Euphorbia rejis-jubae*, *Frankenia cretica*, *Kickxia scoparia*, *Kleinia neriifolia*, *Launea arborescens*, *Neochamaelea pulverulenta*, *Plocama pendula*, *Rubia fruticosa*, *Schizogyne glaberrima*, etc.



En el barranco de Mogán se escogieron dos núcleos distanciados entre sí aproximadamente 1.5 km, en ambas laderas del barranco (ver lámina y gráfica adjunta); en el núcleo 1, con orientación NE se muestrearon 49 individuos, y en el núcleo 2, con orientación SO, 53 individuos.

3.1.2. *Parolinia schizogynoides* Svent.,

3.1.2.1. Descripción original (*Addit. fl. Canar. [post. 23 mayo] 1960: pp. 11-12, lám. 5, 1 fot.*)

Subarbusto de 30-80 cm de altura, compacto, ramoso, raíces alguna vez estolonífero-serpentino. *Ramas* horizontales o erecto-patentes, muchas ramitas. Corteza grisáceo-lutescente, con grietas, en las ramas jóvenes densamente blanco-panoso. *Hojas* aglomeradas en ramitas hacia el ápice; 15-25 mm de longitud, 2-4 mm de ancho; lineares, algo obtusas, ligeramente atenuadas hacia la base, algo crasas, acanaladas, densamente estrellado-blanco-panosas. *Inflorescencia* en racimo simple, erecto, 4-8 cm de longitud.



Parolinia schizogynoides Svent.

Pedicelos iguales a los sépalos. *Yema* subcuadrangular-prismática, truncada. *Sépalos* de 3 mm de longitud, 1 mm de ancho, muy cóncavo con el ápice cuculado, blanco-panoso. *Pétalos* de unos 6mm de longitud, linear-espulados, ápice redondeado de unos 2 mm de ancho, base atenuada, con los sépalos situados hacia la mitad superior, blancos, en la senescencia rosáceas. *Filamentos* de 3 mm de longitud; laterales más cortos que los medios. *Anteras* 1mm de longitud, lanceolado-elípticas, algo obtusas, base cordi-forme. *Ovario* de apenas 1 mm de longitud, estrellado-piloso. *Estilo* corto, glabro. *Estigma* capitado, subplano. *Silicua* (con apéndice) 12-15 mm de longitud, 2-2.5 mm de ancho, recurvada, blanco-tomentosa, dehiscente en el 2º año de maduración, valvas ligeramente agudo-gibosas hacia la base, cara subplana con margen engrosado, 2-3 semillas (raramente 4 semillas), *estilo* seco

recto con corona corta dimidiada, *apéndice* con longitud igual a las valvas, rectos o recurvados, estrechamente divergente-bifurcado o con ápice tridentado. *Semilla* elíptica o redondeada, color castaño, blanca-foveolada, margen blanco-alado (Tabla 6).

Floración: Febrero-Abril. *Fructificación:* Agosto-October.

Habitat: en laderas pedregosas-arcillosas y entre rocas basálticas, lugares soleados, áridos.

Locus classicus: Isla de La Gomera; en la región sur-occidental, Argaga desde 150 a 300 msm, bastante abundante.

P. schizogynoides difiere de *P. ornata* por su menor talla, porte denso, ramoso-compacto; corteza lutescente y además una silicua corta con 2-3 semillas (*P. ornata* tiene 5-8 semillas), apéndice corto dividido en tres dientes (el apéndice de *P. ornata* es profundamente bífido) y semilla elíptica de tamaño doble que las semillas de la otra especie.

3.1.2.2. Estado de conservación

Localmente frecuente en su *locus classicus*, la población se ha mantenido bien en los últimos años aunque pueden verse afectada por un notable incremento de visitantes, al existir un turismo local en pleno desarrollo (SANTOS GUERRA, 1996a). Los individuos, en número relativamente alto se distribuyen en una franja de unos 100 m de ancho (501-1000), la población es continua y presenta un estado de conservación bueno (REYES, 1999).



Categoría de amenaza: Categoría UICN para España Vulnerable (BAÑARES *et al.*, 2003), VU D2 (VVAA, 2000). Se considera que si la población de Alojera está extinguida la especie debería calificarse en la categoría CR (REYES, 1999).

Medidas de conservación: La especie se encuentra incluida en el Anexo I de la Orden de 20 de Febrero de 1991 de la Consejería de Política Territorial del Gobierno de Canarias sobre “protección de especies de la flora vascular de la Comunidad Autónoma de Canarias” (BOC número 35, de 18 de marzo de 1991).

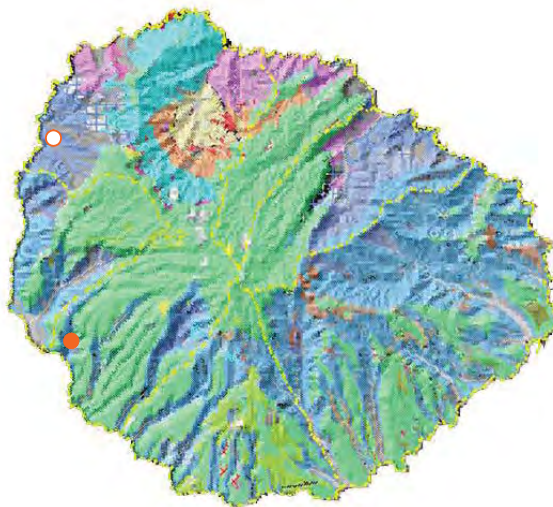
Además se encuentran en el Anexo II de la Directiva Hábitat 92/43/CEE y en el Real Decreto 97/95, 7 de diciembre, donde *Parolinia schizogynoides* es considerada especie prioritaria que justifica la inclusión de algunos sectores del Parque Rural en la Lista de Lugares de Importancia Comunitaria (LIC-ES7020103).

Su población conocida más importante, está dentro del Parque Rural de Valle Gran Rey, según la Ley 12/94, de 19 de Diciembre de Espacios Naturales de Canarias (REYES, 1999) y se ha elaborado el Plan Rector de Uso y Gestión del Parque Rural de Valle Gran Rey, Consejería de Política Territorial del Gobierno de Canarias. Asimismo, el Catálogo de Especies Amezadas de Canarias (CEAC), Decreto 151/2001 de 23 de julio, considera que *Parolinia schizogynoides* es sensible a la alteración del hábitat.

3.1.2.3. Distribución y Corología. Antecedentes

Endemismo gomero, situado en el sector suroccidental de la isla de La Gomera, donde cuenta con dos poblaciones: barranco de Argaga y costa cerca de Alojera-Vallehermoso (REYES, 1999), señaladas en el mapa adjunto.

Se encuentra en lugares abiertos y soleados sobre suelos pedregosos derivados de basaltos (SANTOS GUERRA, 1996) y en laderas abruptas y terraplenes, entre los 100-400 msm, en ambientes alterados del dominio de los cardonales-tabaibales canarios, formando parte de matorrales de sustitución pertenecientes a la asociación *Launaeo arborescentes-Schizogynetum sericeae* Rivas-Martínez de la clase fitosociológica *Pegano harmalae-Salsoletea vermiculatae* Br. Bl. & Bolós (REYES, 1999).



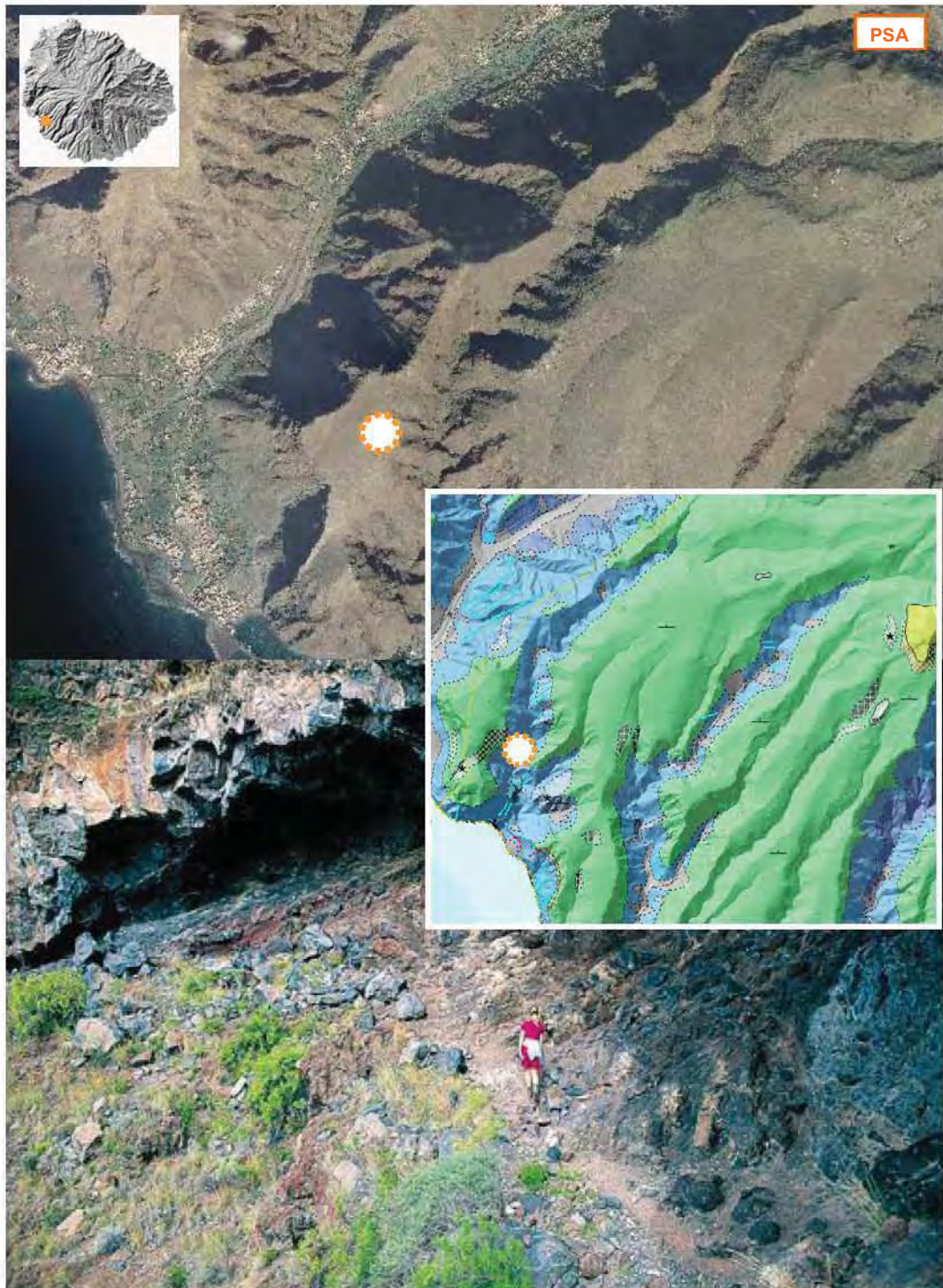
Los antecedentes corológicos citados en BARQUÍN DÍEZ & VOGGENREITER (1988) son: Ceballos Fernández de Córdoba & Ortuño Medina (1976): región del SO de la Gomera, barranco de Argaga, 200-350 m., Alojera; Sventenius (1960); Bramwell (1970). Como antecedentes citogenéticos se citan a Borgen (1969) y Bramwell *et al.* (1972).

Cabe citar las siguientes localidades (coordenadas UTM 1x1) consideradas para la especie (REYES, 1999; BRAMWELL & BRAMWELL, 2001): 28RBS7108, barranco de Argaga; 28RBS1171, costa cerca de Alojera-Vallehermoso.

3.1.2.4. Caracterización del Barranco de Argaga (PSA). Locus classicus

La población se encuentra en el Parque Rural Gran Rey situado en el sector suroccidental de la isla de La Gomera, entre los lomos que encierran los dos barrancos más largos y espectaculares de la isla, el de Valle Gran Rey y el de Argaga, incluyendo además

al norte la escarpada zona de La Mérica-Riscos de Heredia y hacia el sur los acantilados de Las Salinas y el Roque de Iguala.



El barranco de Argaga se localiza al Sur del Parque Rural en una escarpada cuenca de barranco próximo a los acantilados de la desembocadura. Es un profundo barranco de orientación SO excavado en materiales basálticos de sinuoso recorrido, con escarpadas laderas, en las que afloran materiales piroclásticos y lávicos. Las comunidades halorresistentes, más cercanas al mar, dan paso a matorrales crasicuales de *Euphorbia* a

medida que se asciende (Red Natura 2000, DGCN).

Es un barranco de largo recorrido longitudinal (unos 20 Km de longitud total) con restos de niveles de incisión antiguos, correspondientes a las cuencas de Iguala y Argaga, que poseen un desarrollo lineal muy marcado.

Salvo el Complejo Basal, en el Parque Rural de Valle Gran Rey afloran todas las unidades estratigráficas que han participado en la construcción del edificio insular en distintos ciclos de actividad volcánica: las Series Basálticas I y II, y los basaltos horizontales. La construcción de la actual estructura está determinada por el apilamiento de estas tres unidades estratigráficas de características muy distintas, que se encuentran separadas entre sí por superficies de erosión extremadamente irregulares como testimonio de periodos en los que la calma eruptiva dio paso al desmantelamiento de estas estructuras (Plan Rector de Uso y Gestión del Parque Rural de Valle Gran Rey).

- *Sinfitosociología y Fitosociología*. Participa en matorrales de zonas bajas costeras correspondientes a comunidades climácicas de *Kleinio-Euphorbieta canariensis* (Rivas Goday & Esteve, 1965) Santos 1976, cardonal-tabaibal (SANTOS GUERRA, 1996); *Launaea arborescentes-Schizogynetum sericeae* Rivas-Martinez *et al.* (REYES, 1999).

- *Esquema geológico y ciclos de formación*. Acantilados abruptos de origen monolítico (REYES, 1999). Colada basáltica con basaltos sálicos y básicos antiguos. *Edad geológica*: Mioceno ≈ 8-6 Ma (GRAFCAN, 2008).

- *Suelo*. Derrubios pedregosos (REYES, 1999), suelos minerales brutos (Plan Rector de Uso y Gestión).

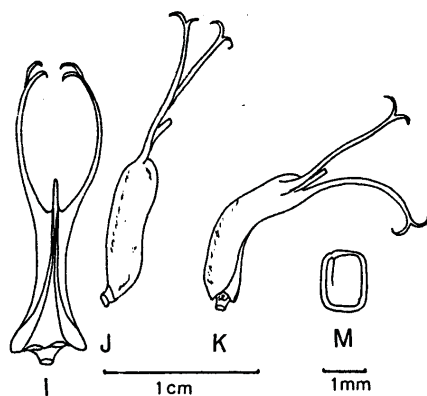
- *Inventario y características in situ*. UTM 1x1 visitada: 28RBS7108. Altitud: 100-400 msm. Orientación: E. Censo: ≈ 800 individuos. Taxones acompañantes más habituales: *Aeonium decorum*, *Argyranthemum frutescens*, *Cenchrus ciliaris*, *Echium aculeatum*, *Gonospermum fruticosum*, *Hyparrhenia hirta*, *Kleinia neriifolia*, *Launaea arborescens*, *Neochamaelea pulverulenta*, *Periploca laevigata*, *Plocama pendula*, *Rumex lunaria*, *Schizogyne sericea*, *Volutaria canariensis*, *Wahlenbergia lobelioides*, etc.

En esta población no se han diferenciado núcleos poblacionales (ver lámina adjunta), muestreándose un total de 100 individuos.

3.1.3. *Parolinia intermedia* Svent. & Bramwell

3.1.3.1. Descripción original (Bot. Notiser.123: 3, 16 octubre 1970: pp.398-399, figs. 2 I-M, 3)

Arbusto ramoso de 130 (-200) cm de altura. Ramas erectas, cortex ceniciento, denso



blanco-panoso, especialmente en ramas jóvenes. Hojas alternas, lineares, algo crasas, 3-6 cm de longitud y 2 mm de ancho, densamente estrellado-panosas, con base atenuada, ápice obtuso, hojas jóvenes acanaladas. Inflorescencias en racimo simple, erecta, 8-15 cm de longitud. Sépalo lanceolado, de 3 mm de longitud y 1mm de ancho, blanco-panoso, ápice obtuso. Pétalo ancho, espatulado, generalmente rosa, raro blanco; 7-8 mm de longitud y 2-2.5 mm de ancho; ápice algo obtuso. Filamento de 2-3 mm de longitud, más estrecho en el ápice.

Antera de 1.5 mm de longitud, triangulares, obtusas con la base cordiforme. Estigma capitado, subplano. Ovario de 1.5 mm de longitud, grácil. Silicua de 1.8 cm de longitud (apéndice incluido), recurvada, blanco-tomentosa; valvas con base gibosa, 4-

5 semillas. *Apéndices* con longitud igual a las valvas, generalmente algo curvados, con ápice profundamente bifurcado. *Semilla* subcuadrada, color castaño, margen alado-escarioso (Tabla 6).

Floración en Marzo-Mayo. *Fructificación* en verano.



Holotypus: isla de Tenerife, región septentrional-occidental entre laderas rocosas, Punta de Teno, 24 de Abril de 1969, BRAMWELL & SVENTENIUS 1453 (RNG).

Habitat: la especie se encuentra en el promontorio del oeste de Tenerife en laderas rocosas y secas, encaradas hacia el NO donde la roca base es Basalto del Terciario con una cubierta de rocas volcánicas más recientes. Es abundante entre los 50 y 200 m en

asociación con *Euphorbia canariensis*, *Rubia fruticosa*, *Neochamaelea pulverulenta* y *Convolvulus scoparius*l.

P. intermedia es morfológicamente intermedia entre las otras dos especies descritas del género, *P. ornata* y *P. schizogynoides*, su hábito robusto, pétalos anchos espatulados, silicuas de 2 cm de largo, curvada y ensanchada en la base, con 4-5 semillas y semilla angular, casi cuadrada.

3.1.3.2. Estado de conservación

La especie se distribuye por pequeñas áreas un tanto disyuntas pero localmente no es escasa. Parece obvio, sin embargo que la proximidad de núcleos de población rurales, la construcción de urbanizaciones residenciales y turísticas, el trazado de pistas y carreteras, la actividad pastoril y la transformación en terrenos de cultivo de sus áreas naturales, han reducido notablemente sus poblaciones (GARCÍA GALLO & WILDPRET DE LA TORRE, 1996).

Categoría de amenaza:

Categoría UICN para España:
Vulnerable (BAÑARES *et al.*, 2003), VU D2 (VVAA, 2000).

Medidas de conservación:

La especie se encuentra incluida en el Anexo II de la Orden de 20 de Febrero de 1991 de la Consejería de Política Territorial del Gobierno de Canarias sobre “protección de especies de la flora vascular de la Comunidad Autónoma de Canarias” (BOC número 35, de 18 de marzo de 1991).

Dos de sus poblaciones están incluidas en espacios protegidos: Parque Rural de Teno y Monumento Natural de la Montaña de Guaza según ley 12/1994 de 19 de diciembre de Espacios Naturales de Canarias. Asimismo, en el Catálogo Regional de Especies Amenazadas de Canarias aparece *Parolinia intermedia* en la categoría de especies “Sensibles a la alteración de su Hábitat”. Anexo II, protección LIC.



3.1.3.3. Distribución y Corología. Antecedentes

Endemismo de la isla de Tenerife, situado en el sector oeste de la isla (de N a S), donde se encuentran varias poblaciones (ver mapa adjunto donde se muestra su corología y se señalan en color amarillo relleno las poblaciones analizadas). Habita en la región de Teno (Buenavista), Chio y Playa de Santiago (Guía de Isora) y Montaña de Guaza (Arona), entre 50 y 400 m de altitud (GARCÍA GALLO & WILDPRET DE LA TORRE, 1996).

Como antecedentes corológicos en BARQUÍN DÍEZ & VOGGENREITER (1988) se citan: Sventenius (1948); Bramwell (1970, 1971); Ceballos Fernández de Córdoba & Ortuño Medina, (1976): Punta de Teno, 50-200 m., zonas xerofíticas de Chio y Playa Santiago; Lüpnitz (1981), Feige (1985); Franke (1985); Feige *et al.* (1987); Kunkel (1991): Punta de Teno, 50-200 m., zonas xerofíticas de Chio y Playa Santiago.

Cabe citar las siguientes localidades UTM 1x1 consideradas para la especie (GARCÍA GALLO & WILDPRET DE LA TORRE, 1996; BRAMWELL & BRAMWELL, 2001): 28RCS1238: Punta de Teno; 28RCS3203-28RCS3304: Montaña de Guaza; 28RCS2712: Armeñime, Adeje; por debajo de Chio, en laderas secas del Suroeste, 300m.

3.1.3.4. Caracterización de las poblaciones estudiadas

En la elección de poblaciones se ha tenido en cuenta la distribución de la especie, representando tanto los extremos como la zona intermedia. De las tres poblaciones elegidas para este estudio, el Macizo de Teno (PIT) y la montaña de Guaza (PIG) representan los dos extremos de su área de distribución y *Armeñime de Adeje* (PIA) una situación intermedia.

3.1.3.4.1. Macizo de Teno (PIT). *Locus classicus*

El macizo de Teno, catalogado como Parque Rural, está situado en el extremo NO de la isla de Tenerife y posee una flora muy rica e interesante con muchas especies endémicas y relícticas. La Punta de Teno, donde se sitúa la población, es un área amplia formada por una plataforma costera de origen Cuaternario bastante reciente, más o menos plana, de lapilli, desmoronamientos y rocalla volcánica que se extiende desde el nivel del mar hasta casi 100 msm y bordeada al este y sur por montañas de basalto Terciario antiguo que se elevan unos 700 msm (BRAMWELL, 1971).

Geológicamente, los materiales del macizo de Teno corresponden a la serie I basáltica inferior. Durante el mioceno la erosión ha actuado de forma ininterrumpida, determinando una topografía fuertemente accidentada, dando lugar a profundos barrancos y acantilados. Hay numerosos volcanes de la serie III o subreciente y volcanes históricos como el de Montaña Negra y el Chinyero. La vegetación actual se corresponde, en su piso basal, con comunidades de cardonal-tabaibal donde se sitúa la especie (EUNIS Database 2, 2005).

- *Sinfitosociología y Fitosociología*. Hábitat Principal: sobre laderas secas y rocosas, donde la roca base consiste en basaltos terciarios cubiertos con coladas volcánicas más recientes; en asociación con *Eurphorbia canariensis*, *Rubia frutitcosa*, *Neochamaelea pulverulenta* y *Convolvulus scoparius*.

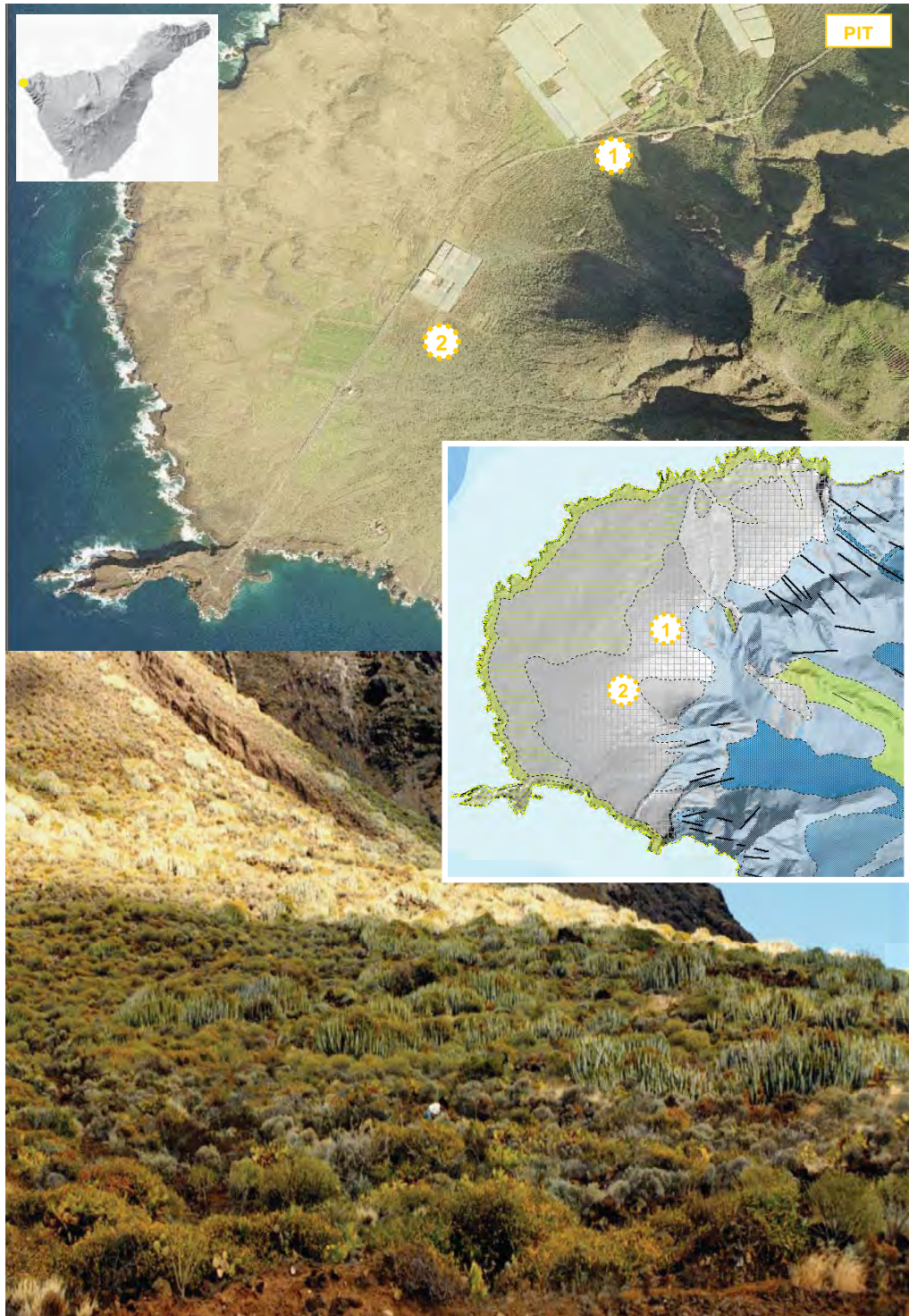
Esta asociación está estrechamente relacionada con la *Rubio-Euphorbetum* descrita por Rivas & Esteve para Gran Canaria, pero aquí está caracterizada por *Ceropegia dichotoma* un endemismo de tallo suculento casi sin hojas que ocupa una posición dominante en la vegetación de la parte Este de la plataforma costera. Las siguientes especies se encuentran comúnmente en asociación en esta área: *Ceropegia dichotoma*, *Euphorbia aphylla*, *Euphorbia balsamifera*, *E. regis-jubae*, *E. atropurpurea*, *E. canariensis*, *Neochamaelea pulverulenta*, *Echium aculeatum*, *Justicia hyssopifolia*, *Rubia fruticosa*, *Ceballosia fruticosa* subsp. *angustifolia*, *Withania aristata*, *Limonium pectinatum* var. *solandri*, *Sideritis argosphacelus*, *S. nervosa*, *Pallenis spinosa*, *Launaea arborecens*, etc.

- *Esquema geológico y ciclos de formación*. *Sustrato Geológico*: Depósitos de laderas indiferenciadas: Material básico reciente de la Serie III. *Edad geológica*: Cuaternario ≈ 500 000 años (GRAFCAN, 2008).

- *Suelo*: marrones (Gobierno de Canarias).

- *Inventario y características in situ*. UTM 1x1 visitadas: 28RCS1238. Altitud: 50-200 msm. Altitud media para los perfiles ≈ 140 m. Orientación: NO. Censo: ≈ 30000 individuos.

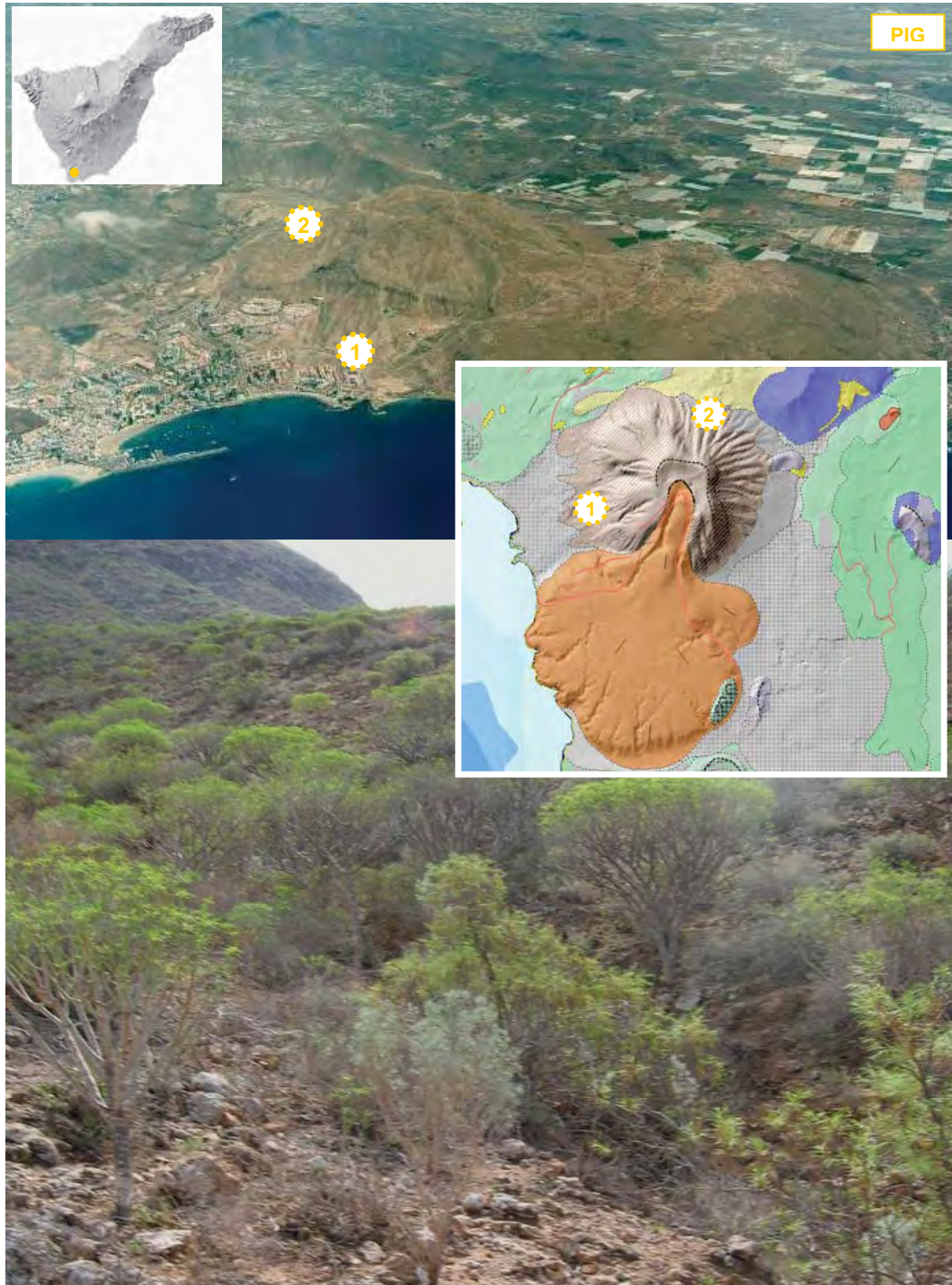
Taxones acompañantes más habituales: *Euphorbia canariensis*, *Hyparrhenia hirta*, *Ceballosia fruticosa*, *Neochamaelea pulverulenta*, *Plocama pendula*, *Periploca laevigata*, *Rubia fruticosa*, *Schizogyne sericea*, *Sonchus arboreus*, etc.



En esta población se escogieron dos núcleos con orientación N-NO y separados entre sí unos 500 m (ver lámina adjunta), donde se muestrearon unos 100 individuos (50 en cada núcleo).

3.1.3.4.2. Montaña de Guaza (PIG)

Esta población previamente identificada por Wildprett como *P. ornata*, ha sido asignada en este estudio a *P. intermedia* teniendo en cuenta sus características morfológicas.



La Montaña de Guaza forma parte de una alineación de domos sálicos en dirección NE, con unas edades ligeramente superiores al medio millón de años y consideradas como manifestaciones adventicias del estratovolcán Cañadas. De ellos, con mucho, Guaza es el mejor conservado, constituyendo el mejor ejemplo en Tenerife de un conodomo con formación de colada.

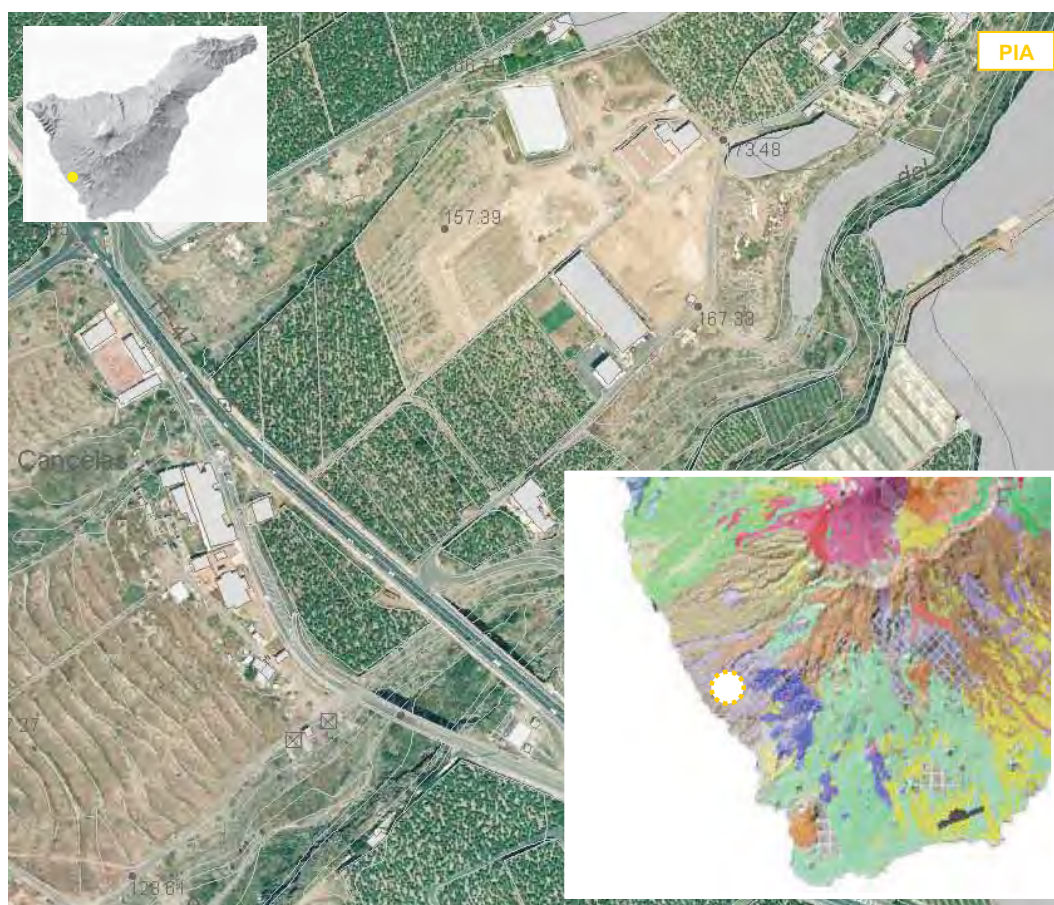
El conjunto formado por la Montaña de Guaza y las Mesas de Guaza corresponde a un único fenómeno eruptivo que originó la formación de un conodomo, la montaña de Guaza, que emitió diversas coladas, la última de las cuales forma las Mesas de Guaza, con un espesor de más de 100 m. Se trata de una formación de naturaleza traquítico-fonolítica, de unos 670.000 años de antigüedad.

- *Sinfitosociología y Fitosociología. Ceropegia fuscae-Euphorbietum balsamiferae* (Normas de Conservación del Monumento Natural de la Montaña de Guaza- Gobierno de Canarias, 2000)

- *Esquema geológico y ciclos de formación. Sustrato Geológico:* Tobas y brechas sálicas recientes. *Edad geológica:* Cuaternario \approx 670 000 años (GRAFCAN, 2008).

- *Suelo.* Litosoles de erosión y suelos carbonatados de poco espesor y muy pedregosos, Torriorhtents y Haplocalcids (Normas de Conservación).

- *Inventario y características in situ.* UTM 1x1 visitadas: 28RCS3203 - 28RCS3304. Altitud: 100-150 msm. Altitud media para los perfiles \approx 125 m. Orientación: SO y N. Censo: \approx 5000 individuos. Taxones acompañantes más habituales: *Echium bonnetii*, *Echium triste*, *Euphorbia balsamifera*, *E. canariensis*, *Frankenia ericifolia*, *Kleinia neriifolia*, *Lotus sessilifolius*, *Plocama pendula*, *Schizogyne sericea*, etc. En esta población se escogieron dos núcleos (ver lámina adjunta), en el primero de ellos con orientación SO, se muestrearon 5 individuos y, en el segundo, con orientación N unos 50 individuos.



3.1.3.4.3. Armeñime de Adeje (PIA)

Esta pequeña población situada en el municipio de Adeje, se encuentra en un hábitat sumamente alterado donde los individuos están rodeados de plantaciones de plataneras,

con edificaciones a menos de 50m y la construcción de un hotel a unos 100 m de la misma.

- *Esquema geológico y ciclos de formación. Sustrato Geológico:* Traquibasaltos intermedios de Adeje y bandas de sur con piroclastos intercalados. Cañadas serie II: sálca: traquitas y fonolíticas. *Edad geológica:* Cuaternario \approx 800 000 años (GRAFCAN, 2008).

- *Suelo:* marrones (GRAFCAN).

- *Inventario y características in situ.* UTM 1x1 visitadas: 28RCS2712. Altitud: 150 msm. Orientación: SO. Censo: \approx 150 individuos. Taxones acompañantes más habituales: *Echium triste*, *Euphorbia canariensis*, *Plocama pendula*, *Schizogyne sericea*, etc.

En esta población se muestrearon unos 30 individuos.

3.1.4. *Parolinia platypetala* Kunkel

3.1.4.1. Descripción original (Cuad. Botánica Canaria 23-24, 6 marzo 1975: p.63, figs. 1, 3)

Arbusto de 1.5 m de altura, tallo recto, ramoso en la mitad superior. *Ramas*



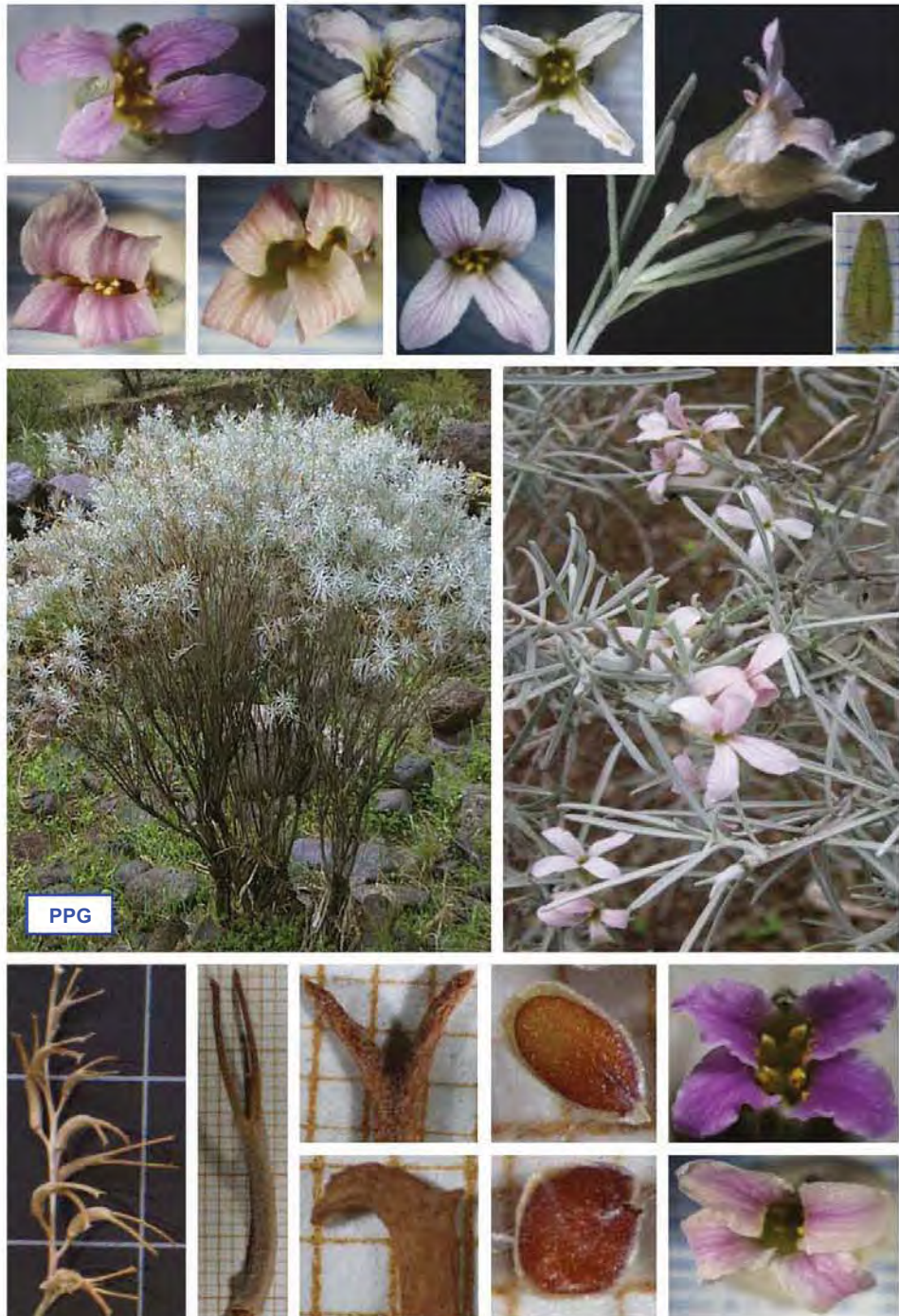
ascendentes o subrectas, gráciles, con hojas hacia el ápice, primero incano-tomentosas, después marrón oscura y glabras. *Hojas* numerosas, ascendentes, linear o estrechamente oblanceoladas, sésiles, ápice ligeramente agudo, de 13-40 mm de longitud, 0.5-2 mm de ancho, haz acanalado, incano-tomentosa con pelos pequeños estrellados densamente dispuestos. *Inflorescencias* en racimos terminales o subterminales, de 5cm de longitud en estado de fructificación, con 6-10 flores agregadas; *pedicelo* de 2.5-4 mm de longitud. *Cáliz* de 8 mm de longitud, incano-tomentoso, yema estrechamente cónica y con costillas. *Sépalos* oblongo-lineares, obtusos, 1.5 mm de ancho, margen escarioso. *Pétalos* largamente unguiculados, espatulados, de 13-15 mm de longitud, lámina rosada en la base con márgenes venosos irregularmente crenulados de 5 mm

de ancho. *Silicua* de 10-12 mm de longitud, incano-tomentosa. *Estilo* persistente elongado lignificado de 2 mm de longitud, coronado. Ápice de la *valva* con cuerno de 10 mm de longitud, con ápice brevemente bilobado alargado. *Semillas* 4-8, planas castaño, 1.5 mm de longitud, 1 mm de ancho, rodeadas de ala hialina estrecha (Tabla 6).

Floración: de diciembre a marzo o abril.

Holotipus: Kunkel 14444 (BM), 15-12-1971. Gran Canaria, barranco de Guayadeque, 600m; en riscos poco accesibles. Aún frecuente en esta localidad.

Esta especie se distingue de *P.ornata* por sus pétalos espatulados y más largos que en ésta, por los frutos angostos y más largos, menos tomentosos, por la forma y tamaño del cáliz, y por el follaje corto, densamente dispuesto en situación más o menos terminal.



Hábitat: cita a STEARN (1972), crece sobre laderas expuestas al sur junto a a *Kunkeliella canariensis*, otras especies acompañantes son: *Teline microphylla*, *Lavandula minutolii*, *Aeonium percarneum*, *Micromeria varia*, *Descurainia preauxiana*, *Rumex lunaria*, *Bupleurum salicifolium*, *Euphorbia regis-jubae*, *Artemisia canariensis*, *Campylanthus salsoloides*, *Allagappus dichotomus*, *Carlina canariensis*, *Echium decaisnei*, etc.

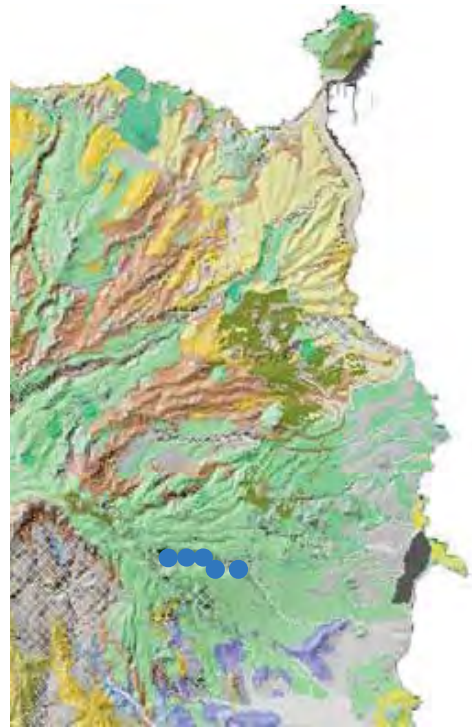
Posteriormente KUNKEL (1979) diferencia esta especie de *P. ornata* sobre todo por su tronco (y ramas) parduscos, sus hojas más cortas y densamente dispuestas, sus pétalos anchos y sus frutos angostos, aunque observa en algunos individuos que la forma de los pétalos demuestra cierta semejanza con los de *P. ornata*.

3.1.4.2. Estado de conservación

Esta especie ha sido sometida a estudio bajo el marco del *Atlas y Libro Rojo de la Flora Vascular Amenazada de España* (FERNÁNDEZ-PALACIOS, VILCHES & ORTEGA, 2003). Se distribuye a lo largo de unos 5 km principalmente en la ladera con orientación SO y cuenta con unos 45.000 individuos. A pesar de las medidas de protección, el estado de conservación de la especie es preocupante por la realización de obras y transformación de cursos de agua que originan la reducción del número de efectivos; asimismo, la zona soporta una alta presión de visitantes y las plantas son habitualmente recolectadas por pastores.

Categoría de amenaza: Categoría UICN para España CR B2ab (ii, iii) (FERNÁNDEZ-PALACIOS, VILCHES & ORTEGA, 2003).

Medidas de conservación: La especie se encuentra incluida en el Anexo II de la Orden de 20 de Febrero de 1991 de la Consejería de Política Territorial del Gobierno de Canarias sobre "protección de especies de la flora vasculare de la Comunidad Autónoma de Canarias" (BOC número 35, de 18 de marzo de 1991). La población está incluida en el Monumento Natural del Barranco de Guayadeque (LIC-ES7010041) y su hábitat está registrado en la Directiva 92/43/CEE.



3.1.4.3. Distribución y Corología. Antecedentes.

Endemismo del SE de la isla de Gran Canaria donde cuenta con una sólo población en el Barranco de Guayadeque, entre los términos municipales de Ingenio y Agüimes (ver mapa adjunto).

Como antecedentes corológicos en BARQUÍN DÍEZ & VOGGENREITER (1988) se cita a Kunkel (1975, 1977 y 1979).

Cabe citar las siguientes coordenadas UTM 1x1 consideradas para la especie (FERNÁNDEZ-PALACIOS, VILCHES & ORTEGA, 2003): 28RDR4990-28RDR5090-28RDR5190-28RDR5290-28RDR5298-28RDR5389-28RDR5390-28RDR5489-28RDR5488-28RDR5501.

3.1.4.4. Caracterización de la población: Barranco de Guayadeque (PPG). Locus classicus.

La cuenca de Guayadeque es un caso especial entre los barrancos de Gran Canaria. Es una estrecha franja de tierra desde la cumbre al mar.

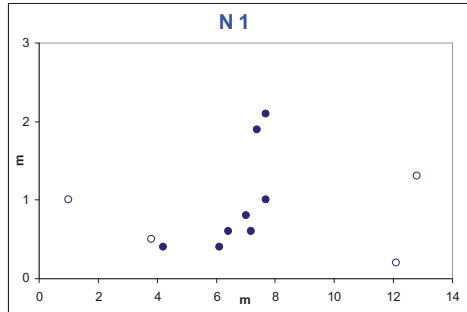
Nace en el macizo central en la cota 1900 msm, casi la más elevada de la isla, y sin embargo su superficie colectora, contando sus cauces superior, medio e inferior no pasa de

los 30 km². La anchura media de su cuenca llega sólo a los 2000 m pero, en cambio su cauce medio, es un cañón de paredes verticales de más de 400 m de altura. Apenas tiene un par de tributarios. Otra particularidad que presenta este barranco es la barrera de montañas que le cierra el paso hacia el mar formada por la Montaña de Agüimes y el Morro de Ávila (BRAVO, 1964).



Este barranco, cuya longitud es de ≈ 20 km, es geomorfológicamente un cauce incidido muy encajado, con carácter general, en coladas basálticas recientes, de la serie II (5.3-2.9 millones de años) salvo un pequeño tramo en la margen derecha de su curso bajo, donde

afloran basaltos del primer episodio volcánico de Gran Canaria de la formación fonolítica-traquítica (I.T.G.E., 1992). El barranco constituye una unidad geomorfológica bien definida como barranco abrupto encajado en materiales antiguos, de paredes escarpadas, densa red

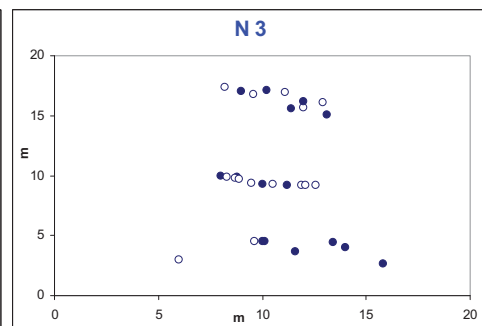
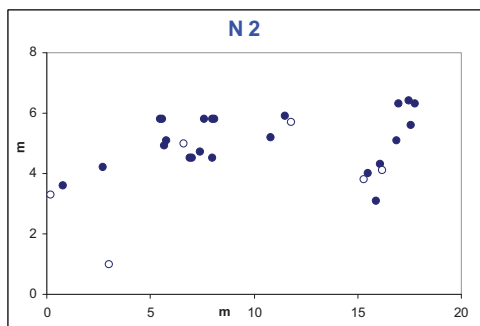


de diques y huellas evidentes de procesos erosivos que le han dado, con el paso del tiempo, su característico perfil (Gobierno de Canarias, 2005).

- *Sinfitosociología y fitosociología*. Cinturón bioclimático Infra-mediterráneo desértico árido. Termomediterráneo xérico semiárido-superior: *Euphorbietum balsamiferae*. *Pistacio-Oleo cerasiformis sigmetum* (DEL ARCO *et al.*, 2002;

DEL ARCO & RODRÍGUEZ, 2003).

- *Esquema geológico y ciclos de formación*. Ciclo III Post-Roque Nublo: (29) Lavas, conos de tetras, maars y "fallout" basanítico. Presencia de lavas fonolítico-traquíticas (13) del Ciclo I en los sondeos para alumbramiento de aguas e intercalaciones de tobas piroclásticas del Ciclo II. *Edad geológica*: Plioceno y Pleistoceno \approx 2.9-0.6 Ma. *Sustrato Geológico*: Lavas y conos de tefras basaníticos, basálticos alcalinos brechas ricas en líticas y locamente ignimbritas (I.T.G.E., 1990g y 1992; GRAFCAN, 2008).



- *Suelo*: Asociación litosol y ochrept (SANCHEZ DÍAZ, 1975).

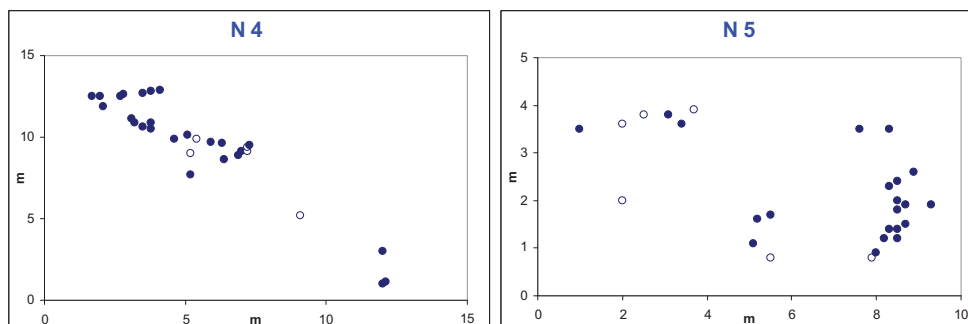
- *Inventario y características in situ*. UTM 1x1 visitadas: 28RDR4990-28RDR5090-28RDR5190-28RDR5290-28RDR5298-28RDR5389-28RDR5390-28RDR5489-28RDR5488-28RDR5501. Altitud: 350 (N1) - 800 msm (N5). Altitud media para los perfiles \approx 578 m. Orientación: SO. Censo: 46.693 individuos. Taxones acompañantes más habituales: *Asparagus* sp., *Aeonium percanium*, *Kunkeliella canariensis*, *Allagopappus dichotomus*, *Artemisia canariensis*, *Bupleurum salicifolium*, *Bryonia verrucosa*, *Campylanthus salsoloides*, *Carlina canariensis*, *Crambe pritzellii*, *Descurainia preauxiana*, *Echium decaisnei*, *Euphorbia balsamifera*, *Ferula linkii*, *Forsskahlea angustifolia*, *Kickxia scoparia*, *K. pendula*, *Kleinia neriifolia*, *Lavandula canariensis*, *Lavatera acerifolia*, *Lobularia canariensis*, *Marcetella moquiniana*, *Paronychia canariensis*, *Rumex lunaria*, *Salvia canariensis*, *Sonchus leptocephalus*, etc.

La especie se distribuye a lo largo de unos 5 km principalmente en la ladera con orientación SO, siendo anecdótica su presencia en la otra ladera. En la elección de los núcleos se ha tenido en cuenta su espectro de distribución, representando tanto los extremos como la zona intermedia, así como diferentes altitudes.

Para la recolección de material y para las observaciones fenológicas se eligieron cinco núcleos representativos de la población, el núcleo 1 situado en el cauce del barranco y los

núcleos 2 a 5 en la ladera con orientación SO (ver lámina y gráficas adjuntas).

En el núcleo 1 a unos 400 msm se muestrearon 12 individuos; en el núcleo 2 (600 msm) situado a unos 2.2 km del núcleo 1, se muestrearon 29 individuos; en el núcleo 3



(700msm y a 3.3km del núcleo 1) se muestrearon 30 individuos; en los núcleos 4 y 5 situados a unos 800 msm y distantes 4.7 y 5.1 km del núcleo 1, se mostraron 30 y 27 individuos respectivamente.

3.1.5. *Parolinia filifolia* Kunkel

3.1.5.1. Descripción original (Cuad. Botánica Canaria 23-24, 6 mar 1975: pp.63-65, figs. 2,3)

Arbusto de hasta 2.5 m de altura, tronco por encima de 1m de alto con corteza



158 - *Parolinia filifolia* - Dama

grisáceo-marrón. Ramas erectas, primero blanquecinas, gráciles, con muchas hojas hacia el ápice, en la madurez glabras. Hojas numerosas, generalmente erectas, filiformes, ápice obtuso, 8-15 (raro 20) mm de longitud, 0.8-1 mm de ancho, haz ligeramente acanalado, incano-tomentosas con pelos pequeños estrellados densamente dispuestos. Flores 2-3, terminales, erectas; pedicelo de 2-4 mm de longitud. Cáliz de 5 mm de longitud, verde pero cubierto de pelos estrellados, yema estrechamente oblonga. Sépalos oblongo-lineares, obtusos, de 0.5 mm de ancho, margen escarioso. Pétalo largamente unguiculado, de 10-12 mm de longitud, láminas blancas oblanceoladas ligeramente venosas, de 1.2 mm de ancho. Silicua de 8 mm de longitud, marrón pálido, recta o ligeramente curvada. Estilo persistente alargado lignificado de 1.5-3 mm de longitud. Ápice de la valva en cuerno

alargado de hasta 7 mm de longitud, punta brevemente bifida ensanchada. Semillas 3-5, color castaño (Tabla 6).

Floración: de diciembre a marzo o abril.

Holotypus: Kunkel 16129 (BM), 25-1-1974. Gran Canaria, barranco de Siberio, 550 m. en riscos y laderas. Bastante rara; solamente se observaron unos 50 ejemplares.



Hábitat: crece en riscos y laderas rocosas. La especie pertenece a una formación semixerofítica compuesta por: *Euphorbia obtusifolia*, *Echium decaisnei*, *Neochamaelea pulverulenta*, *Allagopappus viscosissimus*, *Lavandula minutolii*, *Chamaecytisus proliferus*, *Micromeria varia s.lat.*, *Rubia fruticosa*, *Aeonium percanium*, etc.

Especie parecida a *P.schizogynoides* de la cual se distingue por tamaño y ramificación, por sus hojas filiformes, sus pétalos agudos, y por la forma de sus frutos. Se distingue de

P.ornata y *P.platypetala* sobre todo por su hábito subarbóreo, sus flores pequeñas y sus hojas cortas (KUNKEL, 1979).

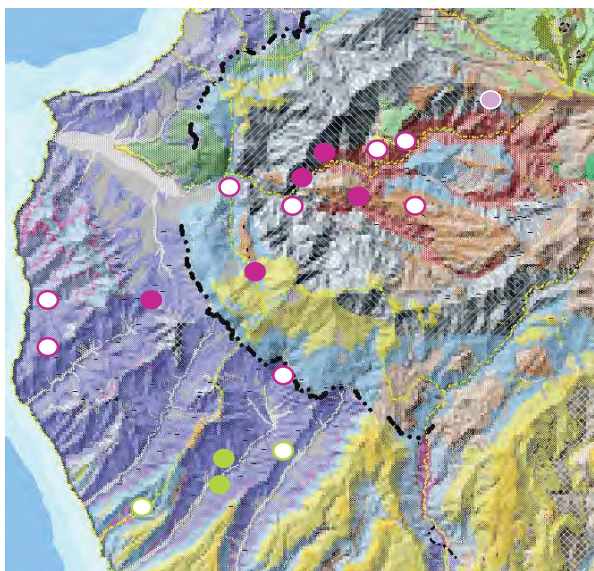
3.1.5.2. Estado de conservación

Esta especie ha sido sometida a estudio bajo el marco del *Atlas y Libro Rojo de la Flora Vascular amenazada de España* (FERNÁNDEZ-PALACIOS, 2003). Las poblaciones sufren reducción y fragmentación por transformación de cursos de agua, además de existir una fuerte competencia con *Pennisetum setaceum* en su área de distribución.

Categoría de amenaza: Categoría UICN para España, EN B 2ab (ii, iii) c (ii) C2b (FERNÁNDEZ-PALACIOS, 2003).

Medidas de conservación: La especie se encuentra incluida en el Anexo II de la Orden de 20 de Febrero de 1991 de la Consejería de Política Territorial del Gobierno de Canarias sobre “protección de especies de la flora vasculare de la Comunidad Autónoma de Canarias” (BOC número 35, de 18 de marzo de 1991).

Sus poblaciones se encuentran dentro de Espacios Naturales protegidos y Lugares de Importancia Comunitaria (LIC), incluidos en la Reserva de la Biosfera: Reserva Natural Integral de Inagua (LIC-ES0000041), Reserva Natural de Güi-Güi (LIC-ES7010025) y Parque Rural del Nublo (LIC-ES70100063-ES-7010039). Su hábitat se encuentra registrado en la Directiva 92/43/CEE.



3.1.5.3. Distribución y Corología Antecedentes

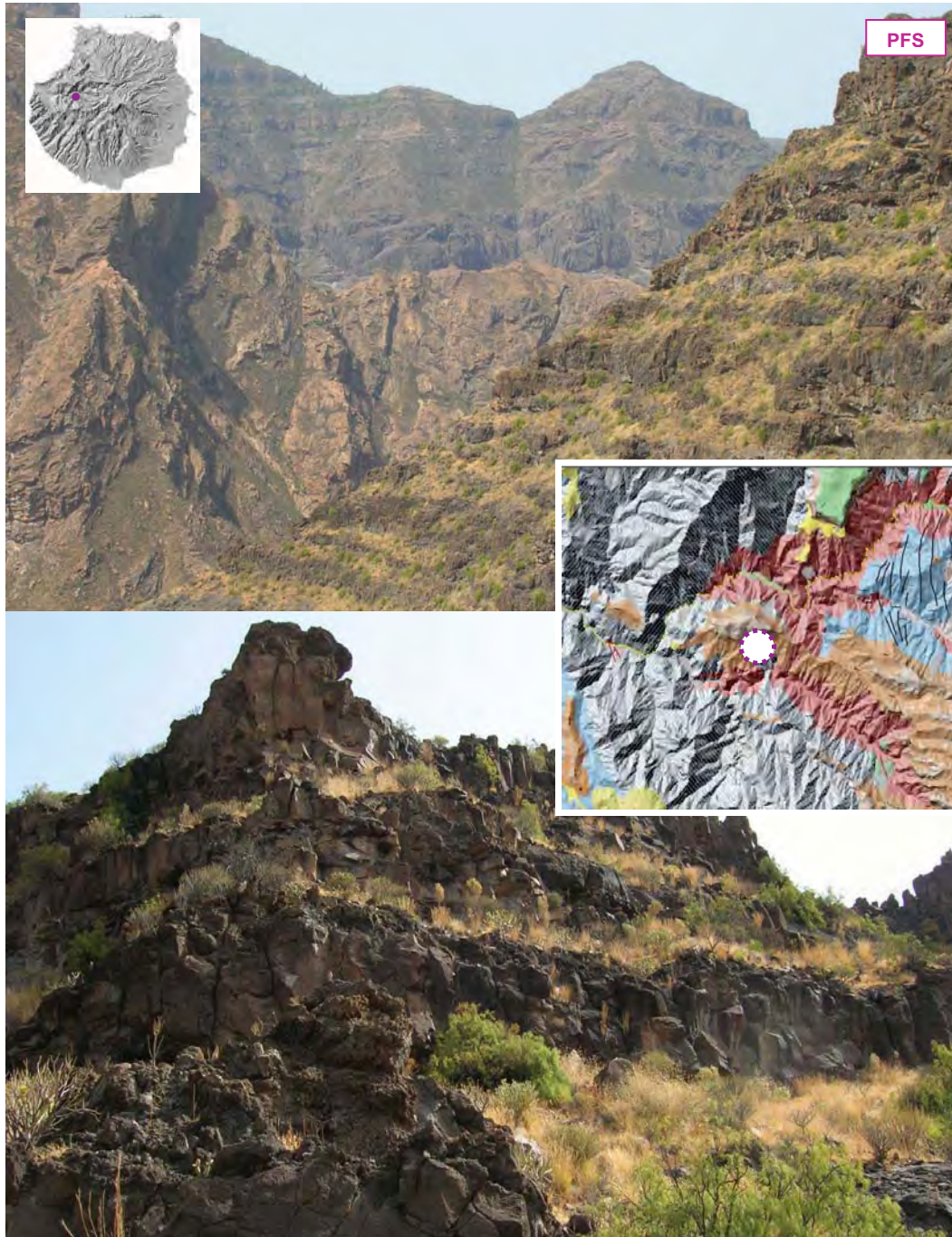
Endemismo de Gran Canaria distribuido por la región Oeste de la isla en los Municipios de San Nicolás de Tolentino y Tejeda: Barranco de Siberio, Barranco de Tejeda-La Aldea, Barranco de Pino Gordo, Degollada de Tasartico, etc. (ver mapa adjunto donde se muestra su corología y se señalan en color violeta relleno las poblaciones analizadas).

Como antecedentes corológicos se citan en BARQUÍN DÍEZ & VOGGENREITER (1988): Kunkel (1975 y 1979) y Maya, Monzón & Ponce (1988).

Cabe destacar las siguientes localidades consideradas para la especie (Base datos JBCVC y M. Soto comunicación personal): 28RDR2290: Degollada de Tasartico, 625 m., N (Inventario 56, realizado el 07/10/1999: Navarro *et al.*); 28RDR2391: Degollada de Tasartico (Inventario realizado el 08/02/2001 por O.Fernández, M. Olangua y B. Vilches); 28RDR2795: Bco. de la Aldea, 300-350 msm, E (Inventario 260, realizado el 04/04/2003, O. Fernández-Palacios, F. Oliva, J. Navarro); 28RDR2694: Bco. Pino Gordo, transecto de 400 a 525 m., orientación NO (Inventario 81, realizado el 25/04/2001, Navarro *et al.*); 28RDR2089: Cañada de Agua Sabina (M. Soto); 28RDR2091: Barranco Güi-Güi Grande, M. Soto); 28RDR3294: Barranco del Cofre por debajo de la casa de Juan Mateo (M. Soto); 28RDR2989: Barranco del Medio (M. Soto); 28RDR3397: Mesa de Acusa (M. Soto).

3.1.5.4. Caracterización de las poblaciones estudiadas

De esta especie se han estudiado cuatro poblaciones representando su área de distribución: el *locus classicus* Barranco de Siberio (PFS), el Barranco de Tejada-La Aldea (PFA), la Degollada de Tasartico (PFT) y Montaña de Inagua (PFI), población situada en las cotas más altas y pendiente de confirmar su adscripción a esta especie.



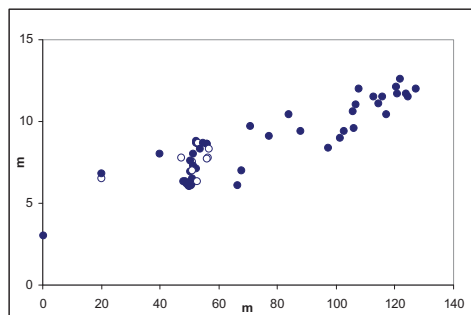
3.1.5.4.1. Barranco de Siberio-Ladera de Mesa de Junquillo (PFS). *Locus classicus*.

Es el afluente más importante del barranco de La Aldea que se une frente al extremo sur de La Cruz de Vaquero, llamado Los Caserones.

El barranco Siberio, aguas arriba, bordea la base sur del Lomo de la Mesa del Junquillo con escarpadas acantilados de 500m de altura. La cabecera del barranco está establecida al oeste del Lomo Aserrador por encima del pequeño valle del Juncal de Tejada.

- *Sinfitosociología y Fitosociología*: Inframediterráneo xérico semiárido-inferior. *Aeonio percarnei-Euphorbio canariensis sigmetum* (DEL ARCO & GONZÁLEZ, 2003).

- *Esquema geológico y ciclos de formación*. CICLO II ROQUE NUBLO. (17) Lavas y conos de tefra basaníticos, basálticos alcalinos y nefríticos Pilow lavas; (19) Brechas ricas en líticos y, localmente, ignimbritas. *Edad geológica*: Plioceno ≈ 4.4-3.7 Ma. *Sustrato Geológico*: Lavas y conos de tefras basaníticos, basálticos alcalinos y tefríticos (I.T.G.E., 1990c, 1992; GRAFCAN, 2008).



- *Suelo*. Asociación umbrept y litosol (SANCHEZ DIAZ, 1975)

- *Inventario y características in situ*. UTM 1x1 visitadas: 28RDR3195-28RDR3095. Altitud: 500-700 msm. Altitud media para los perfiles ≈ 600 m. Orientación: S. Censo: ≈ 800 individuos. Taxones

acompañantes más habituales: *Campylanthus salsoloides*, *Echium decasnei*, *Euphorbia regis-jubae*, *Hyparrhenia hirta*, *Kickxia scoparia*, *Kleinia neriifolia*, *Lavandula canariensis*, *Marcetella moquiniana*, *Plocama pendula*, *Psoralea bituminosa*, *Sonchus leptcephalus*, etc.

En esta población se recolectaron unos 60 individuos a lo largo de unos 150 m (ver lámina y gráfica adjunta).

3.1.5.4.2. Barranco La Aldea (PFA)

La cuenca hidrográfica de La Aldea no es sólo la mayor de Gran Canaria sino de todo el archipiélago. Su superficie cruzada por una complicada red de drenaje converge en un cauce central encajado entre gargantas que serpentean en todas direcciones.

Después de la unión con el barranco de Siberio, el barranco de La Aldea bordea la Mesa del Junquillo, por su base norte, entre grandes paredones de 500 metros y se sitúa bajo Alta Vista cuya cima se alza casi verticalmente 1000 metros sobre el lecho del barranco (BRAVO, 1964). Después de la unión con el barranco del Chorrillo, el barranco de La Aldea empieza a llamarse de Tejada ya que se aproxima a este pueblo.

- *Sinfitosociología y Fitosociología*: Inframediterráneo desértico árido. *Euphorbium balsamiferae sigmetum* (DEL ARCO *et al.*, 2002; DEL ARCO & RODRÍGUEZ, 2003).

- *Esquema geológico y ciclos de formación*. CICLO I. Formaciones sálicas: (8) Ignimbritas traquítico-riolíticas, lavas, brechas y sedimentos tobaceos (dominio intracaldera); (9) Sienitas alcalinas. *Edad geológica*: Mioceno ≈ 12.6-8.7 Ma. *Sustrato Geológico*: Ignimbritas traquítico-riolíticas, lavas, brechas y sedimentos tobaceos (dominio intracaldera) (I.T.G.M.E., 1990c, 1992; GRAFCAN, 2008).

- *Suelo*. Asociación Litosol-Umbrept (SANCHEZ, 1975).

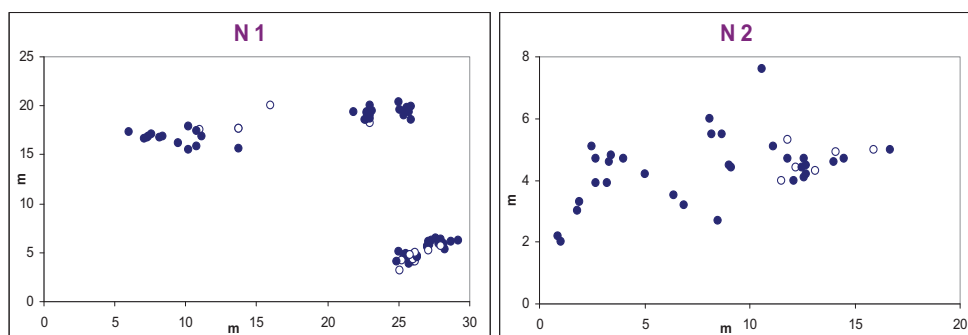
- *Inventario y características in situ*. UTM 1x1 visitadas: 28RDR3296-28RDR3196-28RDR3096-28RDR2996-28RDR2895. Altitud: 300-350 msm. Altitud media para los perfiles ≈ 315 m. Orientación: SO (SE). Censo: 616 individuos. Taxones acompañantes más habituales: *Chrysoprenanthes pendula*, *Carlina canariensis*, *Dendriopoterium pulidoi*, *Echium decasnei*, *Euphorbia balsamifera*, *Kickxia scoparia*, *Kleinia neriifolia*, *Launaea*

arborescens, *Lotus* sp., *Matthiola* sp., *Neochamaelea pulverulenta*, *Pennisetum setaceum*, *Periploca laevigata*, *Plocama pendula*, *Rubia fruticosa*, *Teline rosmarinifolia*, *Wahlenbergia lobeloides*, etc.



Se escogieron dos núcleos distantes entre sí unos 2 km, ambos con orientación NE, no se observan individuos en la ladera con orientación SO (ver lámina y gráficas adjuntas).

En el primer núcleo, situado a unos escasos 500m de la Presa de Siberio y que representa un extremo del área de distribución, se muestrearon 70 individuos en un desnivel



de unos 20m. En el núcleo 2 situado a unos 500m de la Presa del Parralillo y con una posición intermedia del área de distribución, se muestrearon unos 38 individuos.

3.1.5.4.3. Degollada de Tasartico (PFT)

La cuenca hidrográfica de Tasartico, pertenece al grupo de pequeñas cuencas del extremo oeste de Gran Canaria; son cuencas que se van acortando y la distancia de las cabeceras a sus desembocaduras son cada vez más pequeñas. El barranco de Tasartico tiene su cabecera entre la Montaña de Horgazales (1050m) y la del Lechugal (975m) y desagua a 6 kms de ellas (BRAVO, 1964).

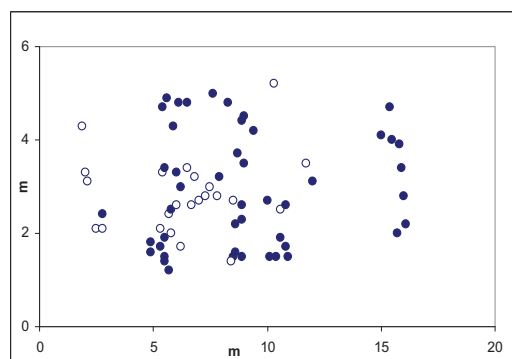
- *Sinfitosociología y Fitosociología*: Inframediterráneo xérico semiárido-inferior. *Aeonio percarnei-Euphorbio canariensis sigmetum* (DEL ARCO *et al.*, 2002; DEL ARCO & RODRÍGUEZ, 2003).

- *Esquema geológico y ciclos de formación*. CICLO I. Formación basáltica: (1) Lavas y conos de tefrabasálticos alcalinos, olivínicos piroxénicos y hawaiíticos indiferenciados.

Edad geológica: Mioceno ≈ 14.5-14.1 Ma.
Sustrato Geológico: Lavas y conos de tefrabasálticos alcalinos, olivínicos piroxénicos (I.T.G.E., 1990c, 1992; GRAFCAN, 2008).

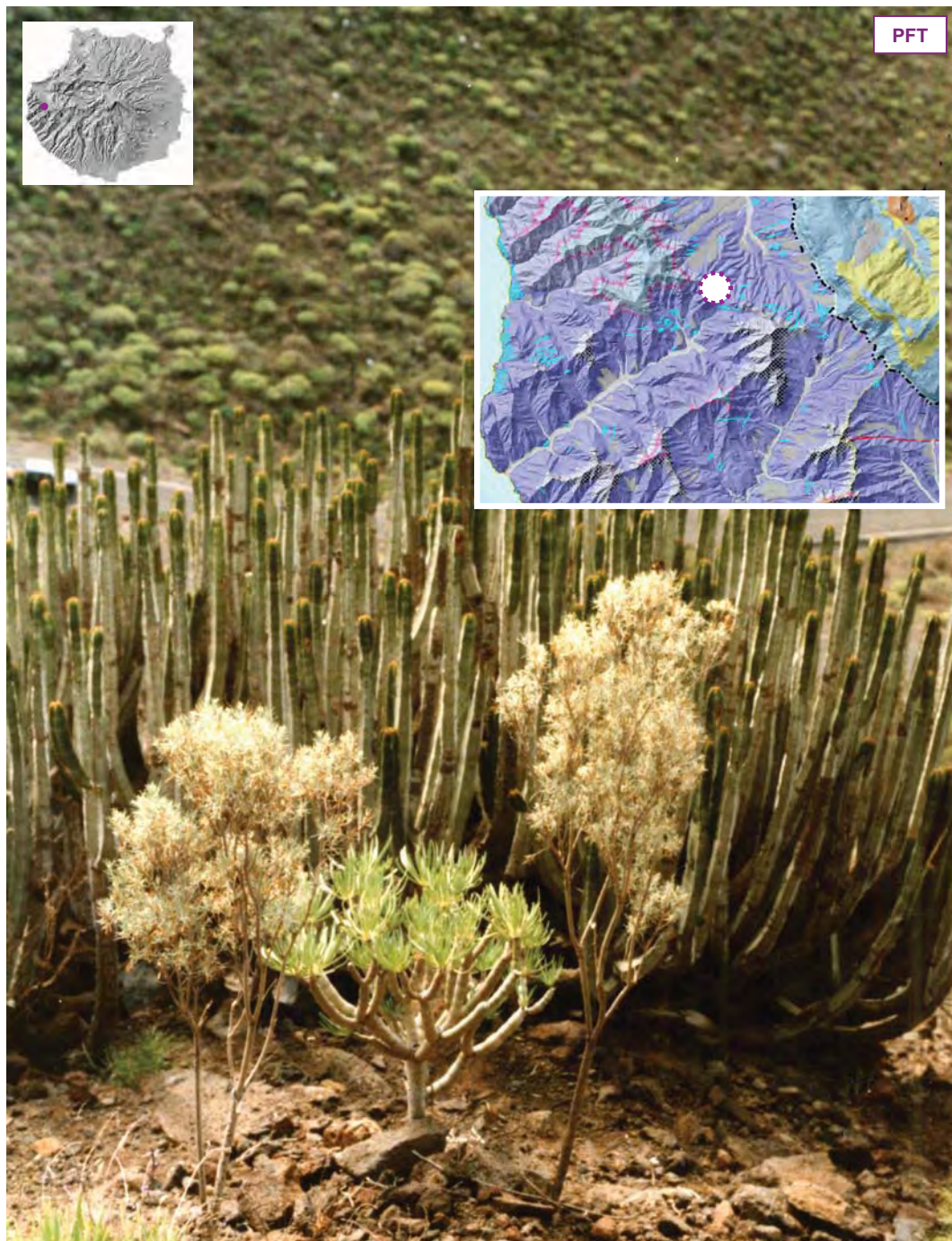
- *Suelo*. Asociación litosol y argid (SANCHEZ DÍAZ, 1975)

- *Inventario y características in situ*. UTM 1x1 visitada: 28RDR2391. Altitud: 550 msm. Orientación: SO. Censo: ≈ 280 individuos.



Taxones acompañantes más habituales: *Aeonium percarneum*, *Artemisia canariensis*, *Campylanthus salsoloides*, *Ceropegia fusca*, *Echium decasnei*, *Euphorbia regis-jubae*, *Kickxia scoparia*, *Kleinia neriifolia*, *Launaea arborescens*, *Lavandula minutolii*, *Lobularia canariensis*, *Micromeria tenuis*, *Neochamalea pulverulenta*, *Rubia fruticosa*, *Ononis angustissima* subsp. *ulcina*, *Periploca laevigata*, *Reichardia ligulata*, *Senecio webii*, *Sonchus leptocephalus*, *Teucrium heterophyllum*, etc.

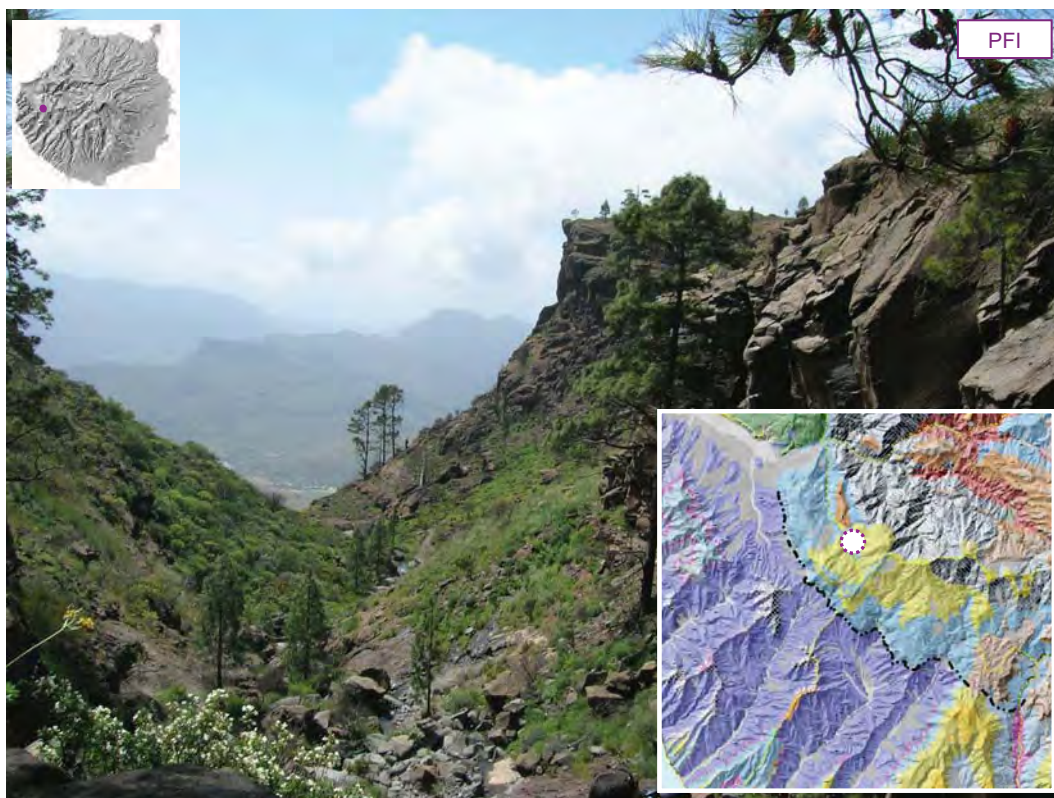
En esta población se muestrearon unos 70 individuos (ver lámina y gráfica adjunta).



3.1.5.4.4. *Montaña de Inagua (PFI)*

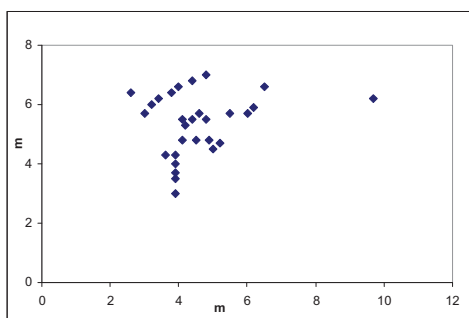
La población se localiza en la Reserva Natural Integral de Inagua que se ubica en zona Suroeste de la cumbre de la isla de Gran Canaria, al Sur de la cuenca de Tejeda, perteneciente a los montes públicos de Ojeda, Inagua y Pajonales, abarcando una superficie de 3920.3 Ha. La mayor parte de su superficie se encuentra por encima de los 1000 msn, aunque muchos picos superan los 1400 m.

La geología de este espacio se caracteriza por la presencia de materiales del Ciclo I, con emisiones de formación traquítico-riolítica y formación fonolítica del tramo medio. Está constituida en su totalidad por la formación traquítico - riolítica -intracaldera, se trata de los materiales que han rellenado la Caldera de Tejada y que constituyen el basamento de todos los materiales emitidos dentro de ella en los ciclos posteriores. El macizo de Inagua-Pajonales tiene unas características morfológicas intermedias entre los macizos basálticos y los traquifonolíticos.



Su litología es de carácter ignimbrítico y presenta una crestería central desde la que descienden abruptas laderas. En el se registran huellas de la evolución morfológica de la isla como son los paleovalles y las superficies de arrasamiento. Ambas morfologías indican la existencia de varias fases del modelado, por lo que las encontramos a distintos niveles altitudinales que oscilan entre los 800 y los 1000 msm.

- *Sinfitosociología y Fitosociología*. Termomediterráneo xérico semiárido-superior:



Pistacio-Oleo cerasiformis sigmetum (DEL ARCO *et al.*, 2002; DEL ARCO & RODRÍGUEZ, 2003).

- *Esquema geológico y ciclos de formación*.

CICLO I. Formaciones sálicas: (8) Ignimbritas traquítico-riolíticas, lavas, brechas y sedimentos tobaceos (dominio intracaldera); (10) Fonolitas nefeníticas y traquitas predominantemente ignimbritas (Dominio extracaldera) y con intrusiones en el dominio intracaldera. *Edad geológica*: Mioceno \approx 12.6-8.7 Ma. *Sustrato Geológico*: Ignimbritas y lavas fonolítico-traquíticas peralcalinas (I.T.G.E., 1990c, 1992; GRAFCAN, 2008).

- *Suelo*. Asociación Andept-Litosol (SANCHEZ DÍAZ, 1975)

- *Inventario y características in situ*. UTM 1x1 visitada: 28RDR2690. Altitud: 1031 msm. Orientación: SO. Censo: \approx 250 individuos. Taxones acompañantes más habituales: *Aeonium percarneum*, *A. simsii*, *Allagopappus viscosissimus*, *Asphodelus* sp, *Bupleurum salicifolium*, *Carlina canariensis*, *Ceropegia fusca*, *Chamaecytisus proliferus*, *Cistus monspeliensis*, *C. symphytifolius*, *Descurainia preauxiana*, *Echium onosmifolium*, *Euphorbia balsamifera*, *E. canariensis*, *Frankenia capitata*, *Ferula linkii*, *Kleinia neriifolia*, *Lavandula minutolii*, *Lobularia canariensis*, *Micromeria tenuis*, *M.lanata*, *Sonchus acaulis*, *Ononis angustissima* subsp. *ulcina*, *Pinus canariensis*, *Salvia canariensis*, *Wahlenbergia lobeloides*, etc.

En esta población se recolectaron unos 30 individuos (ver lámina y gráfica adjunta).

3.1.6.- *Parolinia glabriuscula* Montelongo & Bramwell

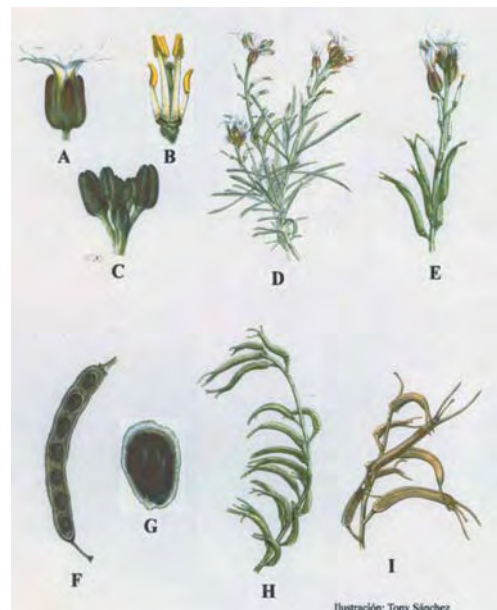
3.1.6.1. Descripción original (Botánica Macaronésica 24, 2003: pp, 67-72)



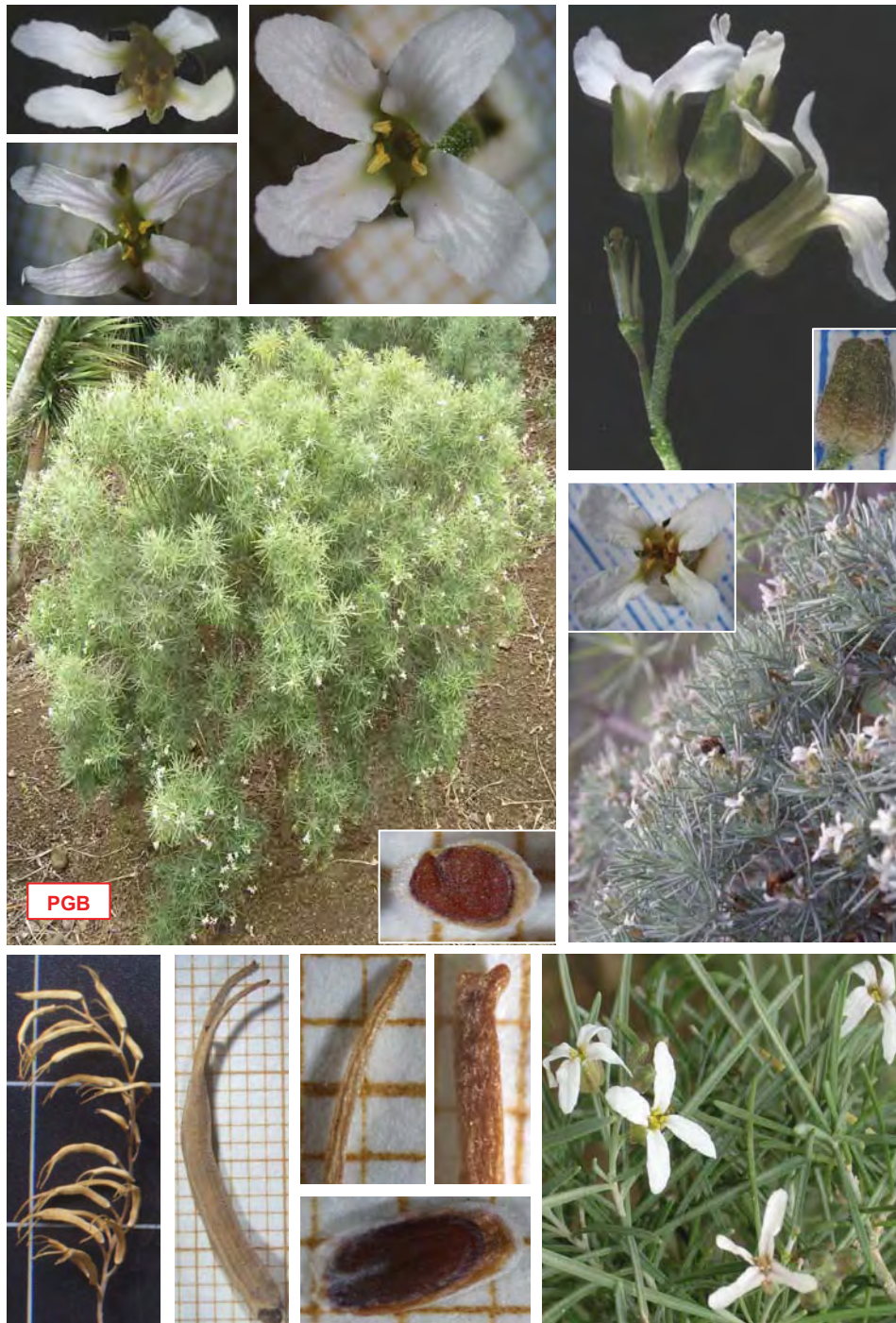
Arbusto de 0.8-1.5 m de altura, compacta, ramosa, con ramas terminales algo péndulas. Corteza castaño-grisácea, agrietada, densamente albo-panosa en los brotes jóvenes. Hojas verdes, ligeramente glaucas, alternas, de (2-) 2.5-6 (-7) cm de longitud por 1.5-2.0 (2.5) mm de ancho, lineares, atenuadas por la base y ápice agudo, panosa con pelos estrellados por ambas caras. Inflorescencia en racimo simple, de erecta a ligeramente curva, de 5-15 cm de longitud, pedicelos florales iguales a los sépalos. Yemas prismático-cuadrangulares, truncadas. Sépalos oblongos de 4.5-5.5 mm de largo y 1.3-1.5 mm de ancho; muy cóncavos en la base y cuculados en el ápice, recubiertos de pelos blancos estrellados. Pétalos de 9-10 mm de longitud y 1.8-2.0 mm de ancho; linear-espatulados, ápice redondeados y base atenuada, blancos, rosáceos en la marchitez. Estambres tetradínamos, filamentos de los

cortos de 2-2.2 mm de largo y de los largos de 3-3.5 mm, más anchos en la base. Anteras de ca.1.2 mm, oblongo-cordiformes. Ovario albo panoso, de 1.5 mm de largo. Estilo ca. 1 mm, glabro. Estigma capitado, subplano. Silicua (con apéndice) 11-18 mm de largo y 1.5 mm de ancho, recurvada, glabriúscula; valvas con 4-5 (raramente menos) semillas, brevemente giboso-agudas en la base, las caras subplanas con los márgenes engrosados. Estilo seco recto, con el ápice brevemente bifido. Apéndices de menor longitud que las valvas, ligeramente recurvados, con ápice entero agudo. Semillas de 1.6-2.2 x 1.0-1.2 mm, de color castaño, margen alado escarioso con contorno de elíptico a más o menos recto-cuadrangular (Tabla 6).

Holotipus: isla de Gran Canaria, en la "Caldera de Bandama" entre rocas, 6 Abril 1989 V. Montelongo leg. in Herb. Hort. Bot. "Viera y Clavijo" (LPA: 19425).



Hábitat: La población está situada en la pared interior E de la Caldera de Bandama en una ladera arenosa y soleada a unos 230-350 msm, ocupando suelos abiertos formados por la erosión de las paredes internas de la Caldera y con una extensión aproximada de 1 km²; la zona se caracteriza por la presencia de numerosas especies típicas de las formaciones de bosques termófilos de esta área de Gran Canaria. Se observan también algunos individuos en las laderas exteriores de la caldera a unos 400 msm.



Se diferencia de las restantes especies del género por su menor panosidad en general y por sus silículas glabriúsculas con apéndices simples.

3.1.6.2. Estado de conservación

Esta especie ha sido sometida a estudio bajo el marco del *Atlas y Libro Rojo de la Flora Vascular amenazada de España* (FERNÁNDEZ-PALACIOS, VILCHES & ORTEGA, 2003).



Es un taxon con un alto grado de amenaza, representado por una sólo población con escaso número de efectivos (≈ 300) situada en una ladera rocosa muy frágil y con frecuentes desprendimientos. Además su ubicación en un sector de interés turístico le supone también un factor de amenaza.

Categoría de amenaza: Categoría UICN para España CR B2ab (ii, iii, v); C2b (FERNÁNDEZ-PALACIOS, VILCHES & ORTEGA, 2003).

Medidas de conservación: La población se encuentra incluida en el Monumento Natural de Bandama (LIC-ES7010048) y su hábitat está registrado en la Directiva 92/43/CEE.

3.1.6.3. Distribución y Corología. Antecedentes

Endemismo grancanario representado por una sola población en el NE de la isla: Caldera de Bandama (ver mapa adjunto).

Cabe citar la única coordenada UTM 1x1 en la que está presente esta especie: 28RDS5501.

3.1.6.4. Caldera de Bandama (PGB). Locus classicus

La Caldera de Bandama, de origen freatomagmático, es una enorme depresión semielíptica en forma de cono invertido de escarpadas paredes internas, que se encuentra adosada a la vertiente meridional del Pico de Bandama. Sus dimensiones máxima y mínima aproximadas son 1000 y 750 m, respectivamente; el fondo se encuentra a 200 msn con un diámetro entre 200 y 300 m y la altura máxima de sus paredes es del orden de 200 m. Surgió a una cota alrededor de 400 m por encima del nivel del mar, sobre un lomo constituido por la brecha Roque Nublo.

Los materiales originados durante la génesis de este edificio, reflejan los procesos o fases que tuvieron lugar y corresponden a materiales emitidos durante fases eruptivas de carácter puramente magmáticas y materiales asignables a las fases freatomagmáticas. Los más importantes desde el punto de vista cuantitativo son estos últimos, pues las emisiones lávicas son mínimas, restringiéndose a una pequeña colada en la *ladera oriental*. Es una colada masiva, de carácter básico y unos 6 m de potencia, con disyunción columnar grosera, situada debajo de los depósitos piroclásticos del anillo externo (I.T.G.E., 1990b).

En la Caldera, los procesos erosivos han hecho retroceder las paredes, labrando en ellas torrentes y rajones de erosión que aprovechan las fracturas preexistentes. En las paredes rocosas, una intensa tafonización disgrega la roca abriendo infinidad de cuevas. Favorecidos por estos mecanismos, los desprendimientos gravitacionales de bloques han conformado taludes continuos, sobre éstos se producen procesos de vertientes tales como reptación, movimientos en masa, solifluxiones, acarcavamientos y arroyadas difusas.

En la pared este de la Caldera se advierte la densidad de diaclasas y rajones que afectan a este aglomerado volcánico, así como la existencia de una fractura de distensión, la Cañada del Perro, abierta como consecuencia del colapso final con el que terminó la erupción (HANSEN, 1993).



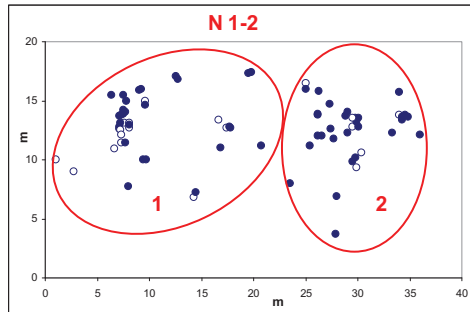
- *Sinfitosociología y Fitosociología*. Inframediterráneo xérico semiárido-superior: *Pistacio-Oleo cerasiformis sigmetum* (DEL ARCO *et al.*, 2002; DEL ARCO & RODRÍGUEZ, 2003).

- *Esquema geológico y ciclos de formación*. CICLO RECIENTE: (29) Lavas, conos de

tefra, maars y “fallout” basaníticos nefelíticos localmente meliliticos. *Edad geológica*: Cuaternario ≈ 300000-200000 años (I.T.G.E., 1990b, 1992; GRAFCAN, 2008).

- *Suelo*. Asociación xeralf-ochrept-litosol (SANCHEZ, 1975).

- *Inventario y características in situ*. UTM 1x1 visitada: 28RDS5501. *Altitud*: 225-425



msm. *Altitud media* para los perfiles ≈ 300 m.

Orientación: SO. *Censo*: ≈ 300 individuos.

Taxones acompañantes más habituales y en el área inmediata: *Aeonium manriqueorum*, *A. percanium*, *Allagopappus dichotomus*, *Anagallis arvensis*, *Arisarum vulgare*, *Artemisia canariensis*, *Asparagus arborescens*, *Campylanthus salsoloides*, *Convolvulus floridus*, *Echium decaisnei*, *E. plantagineum*, *Euphorbia regis-*

jubae, *Forskahlea angustifolia*, *Hiparrhenia sinaica*, *Hypericum reflexum*, *Hirschfeldia incana*, *Kleinia neriifolia*, *Lavandula canariensis*, *Lotus sp.*, *Lycium afrum*, *Micromeria varia*, *Nicotiana glauca*, *Olea europea* subsp. *cerasiformis*, *Opuntia dillenii*, *Oxalis pes-caprae*, *Pancreatium canariensis*, *Pericallis webbii*, *Periploca laevigata*, *Phoenix canariensis*, *Pistacia lentiscus*, *Polycarpea filifolia*, *P. divaricata*, *Retama raetam*, *Rubia fruticosa*, *Rumex lunaria*, *Sonchus leptocephalus*, *Sonchus cf. platylepis*, *Phoenix canariensis*, *Rubia fruticosa*, *Whitania aristata*, etc.

A lo largo de la ladera en la que se sitúan los individuos, se escogieron dos núcleos distantes entre sí unos 250 m a lo largo de un desnivel de aproximadamente 20 metros que incluía individuos cerca del fondo de la ladera hasta individuos cercanos a la pared. En el núcleo 1 se muestrearon 35 individuos y en el núcleo 2, un total de 41 individuos (ver lámina y gráfica adjuntas).

3.1.7. *Parolinia aridanae* Santos nomen nudum

Endemismo de La Palma actualmente sin describir.

La presencia de *Parolinia* en la isla de La Palma fue citada por primera vez por VON KÄMMER (1972): “*Parolinia* sp.: Neu für P.- Noch nicht einzuordnende, gemeinsam mit Ch. Breitfeld gefundene Art. (nueva para la Palma - Todavía no clasificada, común con la encontrada por Ch. Breitfeld). Posteriormente, VOGGENREITER (1974) señala esta especie como *Parolinia* cf. *intermedia*: “*taxon posiblemente nuevo. Amenazadísima por platanares que han destruido más del 75% del biotopo natural*”. SANTOS (1983b) cita de nuevo esta especie como rara en el único lugar conocido, donde sólo existen contados ejemplares, señalando que posiblemente se trata de un nuevo taxon pendiente de estudios más precisos y comparaciones con las plantas semejantes existentes en Tenerife, La Gomera y Gran Canaria. SANTOS (1996) elabora la ficha roja de esta especie recogida en el *Libro Rojo de Especies Vegetales amenazadas de las Islas Canarias* (GOMEZ-CAMPO et al., 1996) en la que basaremos su descripción (Tabla 6).

3.1.7.1. Descripción

Arbusto nanofanerófito, cuya profusa ramificación le da un aspecto compacto a la planta. Puede superar los 2 m de altura. *Ramas* delgadas con hojas lineares, blanquecinas, numerosas, de más de 2 cm de longitud. *Flores* abundantes dispuestas en racimos, pequeñas, rosado-liláceas. *Fructificación* abundante. *Semillas* escasas en cada fruto pero numerosas en el conjunto de la planta (SANTOS, 1996).

Hábitat: endemismo de La Palma que habita en el sector centro-occidental de la isla, con una única población conocida, el Charco Verde (Los Llanos de Aridane), vive sobre terrenos antiguos aislados entre lavas más recientes. Forma parte del matorral propio del piso bioclimático termo-canario semiárido caracterizado por la serie del cardón (*Euphorbia canariensis*) siendo un elemento característico de distribución local.



3.1.7.2. Estado de conservación

Se conoce una única población, segregada en dos por la construcción de bancales de plataneras que puede verse aún afectada por un uso indirecto, ampliación de cultivos, turismo, o por otras causas no previstas.

Categoría de amenaza: Categoría UICN para España Crítica (BAÑARES *et al.*, 2003), CR C2a (VVAA, 2000).

Medidas de conservación: su área de distribución se encuentra dentro de dos Espacios Protegidos: Paisajes protegidos de “Tamanca” y del Remo” (Ley 12/94). La población se encuentra en un área rocosa sobre la playa del Charco Verde, es un área frágil y declarada en el anexo descriptivo del Texto Refundido como suelo urbano; la declaración de esta especie como “sensible a la alteración de habitat” (SAH) por el Catálogo de Especies Amenazadas de Canarias (Decreto 151/2001) en un suelo con esa clasificación obligará a la adopción en el Plan Especial de medidas en el desarrollo de este suelo que garanticen la conservación y futura persistencia de esta población de *Parolinia* (Plan de Uso y Gestión del Paisaje Protegido de El Remo, Gobierno de Canarias).

3.1.7.3. Distribución y Corología. Antecedentes

Endemismo del SO de la isla de La Palma, con una única población conocida, el Charco Verde (ver mapa adjunto), a una altitud entre 5-200 msm (SANTOS, 1996). Los individuos se encuentran al Norte del Paisaje Protegido de El Remo que se ubica en el término municipal de Los Llanos de Aridane, sobre una plataforma costera formada por el derrame de lava sobre el antiguo acantilado, y cuya superficie puede atribuirse a las coladas de los volcanes de Tajuya y El Charco.

Cabe citar la única coordenada UTM 1x1 en la que está presente esta especie: 28RBS1664.

3.1.7.4. Charco Verde (PAC).

El Paisaje Protegido del Remo se asienta sobre las Series Basálticas recientes, de edad cuaternaria, que constituyen el apéndice meridional de la isla, y en contacto con los materiales de las Series Basálticas Antiguas, lo que proporciona no sólo una gran complejidad geomorfológica, sino una riqueza de materiales y procesos difíciles de encontrar en un espacio de pequeñas dimensiones.

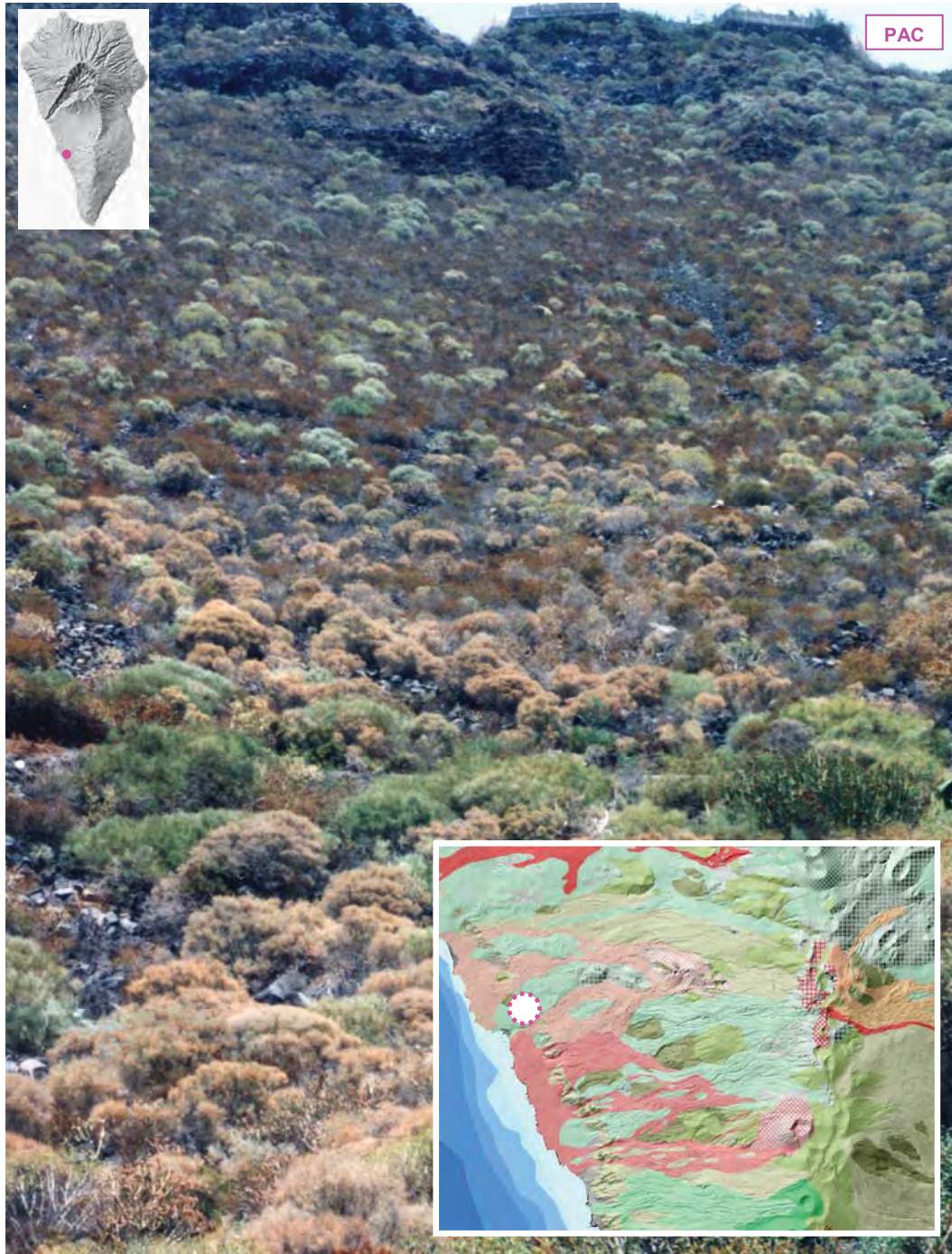
Dado que el área acantilada inmediata se forma por erosión marina, aparecen en su superficie las distintas capas correspondientes a diversas erupciones; aunque el lapso temporal entre ellas es variable, en algunos casos éste resulta elevado, por lo que aparecen formaciones de almagres. Transversalmente, el área acantilada se corta por material de desplome y/o conos de deyección por efecto de la erosión hídrica, por lo que aparecen en superficie materiales sedimentarios aluviales o coluviales.

- *Sinfitosociología y Fitosociología.* Piso bioclimático termocanario semiárido caracterizado por la serie del cardón *Euphorbia canariensis* L. (SANTOS, 1996).

- *Esquema geológico y ciclos de formación.* Series Basálticas Recientes, de edad Cuaternaria (Holoceno-Pleistoceno) y en contacto con materiales de las Series Basálticas antiguas. *Edad geológica:* Holoceno \approx 600000-150000 años (Plan Especial). *Sustrato Geológico:* Colada basáltica (GRAFCAN, 2008).



- *Suelo*. Entisol, sódicos (Plan Especial)
- *Inventario y características in situ*. UTM 1x1 visitada: 28RBS1664. Altitud: 15-200 msm. Orientación: SO. Censo: \approx 250 individuos. Taxones acompañantes más habituales: *Euphorbia broussetii*, *Kleinia neriifolia*, *Lavandula canariensis*, *Ceballosia fruticosa*, *Retama raetam*, *Rubia fruticosa*, etc.



Se muestrearon unos 100 individuos.

3.1.8. Poblaciones no adscritas morfológicamente a ninguna de las especies descritas

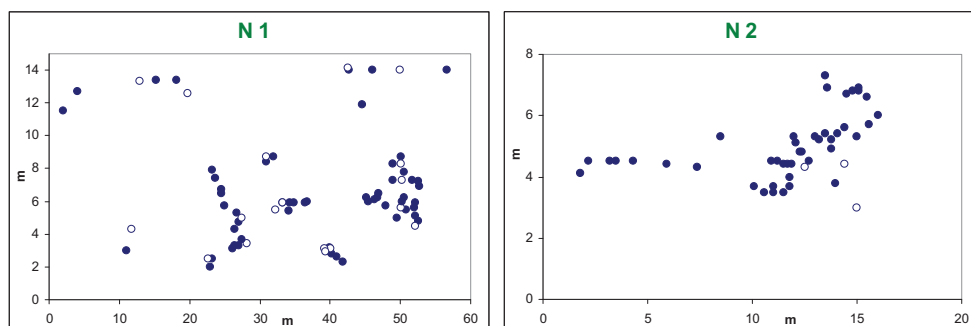
Se han estudiado tres poblaciones que no encajan totalmente con la morfología de las especies descritas por lo que han sido analizadas independientemente: Barranco de Agaete (POA), Barranco de Veneguera (POVE) y Riscos de Chapín (PFCH) en Gran Canaria.

3.1.8.1. Barranco de Agaete (POA)

Población situada en el barranco de Agaete entre 200-400 msn en la ladera con orientación O (ver mapa adjunto). La cuenca hidrográfica de Agaete, de unos 50 km² presenta una gran asimetría, con un valle profundísimo que se ciñe al macizo de Tamadaba y una serie de colectores que meten su cabecera en el macizo central hasta el mismo borde la Caldera de Tejeda. El barranco desemboca en una plataforma de baja altura, al sur de Punta Gorda. Aguas arriba se encaja entre altas paredes y en el caserío de San Pedro, tiene la categoría de un profundo cañón (BRAVO, 1964).

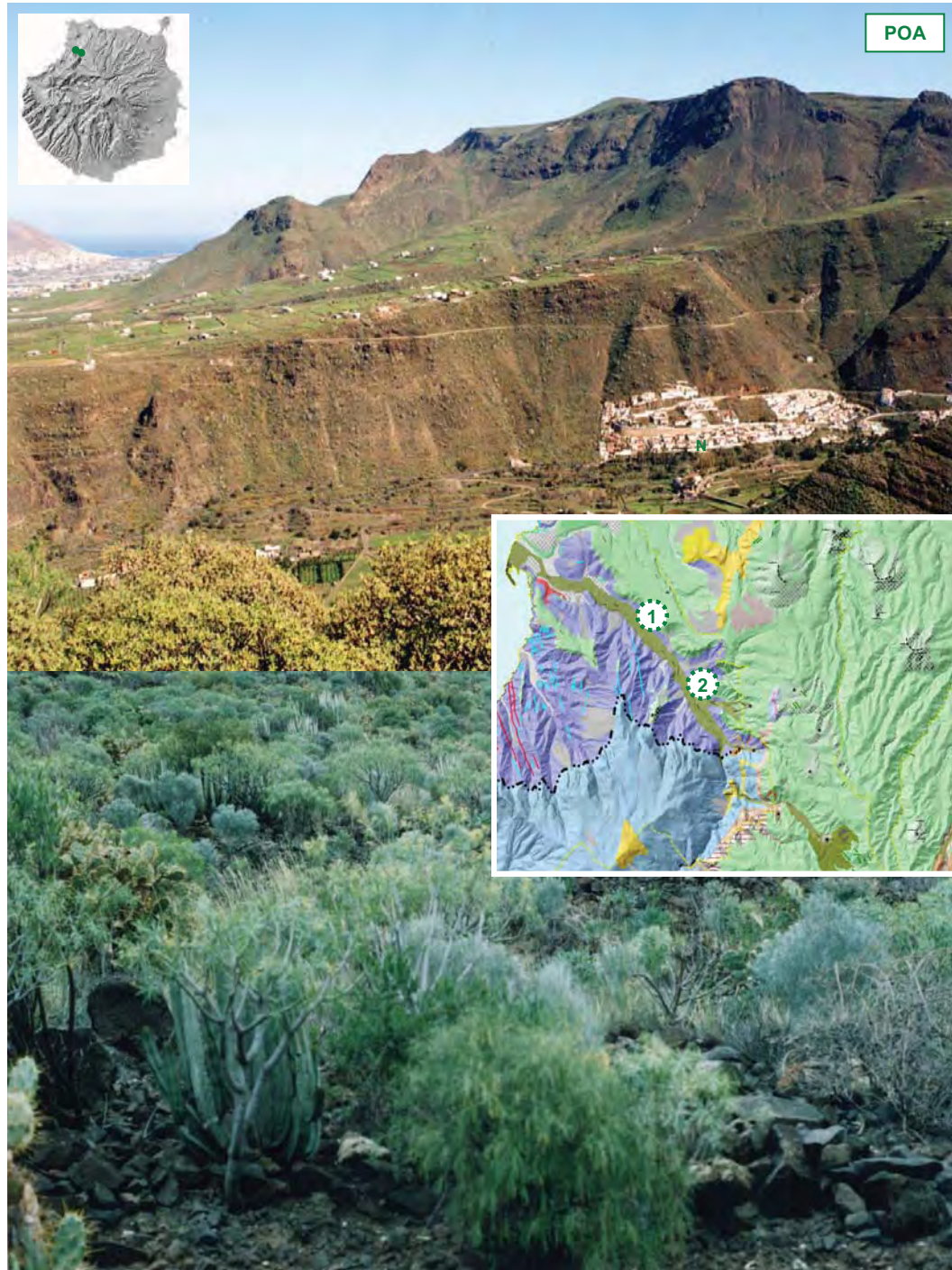
El barranco de Agaete se excava en el plano de contacto entre los materiales del primer y tercer ciclo volcánicos, delimitando Paleocanaria y Neocanaria. En su perfil longitudinal se distinguen tres sectores bien diferenciados, la cabecera, el cauce medio y el cauce bajo.

La cabecera secciona y resalta un conjunto de pequeñas rampas basálticas plioleptostocénicas (Rampa de Juncalillo), recortadas por un conjunto de barrancos en "V" colgados (barrancos de Fagajesto, Sao, Hondo, Juncalillo, etc.) y se encuentra nítidamente separada del cauce medio por el escarpe del Hornillo. Desde aquí, el barranco se convierte en un profundo tajo que delimita al Macizo de Tamadaba-Altavista por el Este. En el tramo inferior su fondo es plano y se encuentra relleno de aluviones y coladas recientes procedentes del Hondo de Fagajesto y del volcán de los Berrazales (SANTANA & NARANJO, 1992).



Cabe citar las siguientes coordenadas UTM 1x1 consideradas para esta población (Base de datos JBCVC, KUNKEL, 1969): 28RDS3208 Barranco de Agaete a unos 2 km de la carretera Agaete-Los Berrazales (O. Fernández); 28RDS3406 Barranco de Agaete, a unos 4 km de la carretera Agaete-Los Berrazales (O. Fernández).

- *Sinfitosociología y Fitosociología*. Piso bioclimático: Inframediterráneo xérico semiárido-superior. Serie de Vegetación climatófila: *Pistacio-Oleo cerasiformis sigmetum* (DEL ARCO *et al.*, 2002; DEL ARCO & RODRÍGUEZ, 2003).



- *Esquema geológico y ciclos de formación*. CICLO I: Formación basáltica: (1) Lavas y conos de tefrabasálticos alcalinos, olivínicos piroxénicos y hawaííticos indiferenciados. CICLO III POST-ROQUE-NUBLO: (28) Lavas y conos de tefra. *Edad geológica*: Mioceno $\approx 14.5-14.1$ Ma, Plioceno-Pleistoceno $\approx 2.9-0.6$ Ma. *Sustrato Geológico*: Lavas basálticas-olivínicas, olivino-pirorenicas y plagioclásticas, con traquibasaltos subordinados. Hawaiitas,

bannoreitas y muglaritas (I.T.G.M.E., 1990a, 1992; GRAFCAN, 2008).

- *Suelo*: Asociación Andept-Litosol (SANCHEZ, 1975)

- *Inventario y características in situ*. UTM 1x1 visitadas: 28RDS3208; 28RDS3406.

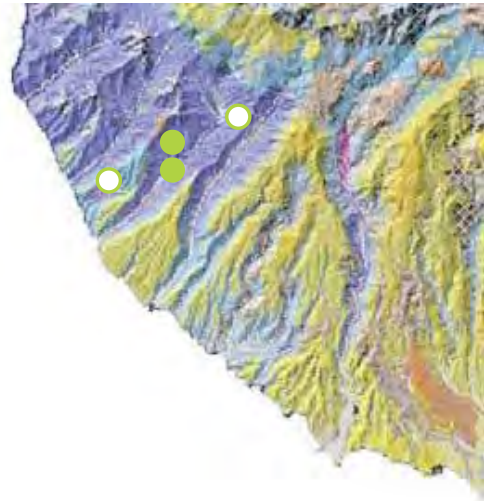
Altitud: 200-400 msm. Altitud media para los perfiles \approx 210 m. Orientación: O. Censo: \approx 1000 individuos. Taxones acompañantes más habituales: *Argyranthemum filifolium*, *Artemisia canariensis*, *Asparagus* sp, *Echium decaisnei*, *Euphorbia canariensis*, *E. regis-jubae*, *Frankenia cretica*, *Kickxia scoparia*, *Kleinia neriifolia*, *Lavandula canariensis*, *Periploca laevigata*, *Plocama pendula*, *Rubia fruticosa*, etc.

Se muestrearon 2 núcleos con una distancia entre ellos de unos 2 kms situados en la ladera del valle con orientación O. En el núcleo 1, en un extremo del área de distribución, se muestrearon 75 individuos y en el núcleo 2, situado sobre un andén, un total de 46 individuos (ver lámina y gráficas adjuntas).

3.1.8.2. Barranco de Veneguera (POVE)

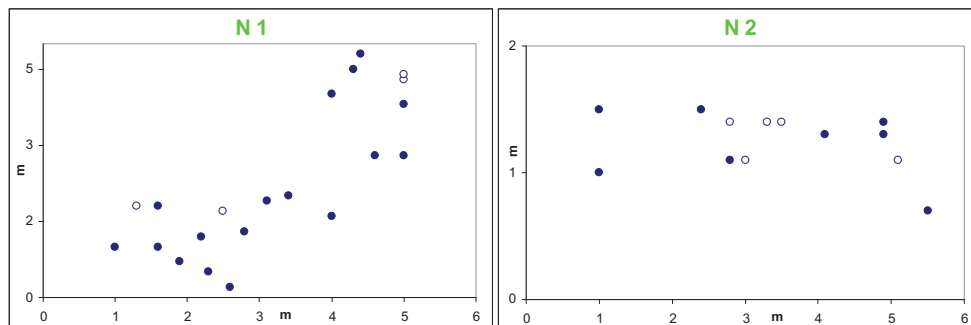
Población situada en ambas laderas del barranco de Veneguera con orientación NO-SE y a unos 240 msm (ver mapa adjunto donde se señalan en verde relleno los núcleos analizados).

Este barranco, aunque perteneciente al tipo de cañon ancho y largo, en su curso medio presenta ya una marcada asimetría en su ladera derecha, con penetración de barranqueras en el macizo de Los Molinos y sus estribaciones del sur. El mismo curso del barranco de Veneguera en el valle alto cambia en ángulo recto su dirección para dirigirse a la degollada de ese nombre. En su desembocadura la cota 100 penetra profundamente como ocurre en Mogán y Arguineguín. La superficie de la cuenca hidrográfica de Veneguera es de unos 34 km² (BRAVO, 1964).



Hay que citar las siguientes coordenadas

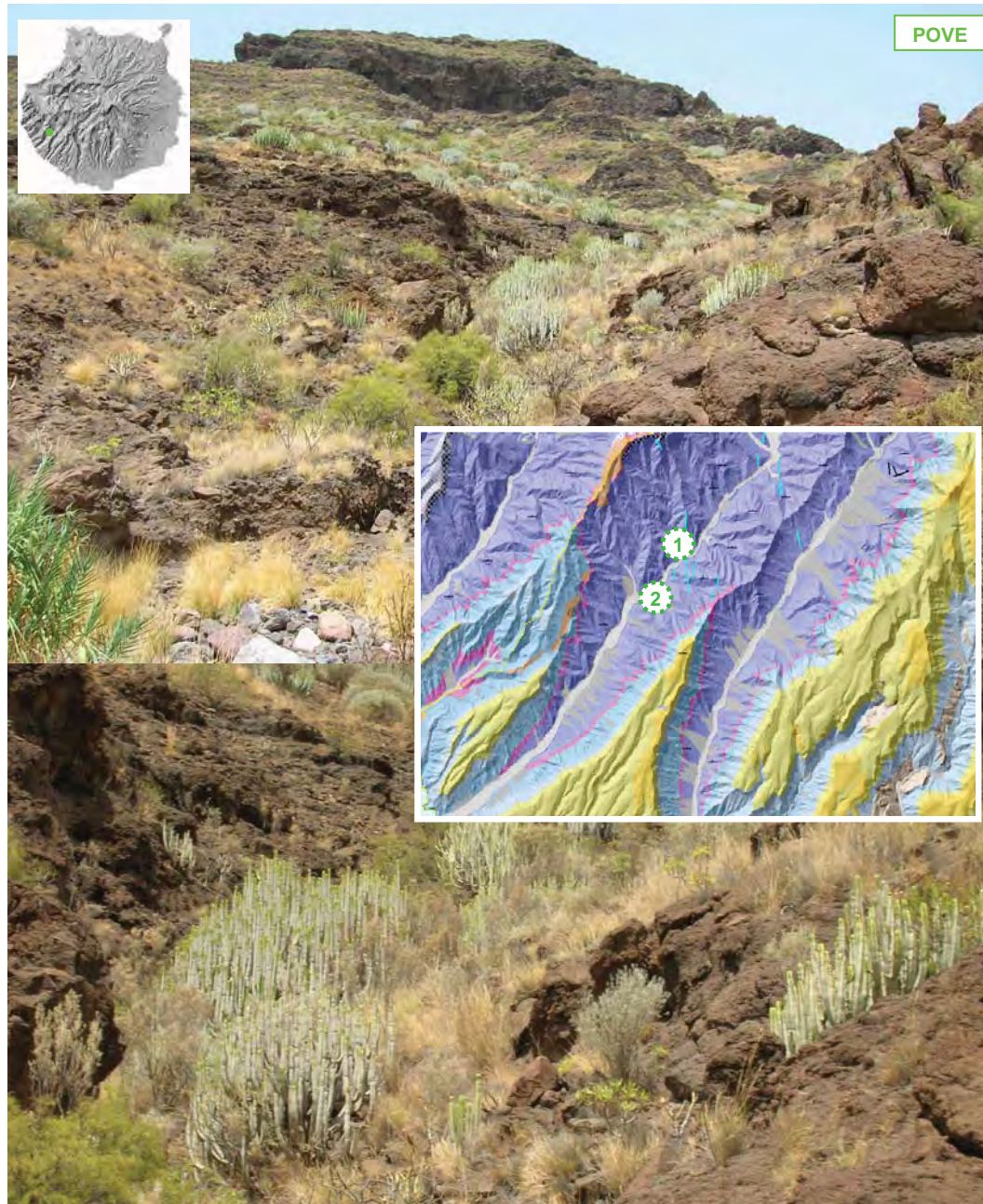
UTM 1x1 considerada para esta población (Base de datos del JBCVC): 28RDR2381 Tabaibales, desde el Castillete a Casas de Los Judíos, elevación sobre Bco. de Veneguera



(Inventario 263, realizado el 09/04/2003: Navarro *et al.*); 28RDR2584-28RDR2684-28RDR2785 Barranco de Veneguera (O. Fernández).

- *Sinfitosociología y Fitosociología*. Piso bioclimático: Inframediterráneo xérico semiárido-inferior. Serie de vegetación climatófila: *Aeonium percarnei-Euphorbia canariensis sigmetum* (DEL ARCO *et al.*, 2002; DEL ARCO & RODRÍGUEZ, 2003).

- *Esquema geológico y ciclos de formación.* CICLO I. Formación basáltica: (1) Lavas y conos de tefrabasálticos alcalinos, olivínicos piroxénicos y hawaíticos indiferenciados; (3) Ignimbritas riolítico-mugearíticas (“composite flow”); (5) Lavas riolíticas. *Edad geológica:* Mioceno \approx 14.5-14.1 Ma. *Sustrato Geológico:* Lavas y conos de tefra basálticos alcalinos, olivínico-piroxénico y hawaíticos indiderenciados (I.T.G.E., 1990e, 1992; GRAFCAN, 2008).



- *Suelo.* Asociación litosol y argid (SANCHEZ, 1975).

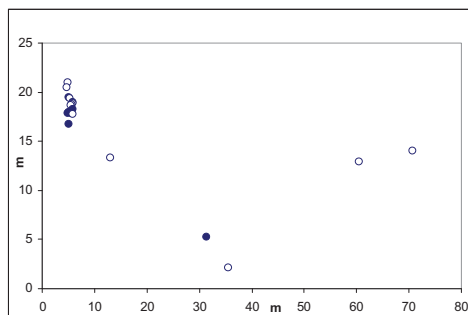
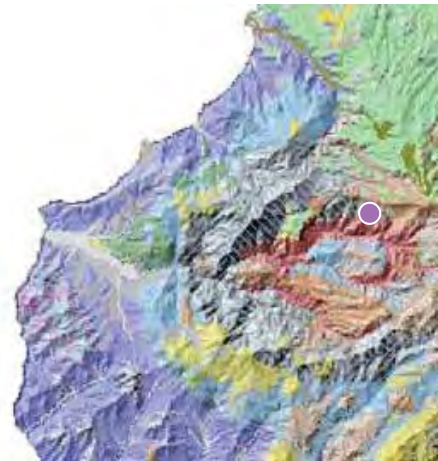
- *Inventario y características in situ.* UTM 1x1 visitadas: 28RDR2584-28RDR2684-28RDR2785. Altitud: 235-245 msm. Altitud media para los perfiles: \approx 240 msm. Orientación: NO-SE. Censo: 8236 individuos. Taxones acompañantes más habituales: *Campylanthus salsoloides*, *Echium decasnei*, *Euphorbia canariensis*, *Kleinia neriifolia*, *Neochamalea pulverulenta*, *Pennisetum setaceum*, *Plocama pendula*, *Sonchus leptocephalus*, *Tamarix*

sp., *Kickxia scoparia*, *Salvia canariensis*, etc.

Se escogieron dos núcleos situados en ambas laderas del barranco, en el núcleo 1, con orientación SE se muestrearon 21 individuos, y en el núcleo 2, con orientación NO y distante del primero unos 2 km, se muestrearon 13 individuos (ver lámina y gráficas adjuntas).

3.1.8.3. Riscos de Chapín (PFCH)

Esta población, pendiente de confirmar su adscripción a *P. filifolia*, está constituida por un reducido número de individuos (≈ 100) situados en los Riscos de Chapín a una altitud de ≈ 1000 msn con orientación SO (ver mapa adjunto). Se localiza en el Parque Rural del Nublo donde se encuentran los principales centros de emisión y las muestras más completas y espectaculares del volcanismo grancanario miopliocénico (Ciclo I y Ciclo Roque Nublo), que constituyen las secuencias claves de la construcción subaérea del edificio insular. A ello se une una extraordinaria riqueza morfológica y litológica y la originalidad de algunas de las estructuras que la conforman. En el sector central del Parque se encuentra la Caldera erosiva de Tejeda, donde se ubican los Riscos de Chapín, caracterizada por su amplia cuenca hidrográfica definida por un accidentado relieve de riscos y abruptas laderas e interfluvios, y una compleja y densa red hídrica con cauces que van confluyendo hasta unirse al curso principal del Barranco de Tejeda-La Aldea. Los Riscos de Chapín, escarpes



que desde Artenara se prolongan hasta la Cruz de Tejeda, destacan por la presencia de comunidades rupícolas con las especies *Greenovia aurea*, *Tolpis lagopoda* y *Aeonium simsii*, así como elementos arbóreos y arbustivos aislados de especies como *Laurus azorica*, *Erica arborea* y *Apollonias barbujana*. Algunas de las rarezas de la flora insular que se refugian en estos escarpes son *Gonospermum ptarmiciflorum*, *Silene tamaranae*, *Cheirolophus arbutifolius* y *Crambe scoparia* entre otras (Plan Rector de Uso y Gestión del Parque Rural del Nublo, Gobierno de Canarias).

- *Sinfitosociología y Fitosociología*. Termo-mediterráneo pluvi-estacional seco-inferior (sin nieblas del alisio): *Visneo mocanerae-Arbutus canariensis sigmetum* (DEL ARCO *et al.*, 2002; DEL ARCO & RODRÍGUEZ, 2003).

- *Esquema geológico y ciclos de formación*. CICLO II o ROQUE NUBLO: (19) Brechas ricas en líticas y localmente ignimbritas; (17) Lavas y conos de tefra basaníticos, basálticos alcalinos y nefríticos. Pillow-lavas. CICLO III o POST ROQUE NUBLO: (28) Lavas, conos de tefra, maars y "fallout" basaníticos, nefeliniticos y localmente, meliliticos. *Edad geológica*: Plioceno $\approx 4.4-3.7-2.9$ Ma. *Sustrato Geológico*: Tobas ignimbríticas y coladas riflito-traquíticas peralcalinas. Complejo de diques del "Cono Sheet" mayor del 70% (I.T.G.E., 1990h, 1992; GRAFCAN, 2008).

- *Suelo*. Asociación Andept-Litosol (SANCHEZ DÍAZ, 1975).

- *Inventario y características in situ*. UTM 1x1 visitada: 28RDR3898. Altitud: 1051 msm. Orientación: SO. Censo: \approx 100 individuos. Taxones acompañantes más habituales: *Aeonium percanium*, *Artemisia canariensis*, *Carlina canariensis*, *Echium decaisnei*, *Euphorbia balsamifera*, *Hyparrhenia hirta*, *Kleinia nerifolia*, *Rubia fruticosa*, *Teline microphyllum*, *Salvia canariensis*, etc.



En esta población se muestrearon 30 individuos (ver lámina adjunta).



3.2. DISTANCIAS ENTRE POBLACIONES. BARRERAS ALTITUDINALES Y PERFILES OROGRÁFICOS

Se han estimado las distancias horizontales (lineales) entre las poblaciones naturales estudiadas (Tabla 7) así como las distancias entre poblaciones teniendo en cuenta el desnivel topográfico altitudinal como posibles barreras orográficas intra-insulares.

Se considera conveniente el cálculo del desnivel entre dos poblaciones (distancia real) ya que informa del relieve del terreno y la presencia de una o varias unidades geomorfológicas (calderas, barrancos, montañas, lomos, mesas, etc) pudiendo indicar la magnitud de las barreras orográficas que separan ambas poblaciones (Tabla 7).

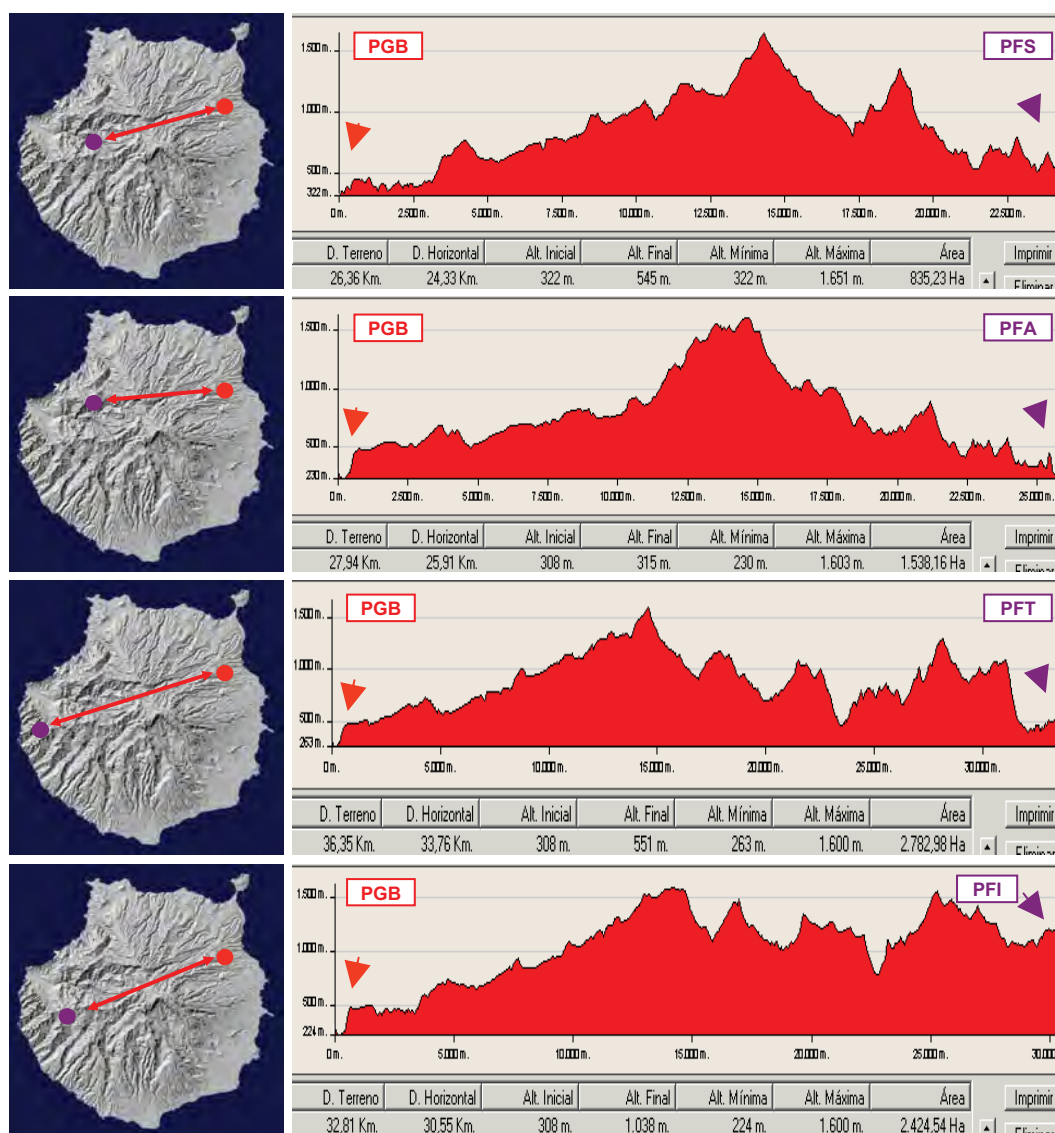


Figura 7.- Perfiles entre poblaciones. Perfiles entre la población de *P. glabriuscula* (Caldera de Bandama PGB) y las poblaciones de *P. filifolia* (Barranco de Siberio PFS, Barranco de la Aldea PFA, Tasartico PFT e Inagua PFI).

Para la elaboración de los perfiles insulares entre las poblaciones de cada isla (Gran Canaria y Tenerife) se utiliza el sistema de información cartográfica GRAFCAN del Gobierno Autónomo de Canarias (2008), utilizado también para la elaboración de la cartografía básica y que proporciona además información geológica de las poblaciones.

Con este programa se obtienen los perfiles del terreno (desniveles) entre dos puntos o poblaciones (Figs.7-21) entendidos como la línea de intersección de la superficie al ser cortada por un plano vertical.

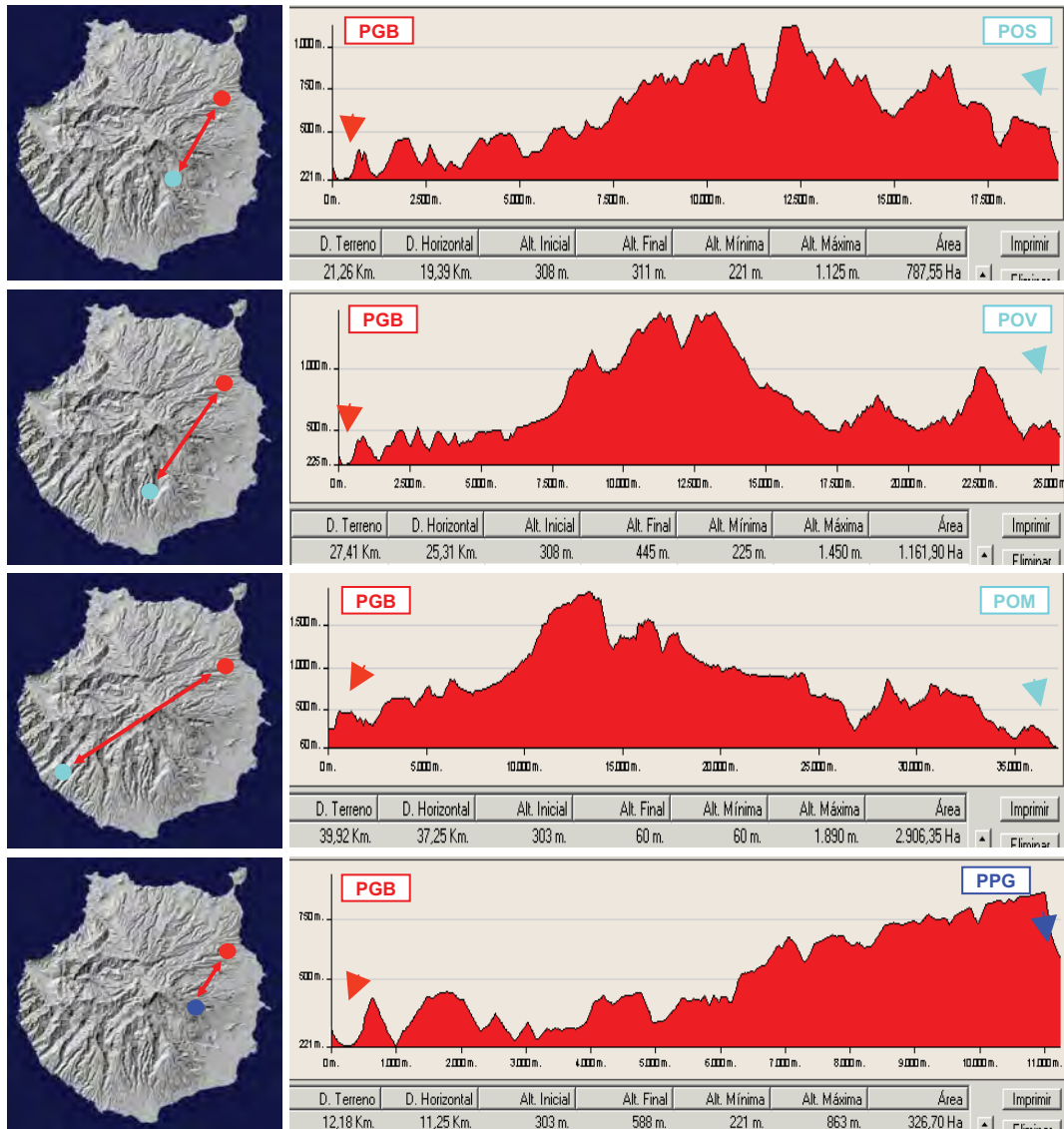


Figura 8.- Perfiles entre poblaciones. Perfiles entre la población de *P. glabriuscula* (Caldera de Bandama PGB) y las poblaciones de *P. ornata* (Barranco de Tirajana-La Sorrueda POS, Barranco de los Vicentillos POV y Barranco de Mogán POM) y de *P. platypetala* (Barranco de Guayadeque PPG).

Como puntos de partida en la elaboración de los perfiles entre dos poblaciones se utilizan las altitudes medias poblacionales mostradas en el Apartado 3.1 de caracterización de las poblaciones y en la Tabla 7 de este apartado.

El programa informa y proporciona los parámetros necesarios que se detallan a continuación en metros o kilómetros:

- La distancia real o del terreno, referida a la longitud total del perfil topográfico, considerando la línea de pendientes parciales.
- La distancia horizontal o distancia lineal entre dos poblaciones.
- La altura inicial y altura final de los extremos del perfil.

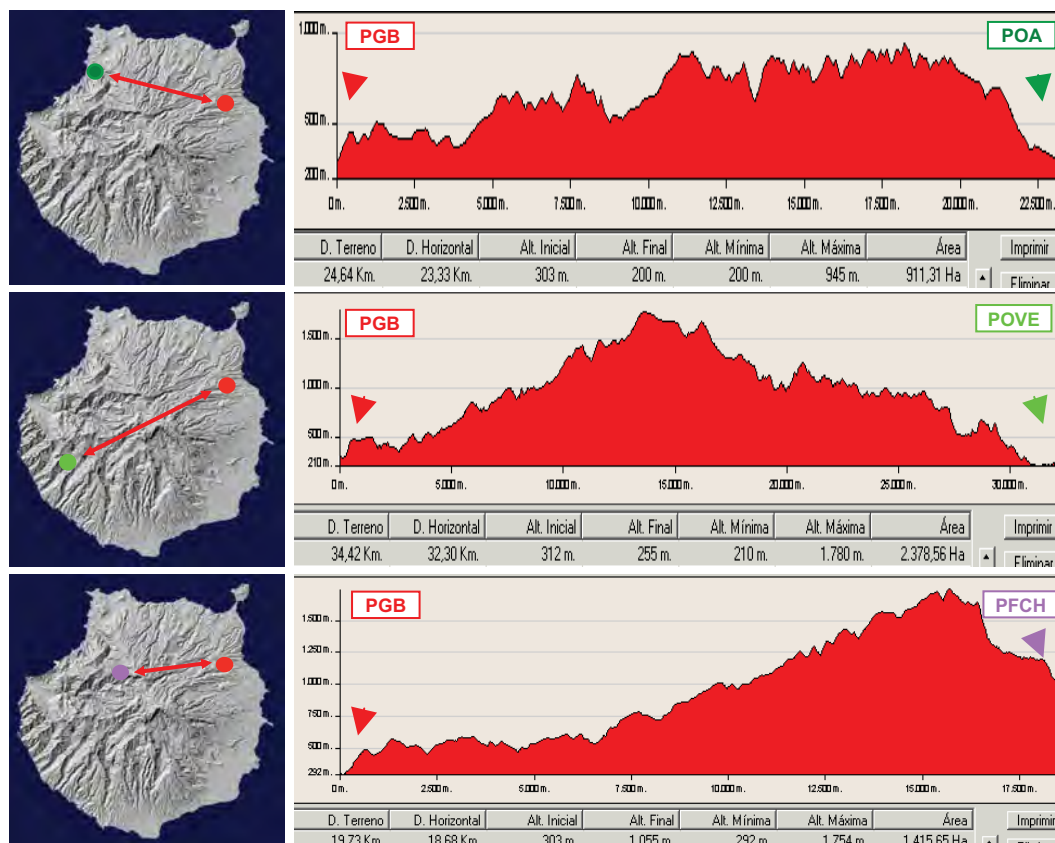


Figura 9.- Perfiles entre poblaciones. Perfiles entre la población de *P. glabriuscula* (Caldera de Bandama PGB) y las poblaciones sin adscripción taxonómica: Barranco de Agaete (POA), Barranco de Veneguera (POVE) y Riscos de Chapín (PFCH).

- Las alturas mínima y máxima entre las dos poblaciones. Estas alturas se han utilizado para calcular el desnivel máximo entre dos poblaciones, a partir de la diferencia altitudinal entre las dos.
- El área del perfil o superficie del corte vertical.

En la elaboración de los perfiles se ha tenido en cuenta el color asignado a cada taxon (Apartado 3.1) que se conserva a lo largo de toda esta Memoria: rojo para *P. glabriuscula* (PG), violeta para *P. filifolia* (PF), verde oscuro para POA, verde eléctrico para POVE, turquesa para *P. ornata* (PO), malva para PFCH, azul para *P. platypetala* (PP), amarillo para *P. intermedia* (PI), naranja para *P. schizogynoides* (PS) y rosa fucsia para *P. aridanae* (PA).

Por otro lado, las distancias interinsulares (horizontales o lineares) entre las poblaciones de las distintas islas se calcula con el Sistema de Información Territorial de Canarias (SITCAN) del Gobierno Autónomo de Canarias (Tabla 7).

Los datos obtenidos se trasladan a matrices de distancia geográfica en los Capítulos III

y IV donde se evalúa la incidencia de las barreras geográficas por medio del test de Mantel (correlación de matrices) anteriormente mencionado.

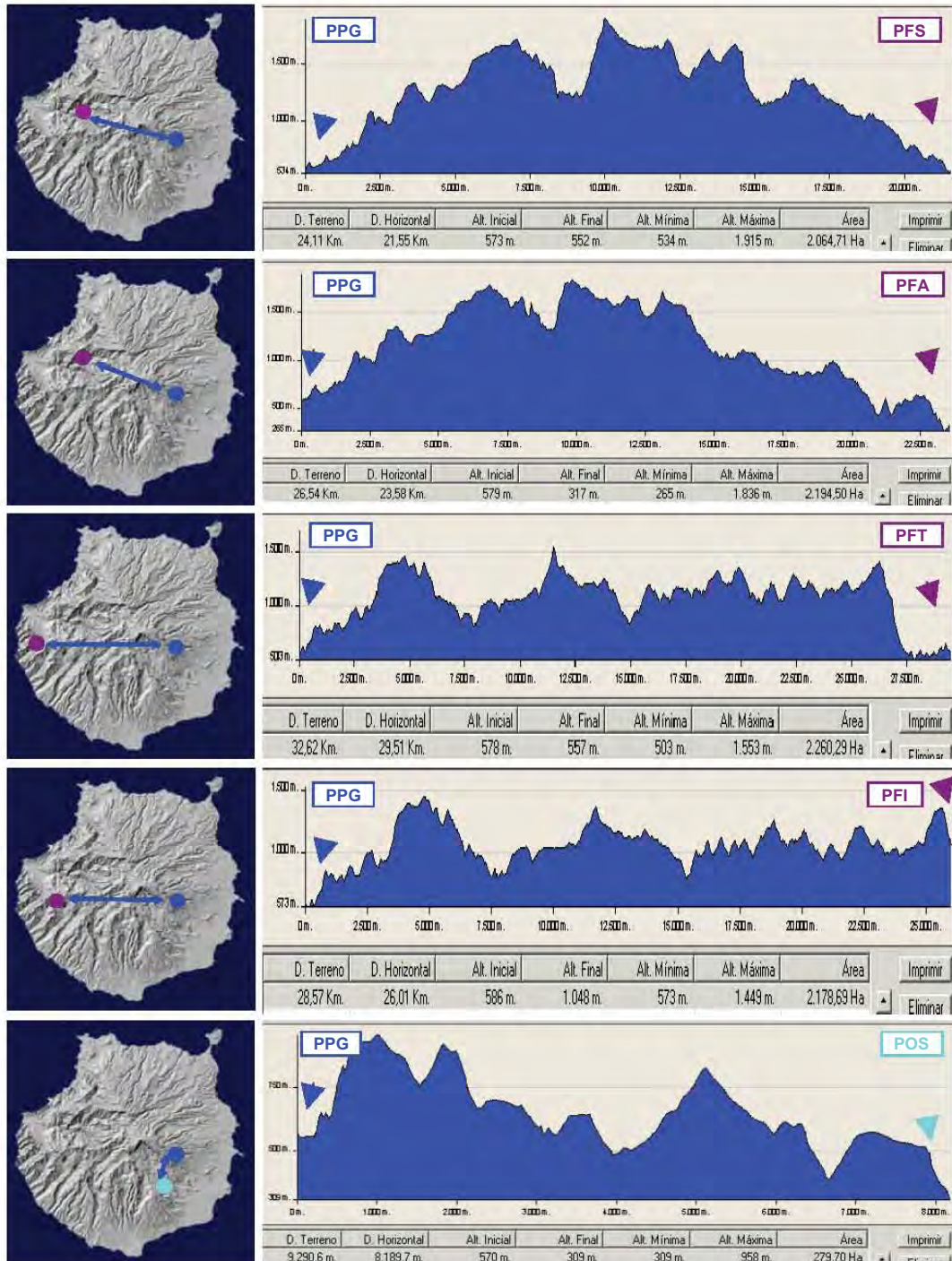


Figura 10.- Perfiles entre poblaciones. Perfiles entre la población de *P. platypetala* (Barranco de Guayadeque PPG) y las poblaciones de *P. filifolia* (Barranco de Siberio PFS, Barranco de la Aldea PFA, Tasartico PFT e Inagua PFI) y *P. ornata* (Barranco de Tirajana-La Sorrueda POS).

TABLA 7. DISTANCIAS Y DESNIVELES ALTITUDINALES ENTRE POBLACIONES Bajo la diagonal distancias lineales (kms) y entre paréntesis desniveles altitudinales (m), en la diagonal cotas medias de las poblaciones y sobre la diagonal distancias orográficas intrainsulares y lineales entre islas (según GRAFCAN y SITCAN)																	
POB	PGB	PFS	PFA	PFT	PFI	POA	POVE	POS	POV	POM	PFCH	PPG	PIT	PIG	PIA	PSA	PAC
PGB	300	26.36	27.94	36.35	32.81	24.64	34.42	21.26	27.41	39.92	19.73	12.18	156.8	115.0	136.5	177.0	253.6
PFS	24.33 (1329)	600	2.51	11.56	8.70	14.00	12.30	23.49	19.88	18.80	8.53	24.11	134.6	92.7	114.3	154.7	231.4
PFA	25.91 (1373)	1.81 (568)	315	10.00	8.57	13.87	13.02	25.90	22.48	20.07	8.53	26.54	133.0	91.1	112.7	153.1	229.8
PFT	33.76 (1337)	9.53 (771)	8.52 (805)	550	4.74	21.52	8.71	30.02	23.80	13.82	17.86	32.62	143.6	101.8	123.3	163.8	231.4
PFI	30.55 (1376)	6.95 (1144)	7.02 (1070)	3.89 (533)	1031	21.50	5.46	25.68	19.77	12.73	14.71	28.57	137.5	95.6	117.1	157.6	234.3
POA	23.33 (745)	12.66 (1313)	11.89 (1240)	19.45 (896)	18.77 (1215)	210	26.54	31.10	32.04	33.32	11.02	29.02	142.0	100.2	121.7	162.2	238.8
POVE	32.30 (1570)	10.77 (1086)	11.21 (1226)	6.75 (654)	4.58 (787)	23.12 (1322)	240	25.43	17.66	7.75	18.53	28.64	145.3	103.5	125.0	165.5	242.1
POS	19.39 (904)	21.38 (1186)	23.51 (1172)	27.42 (990)	23.49 (1004)	29.14 (1700)	22.49 (926)	300	9.69	26.28	21.18	9.29	156.6	114.7	136.2	176.7	253.4
POV	25.31 (1225)	18.20 (934)	19.99 (1193)	21.29 (962)	17.53 (903)	29.14 (1345)	15.48 (754)	8.21 (737)	450	17.08	21.41	17.03	152.3	110.4	131.9	172.4	249.1
POM	37.25 (1830)	17.12 (1411)	17.83 (1352)	12.25 (742)	11.42 (1000)	29.74 (1295)	6.74 (605)	23.54 (1006)	15.18 (669)	60	24.43	31.94	137.3	95.4	116.9	160.4	235.1
PFCH	18.68 (1462)	6.67 (661)	7.24 (800)	15.67 (803)	12.97 (1015)	9.75 (1092)	16.54 (1262)	19.55 (1476)	19.47 (1141)	22.20 (1306)	1051	19.64	138.8	97.0	118.5	159.0	235.6
PPG	11.25 (642)	21.55 (1381)	23.58 (1571)	29.51 (1050)	26.01 (876)	26.63 (1262)	26.32 (1215)	8.19 (649)	15.04 (736)	29.15 (1210)	18.29 (1166)	578	156.2	114.4	135.9	176.4	253.1
PIT	156.8	134.6	133.0	143.6	137.5	142.0	145.3	156.6	152.3	137.3	138.8	156.2	140	39.88	28.60	50.6	107.1
PIG	115.0	92.7	91.1	101.8	95.6	100.2	103.5	114.7	110.4	95.4	97.0	114.4	39.65 (595)	125	11.39	62.0	138.7
PIA	136.5	114.3	112.7	123.3	117.1	121.7	125.0	136.2	131.9	116.9	118.5	135.9	28.43 (571)	11.11 (212)	156	54.5	126.5
PSA	177.0	154.7	153.1	163.8	157.6	162.2	165.5	176.7	172.4	160.4	159.0	176.4	50.6	62.0	54.5	200	86.0
PAC	253.6	231.4	229.8	231.4	234.3	238.8	242.1	253.4	249.1	235.1	235.6	253.1	107.1	138.7	126.5	86.0	100

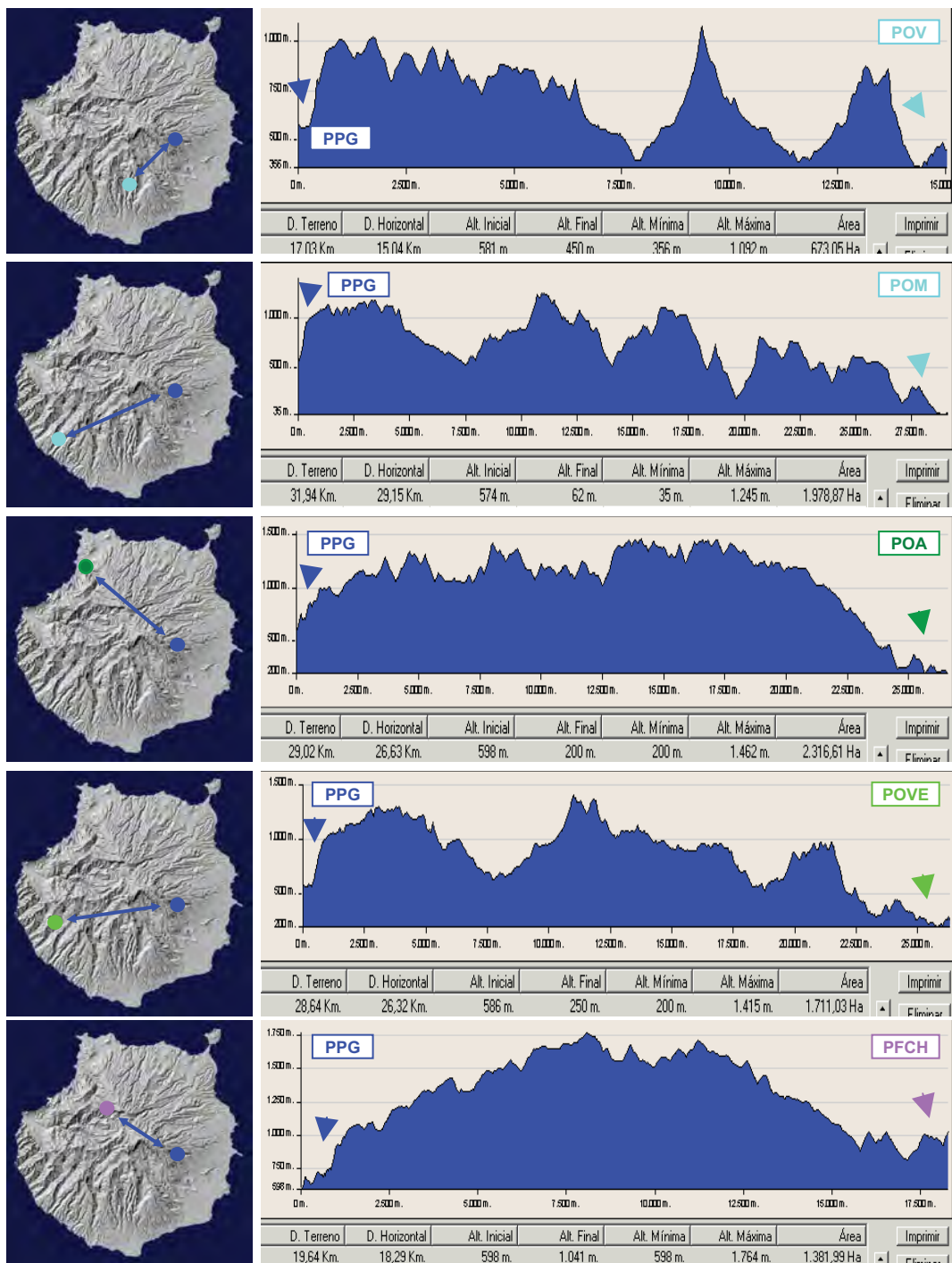


Figura 11.- Perfiles entre poblaciones. Perfiles entre la población de *P. platypetala* (Barranco de Guayadeque PPG) y las poblaciones de *P. ornata* (Barranco de los Vicentillos POV y Barranco de Mogán POM) y poblaciones sin adscripción taxonómica (Barranco de Agaete POA, Barranco de Veneguera POVE y Riscos de Chapín PFCH).

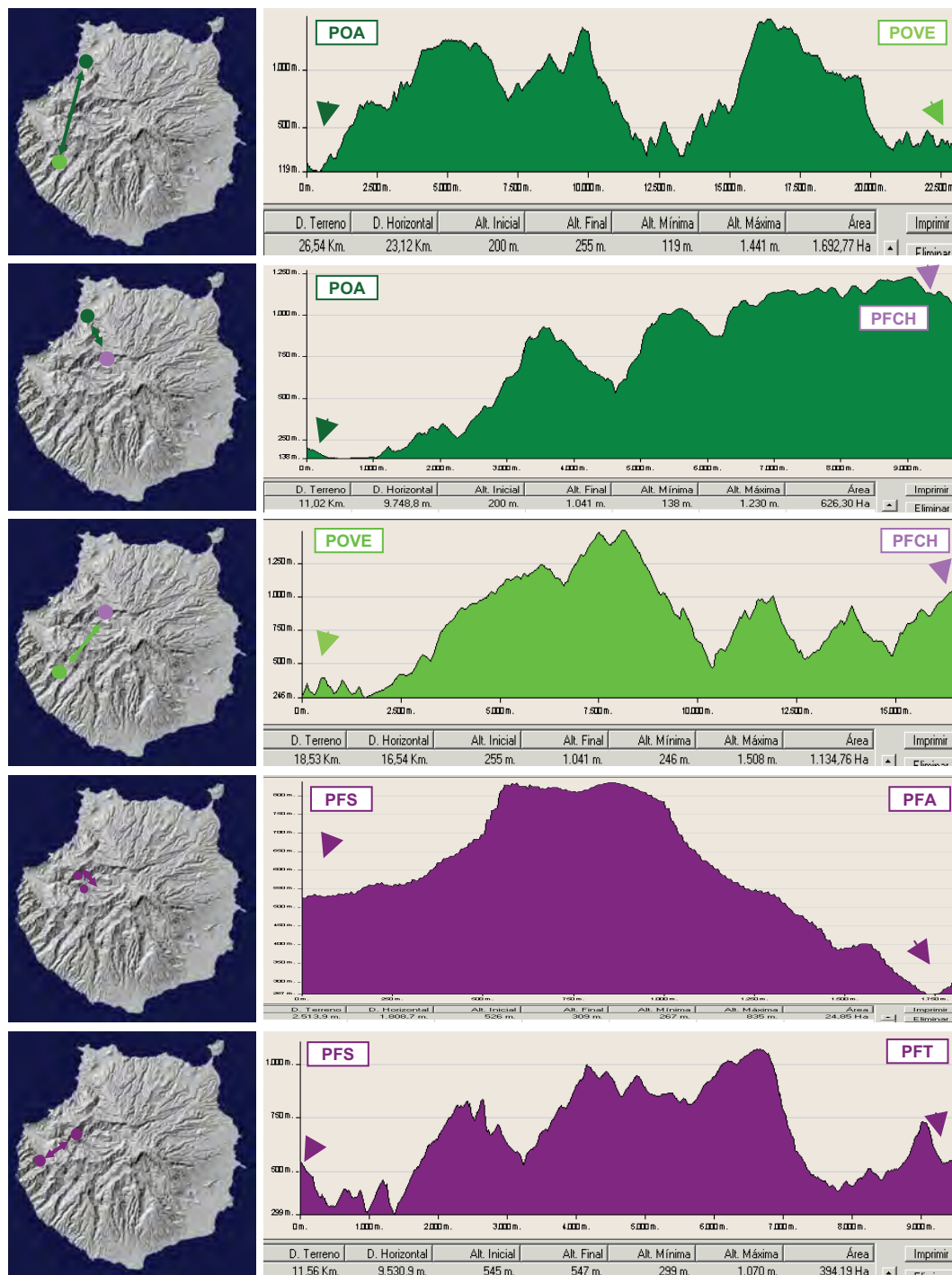


Figura 12.- Perfiles entre poblaciones. Perfiles entre las poblaciones sin adscripción taxonómica: Barranco de Agaete (POA), Barranco de Veneguera (POVE) y Riscos de Chapín (PFCH) y entre las poblaciones de *P. fillifolia*: Barranco de Siberio (PFS), Barranco de La Aldea (PFA) y Tasartico (PFT).

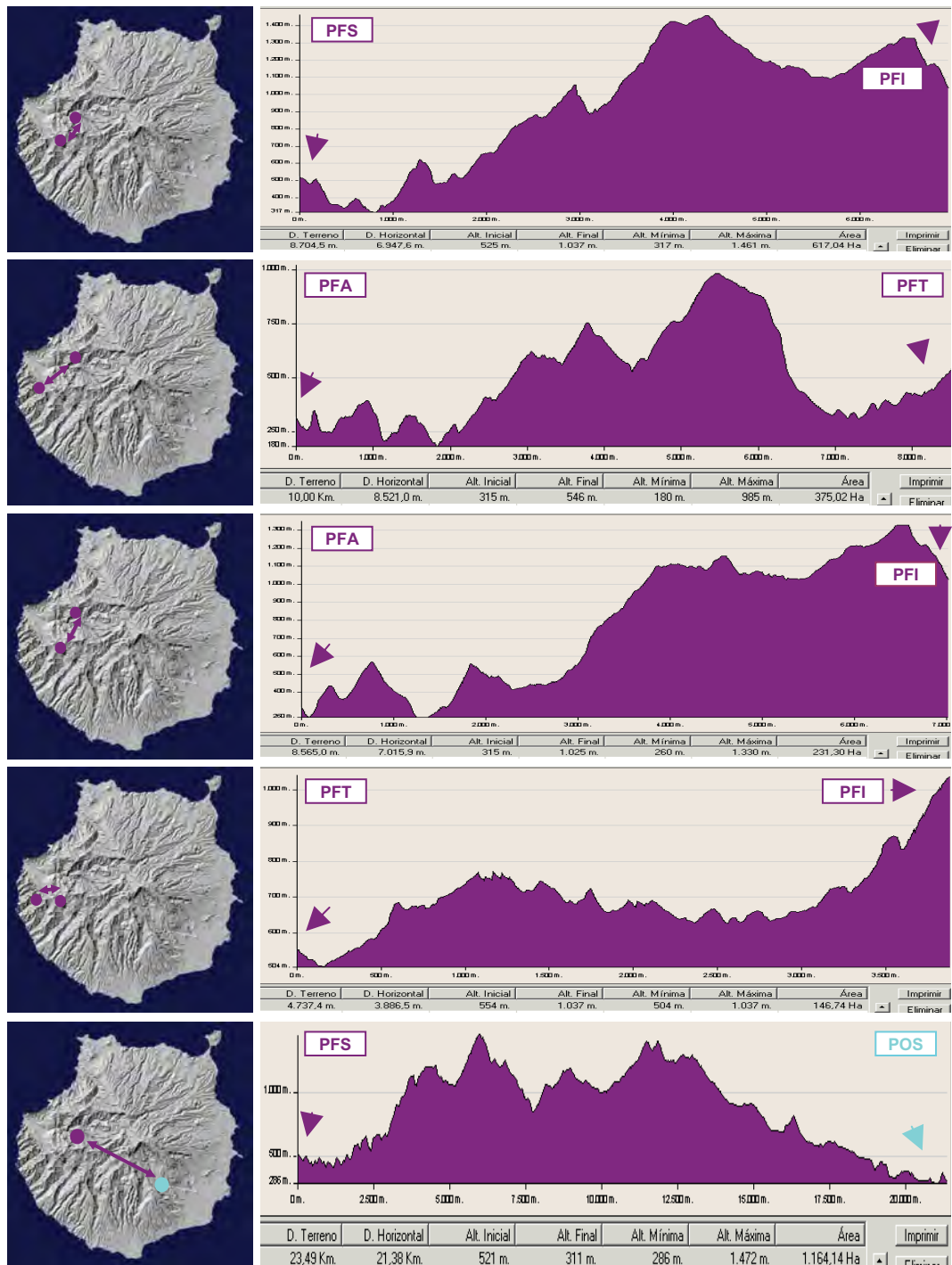


Figura 13.- Perfiles entre poblaciones. Perfiles entre las poblaciones de *P. filifolia*: Barranco de Siberio (PFS), Barranco de La Aldea (PFA), Tasartico (PFT) e Inagua (PFI); perfil entre PFS y la población Barranco de Tirajana-La Sorrueda (POS) de *P. ornata*.

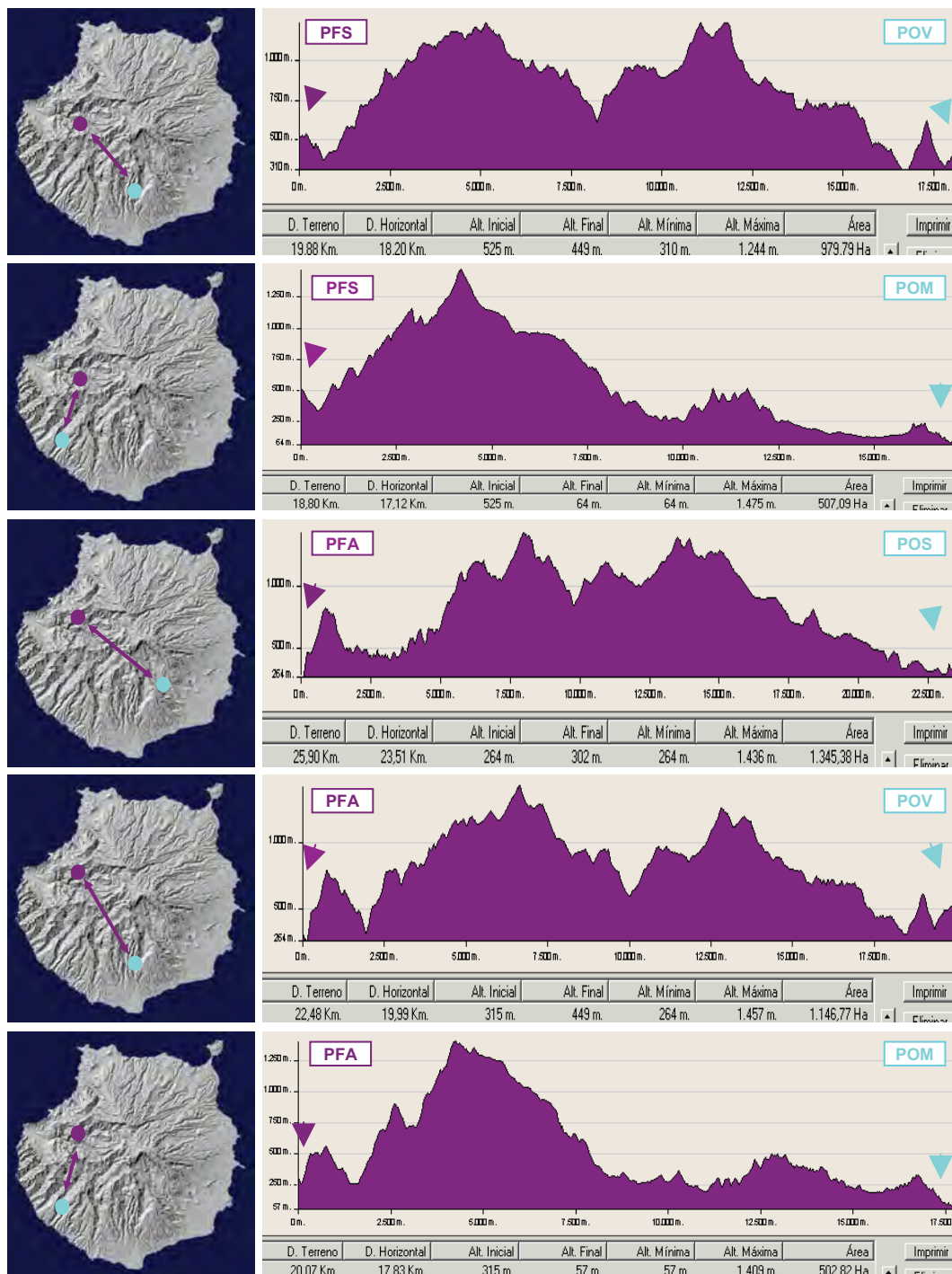


Figura 14.- Perfiles entre poblaciones. Perfiles entre las poblaciones de *P. filifolia* (Barranco de Siberio PFS y Barranco de La Aldea PFA) y *P. ornata* (Barranco de Tirajana-La Sorrueda POS, Barranco de Los Vicentillos POV y Barranco de Mogán POM).

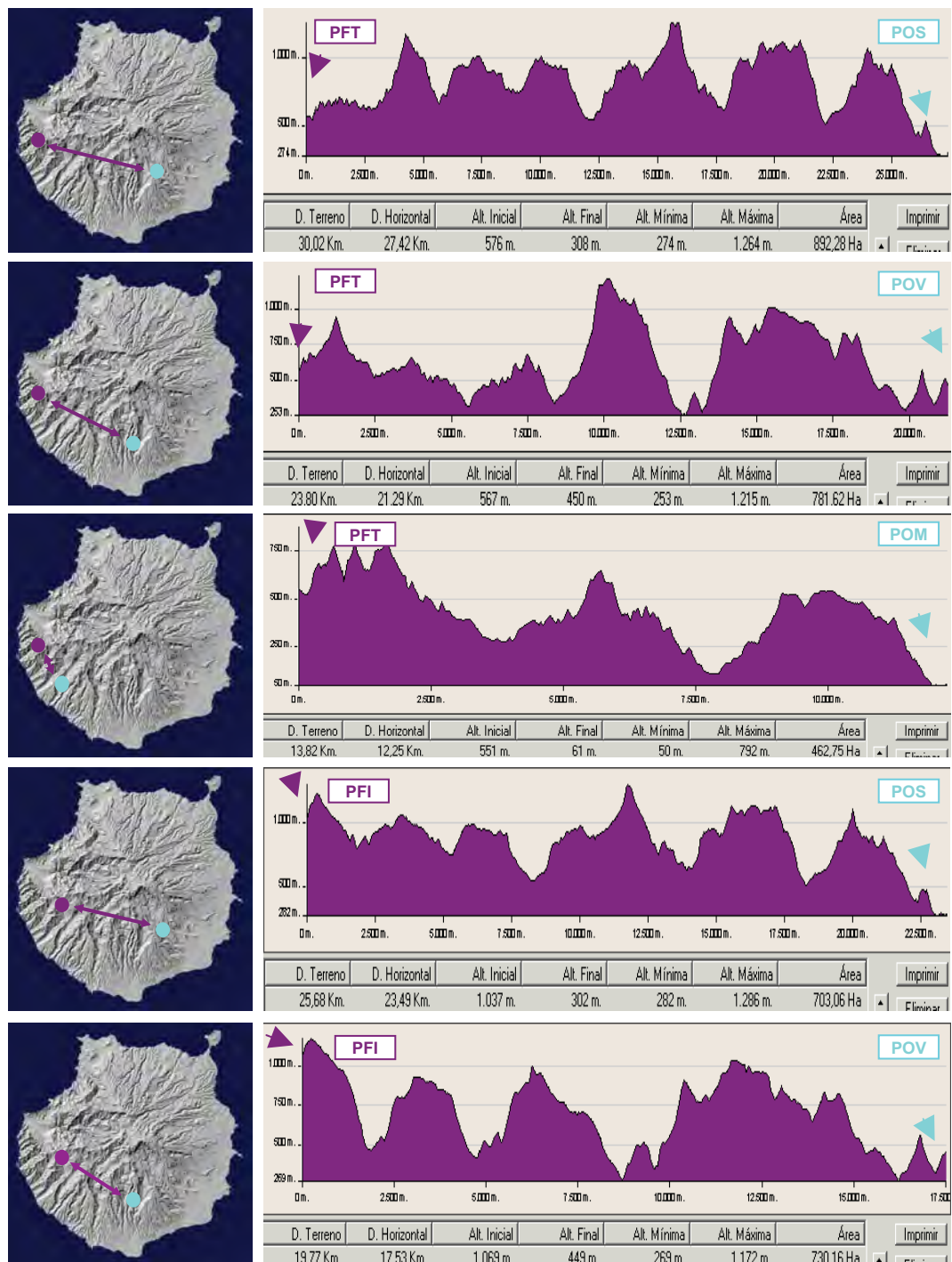


Figura 15.- Perfiles entre poblaciones. Perfiles entre las poblaciones de *P. filifolia* (Tasartico PFT e Inagua PFI) y *P. ornata* (Barranco de Tirajana-La Sorrueda POS, Barranco de Los Vicentillos POV y Barranco de Mogán POM).

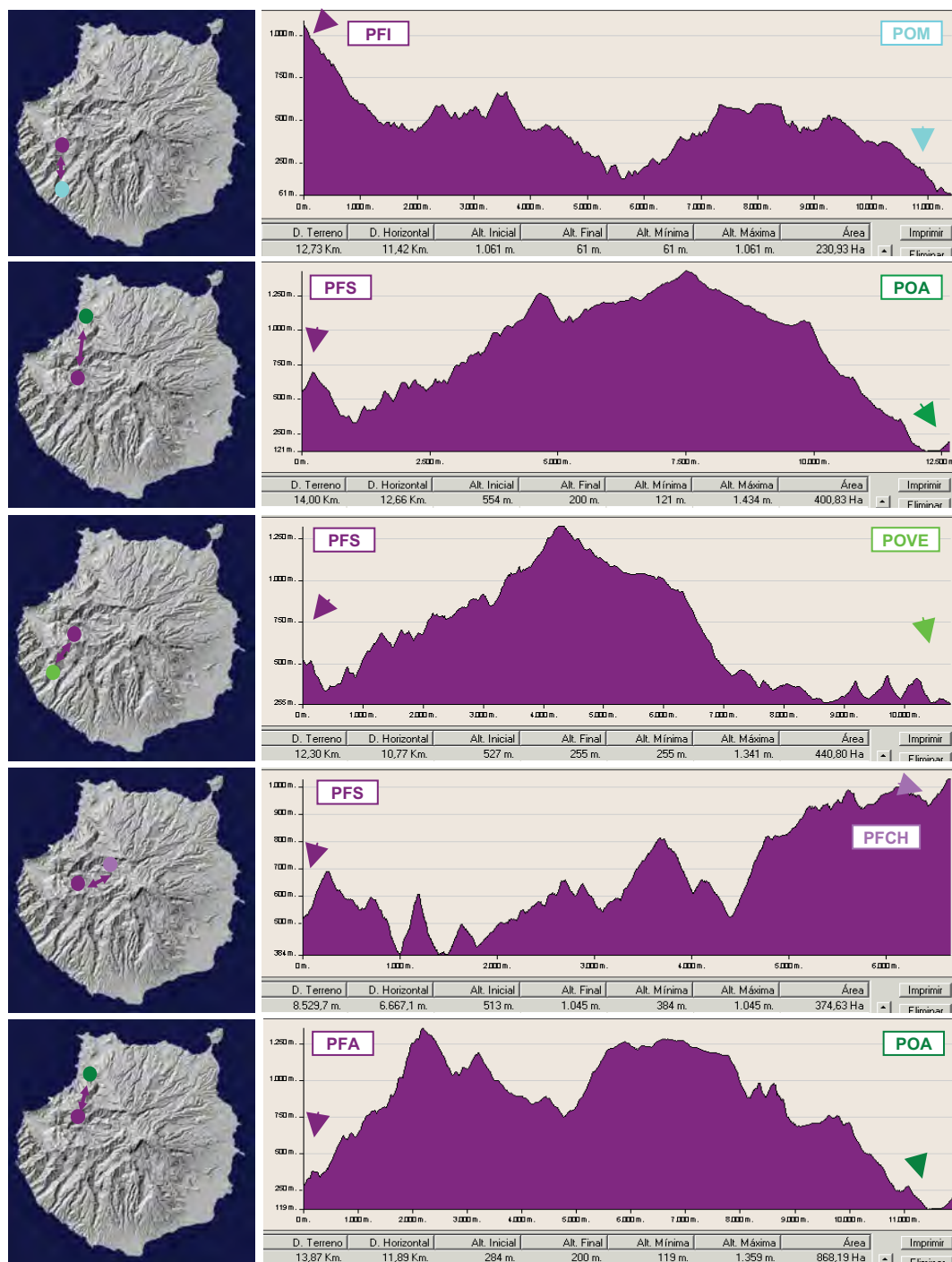


Figura 16.- Perfiles entre poblaciones. Perfil entre la población de Inagua (PFI) de *P. filifolia* y la población Barranco de Mogán (POM) de *P. ornata*. Perfiles entre las poblaciones de *P. filifolia* (Barranco de Siberio PFS y Barranco de La Aldea PFA) y las poblaciones sin adscripción taxonómica (Barranco de Agaete POA, Barranco de Veneguera POVE y Riscos de Chapín PFCH).

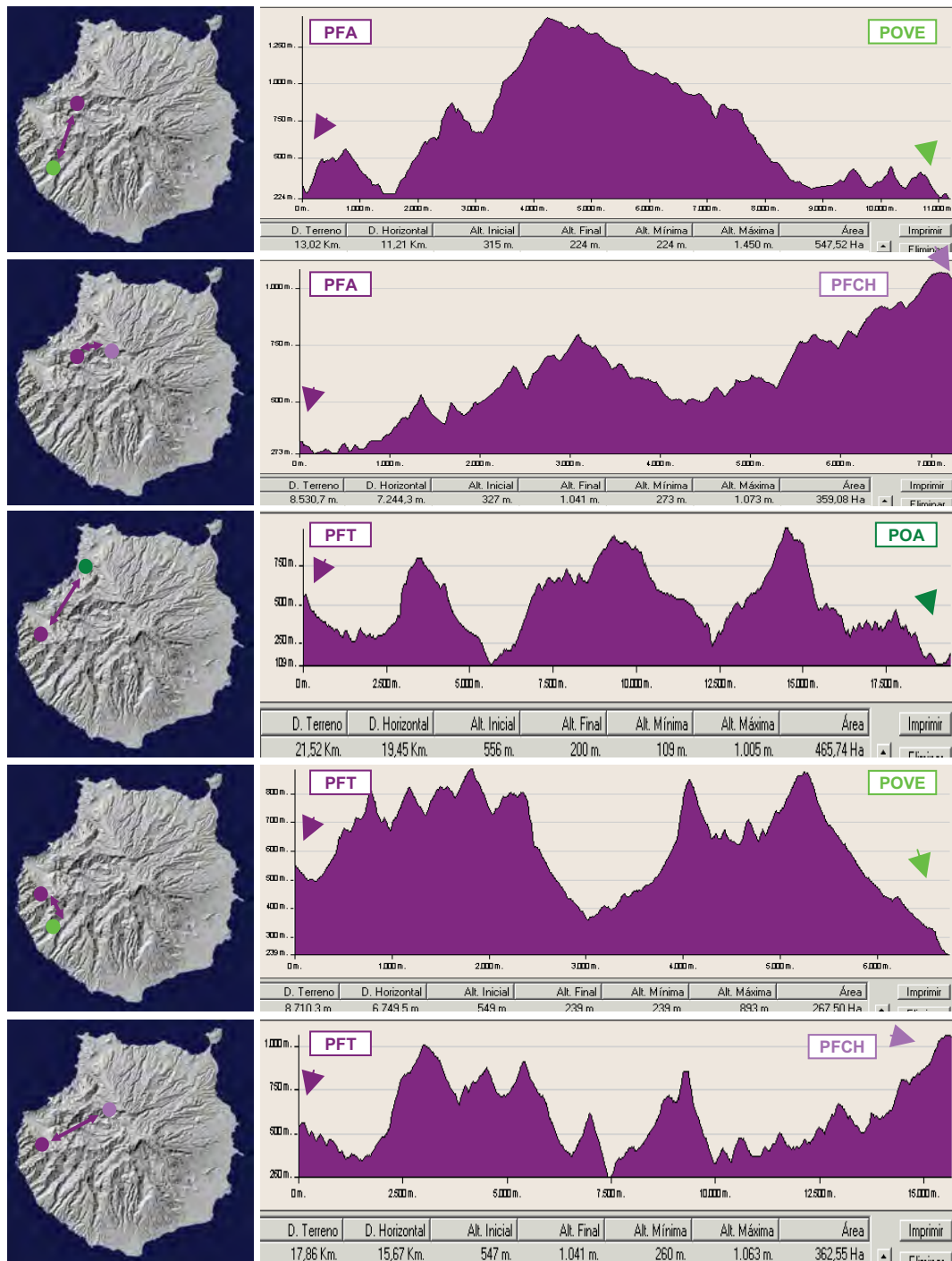


Figura 17.- Perfiles entre poblaciones. Perfiles entre las poblaciones de *P. filifolia* (Barranco La Aldea PFA y Tasartico PFT) y poblaciones sin adscripción taxonómica (Barranco de Agaete POA, Barranco de Veneguera POVE y Riscos de Chapín PFCH).

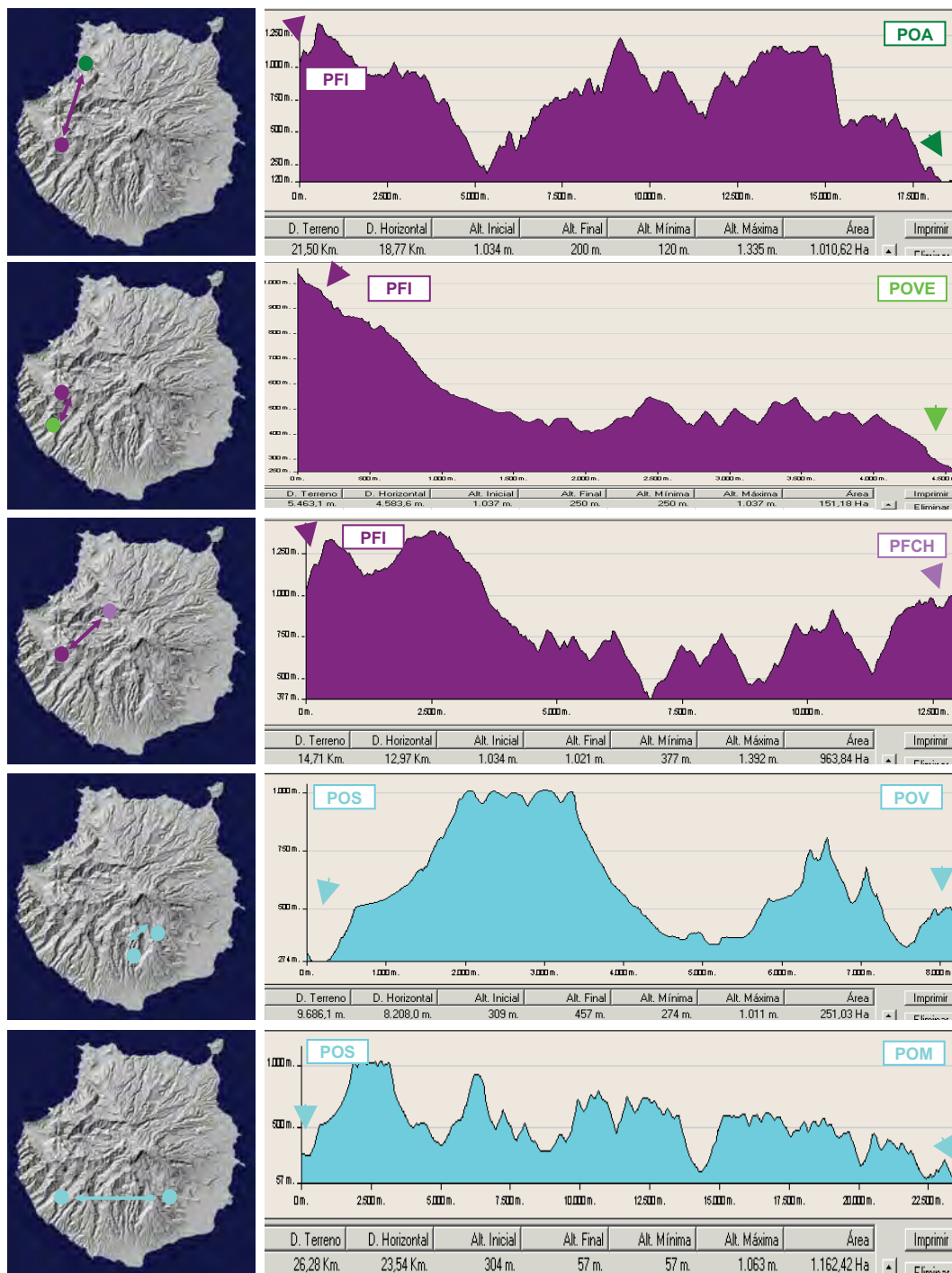


Figura 18.- Perfiles entre poblaciones. Perfiles entre las población de Inagua (PFI) de *P. filifolia* y las poblaciones sin adscripción taxonómica (Barranco de Agaete POA, Barranco de Veneguera POVE y Riscos de Chapín PFCH). Perfiles entre poblaciones de *P. ornata* (Barranco de Tirajana-La Sorrueda POS, Barranco de Los Vicentillos POV y Barranco de Mogán POM).

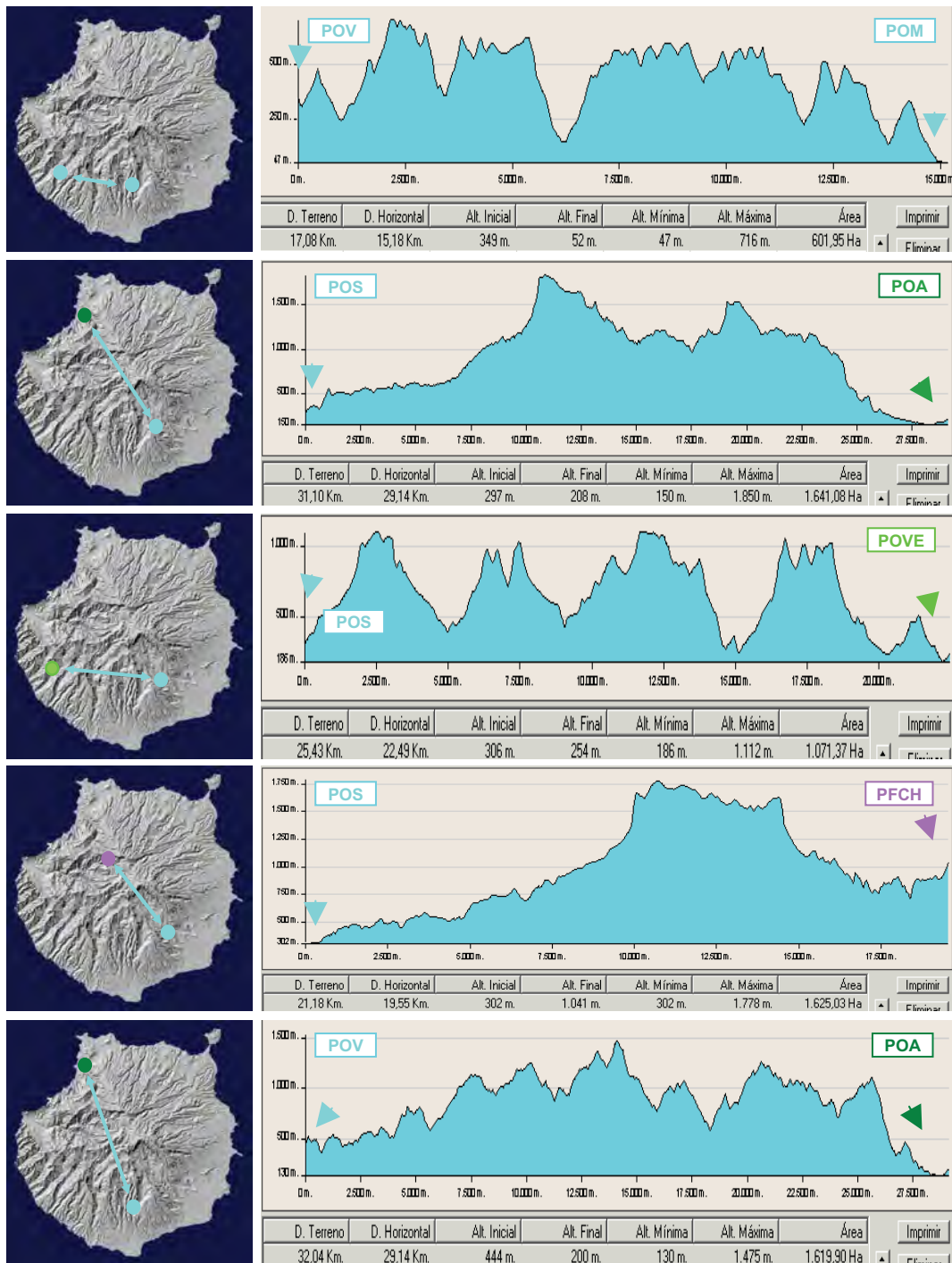


Figura 19.- Perfiles entre poblaciones. Perfil entre las poblaciones Barranco de Los Vicentillos (POV) y Barranco de Mogán (POM) de *P. ornata*. Perfiles entre las poblaciones de *P. ornata* (Barranco de Tirajana-La Sorrueda POS y Barranco de Los Vicentillos POV) y las poblaciones sin adscripción taxonómica (Barranco de Agaete POA, Barranco de Veneguera POVE y Riscos de Chapín PFCH).

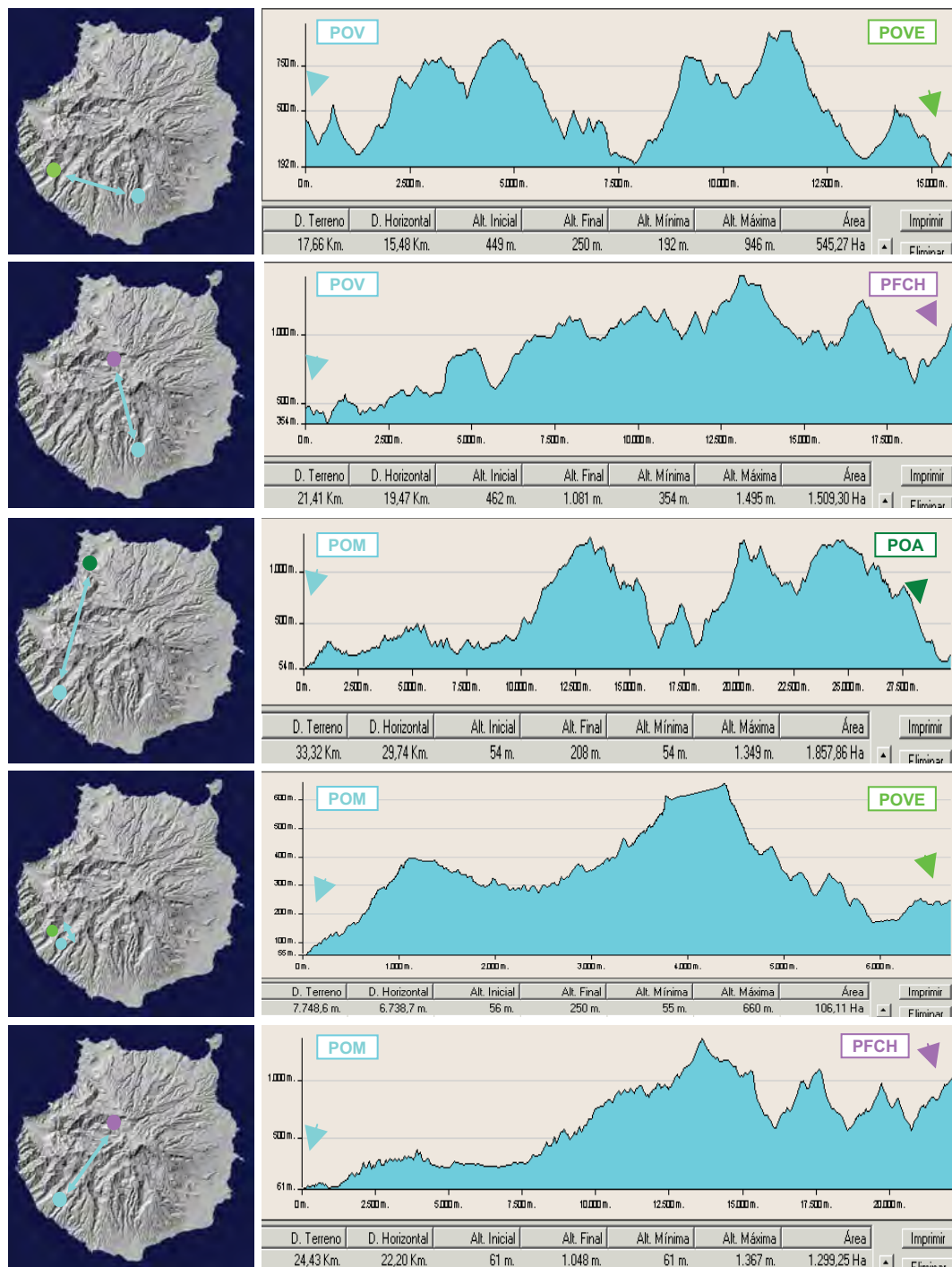


Figura 20.- Perfiles entre poblaciones. Perfiles entre poblaciones de *P. ornata* (Barranco de Los Vicentillos POV y Barranco de Mogán POM) y poblaciones sin adscripción taxonómica (Barranco de Agaete POA, Barranco de Veneguera POVE y Riscos de Chapín PFCH).

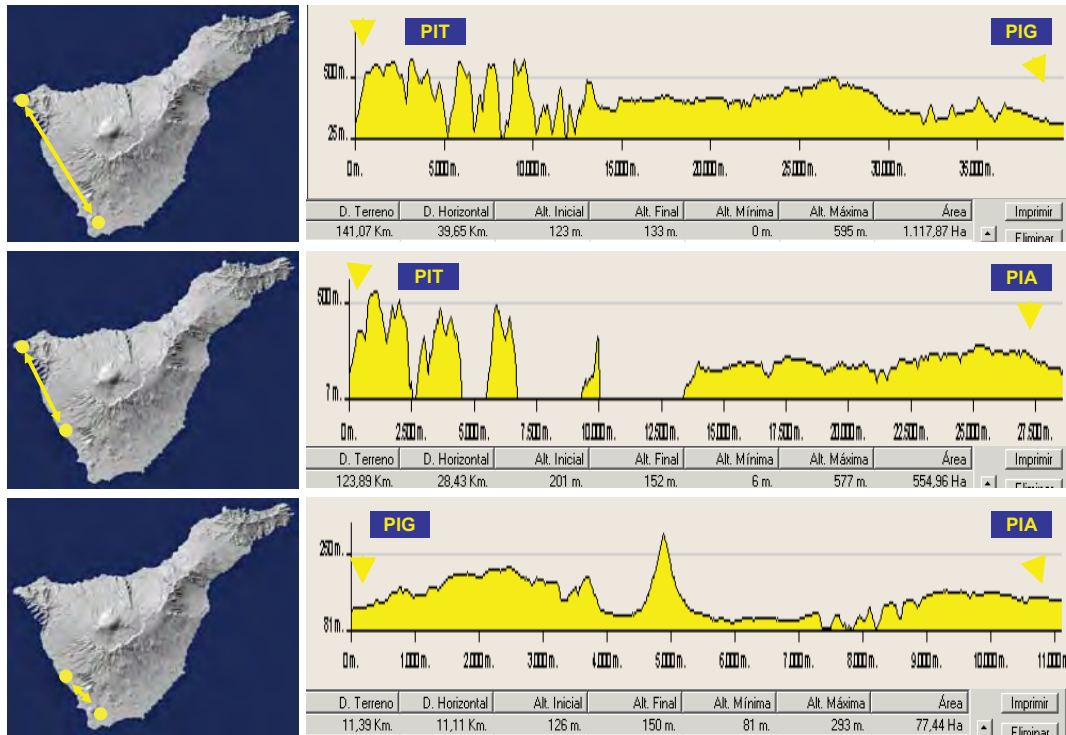


Figura 21.- Perfiles entre poblaciones. Perfiles entre poblaciones de *P. intermedia*: Macizo de Teno (PIT), Montaña de Guaza (PIG) y Armeñime de Adeje (PIA).

4. BIODIVERSIDAD Y SISTEMÁTICA

La SISTEMÁTICA es el estudio científico de la BIODIVERSIDAD o diversidad de los seres vivos y de las relaciones entre ellos. Se considera como la disciplina biológica por excelencia, que nombra, describe, clasifica y determina las *relaciones* entre los seres vivos constituyendo por tanto el eje central de más *amplio rango* de la biología, al reunir y resumir todos los aspectos de los organismos: *geográficos, morfológicos, fisiológicos, genéticos, ecológicos y filogenéticos*. De esta manera las clasificaciones vegetales dejan de ser meramente descriptivas y sus objetivos se dirigen hacia la formulación de hipótesis acerca de las leyes generales y relaciones de los seres vivos (HEYWOOD, 1968; SNEATH & SOKAL, 1973; CRISCI, 1977 y 2006 a, b; CRISCI & LÓPEZ ARMENGOL, 1983; SNEATH, 1995; JENSEN, 2003; STUESSY, 2003).

Los fundamentos de la Sistemática Vegetal, centrados en las dos tendencias tradicionalmente irreconciliables de *feneticismo* y *cladismo*, se enfocan actualmente bajo las directrices de la *Deep Morphology* (STUESSY, 2003) escuela que representa una nueva perspectiva integradora para analizar, caracterizar y re-interpretar todos los datos y aspectos de la biodiversidad. Con esta nueva directriz, la BIODIVERSIDAD se considera integrada por diferentes *niveles estructurales de organización*, que abarcan desde los caracteres morfológicos observables a simple vista, hasta los observables solo con microscopía electrónica, incluyendo a demás los aspectos fisiológicos y funcionales de la *biología*

reproductiva, así como los *genético-moleculares*. De esta manera, la biodiversidad se contempla según cuatro niveles estructurales: 1-*Macro-morfología* (caracteres visibles del fenoma), 2-*Micro-morfología* (caracteres microscópicos del fenoma: citología, anatomía), 3-*Morfología metabólica* (proteoma: proteínas, metabolitos primarios y secundarios) y 4-*Nanomorfología* (genoma: moléculas de DNA y RNA).

El estudio de la biodiversidad se enfoca pues, bajo una perspectiva globalizadora, que aunque no se reconoce explícitamente, se manifiesta en las numerosas publicaciones de los últimos años (principalmente desde el 2000), donde se integran los estudios moleculares (tanto de diversidad poblacional como de filogenia molecular) con datos de *biología reproductiva* y/o aspectos *morfológicos* según distintos niveles de observación: micro-morfología, citogenética, palinología (CHASE, FAY & SAVOLAINEN. 2000; CRAWFORD, 2000; ENDRESS, BASS & GREGORY, 2000; PRANCE, 2000; SCOTLAND, 2000; STEVENS, 2000; STUESSY, HÖRANDL & MAYER, 2000 y 2001; DILCHER, 2001; LEVIN, 2001; RIESEBERG & BURKE, 2001; SCHAAL & LEVERICH, 2001; SOLTIS & SOLTIS 2001; STUESSY, 2001 y 2003; SYTSMA & PIRES, 2001; BACHMANN & O. GAILING, 2003; GIVNISH, 2003; ENDRESS, 2003; GLEISSBERG, 2003; HESSE, 2003; O'KANE & AL-SHEHBAZ, 2003; WEBER, 2003; CRAWFORD, MORT & ARCHIBALD, 2005; HENRY, 2005; HENDERSON, 2006; GARCÍA-VERDUGO, BERMEJO DOMÍNGUEZ, RUBIO DE CASAS, PÉREZ-CORONA, MANRIQUE, GRANADO-YELA, BALAGUER & VARGAS, 2007; KÁLMAN, MEDVEGY, PÉNZES & MIHALIK, 2007; NYBOM & BARTISH, 2007; VARGAS, 2007; ALVAREZ, PERALTA, SALAS & SPOONER, 2008; ALZATE, MORT & RAMÍREZ, 2008; BORG, McDADE & SCHÖNENBERGER. 2008; BORSCH, LOHNE & WIERSEMA. 2008; HONG-WA, 2008; KULBABA & WORLEY, 2008; LESLIE, 2008; MIRJALILI, BENNETT & POORAZIZI, 2008; PIRES & HERTWECK, 2008; SOKOLOFF, REMIZOWA, MACFARLANE & RUDALL, 2008; STÅHLBERG & HEDRÉN, 2008; VAN ETTEN, PREVOST, DEEN, ORTIZ, DONOVAN & CHANG, 2008; WRIGHT, NESS, FOXE & BARRETT, 2008; ANDRES-SÁNCHEZ, RICO, HERRERO, SANTOS-VICENTE & MARTÍNEZ-ORTEGA, 2009; BAUM, AUDRAN, TORRES & MÉDAIL, 2009; MATTHEWS, 2009; SAAD & MAHY, 2009).

El estudio de estos niveles estructurales se enmarca obviamente en los distintos niveles de jerarquía taxonómica incluyendo los infra-específicos de población natural, que reflejan la historia micro-evolutiva de las especies que incluye la Biología de Poblaciones (SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001, STUESSY, 2003; WEBER, 2003; SOLTIS *et al.*, 2005; PIRES & HERTWECK, 2008). Aunque un análisis sistemático completo requiere datos de los cuatro niveles estructurales, cada uno de ellos se considera más o menos adecuado según su relación con cada una de las tres áreas de la SISTEMÁTICA: I-Taxonomía, II-Evolución o especiación y III-Filogenia (ver esquemas de niveles de organización y sistemática):

I- En el área de *Taxonomía y clasificación* se considerarán más adecuados los estudios de los niveles estructurales fundamentalmente referidos a la Macro-morfología (1) y Micro-morfología (2). II- En el área destinada al estudio de los *Procesos evolutivos de divergencia poblacional* (especiación), aunque se considerarán adecuados los cuatro niveles que pueden informar de los fenómenos de divergencia poblacional (adaptación, hibridación, diversificación, radiación), revelan especial interés los niveles de micro-morfología (2), caracterización molecular de proteínas por isoenzimas (3) y caracterización genético-molecular de ADN (4), como fuentes de variación micro-morfológico-reproductiva y genética dentro y entre poblaciones. III- En el área destinada a la *Filogenia* (cladismo) o genealogía de especies se incluyen los caracteres conservativos que no han sido sometidos a la selección ambiental (o

mínimamente). Se considerará más adecuado o máximamente predictivo el Nivel 4 molecular del genoma (ADN ó ARN) y a veces el nivel 2 de algunos micro-caracteres palinológicos y/o citogenéticos y Nivel 3 molecular o proteoma (isoenzimas).

Esta filosofía integradora en los estudios de la *biodiversidad* o SISTEMÁTICA VEGETAL, potencia y hace resurgir con fuerza el *feneticismo* y técnicas de la *taxonomía numérica* y análisis multivariante y centra sus exigencias globalizadoras en una serie de requisitos mínimos que hacen informativos y comparables los caracteres de los *cuatro niveles estructurales*, como se verá más adelante (ver esquemas de niveles de organización y sistemática).

4.1. NUEVO ENFOQUE DE LOS ESTUDIOS DE BIODIVERSIDAD. SISTEMÁTICA VEGETAL Y DEEP MORPHOLOGY

La Sistemática Vegetal pues, se enfoca actualmente bajo una perspectiva globalizadora que re-interpreta y caracteriza la biodiversidad tanto morfológica como genética. Aunque no se reconozca explícitamente como *Deep Morphology*, este enfoque integrador se evidencia en las numerosas publicaciones de los últimos años, donde se combinan los datos *moleculares* (tanto de diversidad poblacional como de filogenia) con los de *biología reproductiva* y/o aspectos *morfológicos* según distintos niveles de observación.

Este trabajo que enfoca los estudios sistemáticos de *Parolinia* con la nueva perspectiva de la *Deep Morphology* donde la biodiversidad se contempla según *cuatro niveles estructurales* incluye, desde caracteres morfológicos observables a simple vista, hasta los observables solo con microscopía electrónica, abarcando además aspectos fisiológicos y funcionales de *biología reproductiva*, como también *genético-moleculares* por isoenzimas (ver esquemas de niveles de organización y sistemática).

Esta nueva filosofía de la sistemática vegetal actual, potencia y hace resurgir con fuerza el *feneticismo* y *taxonomía numérica* con las técnicas tradicionales del *análisis multivariante* mediante las cuales la Sistemática ha cuantificado sus procedimientos sosteniendo como principios más importantes para la clasificación biológica, la *similitud* morfológica (fenotípica) basada en el análisis de un gran número de caracteres con el mismo peso o importancia, después de cumplir rigurosamente con las etapas de: 1º) elección de *UTOs* (Unidades Taxonómicas Operativas) estableciendo los niveles jerárquicos de *individuo*, *población natural* o *taxon*, 2º) elección de los grupos de *caracteres* o variables, 3º) caracterización y determinación de los *estados* de los caracteres u homologías y 4º) determinación del número mínimo de *UTOs* y de caracteres. Los grupos o relaciones de *similitud* entre *UTOs*, se determinan pues por la asociación y correlación de los datos de los caracteres, sin incluir la filogenia (genealogía) aunque no la descartan.

Para hacer informativos y comparables los caracteres de los cuatro niveles estructurales de la *biodiversidad* la *Deep Morphology* centra sus exigencias integradoras en una serie de *requisitos mínimos* por los que: 1º. Se deben escoger los caracteres del *nivel estructural apropiado* a la problemática o área de la Sistemática en cuestión. 2º. Se deben elegir y definir los *caracteres* con precisión (cuantitativos, cualitativos, continuos, discretos) identificando con rigor sus *estados* (homologías). 3º. Se deben detectar *correlaciones* entre *caracteres* del mismo o distinto nivel estructural, identificando así posibles complejos estructurales co-adaptados. 4º. Se debe determinar la *congruencia taxonómica* según los *resultados* obtenidos bajo la perspectiva de por lo menos DOS de los cuatro niveles estructurales establecidos.

4.2. BIOLOGÍA DE POBLACIONES. BIODIVERSIDAD Y MICRO-EVOLUCIÓN. FUNDAMENTOS BIOLÓGICOS

Este estudio donde se contempla el género *Parolinia* con la nueva perspectiva analiza la *biodiversidad poblacional* de las 7 especies del género según los *cuatro niveles estructurales*, llevándose a cabo fundamentalmente desde los niveles de Macro-morfología, Micro-morfología y de isoenzimas enmarcados en las áreas I y II de la SISTEMÁTICA (I-Taxonomía y II-Evolución o especiación) contemplando especialmente: análisis taxonómico del género y de los *procesos evolutivos* de *divergencia poblacional* o especiación.



Estos análisis se verán complementados también con datos del nivel 4 genético-molecular de ADN relativos a la filogenia molecular de *Parolinia* y parientes allegados (III-Filogenia) por confrontaciones de la información bibliográfica disponible (WARWICK *et al.*, 2007; JAÉN *et al.*, 2007).

El estudio de *Parolinia* se centrará por tanto específicamente en una serie de análisis poblacionales de las especies del género, a partir de los tres primeros niveles estructurales de biodiversidad, como fuentes de variación macro y micro-morfológico-reproductiva y genética por isoenzimas, dentro y entre las poblaciones de *Parolinia*.

La *biología y estructura* de las POBLACIONES NATURALES está referida a dos elementos distintos pero indivisibles e interrelacionados, la estructura *morfológico-reproductiva y demográfica* de los *individuos* y la estructura *genética*, diferenciándose principalmente según las disciplinas y técnicas de estudio (RICHARDS, 1987 y 1997; LANDE, 1988; FALK & HOLSINGER, 1991; STLAKIN, 1994; FRANKEL *et al.*, 1995; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

La *estructura morfológico-reproductiva* incluye también los aspectos vegetativos y demográficos del *ciclo vital* asociados al nacimiento, reproducción, dispersión (*flujo génico*) y

muerte de los individuos, siendo necesario determinar los sistemas de polinización (*flujo polínico*), sistemas sexuales, sistemas de incompatibilidad, sistemas de cruzamientos y eficacia reproductiva.

La *estructura genética*, determinada por la estructura de los individuos de la población y por su biología reproductiva, está determinada también por la incidencia de procesos genéticos como la *deriva*, *selección*, *mutación* y *flujo génico*, siendo necesario para comprender el patrón de variación genética de las poblaciones naturales y especies, determinar los *genotipos* de los diferentes individuos de la población junto con sus frecuencias alélicas.

BIODIVERSIDAD & SISTEMÁTICA: NIVELES DE ORGANIZACIÓN
 Deep Morphology: complejidad estructural de los organismos (Stuessy, 2003 modificado)

BIODIVERSIDAD	SISTEMÁTICA		
	I - TAXONOMÍA	II - EVOLUCIÓN ESPECIACIÓN	III - FILOGENIA
1 - MACRO 	fenotipos filético	adaptación radiación inter poblacional	análisis evolutivos filograma fenograma
2 - MICRO 	fenotipos filético	adaptación diversificación hibridación intra & inter poblacional	evolución caracteres ratios evolución fenograma cladograma
3 - METABÓLICO PROTEICO (isoenzimas) 	fenotipos filético	adaptación diversificación intra & inter poblacional	innovaciones ratios evolución fenograma cladograma
4 - NANO (ADN, ARN) 	genotipos filético filogenético	diversificación hibridación intra & inter poblacional	cladograma

4.3. BIOLOGÍA REPRODUCTIVA, BIODIVERSIDAD Y POBLACIÓN NATURAL. APLICACIONES A LA CONSERVACIÓN

El conocimiento de las correlaciones morfológico-reproductivas y genéticas se considera de suma importancia y uno de los pilares maestros de la *biología de poblaciones* que debe sustentar el mantenimiento y conservación de su biodiversidad y perdurabilidad en el tiempo, que al mismo tiempo, sustenta el potencial evolutivo de las especies.

Asimismo el conocimiento de estos patrones de biodiversidad en el espacio y en el tiempo, constituye uno de los pilares maestros sobre los que se debe apoyar la conservación de las especies para paliar su erosión a corto, medio y largo plazo (RICHARDS, 1986 y 1997; FALK & HOLSINGER, 1991; SCHEMSKE *et al.*, 1994; HAMRICK & GODT, 1996 y 1997; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BRIGGS & WALTERS, 1997; BARRETT, 1995, 1998 y 2003; GRANT, 1998; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001; ANDERSON *et al.*, 2002).

Según algunos autores el destino ineludible de todas las especies hacia la extinción, se hace especialmente patente en las floras insulares (FRANKHAM, 1997, 1998; STUESSY *et*

al., 1998; FERNÁNDEZ-PALACIOS & MARTÍN ESQUIVEL, 2001). De hecho hoy se sabe que un 80% de las extinciones conocidas desde la expansión europea (desde el año 1600 hasta la actualidad) ha sido en especies insulares. Al parecer la probabilidad de que una especie insular se extinga es de unas 40 veces superior a que lo haga una continental (BOWEN & VAN VUREN, 1997).

El factor responsable de esta altísima vulnerabilidad se atribuye al escaso número y tamaño de las poblaciones de las especies endémicas, generalmente circunscritas a una única isla, cuando no a un único risco o barranco como son algunas de las situaciones en el género *Parolinia*. En estas condiciones cualquier alteración del hábitat, ya sea natural o inducida por la actividad humana puede ser irrecuperable.

4.3.1. Biodiversidad, sistemas de reproducción y componente filogenético

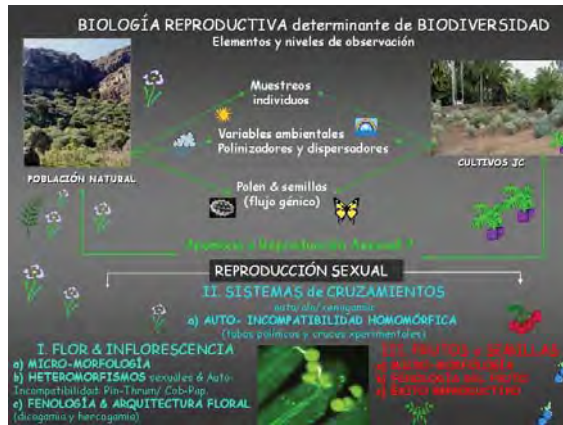
Los *sistemas de cruzamiento* causa determinante de la biodiversidad poblacional, se consideran sin duda alguna íntimamente relacionados a los síndromes florales morfológicos y fisiológicos, configurando los distintos mecanismos de polinización (primera oportunidad de *flujo génico*), sistemas sexuales y/o distintos sistemas de auto-incompatibilidad, siendo responsables por tanto del éxito reproductivo, transmisión genética entre generaciones y de su configuración y dinámica genético-morfológica evolutiva (WEBB, 1984; RICHARDS, 1986 y 1997; BARRETT, 1995; 1998, 2003 y 2008; BARRETT, HARDER & WORLEY, 1996 y 1997; HUSBAND & SCHEMSKE, 1995, 1996 y 2000; HAMRICK & GODT, 1996; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BRIGGS & WALTERS, 1997; GIVNISH, 1997 y 1998; GRANT, 1998; ANDERSON *et al.*, 2001; BERNARDELLO *et al.*, 2001; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001; PÉREZ DE PAZ, 2002; PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007). Tras la doble fecundación en las plantas superiores, la flor (ovario) se transforma en fruto madurando paralelamente el endospermo y embrión conformando las semillas que se dispersan, haciendo posible la segunda oportunidad de migración del *flujo génico*.

De vital importancia es el alto “componente filogenético” con fuerte valor predictivo que nos da “pistas” en las especies amenazadas de los síndromes florales y reproductivos así como de la diversidad genética, de manera que los taxones relacionados son similares, informando además de los procesos de diversificación de la flora endémica, siendo fundamental para identificar los problemas de EROSIÓN y anomalías reproductivas. Como consecuencia, la correcta caracterización de la *biodiversidad* de una especie amenazada, está íntimamente relacionada con la de otros CONGÉNERES no amenazados (WEBB, 1984; HAMRICK & GODT, 1996; GITZENDANNER & SOLTIS, 2000).

La *supervivencia* de una especie depende fundamentalmente de la eficacia reproductiva de cada una de sus *poblaciones naturales*, que a su vez configura la estructura de la diversidad genético-morfológica de sus individuos, de manera que, siendo causa o efecto, el *éxito reproductivo* constituye uno de los factores limitantes junto con otros agentes intínsecos y extrínsecos (Capítulo III: 346-347). En la actualidad el nuevo contexto de *conservación* considera que la integración de disciplinas debe constituir la base científica necesaria y adecuada que aporte resultados y directrices para las estrategias de recuperación y conservación de las floras amenazadas. La Estrategia Global para la Conservación Vegetal asume la necesidad de estudios globalizados multidisciplinares de Biodiversidad y Biología de Poblaciones como base científica de la *Biología de la Conservación* que genera estrategias de recuperación para las especies amenazadas con acciones específicas y eficaces tanto preventivas como correctoras y tanto *in situ* como *ex situ* (HEYWOOD & IRIONDO, 2003).

4.3.2. Biología reproductiva, biodiversidad y micro-evolución. Población natural

Actualmente, la DIVERSIDAD taxonómica y con ello las distintas formas de micro-evolución y especiación se contemplan como procesos biológicos condicionados por variables ambientales, mecanismos reproductivos y por la genética de cada una de sus *poblaciones naturales*, siendo este nivel infra-específico la materia prima de la evolución biológica donde



realmente se da oportunidad a los taxones para desenvolverse bajo diferentes condiciones ambientales.

La *población natural* constituye, por tanto, la unidad funcional reproductiva y ecológica, recurso de supervivencia y de potencial evolutivo identificándose como unidad básica de la especie, donde se configuran los *ciclos reproductivos* y donde se producen los cambios genéticos y por tanto adaptativos. Cualquier modificación en el número de individuos (genotipos y/o

fenotipos) puede destruir adaptaciones locales rompiendo complejos o asociaciones genéticas co-adaptadas, alterando su ciclo y éxito reproductivo (HAMRICK & GODT, 1989, 1996 y 1997; FALK & HOLSINGER, 1991; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BARRETT *et al.*, 1997; BRIGGS & WALTERS, 1997; RICHARDS, 1997; BARRETT, 1998; GRANT, 1998; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

A nivel de población natural los *sistemas de reproducción* son, por tanto, los que determinan la *biodiversidad* o variabilidad de los individuos (fenotipos y genotipos) a su vez regulados e influenciados por mecanismos genéticos donde además intervienen factores de carácter ambiental (bióticos y abióticos) y estocástico (mutaciones), sin olvidar el alto *componente filogenético* de las especies responsable de sus sistemas de cruzamiento, biodiversidad y procesos de diversificación.

El seguimiento conjunto de la evaluación morfológica y genético-molecular de los *fenotipos* y *genotipos* de las poblaciones naturales de una determinada especie, no solamente contribuye al conocimiento de su variabilidad, estructura y procesos evolutivos subyacentes a la diversificación y especiación, sino que proporciona un tipo de información clave y de aplicación directa en la conservación de especies amenazadas, especialmente relacionada al riesgo de extinción a corto, medio y largo plazo pudiendo asegurar la respuesta evolutiva ante cambios estocásticos (HAMRICK & GODT, 1996 y 1997; BARRETT *et al.*, 1997; BARRETT, 1998; GIVNISH, 1997 y 1998; ATKINSON, 1998; PÉREZ DE PAZ, 2002; STUESSY, 2003).

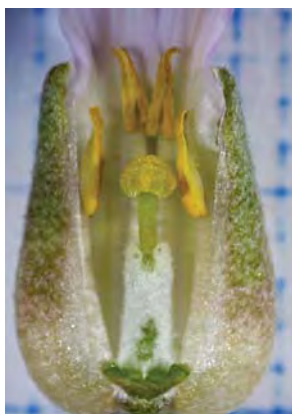
4.3.2.1. Biología reproductiva y biodiversidad. La flor, estructura y función.

La *flor* es la protagonista de la reproducción sexual en los vegetales superiores donde todos y cada uno de sus órganos y verticilos están adaptados y dirigidos exclusivamente a favorecer el éxito de esta función. Desde que las Angiospermas comenzaron su expansión en el Cretácico, las flores evolucionaron para conseguir una mayor diversidad constituyendo nuevos y variados síndromes de polinización, sistemas sexuales y de sistemas de cruzamiento (ENDRESS, 1994; LLOYD & BARRET, 1996; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; VOGEL, 1996; RICHARDS, 1997; ANDERSON *et al.*, 2001; BERNARDELLO *et al.*, 2001).

La estructura y arquitectura de la *flor* es decir la morfología, color, número y disposición

de los verticilos del cáliz, corola, androceo y gineceo son de vital importancia para la comprensión de la biología floral, síndromes de polinización, sistemas sexuales y de auto-incompatibilidad en las angiospermas y especies vegetales en general. Asimismo son causa determinante de los *sistemas de cruzamiento* siendo responsables por tanto del *éxito reproductivo* poblacional, transmisión *genética* entre generaciones y de su configuración y dinámica genético-morfológica evolutiva (LYNCH, 1986 y 1996; LYNCH & HILL, 1986; RICHARDS, 1986 y 1997; HAMRICK & GODT, 1989, 1996 y 1997; FALK & HOLSINGER, 1991; SCHEMSKE *et al.*, 1994; FRANKEL, BROWN & BURDON, 1995; HUSBAND & SCHEMSKE, 1995, 1996 y 2000; BARRETT, 1995, 1998 y 2003; BARRETT, HARDER & WORLEY, 1996 y 1997; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BRIGGS & WALTERS, 1997; GIVNISH, 1997 y 1998; GRANT, 1998; HOLSINGER, 2000; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

Las *flores* según sus órganos y sistemas sexuales están destinadas a producir gametos para que se verifique en el ovario la fecundación del óvulo que posteriormente dará lugar a los frutos y semillas. En la flor hermafrodita los gametos masculinos coexisten con los femeninos que se forman en órganos diferentes, androceo y gineceo. En el androceo, formado por los estambres se produce el polen (gametofito masculino móvil) que se tendrá que desplazar para alcanzar al óvulo (gametofito femenino inmóvil) en el interior del gineceo, de la misma o distinta flor o individuo. Cuando el polen alcanza la superficie del estigma y tiene lugar la emisión del tubo polínico que le permite, a lo largo del estilo, llegar al ovario y adentrarse en el óvulo, se puede producir la doble fecundación, siempre y cuando se lo permitan los sistemas de auto-incompatibilidad.



Los síndromes florales *morfológicos* y *fisiológicos* se consideran íntimamente relacionados, además de con los sistemas sexuales, con los sistemas de *auto-incompatibilidad* que también controlan los *cruzamientos* y apareamientos entre los individuos más o menos relacionados de la población.

Desde esta perspectiva, los *ciclos reproductivos* de las especies con las distintas formas de reproducción vegetal, sexual y/o asexual, tienen una serie de características propias, *intrínsecas* e inherentes a los grupos taxonómicos vegetales, referidas a los caracteres reproductivos, generalmente de gran valor taxonómico y sistemático en los sistemas de clasificación vegetal.

Estos caracteres, fundamentalmente encabezados por las distintas formas y estructuras de flor, tienen un alto componente filogenético, determinan los distintos síndromes de polinización y a su vez los distintos sistemas sexuales así como los diferentes mecanismos de auto-incompatibilidad, y todos ellos a su vez, condicionan y controlan los sistemas de cruzamiento (auto-alo-xenogamia) y la *eficacia reproductiva* o producción de *frutos* y *semillas* viables de la población natural, estos últimos también considerados tradicionalmente como caracteres de gran valor taxonómico y sistemático (WEBB, 1984; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BARRETT *et al.*, 1997; GIVNISH, 1997 y 1998; RICHARDS, 1997; BARRETT, 1998; SOLTIS & GITZENDANNER, 1999; GITZENDANNER & SOLTIS & 2000; PÉREZ DE PAZ, 2002).

Otras características del ciclo reproductivo son ajenas y *extrínsecas* a las propias especies vegetales, como los agentes o vectores de polinización (primera oportunidad de flujo génico) bióticos (animales) y/o abióticos (agua o aire) estrechamente relacionados a las

variables ambientales, pero que forman parte y son co-protagonistas del proceso de polinización y sistemas de cruzamientos, así como de la dispersión de frutos y semillas (segunda oportunidad de *flujo génico*) y por tanto co-partícipes de la eficacia reproductiva con consecuencias directas en la configuración de la descendencia.

4.3.2.2. La flor. Desarrollo fenológico, dicogamia, polinización y sistemas de cruzamiento

Los distintos elementos de la flor, según los verticilos, pueden estar implicados en uno o varios de los *procesos reproductivos* de forma simultánea o gradual. No obstante, la dimensión funcional de cada uno de ellos sólo emerge cuando se observa el estudio fenológico del desarrollo floral, junto con la arquitectura o cambios morfológicos de color y disposición de los verticilos en el tiempo, que en asociación con la fisiología e incidencias en el proceso de la polinización, es lo que descubre la dimensión funcional de la flor en su conjunto y de cada uno de sus componentes.

En cada grupo taxonómico, para que se verifique el proceso de *polinización* o transporte del polen (gametofito masculino) dentro o entre los individuos, las estructuras y mecanismos florales tienen que estar íntimamente relacionados y ser complementarios a los polinizadores o vectores de polinización, conformándose entonces los distintos *sistemas de polinización* donde ambos han co-evolucionado conjuntamente. Desde un punto de vista tradicional, cada sistema de polinización se suele expresar a través de características florales similares conocidos como *síndromes florales de polinización* (FAEGRI & VAN DER PIJL, 1971; KEVAN, 1978 y 1984; PROCTOR, YEO & LACK, 1996). Actualmente otras tendencias, contemplan además la posibilidad de una *generalización* que integra algunos de los síndromes florales y vectores que no encajan en los modelos establecidos (HERRERA, 1996; WASER *et al.*, 1996; DUPONT & SKOV, 2004). A este respecto se debe considerar que determinados síndromes florales consecuencia de las interacciones planta-polinizador, pueden persistir como ex-adaptaciones más que adaptaciones actuales a los polinizadores (HERRERA, 1996).

Durante el *ciclo de la flor* las especies pueden experimentar una serie de cambios en el tiempo (FENOLOGÍA) en lo que se refiere a sus fases sexuales donde se encuentran implicados tanto su arquitectura floral y color, como también su fisiología que además puede influir en el proceso de polinización.

En las flores hermafroditas son frecuentes los mecanismos que favorecen la fecundación cruzada creando barreras que evitan la auto-fecundación. Una de las barreras se refiere a la separación de sexos que puede realizarse de forma temporal (*dicogamia*) con madurez del androceo antes que el gineceo (protandria) o del gineceo primero (*protoginia*), y/o la separación espacial de ambos (*hercogamia*). La separación temporal de las fases masculina y femenina de la flor o *dicogamia* es un mecanismo por el que no solo se evita la interferencia entre los órganos sexuales del androceo y gineceo, sino que además se disminuye la probabilidad de auto-polinización.

Entre las fases masculina y femenina pueden existir diferencias que pueden influir en el proceso de polinización afectando a las funciones de *reclamo* y *recompensa* de polinizadores. La duración de las fases puede tener consecuencias en el número de visitas de polinizadores que a su vez, pueden depender y verse afectados por factores climatológicos o por los niveles de disponibilidad y competencia de recursos (LLOYD & YATES, 1982; DEVLIN & STEPHENSON, 1984; LLOYD & WEBB, 1986; RICHARDS, 1997). Muchas de las características de la *dicogamia* se pueden explicar como resultado del aislamiento de polen y estigmas. La incidencia de la *dicogamia* como mecanismo para evitar la autogamia *si* debe valorarse en el conjunto de las flores de un individuo y de acuerdo con el comportamiento de

los visitantes, pues ambos influyen en que se produzca o no endogamia. En este sentido es necesario considerar también la disposición y desarrollo de las flores en la inflorescencia así como la sincronía en un individuo (WYATT, 1982; NICHOLLS, 1987).

El cambio de *color* de las flores a lo largo de su ciclo es un fenómeno ampliamente extendido entre las angiospermas que puede estar inducido o acelerado por la visita de polinizadores o seguir una pauta fija e independiente (WEISS, 1995; WEISS & LAMONT, 1997). El *polen* no sólo es un medio de transporte de los gametos masculinos, sino también una señal floral de reclamo y alimento para polinizadores y (HUCK, 1992; AFFRE *et al.* 1995; LUNAU, 1995, 1996 y 2000; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; RICHARDS, 1997). Según algunos autores la función del polen como reclamo visual posiblemente es muy antigua y se cree que surgió en las primitivas angiospermas anemófilas al perder características como: producción de gran cantidad de polen, pigmentos protectores del polen y absorción espectral y por la inconspicuidad de otros órganos florales (LUNAU, 1995, 1996 y 2000). En la entomofilia la adquisición de características de reclamo configuran al polen y órganos productores, como elementos de atractivo visual para los visitantes florales al tiempo que también adquiere sustancias viscosas que facilitan la adherencia como el *pollenkitt* (HESSE, 1979, 1981 y 1986). El contenido de polen en las anteras, su presentación o forma en que se exponen a los polinizadores así como sus características morfológicas son caracteres de importancia filogenética que pueden variar según los grupos vegetales constituyendo por tanto factores intrínsecos a ellos. La exposición o presentación del polen se puede realizar desde la propia antera o desde otros órganos florales conformando en este caso la exposición o presentación secundaria de polen: *pollen presenter* (YEO, 1993; LADD, 1994; ENDRESS, 1999).

La clasificación de los SISTEMAS DE CRUZAMIENTO dependerá del alcance de la polinización o transporte polínico o transferencia del flujo génico polínico y lugar de la fecundación, considerándose directamente dependientes de los sistemas de polinización, sistemas sexuales y sistemas de auto-incompatibilidad.

Si el polen solo alcanza el estigma y ovario de la misma flor con fecundación de la oosfera, se produce AUTOGAMIA, si la transferencia polínica y fecundación se realizan entre flores diferentes del mismo individuo se produce *alogamia ss* o *geitonogamia*, y si la transferencia tiene lugar entre flores de diferentes individuos, se produce XENOGAMIA (*alogamia sl*).

La cantidad o *número de granos de polen* producidos por *flor*, varía según los grupos taxonómicos y constituye uno de los principales recursos del androceo de importancia crucial en las Angiospermas que influye directamente en los síndromes de polinización (auto-polinización y polinización cruzada) y sistemas de cruzamiento de autogamia o alogamia *sl* (CRUDEN, 1977 y 2000; DAFNI, 1992; BARRETT, HARDER & WORLEY, 1997). Asimismo en el estudio de los *sistemas de cruzamiento* está retomando auténtica relevancia el conocimiento de los *recursos florales* del *gineceo* y *androceo* (*ratio* Polen/Óvulo) y su íntima asociación con el *ciclo vital* del taxon. Se considera de vital importancia las correlaciones con los caracteres vegetativos del hábito o forma de crecimiento y longevidad de las especies, por su especial incidencia en los ecosistemas especialmente aislados como los archipiélagos oceánicos (BARRETT & HARDER, 1996; BARRETT, 2003; NEAL & ANDERSON, 2005).

Esto se fundamenta en que los procesos evolutivos de las especies requieren el desarrollo e integración de los cambios funcionales en todos los aspectos del *ciclo vital*, de manera que se lleven a cabo de forma coordinada incluyendo tanto caracteres reproductivos como vegetativos. Bajo esta perspectiva se considera fundamental que en el estudio de los *sistemas de cruzamiento* se necesite la observación de todos los caracteres y aspectos funcionales del ciclo vital y se realice con una perspectiva globalizadora que desgraciadamente no se ha propiciado,

dada la fragmentación de la disciplinas botánicas según las distintas fases y aspectos del ciclo vital (ORDNUFF, 1969; BARRETT, HARDER & WORLEY, 1997; ANDERSON *et al.*, 2001 y 2002).

En este trabajo los aspectos relacionados con el desarrollo y fenología floral de las especies de *Parolinia* se desarrollarán en el Capítulo I: *Ciclo vital y fenología estacional. Fenología floral, de la inflorescencia y del fruto*. Los aspectos relacionados con los sistemas de cruzamiento y éxito reproductivo de las poblaciones se desarrollan en el Capítulo II: *Sistemas de cruzamiento y eficacia reproductiva de las poblaciones naturales*.

4.3.3. Biodiversidad macro y micro-morfológica. Palinología y Citogenética

La biodiversidad de las especies está condicionada por la *historia filogenética* de los grupos vegetales de manera que tiene un fuerte valor predictivo y da “pistas” de los posibles síndromes florales, estrategias reproductivas y diversidad genética, ayudando a identificar en las *especies* sus problemas de erosión y anomalías reproductivas. Esto exige que en las especies *endémicas amenazadas* se deba conocer como cuestión prioritaria, su historia filogenética de indiscutible valor predictivo considerando las posibles variaciones locales producidas por las distintas presiones selectivas isleñas a niveles de población natural.

La correcta caracterización de la *biodiversidad* morfológica de *fenotipos* en una determinada especie está pues íntimamente relacionada con la de otros *congéneres* aún con diferente rango de distribución geográfica. Esta es la razón que justifica que para la correcta interpretación y evaluación de la diversidad morfológico-reproductiva se realice el seguimiento conjunto de las especies amenazadas y *congéneres con* distinto rango de distribución en las islas.

La organización de la *flor* y sus distintos verticilos ha constituido el eje principal de la taxonomía vegetal de manera que se puede decir que en la historia botánica la *Sistemática* y *Biología Reproductiva* han estado estrechamente conectadas por las flores y los caracteres reproductivos (ORNDUFF, 1969; ANDERSON *et al*, 2002; STUESSY, 2003). Sin embargo, el significado funcional y reproductivo de las distintas manifestaciones florales apenas se ha utilizado en la sistemática pudiendo haber ayudado a entender los procesos de diversificación y especiación principalmente a niveles infragenéricos. Actualmente se considera indispensable y de indiscutible valor la integración de los estudios de *Biodiversidad* y *Biología Reproductiva* en la *Sistemática*, perspectiva que obliga a profundizar en estudios de *biodiversidad* con una visión unificadora con análisis morfológico-cuantitativos y genético-moleculares con estructuración intra-poblacional y entre las poblaciones naturales de una especie.

En este sentido hay que destacar una vez más que en este trabajo los estudios de BIODIVERSIDAD se enfocan con las directrices de la *Deep Morphology* (STUESSY, 2003) escuela que representa una nueva perspectiva para re-interpretar y caracterizar la biodiversidad de los seres vivos, que incluye desde los niveles estructurales morfológicos observables a simple vista o a microscopía óptica y electrónica, aspectos fisiológicos o funcionales de *biología reproductiva* hasta los genético *moleculares*. Esta perspectiva sugiere que todas las estructuras de los seres vivos se consideren de algún modo un tipo de morfología con todos los aspectos, incluyendo los moleculares (isoenzimas o metabolitos primarios y molécula de ADN).

La diversidad MACRO y MICRO-MORFOLÓGICA está siendo retomada en la actualidad como el primer y segundo de los cuatro *niveles* básicos de la biodiversidad de organismos, que, ante el gran despliegue de datos moleculares, había sido desplazada en los estudios de

Sistemática Vegetal (STUESSY, 2001 y 2003; CRISCI, 2006a).

Se trata de interpretar conjuntos de imágenes que representen las características reproductivas tanto micro-morfológicas como fisiológicas de las distintas especies de *Parolinia* así como también de diversas características vegetativas del ciclo vital de las especies (hábito, longevidad, talla, ramificación, hojas, etc.) que de alguna manera influyen en los sistemas de cruzamientos de las poblaciones naturales.

Desde esta perspectiva los distintos verticilos florales y otros caracteres reproductivos se someten a diversas técnicas de observación tanto a la lupa o estereomicroscopio como al microscopio óptico (MO con y sin fluorescencia) y microscopio electrónico de Barrido (MEB) con el fin de obtener imágenes de biodiversidad macro y micro-morfológica de la flor (sépalos y pétalos, androceo, polen, gineceo), cromosomas, frutos y semillas.

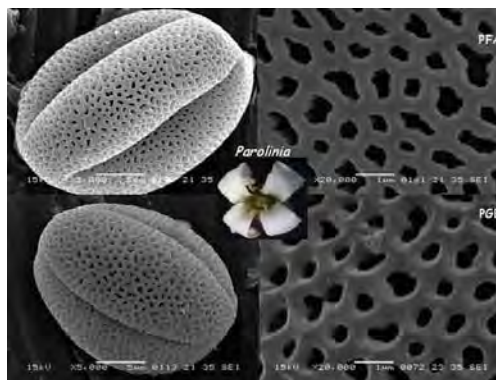
El conjunto de imágenes captadas pertenecientes a distintos grupos de caracteres o variables, va encaminada a la obtención de MORFOMETRÍAS con el fin de (i) contribuir al estudio SISTEMÁTICO (taxonomía y relaciones) aplicando las técnicas de la taxonomía numérica (feneticismo) y en un futuro no lejano aplicando las técnicas filogenéticas (cladismo), identificando previamente los caracteres con valor filogenético y evolutivo para poder (ii) contribuir a las filogenias combinadas con datos moleculares, complementando y dando respuesta a los *aspectos evolutivos* que hasta el momento son inaccesibles desde la perspectiva exclusivamente molecular.

4.3.3.1. Estudios palinológicos

El grano de *polen* o gametofito masculino es el portador de la herencia paterna que alberga en el núcleo generativo o núcleos espermáticos verdaderos gametos haploides (n) producidos por la división meiótica de las células madres del polen a partir de las células del tapete en el interior de las *anteras*, que formando parte de los *estambres*, constituyen el *androceo* de la flor u órgano masculino.

Para cumplir con su única y primordial función de fecundar al óvulo, el *polen* se tiene que desplazar desde el androceo (anteras) hasta el gineceo de la misma flor o de otras flores pertenecientes a diferentes individuos o plantas y crear nueva descendencia, asegurando la supervivencia de la población natural y/o de la especie. Para este viaje o proceso de *polinización* (a veces largo y complejo) el grano de polen protege y asegura su tan preciado contenido mediante unas cubiertas prácticamente indestructibles (fundamentalmente la más externa o exina) que han sido capaces de perdurar a lo largo de los tiempos y con un alto valor conservativo y filogenético permitiendo reproducir vegetaciones ya extinguidas a través de los estudios de polen fósil.

Esto quiere decir que el grano de polen ha sido y es capaz de salvaguardar junto con sus cubiertas, todas sus características, que además son portadoras de una información de inestimable valor diagnóstico, no solo a niveles taxonómicos sino también filogenético-evolutivos y según que grupos a niveles incluso micro-evolutivos (WODEHOUSE, 1935; ERDTMAN, 1969 y 1971; WALKER & DOYLE, 1975; LE THOMAS, 1980 y 1981; PÉREZ DE PAZ, 1993, 1995. y 1998; DOYLE & ENDRESS, 2000; NILSSON, HELLBOM & SMOLENSKI, 2002; PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2002; DOYLE, 2005; SOLTIS *et al.*, 2005; BLACKMORE, 2007).

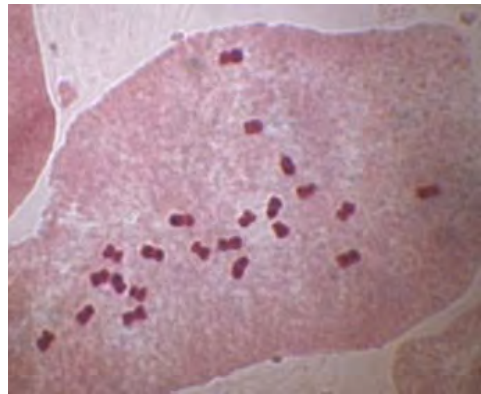


Por tanto se realizarán caracterizaciones de biodiversidad a través de estudios palinológicos cuyas características de simetría, forma, polaridad, talla de los granos, aperturas (forma, número y posición) así como la estructura y ornamentación de sus cubiertas (principalmente la exina), están actualmente consideradas como uno de los más importantes grupos de caracteres, que muchas veces por su carácter conservativo son de inestimable valor filogenético y evolutivo y por tanto, destacados candidatos a formar parte de las filogenias de datos combinados moleculares-morfológico-reproductivos (SOLTIS *et al.*, 2005).

4.3.3.2. Estudios citogenéticos

Los cromosomas son algo más que un mero vehículo de la molécula de DNA, suministran los mecanismos para liberar y controlar la transmisión de la información genética durante el desarrollo y formación de los gametos, proporcionando unidades genéticas combinadas que además de perpetuar y transmitir las características específicas de los taxones, son capaces de generar nueva variabilidad (STEBBINS, 1971).

El *número cromosómico y nivel de ploidía* de los taxones directamente relacionado con la historia evolutiva de los mismos puede repercutir tanto en la *reproducción asexual* como en la *sexual*, así como en el grado y magnitud de la biodiversidad tanto genética como morfológica que pueden generar las especies. Como ya se comentó anteriormente siguiendo a RICHARDS (1997) el número potencial de gametos y cigotos diferentes generados por un parental diploide, estaría en función del número haploide (n) de cromosomas [siendo como mínimo igual a 2^n y $(2^n)^2$] respectivamente, asumiendo que solamente hay un sólo *locus* heterocigoto por cromosoma homólogo e ignorando la variabilidad originada por recombinación).



En este trabajo se realizarán caracterizaciones de biodiversidad a través del estudio de los cromosomas en *mitosis* con descripción de los cariotipos en todas las especies del género.

Todos estos estudios de biodiversidad relacionados con la evaluación de caracteres tanto vegetativos como reproductivos y tanto macro como micro-morfológicos se desarrollarán en el Capítulo IV: *Micro-marcadores de biodiversidad morfológico-reproductiva*.

4.3.4. Biodiversidad genética y electroforesis de isoenzimas

La *estructura genética* determinada por la estructura espacial y morfológica de los individuos de la población y por su biología reproductiva, está determinada también por la incidencia de procesos genéticos como la *deriva*, *selección*, *mutación* y *flujo génico* (polen y semillas), siendo necesario para comprender el patrón de variación genética de la especie determinar los *genotipos* de los diferentes individuos de la población así como sus *frecuencias alélicas* (RICHARDS, 1986 y 1997; LANDE, 1988; FALK & HOLSINGER, 1991; STLAKIN, 1994; FRANKEL, BROWN & BURDON, 1995; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

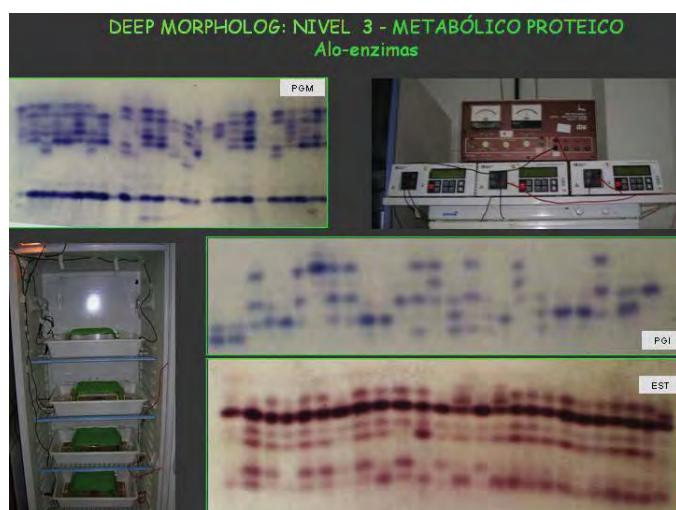
Se denomina estructuración genética, a la distribución espacial o temporal de los *genotipos* y *alelos* en las poblaciones naturales, siendo fundamental precisar las causas reales o potenciales que la han originado.

El papel de la *genética de poblaciones* en la Biología de la Conservación de plantas ha estado sometido a debate durante la década pasada (HAMRICK & GODT, 1989 y 1996).

Algunos investigadores (FALK & HOLSINGER, 1991) han considerado que el conocimiento de la composición genética de una especie es esencial para cualquier plan de conservación, mientras que otros (LANDE, 1988; SCHEMSKE *et al.*, 1994) dudan que la diversidad genética juegue un papel decisivo en la supervivencia de las poblaciones o especies y que las poblaciones van a la extinción por fallos reproductivos y razones ecológicas (destrucción del hábitat, o cambios ambientales) más que porque carezcan de variación genética.

La mayoría de los biólogos está de acuerdo que a corto plazo los factores *reproductivos* y *demográficos* de las poblaciones juegan un papel dominante en la supervivencia de poblaciones y especies, pero que el mejor *plan de conservación* debe contemplar la supervivencia a largo plazo que incluye y favorece los *procesos genéticos* y *evolutivos* y requiere por tanto el conocimiento de la variabilidad genética (HAMRICK & GODT, 1996).

Por eso en cualquier plan de conservación de una especie, especialmente a largo plazo no debiera faltar el conocimiento de la *estructura genética*, siendo importante destacar que no se deben tomar decisiones en las estrategias de conservación considerando exclusivamente estos criterios sino también parámetros y adaptaciones locales relativos a los sistemas de cruzamiento y diversidad morfológico-reproductiva (LANDE, 1988; AVISE & HAMRICK, 1996; HAMRICK & GODT, 1996; CRAWFORD *et al.*, 2001; SOSA, 2001; PÉREZ DE PAZ, 2002).



La información obtenida por cualquiera de las técnicas de caracterización genética de una especie, constituye siempre una medida sesgada y un análisis parcial del genoma del organismo en cuestión, pero aún así los protocolos que actualmente se emplean para la caracterización genética de las poblaciones constituyen una herramienta informativa muy valiosa que permite evaluar suficientemente los recursos genéticos de una

especie (HAMRICK & GODT, 1996; MURPHY *et al.*, 1996; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001; SOSA, 2001).

El fin último de un estudio de *diversidad genética* es averiguar el grado o nivel de variabilidad al mismo tiempo que determinar cómo se distribuye y se estructura esa diversidad (genotipos y alelos) en el espacio y en el tiempo. Los estudios genéticos con *isoenzimas* se siguen revelando como una de las herramientas más útiles en la actualidad para comprender mejor y más fácilmente los aspectos evolutivos de las poblaciones naturales de los organismos, permitiendo comparar de manera sencilla, especies y poblaciones de un mismo género, toda vez que pueden manifestar en sus *loci* diferencias electroforéticas de movilidad alélica (BROWN & WEIR, 1983; WENDEL & WEEDEN 1989; KEPHART, 1990; MURPHY *et al.*, 1996).

Aunque la tecnología y marcadores moleculares de ADN están en auténtica expansión, las *proteínas*, componente estructural y enzimático de las células, se mantienen como productos post-traduccionales y traduccionales importantes de la molécula de ADN de un organismo. En este sentido se encuentran numerosas investigaciones que muestran la *eficacia* de las *isoenzimas*, en la estimación de la variabilidad genética de las poblaciones naturales, flujo

génico, reconocimiento de especies e hibridación, incluso como aportaciones indirectas a las relaciones filogenéticas.

Las *isoenzimas* siguen constituyendo una técnica particularmente eficaz en estudios de variabilidad intra-específica y su interés creciente radica, no solo en su bajo coste económico e independencia de variables ambientales, sino también por las *ventajas* como marcadores moleculares que: i) reflejan herencia Mendeliana con expresión codominante, ii) constituyen actualmente la mayor fuente de datos sobre diversidad genética, permitiendo comparar directamente poblaciones y especies, iii) con cantidades muy pequeñas de material vivo se pueden analizar un gran número de loci enzimáticos, iv) la mayoría de los loci se expresan en todos los estadios del ciclo vital de las especies.

Revisiones bibliográficas recientes sobre *aloenzimas* suministran guías excelentes de comparación de un gran número de taxones vegetales con diferentes historias evolutivas, diversidad de hábitats y requerimientos ecológicos. La frecuencia de estas investigaciones no solo no ha disminuido en los últimos años, sino que se ha incrementado influyendo también el desarrollo de métodos nuevos y estadísticos más refinados (TAYLOR, TRIMBLE & McCAULEY, 1999; CRAWFORD, 2000; EVANS *et al.*, 2000; FRANCESCHINELLI & BAWA, 2000; FRANCISCO-ORTEGA *et al.*, 2000; GIBSON, 2001; ERICKSON & HAMRICK, 2003; SILVA-MONTELLANO & EGUIARTE, 2003; CASIVA *et al.*, 2004; KLIPS & CULLEY, 2004; CARROMERO & HAMRICK, 2005; CHUNG, NASON & CHUNG, 2005; COATES & BYRNE, 2005; DURÁN *et al.*, 2005; HENRY, 2005; JAASKA, 2005; JUSAITIS & ADAMS, 2005; MATEU-ANDRÉS & DE PACO, 2005; OJA, 2005; YAMASHIRO & MAKI, 2005; OLIVA TEJERA *et al.*, 2005 y 2006; CAUJAPÉ-CASTELLS, 2006; TRAPNELL & HAMRICK, 2006; AZEVEDO *et al.*, 2007; CAMPBELL & HUSBAND, 2007; CHUNG *et al.*, 2007; LÓPEZ-PUJOL *et al.*, 2007; PÉREZ-COLLAZOS *et al.*, 2007; CABRERA, GONZÁLEZ & VOVIDES, 2008; DERIEG, SANGAUMPHAI & BRUEDERLE, 2008; GIBSON, RICE & STUCKE, 2008; LEVSEN *et al.*, 2008; MALAVIYA *et al.*, 2008; MANDÁKOVÁ & MÜNZZBERGOVÁ, 2008; NORDSTRÖM & HEDRÉN, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2008; ŠINGLIAROVÁ, CHRTEK & MRÁZ, 2008; MORA *et al.*, 2009; SUÁREZ *et al.*, 2009).

En este trabajo se desarrollarán los aspectos relacionados con la evaluación de la diversidad y estructuración genética en las poblaciones naturales de las especies de *Parolinia* en el Capítulo III: *Diversidad genética y estructura de las poblaciones naturales*.

4.3.5. Biología reproductiva y diversidad genética en Canarias. Antecedentes y perspectivas actuales. Aplicaciones a la conservación

La importancia de la *Biología Reproductiva* *sl* en el mantenimiento de las poblaciones naturales de las especies vegetales y su consideración como cuestión básica en los *Planes de Recuperación de las especies amenazadas*, es uno de los ejemplos, de cómo a lo largo de la Historia Natural, los hechos familiares y frecuentes no se han mostrado con la suficiente evidencia, pasando sorprendentemente desapercibidos e ignorados a través de los siglos.

PROCTOR & YEO (1973) nos cuentan, como la *miel* siendo uno de los alimentos más antiguos que desde los tiempos bíblicos se ha relacionado con las *abejas* y las *flores* ha constituido un hecho tan cotidiano y familiar que no se reparó en la necesidad de “*polinización de la mayoría de las especies vegetales para generar descendencia*”. De la misma manera Teofrasto, discípulo y amigo de Aristóteles, admitió de forma implícita *un proceso análogo al de la unión sexual* de los animales, poniendo de manifiesto que la presencia de *flores femeninas y masculinas* de la *palmera datilera* es lo que hace posible la producción de frutos.

A pesar de que *flores e insectos*, han estado íntimamente ligados desde los tiempos más antiguos, la *reproducción sexual de los vegetales* no se reconoce como tal, hasta pasados casi *diecinueve siglos*, junto con la máquina de vapor.

Los primeros estudios de Biología Reproductiva con valor sistemático aparecen en el siglo diecinueve centrados en los *síndromes florales* de *polinización* de distintos grupos taxonómicos en relación a los *polinizadores* y a su *coevolución* a lo largo de los tiempos. Pero la verdadera explosión de estudios en Biología Reproductiva en relación a sistemas sexuales y de auto-incompatibilidad como determinantes de los *Sistemas de Cruzamiento*, no comienza hasta bien entrado el siglo XX, principalmente a partir de la década de los setenta y después del desarrollo de la técnica de electroforesis de isoenzimas, cuando se revela a nivel genético-molecular la gran influencia que tienen los *sistemas de cruzamiento* en la diversidad genética y procesos microevolutivos de las poblaciones naturales (HAMRICK, LINHART & MITTON, 1979; RICHARDS, 1986 y 1997; CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987; HAMRICK & GODT, 1989, 1996 y 1997; LLOYD & BARRETT, 1996; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001; BARRETT, 2003). Mención especial merece DARWIN (1876 y 1877) padre de los estudios de los Sistemas de Cruzamiento, siendo pionero en la observación de procesos de auto-incompatibilidad, heteromorfía, ginodioecia, *inbreeding depression* o pérdida de vigor por consanguinidad, polinización y flujo génico, aún cuando todavía no se tuviera idea de la existencia de los genes.

Tradicionalmente se ha reconocido a los *sistemas de cruzamiento* como factores responsables del grado y magnitud de la *diversidad genética* de las especies vegetales, junto con la *talla poblacional* y rango geográfico (HAMRICK & GODT, 1989) aunque no siempre se han manifestado lo suficientemente convincentes de manera que, las últimas tendencias apuntan como hipótesis más certeras, que la *adscripción filogenética* de los grupos taxonómicos determina la historia evolutiva de sus sistemas de cruzamiento y niveles de biodiversidad (WEBB, 1984; KARRON, 1987; HAMRICK & GODT, 1996; GITZENDANNER & SOLTIS, 2000) aunque en segundo lugar podrán depender a su vez de la talla poblacional y rango geográfico.

En los primeros datos para CANARIAS de diversidad genética recopilados en parte por FRANCISCO-ORTEGA *et al.*, 2000 (69 taxones de 9 familias y 19 géneros, 80% Asteraceae) se pone de manifiesto la alta variabilidad genética en relación a otras *floras oceánicas*. Debido a la ausencia de información sobre la influencia de *biología reproductiva* y sistemas de cruzamiento, en Canarias se ha justificado esta variabilidad por la *edad geológica* y el constante *flujo génico* desde áreas continentales cercanas (FRANCISCO-ORTEGA *et al.*, 2000; CRAWFORD *et al.*, 2001 y 2006).

4.3.5.1. *Biología Reproductiva y su incidencia en la diversidad genética en Canarias.*

Aunque todavía escasos y con muchos de los estudios aún sin publicar, el ligero incremento de trabajos de Biología Reproductiva para Canarias en los últimos años (FORFANG & OLESEN, 1998; DUPONT, 2000; MORA *et al.*, 2000 y 2002; SUÁREZ *et al.*, 2000, 2002 y 2009; PÉREZ DE PAZ, 2002 y 2004; FERNÁNDEZ-PALACIOS, PÉREZ DE PAZ & FEBLES, 2002, 2005a y b, 2008; VON GAISBERG & WAGENITZ, 2002; DUPONT, HANSEN & OLESEN, 2003; LORENZO *et al.*, 2003; DUPONT & SKOV, 2004; VALIDO, DUPONT & OLESEN, 2004; DUPONT & OLESEN, 2006; OLANGUA-CORRAL, FEBLES & PÉREZ DE PAZ, 2004, 2005a y b, 2006; FEBLES & PÉREZ DE PAZ, 2005; OLESEN *et al.*, 2005; ANDERSON *et al.*, 2006; PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2006a y b; FEBLES *et al.*, 2006a y b; GONZÁLEZ, MORENO & FUERTES, 2007; GRANADO-YELA *et al.*, 2007; PÉREZ DE PAZ *et*

al., 2007 b; CRAWFORD *et al.*, 2008, etc.) ha permitido valorar, en una primera aproximación, la estrecha relación entre la diversidad genética y biología reproductiva en las islas Canarias, poniéndose de manifiesto el alto *componente filogenético* de la *biodiversidad y dinámica reproductiva* de los endemismos (CAUJAPÉ-CASTELLS & PÉREZ DE PAZ, 2007; PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007 b).

No obstante merece ser destacado que en CANARIAS persiste un gran vacío de información con desconocimiento generalizado y casi absoluto de los *sistemas de reproducción* de las *poblaciones naturales* de sus endemismos, incluso en aquellas especies que han sido catalogadas como críticas o altamente vulnerables.

Esta falta de información se revela especialmente necesaria en el conocimiento de heteromorfismos florales y sistemas sexuales o de auto-incompatibilidad como micro-marcadores relacionados al éxito reproductivo de los individuos en las poblaciones, con el fin de poder detectar realmente, que no “predecir”, los sistemas de cruzamiento, su evolución en las islas y posibles consecuencias en la diversidad genética de sus poblaciones naturales. Del total de la flora canaria estimada en 203 géneros y 69 familias se han obtenido datos de biología reproductiva únicamente en el 29% (59 géneros y 43 familias).

La gran explosión de datos de diversidad genética para Canarias ha puesto de manifiesto la NECESIDAD de estudios reproductivos con caracterización de MICRO-MARCADORES MORFOLÓGICO-REPRODUCTIVOS para el conjunto de la flora canaria. El conocimiento de los *sistemas de cruzamiento, flujo génico* (polínico y de semillas) y *éxito reproductivo* de las poblaciones naturales permitirá dar respuesta a las verdaderas razones e incógnitas que subyacen en la diversidad y estructura genética (FERNÁNDEZ & MARRERO, 2000; FRANCISCO-ORTEGA *et al.*, 2000; BATISTA *et al.*, 2001 y 2004; BATISTA & SOSA, 2002; BOUZA *et al.*, 2002; SOSA *et al.*, 2002; FERNÁNDEZ PALACIOS *et al.*, 2002, 2004 y 2007; SUÁREZ *et al.*, 2002, 2009 y en preparación; LORENZO *et al.*, 2003; GONZÁLEZ PÉREZ *et al.*, 2004a, b, c y 2008a, b; OLIVA TEJERA *et al.*, 2004, 2005 y 2006; SÁNCHEZ *et al.*, 2004 y 2006; CRAWFORD *et al.*, 2006; MORA *et al.*, 2007; SOTO *et al.* 2007 y en prep.; CAUJAPÉ-CASTELLS, *et al.*, 2008a y b; MORA *et al.*, 2009; OLANGUA *et al.*, en prep. etc). Sin descartar la incidencia de las fuertes barreras orográficas de Canarias que dificultan el flujo génico entre determinadas poblaciones naturales favoreciendo el aislamiento reproductivo y los procesos microevolutivos de diversificación.

Es importante DESTACAR que el conocimiento conjunto en Canarias de los Sistemas de Reproducción (BR) y diversidad genética (DG) está poniendo de manifiesto que hay poblaciones de reducida talla con gran variabilidad genética, mientras que su éxito reproductivo se ve mermado por la pérdida de diversidad morfológica asociada a dimorfismo sexual o de auto-incompatibilidad (*L.dendroides*) susceptibles de producir cruces fértiles (SUÁREZ *et al.*, 2009).

Este aumento de información, ha permitido una primera confrontación de la *diversidad genética y biología reproductiva* en Canarias y con taxones de otras floras que en principio parecen indicar que: *desde una misma adscripción filogenética los Sistemas de Reproducción son los principales responsables de la variabilidad detectada, de manera que taxones del mismo género con el mismo sistema de cruzamiento (sistema sexual, sistema de auto-incompatibilidad o apomixia) presentan una variabilidad genética similar, pero considerando además la posible influencia del nº de cromosomas y talla poblacional* y admitiendo razones históricas de antigüedad y variables ambientales orográficas o de erosión con presiones antrópicas (PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007b).

Aunque solo se han encontrado datos de biología reproductiva en un 29% de los géneros

canarios (59 géneros en 43 familias) y de diversidad genética por *isoenzimas* en un 17% (69 géneros en 17 familias), la primera valoración conjunta de la flora canaria (BR & DG) solo se puede verificar en un 10% de los géneros con endemismos canarios y en taxones de los mismos géneros o familias de otras floras, incluyendo algunas islas oceánicas (PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007b y en preparación).

En la *diversidad genética* por *aloenzimas* se eligen los indicadores básicos de *variabilidad genética* (P , A_i , H_e , H_o) que se confrontan (ANOVA Kruskal Wallis y correlación Spearman) con las variables de *reproducción relativas* a presencia de reproducción vegetativa o apomixia, sistemas de cruzamiento, sistemas sexuales, sistemas de auto-incompatibilidad con otras variables biológicas como el número de cromosomas y variables ecológicas como, la talla poblacional y rango geográfico de distribución.

A pesar de que solo se dispone de información conjunta genético-reproductiva en un 10% de los géneros canarios, los resultados obtenidos refuerzan la hipótesis que desde una misma *adscripción filogenética* los *Sistemas de Reproducción* son los principales responsables de la variabilidad detectada y que taxones del mismo género con el mismo sistema de cruzamiento (sistema sexual, auto-incompatibilidad, apomixia) pueden variar más de lo esperado según su número cromosómico y talla poblacional donde:

1. La capacidad de las *poblaciones naturales* de generar *biodiversidad* (genética-morfológica) depende de la BR íntimamente relacionada a la *historia evolutiva* de los géneros y familias.

2. Los sistemas de cruzamiento determinados por los síndromes florales (polinización, sistemas sexuales, auto-incompatibilidad) configuran la diversidad genética que puede alterarse por la presencia de apomixia, nº cromosomas y a veces por la talla poblacional.

3. Hay *poblaciones pequeñas* con gran variabilidad genética cuyo éxito reproductivo se ve mermado por la pérdida de diversidad morfológica asociada a *dimorfismo sexual* o de *auto-incompatibilidad* susceptibles de producir cruces fértiles.

Se ponen de manifiesto que las ESPECIES CANARIAS requieren un conocimiento no solo genético sino también *morfológico-reproductivo* para una evaluación adecuada, que debiera estar integrado en las bases científicas de sus estrategias de recuperación de los taxones amenazados (PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007b y en preparación).

4.4. ANÁLISIS DE DATOS Y CONFIGURACIÓN DE MATRICES

En el conjunto de poblaciones naturales y taxones del género *Parolinia*, los datos obtenidos de casi todos los caracteres o variables incluyen aspectos tanto macro-morfológicos referidos a grupos de variables vegetativas como micro-morfológicos, generalmente referidos a grupos de variables reproductivas.

Como se verá más adelante en cada uno de los capítulos, dichos caracteres se han obtenido mediante la captura de imágenes por diversos procedimientos (ESCÁNER, LUPA, Microscopio Óptico-MO y Microscopio electrónico de barrido-MEB) de las cuales se realizaron las morfometrías y evaluaciones, utilizando generalmente el programa de Análisis de Imagen Image Pro Plus (IPP 5.0).

Los caracteres cuantitativos se han considerado como variables continuas de intervalo u ordinales y los cualitativos, unas veces han sido considerados como variables ordinales y otras como discretas o nominales binarias con valores de 0 ó 1 según ausencia o presencia. En este trabajo el grueso de las variables son cuantitativas continuas (merísticas) aunque puede haber cuantitativas discretas, cualitativas ordinales y a veces también variables

nominales binarias de presencia o ausencia. El número de tomas muestrales (reflejados en las tablas de muestreos) superan siempre las 30, aunque puede variar en algunos grupos de caracteres según las poblaciones, pero nunca bajan de 10.

Se han tenido en cuenta los fundamentos estadísticos según el tipo de caracteres empleados (SOKAL & ROHLF 1969; LAMOTTE, 1974; GALINDO VILLARDON, 1984; SIEGEL, 1988; CAMACHO ROSALES, 1995 y 2002; FERNÁNDEZ-PALACIOS & DE LOS SANTOS, 1996) utilizando pruebas estadísticas uni y multivariantes.

En los capítulos I, II y IV, para cada grupo de caracteres, los datos obtenidos de cada población natural se han ordenado en una serie de *matrices de datos originales*, según se especifica en cada uno de los capítulos, que posteriormente confluyen integrándose en otra *matriz* donde las columnas corresponden a los caracteres o variables y las filas (UTOs) representan los niveles infra-individuales de cada población natural. En el capítulo IV destinado exclusivamente a las *morfometrías* se configura una *segunda y tercera matriz* de datos donde las filas representan el nivel de individuo o de población (obtenidos mediante la media aritmética de los valores infra o individuales). Dichas matrices constituyen el punto de partida del los *análisis multivariantes*.

En cada carácter previamente se calculan como parámetros característicos descriptivos, la media aritmética (m) como valor central y como índices de dispersión, la varianza, desviación típica y error estándar (E_{ST}), determinándose el intervalo de confianza de la media aritmética con un 95% de certeza (coeficiente de seguridad).

Los caracteres considerados más importantes se expresan en tablas y se representan gráficamente algunos de estos descriptivos (media aritmética e intervalo de confianza) mediante los *diagramas de cajas* o tests gráficos de Simpson & Roe (VAN DER PLUYM & HIDEUX, 1977) donde la línea vertical de cada UTO representa los rangos observados, el rectángulo los límites del intervalo de confianza o error estándar (valor positivo y negativo) en cuyo centro el trazo horizontal señala la media aritmética. A menor superposición de los rectángulos, las diferencias entre las medias de las OTUs serán más significativas y viceversa.

4.4.1. Tratamiento previo de los datos. Análisis univariante

Como se especifica en cada capítulo, en cada población los valores infra-individuales y de individuo (UTOs) de cada variable merística, se testan previamente para comprobar sus respectivos ajustes a una distribución normal de frecuencias y, posteriormente se verifican las diferencias de las medias individuales y poblacionales mediante análisis de varianza.

4.4.1.1. Distribución de frecuencias y pruebas de ajuste

Para las variables biológicas las leyes de distribución de frecuencias consideran a la distribución normal como la más representativa y frecuente (SOKAL & ROHLF 1969; LAMOTTE, 1974; SIEGEL, 1988; CAMACHO ROSALES, 1995 y 2002; FERNÁNDEZ-PALACIOS & DE LOS SANTOS, 1996). Para confirmar la naturaleza de los datos, se verificaron test de ajuste a distribuciones teóricas de frecuencias, basados en el establecimiento de hipótesis nula (H_0) y alternativa (H_1) no solo para justificar la robustez de los análisis posteriores, sino también para valorar la representatividad de los muestreos en cada población natural, especificando la región de aceptación o rechazo de H_0 mediante los valores de la región crítica o de rechazo (α). Para la probabilidad de que ocurra el error Tipo I cuando se rechaza la H_0 se consideraron como valores más comunes del nivel crítico del test (α) o de significación el 0.05 y 0.01. Según los valores p obtenidos $\leq \alpha$ se acepta o rechaza la H_0 . Se eligieron los tests de Kolmogorov-Smirnov (K-S) y Shapiro-Wilk (SOKAL & ROHLF,

1969; SIEGEL, 1988; FERNÁNDEZ-PALACIOS & DE LOS SANTOS, 1996; CAMACHO ROSALES, 2002). Se desarrollaron según los programas SPSS/PC+ y XLSTAT. Los distintos tamaños muestrales (N) varían según los tipos de caracteres y se encuentran reflejados en los capítulos correspondientes.

Los tests paramétricos además de ser más exigentes con los muestreos que los no paramétricos suelen ser más robustos, aunque la utilidad de los no paramétricos radica en que no se especifican las condiciones de los parámetros muestrales, pudiéndose aplicar a datos de una escala ordinal e incluso a variables cualitativas nominales. Las principales condiciones de las pruebas paramétricas se centran en que los valores deben ser continuos y las frecuencias deben distribuirse normalmente. Debido a la dificultad de obtener estos requisitos, cada vez es más frecuente el uso de pruebas no paramétricas pudiendo aumentar su potencia incrementando el tamaño muestral pudiendo en estos casos ser incluso superior a las paramétricas. Para algunos autores ante la duda del empleo de unas u otras, su elección dependerá del conocimiento que se tenga del grupo de taxones investigado y del nivel de datos obtenido (VIZMANOS & ASENSIO, 1976; FERNÁNDEZ-PALACIOS & DE LOS SANTOS, 1996; CAMACHO ROSALES, 2002; DYTHAM, 2003).

4.4.1.2. Análisis de varianza (ANOVA)

El análisis de varianza (ANOVA) procedimiento estadístico entre dos o varios grupos no relacionados, se emplea para comprobar la diferencia entre las medias aritméticas de una variable determinada mediante la comparación de dos varianzas (intra e inter-grupos) conocida como F-Snedecor (Fisher-Snedecor). La prueba se denomina de una vía o factor (oneway) cuando solo se emplea una variable independiente para los grupos estudiados. El valor de F obtenido se compara según los grados de libertad ($n-k$) y nivel de significación (α) elegido (valor crítico) de manera que si $F > \alpha$, se rechaza la H_0 (que postula que las varianzas de los grupos son estadísticamente semejantes o no son significativamente diferentes). Este análisis considerado como uno de los más potentes tiene su base matemática en la prueba paramétrica F-Snedecor que trata de verificar las diferencias significativas entre las medias de los grupos, aunque requiere una serie de requisitos: i) independencia de valores, ii) ajuste a una distribución normal y iii) homogeneidad de varianzas. Esta prueba de homogeneidad se obtiene con el estadístico de Levene que supone varianzas iguales cuando $p > 0.05$ (no significativamente diferentes). Ante un resultado significativo con varianzas desiguales ($p < 0.05$) se lleva a cabo el análisis de Welch. Asimismo se realizan contrastes a posteriori o pruebas de comparaciones múltiples dos a dos (pruebas *post hoc*) y ante los casos de varianzas iguales, se elige el test de Tukey frente al de Bonferroni ya que establece además los subconjuntos homogéneos de los grupos en cuestión. Cuando las varianzas son desiguales, después de Welch, se elige la prueba T2 de Tamhane. Si los datos no se ajustan a una distribución normal (ii), se opta por el ANOVA no paramétrico que se conoce como prueba de Kruskal-Wallis que realiza las comparaciones múltiples mediante el procedimiento de Dunn que también establece subconjuntos homogéneos (XLSTAT, 2008).

4.4.2. Relaciones entre grupos y variables. Coeficientes de similitud y correlación

Independientemente de las técnicas elegidas uno de los primeros pasos consiste en encontrar los índices matemáticamente adecuados que permitan cuantificar las relaciones entre los diferentes caracteres o variables observadas (SNEATH & SOKAL, 1973; CAMACHO ROSALES, 2002). El cálculo de dichos coeficientes requiere la previa estandarización de los

caracteres que hayan sido evaluados por sistemas métricos diferentes. Las relaciones que manifiestan similitud entre grupos (UTOs) presentan valores similares para las variables cuantitativas o los mismos estados para las variables cualitativas. Hay muchos y diversos índices o coeficientes de similitud en función de la naturaleza de los datos.

Las relaciones entre dos variables o caracteres que representan asociaciones bivariadas se estudian por los coeficientes de correlación utilizando en el caso de variables continuas de intervalo el coeficiente de correlación de Pearson, y para los casos de variables ordinales o discretas los coeficientes de Kendall y/o de Spearman. Mediante la obtención de estos coeficientes que representan distintos niveles de asociación entre las variables, se pueden eliminar del análisis multivariante algunos de los caracteres especialmente correlacionados (PERNY *et al.*, 2005).

4.4.3. Estadística multivariante y taxonomía numérica

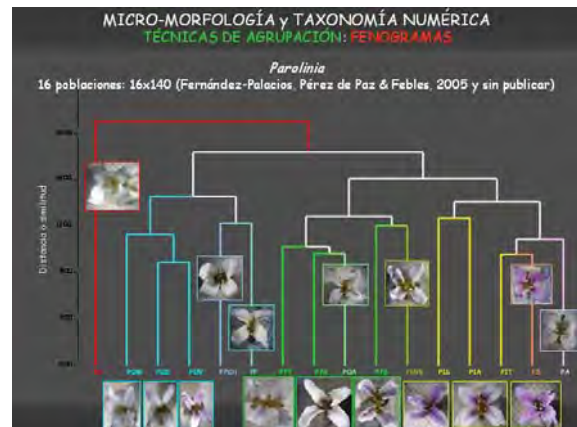
A diferencia de los análisis univariantes donde se analiza cada variable independientemente, los análisis multivariantes atienden simultáneamente a dos o más variables, razón por las que se les califica como mucho más adecuados para analizar la realidad física y biológica del medio natural y de los seres vivos, en cuya configuración intervienen simultáneamente muchas variables (SNEATH & SOKAL, 1973; CRISCI & LOPEZ ARMENGOL, 1983; EVERITT & DUNN, 2001).

La *taxonomía numérica* (feneticismo) que asume los fundamentos del análisis *multivariante*, tiene como finalidad agrupar distintas entidades taxonómicas, denominadas Unidades Taxonómicas Operativas (UTOs) según su similitud estimada a través de los datos obtenidos para los caracteres o variables, ordenados en una *matriz de datos* para posteriormente interpretarlos mediante diversas técnicas de *análisis multivariante*.

Las técnicas más habituales son los análisis de *agrupación* (fenogramas, árboles de mínima expansión o MST) y de *ordenación* como el Análisis Discriminante (AD), Análisis de Componentes Principales (ACP) y Análisis de Proximidad (MDS) en los que se obtiene su máxima resolución a niveles micro-taxonómicos infra o interespecíficos. Se ha demostrado que las técnicas de agrupación reflejan con mayor fidelidad las relaciones estrechas entre los taxones. Por el contrario los análisis de ordenación a penas distorsionan las relaciones de poca similitud (CRISCI & LOPEZ ARMENGOL, 1983).

Con el fin de minimizar los efectos metodológicos se recomienda el uso de más de una técnica que en este trabajo se ha llevado a cabo mediante programas como el SPSS, XLSTAT, NTSYS y STATISTICA, teniendo en cuenta el grado de congruencia taxonómica entre los resultados de las distintas técnicas dentro de un mismo o varios niveles de observación.

La aplicación de *técnicas estadísticas* a las poblaciones y especies del género *Parolinia* se lleva a cabo en el capítulo II de Sistemas de Cruzamiento y Eficacia Reproductiva (análisis de correlación), capítulo III de diversidad genética por Isoenzimas y capítulo IV a partir de la



morfometría tradicional (Morfometrías macro y micro-morfológicas) mediante la aplicación *estadística multivariante* de las técnicas de agrupación y de ordenación. La aplicación de estas *técnicas* cumple en este trabajo con el doble OBJETIVO de evaluar IMÁGENES para el *Banco de Biodiversidad Canaria* como *Micro-Marcadores Morfológico-Reproductivos* con valor sistemático identificando previamente las *homologías* para complementar y dar respuestas a las filogenias moleculares de la Flora Macaronésica y contribuir al conocimiento del Origen, Evolución y Relaciones de esta Flora.

La detección de Micro-Marcadores Morfológico-Reproductivos en *Parolinia* corresponde en una buena parte a la aplicación de técnicas estadísticas como el *Análisis Discriminante* (AD) que detecta los caracteres más importantes con valor diagnóstico y por tanto selecciona los de mayor aportación, pudiendo eliminar los que apenas contribuyen a la discriminación.

Los caracteres con mayor peso, reconocidos como Micro-Marcadores de Biodiversidad Reproductiva de *Parolinia*, se representan con *diagramas de cajas*, comparando así la biodiversidad de los taxones ampliamente distribuidos frente a la de los más restringidos y/o amenazados. Los análisis con técnicas multivariantes de *agrupación* y ordenación complementan y aportan información relevante en la evaluación de biodiversidad y SISTEMÁTICA del conjunto de especies y poblaciones de *Parolinia*. Asimismo los análisis de correlación comparación de matrices por grupos de caracteres (Test de Mantel) permiten relacionar tres de los cuatro niveles estructurales de la *deep morphology* (diversidad genética y diversidad macro y micro-morfológica-reproductiva) siendo capaces de generar hipótesis acerca del origen y evolución del género *Parolinia*.

La finalidad del análisis de la *Biodiversidad* morfológica reproductiva y genética pretende alcanzar dos tipos de objetivos:

1º. Señalar Micro-Marcadores Morfológico-Reproductivos de “eficacia reproductiva” de las poblaciones naturales para la evaluación e identificación de anomalías o fallos reproductivos de las especies amenazadas con aplicaciones a la conservación.

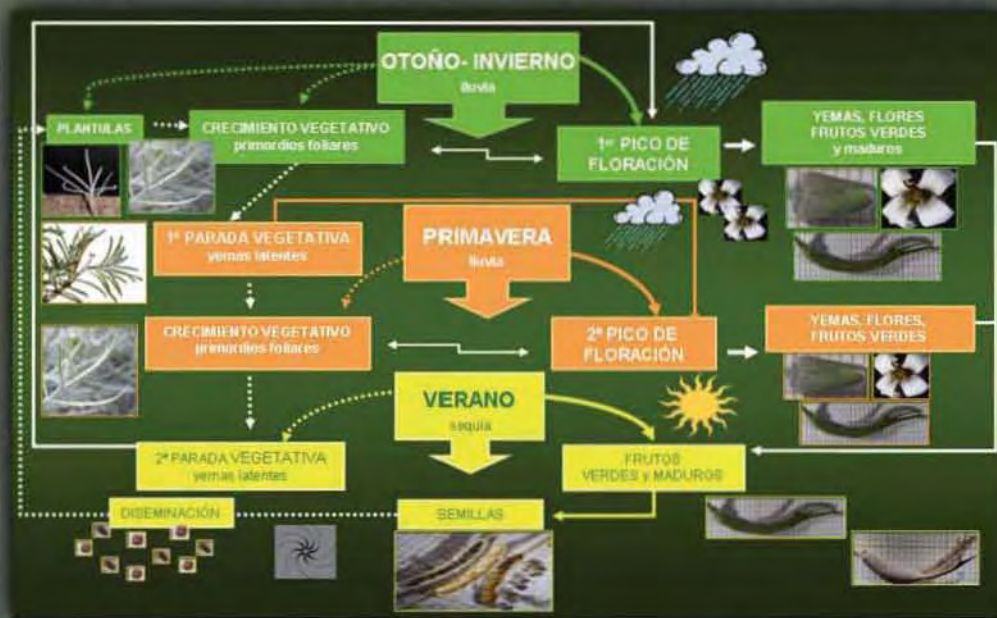
2º. Contribuir al estudio sistemático o de *relaciones* de la flora macaronésica aplicando las técnicas de la taxonomía numérica (feneticismo) y formar parte, con los caracteres filogenéticamente informativos, de las genealogías combinadas con datos moleculares, dando respuestas a aspectos evolutivos inaccesibles desde la perspectiva molecular.

Estos estudios de Biodiversidad se enfocan desde la nueva perspectiva que re-interpretar y caracteriza las imágenes macro y micro-morfológicas incluyendo aspectos funcionales de la Biología Reproductiva.

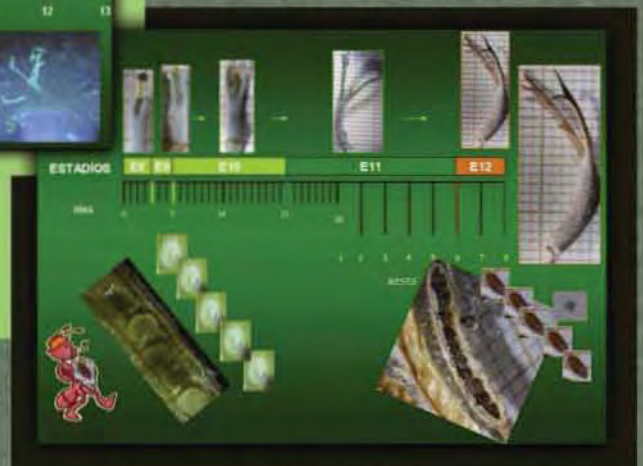
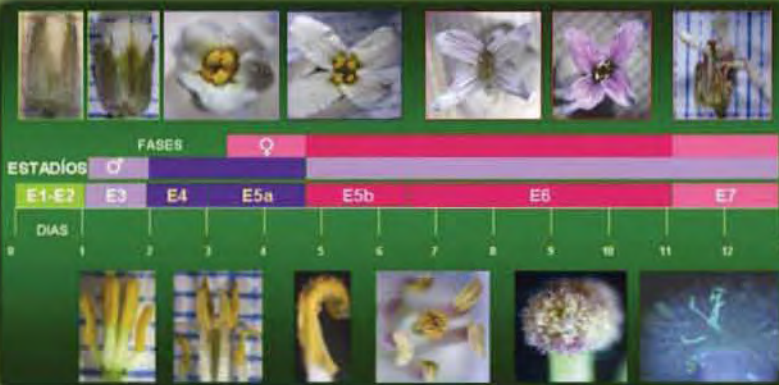


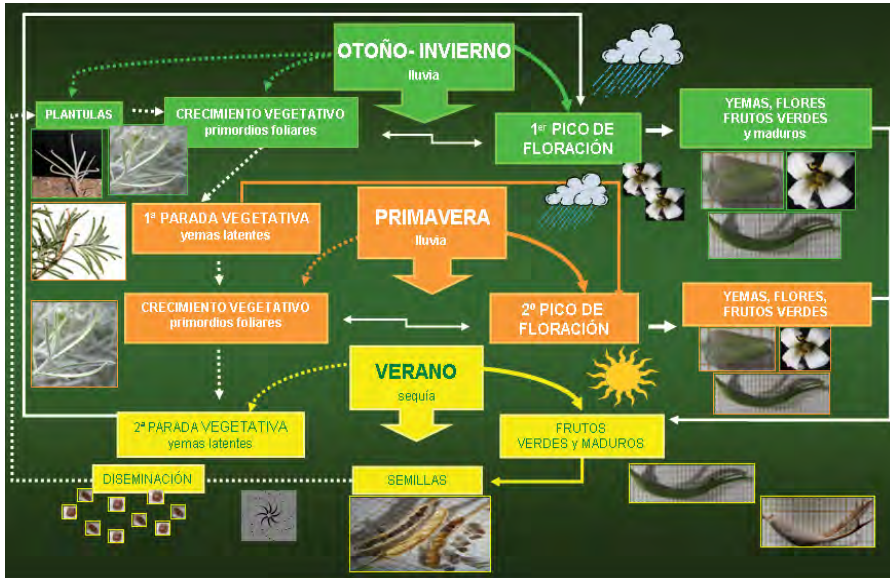
CAPITULO I

Ciclo Vital y Fenología Estacional

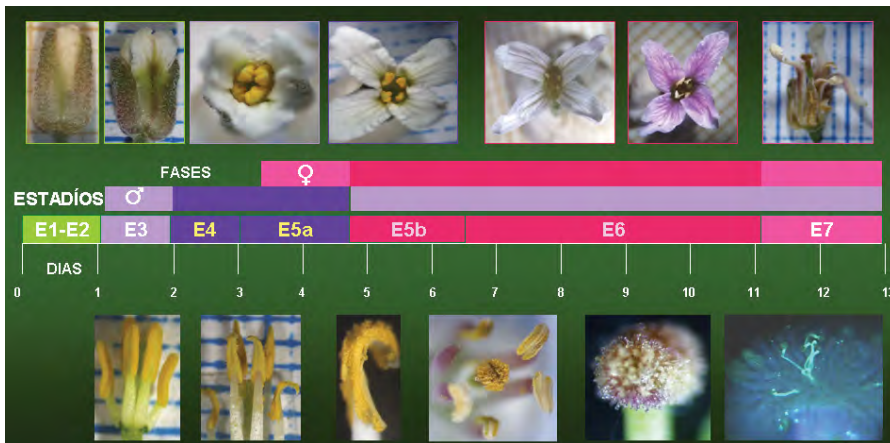


Fenología Floral, Inflorescencia y Fruto





CAPÍTULO I



Introducción y Objetivos

1. INTRODUCCIÓN A LOS ESTUDIOS FENOLÓGICOS

Hasta el momento en que se iniciaron estos estudios, no se tenía información alguna acerca de la biología reproductiva de ninguna de las especies del género *Parolinia*. Como en la mayoría de los endemismos canarios y macaronésicos en general, apenas existe información acerca de las peculiaridades del ciclo vital de las especies, fenología floral y del fruto, longevidad de la flor, sistemas de auto-incompatibilidad, sistemas de cruzamiento y eficacia reproductiva a nivel poblacional, cuestiones básicas para la detección de posibles problemas de erosión micro-morfológica-reproductiva en sus poblaciones naturales, e imprescindibles en el diseño de estrategias eficaces de conservación y gestión de los endemismos en peligro.

El género *Parolinia* se enmarca dentro del grupo de especies con flores *hermafroditas*, usando este término en el sentido estricto de BAWA & BEACH (1981) que se refiere a que presenta flores con gametos masculinos y femeninos conjuntamente. La mayoría de las plantas con flores presentan flores bisexuales y su polen se distribuye por medio de una serie de agentes bióticos y abióticos (FAEGRI & VAN DER PIJL, 1971).

Según BAWA & BEACH (1981) es difícil asignar una única fuerza selectiva responsable de la evolución y del mantenimiento de las flores bisexuales, porque ecológicamente, el hermafroditismo se halla presente en la mayoría de los grupos vegetales. La producción de gametos masculinos y femeninos no significa que una flor o planta esté contribuyendo de la misma manera, por vía masculina y femenina a la siguiente generación.

1.1. CICLO VITAL Y FENOLOGÍA ESTACIONAL

El tiempo estacional de floración es un periodo crítico del *ciclo vital* de las angiospermas que afecta al éxito reproductivo de la planta porque determina la sincronía reproductiva entre los individuos que incluye el proceso de *polinización* o transferencia polínica, *apareamientos* dentro y entre individuos (*mating system*) y mecanismos de fecundación, así como el desarrollo de los frutos y semillas, procesos de diseminación, germinación de semillas y establecimiento de plántulas (DIGGLE, 1999).

Como consecuencia, el tiempo de floración tiene la capacidad potencial de integrar todos las fases del ciclo vital determinadas a su vez por factores o variables ambientales bióticas o abióticas como la pluviometría, temperatura, fotoperiodo, polinizadores y dispersadores de frutos y semillas que afectan estacionalmente e influyen en el ciclo reproductivo, así como por la fenología de otras especies de la misma comunidad vegetal que comparten y compiten por los agentes polinizadores y dispersadores de frutos y semillas (WRIGHT & CALDERON, 1995; O'NEIL, 1997; FIGUEIREDO GOULART *et al.*, 2005).

Sin duda, la fenología de la floración es fundamental para entender la ecología y biología reproductiva de las especies ya que las flores como recursos alimenticios tienen un tiempo ecológico (relacionado a los polinizadores) que le confieren mecanismos de aislamiento reproductivo y/o evolutivo de especiación en el tiempo (KEARNS & INOUE, 1993). Los estudios de floración también ayudan a entender los patrones fenológicos que influyen en el alimento, movimiento y hábitos sociales de los insectos y mamíferos (RODRÍGUEZ-RIAÑO, ORTEGA-OLIVENCIA & DEVESA, 1999).

Los patrones de floración se definen por el tiempo, duración y frecuencia de la misma (DAFNI, 1992; BAWA, KANG & GRAYUM, 2003) que generalmente se presume que son adaptativos pudiendo estar influenciados por variables ambientales tanto bióticas como abióticas y por la filogenia (ENDRESS, 1994; WRIGHT & CALDERON, 1995; O'NEIL, 1997; DIGGLE, 1999; HENDERSON *et al.*, 2000; CHUINE, BELMONTE & MIGNOT, 2000; BAWA, KANG & GRAYUM, 2003). Asimismo, se considera que para la interpretación de los patrones fenológicos es importante conocer la floración, polinización, fructificación, dispersión y diseminación de frutos y semillas, así como la dormancia y germinación de las mismas (HENDERSON *et al.*, 2000).

La fenología estacional ha sido estudiada extensamente desde diversas perspectivas y se ha examinado el ciclo vital y patrones de floración de los taxones entre los distintos individuos de una población natural, entre poblaciones, entre especies, dentro de comunidades y/o a lo largo de gradientes latitudinales o de altitud (DIGGLE, 1999).

Recientemente desde una perspectiva histórica se ha demostrado que las distintas fases del ciclo vital como el tiempo de floración, etc., están determinadas y fuertemente asociadas a la historia evolutiva y afinidad taxonómica, indicando que la floración puede estar significativamente determinada por la historia filogenética (ENDRESS, 1994; WRIGHT & CALDERON, 1995; BAWA, KANG & GRAYUM, 2003).

Hay muchos modelos de fenología estacional y diversas clases de ritmo de floración en los ciclos vitales de las especies con una gran flexibilidad intra-específica. La época de floración específica, de apertura y duración de la flor se puede observar según periodos cortos de forma intensa y explosiva o con menos flores distribuidas regularmente según periodos de larga duración. Se podría afirmar que cada categoría sistemática tiene su propia diversidad según la región geográfica (ENDRESS, 1994).

1.2. FENOLOGÍA FLORAL Y DICOGAMIA

Para separar el androceo y gineceo de una flor hermafrodita y evitar la auto-polinización, algunos grupos vegetales albergan mecanismos como la *dicogamia* (separación temporal) y *hercogamia* (separación espacial) que son menos drásticos que la dioecia y la auto-incompatibilidad.

Estos mecanismos además de evitar la auto-fecundación o autogamia, evitan problemas de *interferencia* entre la *fase masculina* de la flor (considerada como el periodo de exposición del polen desde la dehiscencia de las anteras) y la *fase femenina* (o de receptividad estigmática) periodo de la flor en que puede germinar el polen que llega al estigma (DARWIN, 1876; PROCTOR & YEO, 1972; LLOYD & WEBB, 1986; WEBB & LLOYD, 1986; BERTIN, 1993; BERTIN & NEWMAN, 1993; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; RICHARDS, 1997; BUIDE & GUITIAN, 2002; BARRETT, 2002 y 2003).

En la dicogamia, la exposición y viabilidad del polen antes que el estigma se conoce como *protandria* y la exposición o madurez del estigma antes que el polen, se conoce como *protoginia*. Se ha observado que en especies polinizadas bióticamente, la *protandria* está más generalizada (casi el doble) que la *protoginia*, mientras que en las especies polinizadas abióticamente la *protoginia* está mucho más generalizada (una seis veces más) que la *protandria* (LLOYD & WEBB, 1986; WEBB & LLOYD, 1986; RICHARDS, 1997). No obstante también se ha observado en una misma especie y/o población natural que ambas modalidades (*protandria* y *protoginia*) pueden variar según presiones ambientales y exhibir

una u otra indistintamente. (LLOYD & WEBB, 1986; WEBB & LLOYD, 1986; RICHARDS, 1997).

Entre las angiospermas, tanto la *dicogamia* (separación en el tiempo del polen y el estigma) como la *hercogamia* (separación espacial de ambos) están ampliamente distribuidas y sin embargo han sido objeto de poca atención si se comparan con otros atributos florales menos comunes como la monoecia y flores unisexuales, heterostilia, cleistogamia, etc.

Los primeros estudios de fenología floral se han visto incrementados y han experimentado un gran avance hace relativamente pocos años aunque todavía permanecen con algunos vacíos de información (FAEGRI & VAN DER PIL, 1971; BAWA & BEACH, 1981; LLOYD & WEBB, 1986; WEBB & LLOYD, 1986; BERTIN, 1993; BERTIN & NEWMAN, 1993; RICHARDS, 1997).

En un principio durante el periodo histórico más antiguo de la Biología de la Polinización, el uso del término *dicogamia* se ha referido exclusivamente a la separación temporal del polen y estigma de una flor hermafrodita, que actualmente se denomina y reconoce como *dicogamia intrafloral*.

La *dicogamia* en especies hermafroditas o monoicas, es una característica común poco estudiada en taxones auto-incompatibles, razón por la que también se ha considerado como mecanismo que refuerza la alogamia o xenogamia, aunque no parece que siempre sea así (GRIFFIN, MAVRAGANIS & ECKERT, 2000).

Recientemente se considera que la *protandria* está positivamente correlacionada con la presencia de auto-incompatibilidad (SI) y la *protoginia* con la auto-compatibilidad (SC) e incluso que tanto la presencia de *inbreeding depression* (pérdida de vigor por endogamia) como la *interferencia* antera-estigma juegan un papel importante en la evolución de la *dicogamia* (SARGENT, MANDEGAR & OTTO, 2006).

Se reconoce asimismo a la *protoginia* como mecanismo más eficaz para evitar la auto-fecundación, que además incrementa la eficacia maternal. Sin embargo se reconoce a la *protandria* como un mecanismo que evita la auto-interferencia polen-estigma, favoreciendo principalmente la eficacia paterna (LLOYD & WEBB, 1986; BERTIN, 1993; BERTIN & NEWMAN, 1993; ROUTLEY, BERTIN & HUSBAND, 2004).

La primera descripción de flores dicógamas se hizo por Joseph Kölreuter en 1766 aunque el término *dicogamia* (del griego *dicho*= dos y *gamos* = unión) referido al ámbito *intrafloral* fue acuñado por Sprengel en 1793.

Pero a partir de entonces, el concepto de *dicogamia* se amplía al ámbito *interfloral*, pudiendo diferenciar, a su vez, varios tipos de *dicogamia* en cada una de las modalidades *intra* o *interfloral*, de manera que se pueden construir clasificaciones más complejas (LLOYD & WEBB, 1986, modificado).

1.2.1. Dicogamia intrafloral. Tipos

La *dicogamia intrafloral* (separación temporal en una flor de las fases masculina y femenina) se puede subdividir en: *protandria* o *protoginia*, *completa* o *incompleta*, o por *intervalos sucesivos* de exposición de polen y estigma.

1.2.1.1. Protandria o protoginia: orden de exposición del polen y del estigma

La exposición o presentación del polen antes del estigma se conoce como *protandria* y la exposición del estigma antes que el polen, como *protoginia*. La exposición simultánea se ha denominado *homogamia* aunque después de un siglo se considera un término poco

adecuado y la ausencia de dicogamia se reconoce también como *adicogamia* (FAEGRI & VAN DER PIJL, 1971).

1.2.1.2. Completa o incompleta: grado de separación de las fases masculina y femenina

Las descripciones de *protandria* o *protoginia incompleta* se refieren a los periodos iniciales de la flor con exposición de polen o estigma *antes* del periodo de exposición conjunta, ya que las fases finales de la flor con presentación exclusiva de polen o estigma apenas se han contemplado y no hay terminología disponible, aunque también pueden existir.

La *dicogamia* se considera *completa*, cuando en una flor o unidad mayor no hay superposición de la exposición del polen y receptividad del estigma. Se considera *incompleta* cuando hay solapamiento entre las fases masculina y femenina de la flor, incluyendo desde una ligera a la casi total coincidencia, aunque se debe considerar la posible dependencia de las circunstancias ambientales con o sin polinizadores.

Cuando las observaciones de *dicogamia incompleta* se llevan a cabo en invernaderos o jardines experimentales lejos de las condiciones naturales, se deben extremar las precauciones, toda vez que la ausencia de *polinizadores* puede aumentar la duración y persistencia del polen y por tanto se dificulta la diferenciación entre las fases masculina (polen) y femenina (receptividad estigmática). En la medida de lo posible, los resultados de estas observaciones se deben aproximar o confrontar con las condiciones naturales donde se contempla el tiempo real de disponibilidad polínica en relación a los estigmas receptivos junto con la posibilidad de fecundación de sus óvulos. Estos periodos de *presentación efectiva* probablemente son más cortos y variables que los periodos potenciales en ausencia de polinizadores (WEBB & LLOYD, 1986; PRESTON, 1991).

Por tanto para detectar y diferenciar la fase masculina y femenina de la flor, tanto morfológica como fisiológicamente, se debe tener en cuenta pues la presencia de *polinizadores*, ya que la duración de dichas fases no solo depende de la viabilidad polínica y receptividad estigmática, sino también de la tasa de disponibilidad de polen que llega a los estigmas para fecundar los óvulos, ambos procesos íntimamente dependientes de la polinización (PRESTON, 1991).

La duración del periodo de separación entre la exposición o presentación de polen y superficies estigmáticas, puede variar considerablemente. Algunas Crucíferas exponen el estigma y anteras simultáneamente, pero como las anteras tardan varios minutos en estar dehiscentes, la presentación efectiva del estigma puede preceder a la del polen (AL-SHEHBAZ, 1977). La mayoría de las flores de zonas templadas duran *días* y el intervalo entre las dos fases de una flor puede ser de varios días (WEBB & LLOYD, 1986; ENDRESS, 1994; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; RICHARDS, 1997).

1.2.1.2.1 Dicogamia según intervalos sucesivos de polen y estigma

En floraciones prolongadas se deben distinguir, los intervalos largos de exposición sucesiva de androceo y gineceo en un individuo, del fenómeno de "cambio de sexo", que puede ocurrir en algunas angiospermas en las que un mismo individuo puede actuar tanto como masculino que como femenino, dependiendo de las diferentes floraciones o años (WEBB & LLOYD, 1986; RICHARDS, 1986 y 1997).

En algunos géneros de la flora canaria como *Neochamaelea* se ha observado que puede ocurrir esta separación funcional de sexos, de manera que un individuo puede ser masculino o femenino dependiendo del periodo de floración (PÉREZ DE PAZ, 2002; PÉREZ

DE PAZ *et al.*, en prensa). Por tanto, la dicogamia y el “cambio de sexo” se consideran como fenómenos diferentes que pueden actuar incluso de forma combinada como probablemente sea el caso de *Neochamaelea*.

1.3. INFLORESCENCIA. FENOLOGÍA Y DICOGAMIA

El término latino *anthium* fue introducido por FAEGRI & VAN DER PIJL (1971) para describir las unidades de reclamo compuestas por flores. Este término se puede referir tanto a una inflorescencia, como a un árbol en floración, como también a las especies de los grandes prados en flor (KEVAN, 1984; PÉREZ DE PAZ, 2002). Los términos alemanes de estructura (*bauplant*) y arquitectura (*gestalt*) según ENDRESS (1994) se consideran sinónimos y se refieren a agrupaciones de flores y/o inflorescencias que pueden formar asociaciones y estructuras determinadas (antios).

El significado adaptativo de las diferentes tipos de inflorescencias o agrupaciones florales en las Angiospermas ha sido ignorado hasta hace relativamente pocos años, de manera que aún se desconoce la influencia de la arquitectura de las inflorescencias sobre la contribución genética a la siguiente generación. En este sentido, las hipótesis evolutivas han sido dirigidas a los niveles de polinización, transferencia polínica y éxito reproductivo a nivel de individuo o planta, pero no de *inflorescencia*. Las grandes inflorescencias multifloras se han justificado como una forma de aumentar el reclamo a larga distancia de los polinizadores por atracción visual u olfativa (WYATT, 1982).

En las unidades florales visitadas por un polinizador (unidad de polinización o *antia*), se debe distinguir las diferencias *temporales* en la exposición del polen y estigma y la secuencia de contacto del polinizador en una visita. En las especies con *hercogamia* o separación *espacial* de polen y estigma los dos pueden estar disponibles al mismo tiempo, pero el polinizador contacta antes con el estigma que con el polen. Hay pues que diferenciar entre el orden de maduración del polen y del estigma (*dicogamia*) y el orden de contacto con el polinizador durante una visita, que refleja la presencia de *hercogamia* (WEBB & LLOYD, 1986).

En una *inflorescencia*, es importante destacar la zona con flores femeninas receptoras de la zona polinífera masculina dadora de polen, así como la situación o estructuración a lo largo de la misma, toda vez que son factores importantes para determinar los niveles de fecundación o alogamia. Hay polinizadores como las abejas que comienzan las visitas desde la base hacia el ápice de las inflorescencias que a su vez se han desarrollado de forma ascendente o acrópeta y que generalmente sus flores suelen ser *protándricas*. Es decir que mientras la base de las inflorescencias es femenina, las flores del ápice son masculinas y probablemente son las que transfieren el polen a la siguiente *inflorescencia* o planta (WEBB & LLOYD, 1986).

Los escasos trabajos acerca de las agrupaciones y disposiciones florales y sus aspectos adaptativos, sugieren que el número de flores y su estructuración espacial y temporal, determinan los niveles de *polinización* y *fructificación* (éxito reproductivo) de las especies en las poblaciones naturales, además de afectar a la descendencia tanto cualitativa como cuantitativamente (WYATT, 1982; BARRETT, 2003).

Está ampliamente reconocido que las flores y frutos producidos por cada planta pueden variar dentro de una *inflorescencia* desde la posición basal (primero) hasta la distal (más tarde). Debido a esta *temporalidad*, las flores y frutos basales restan recursos o nutrientes a las flores y frutos distales, pudiendo afectar negativamente al éxito reproductivo o desarrollo

de frutos (LLOYD, 1980; BRUNET & CHARLESWORTH, 1995; GUITIÁN, GUITIÁN & NAVARRO, 1996; DIGGLE, 2003; BARRETT, 2003).

La oferta floral por día de una *inflorescencia* puede afectar a la calidad y cantidad de progenie si se tiene en cuenta que puede influir previamente en la atracción de los *polinizadores*, cantidad de polen que queda en la planta después de una visita, así como en la probabilidad de auto-polinización (ARROYO, 1976; LLOYD, 1979; DAFNI, 1992; DEVLIN, CLEGG & ELLSTRAND, 1992; BARRETT, HARDER & COLE, 1994). El número total de flores producidas por una *inflorescencia* puede influir no solo en la *polinización* sino también en la producción y dispersión de los frutos (DAVIDAR & MORTON, 1986; RICHARDS, 1986 y 1997; DENSLOW, 1987; BARRETT, HARDER & COLE, 1994; BARRETT, 2003).

1.3.1. Dicogamia interfloral. Tipos

Actualmente se reconoce como dicogamia *interfloral* cuando en las inflorescencias o individuos, el polen y el estigma se exponen en diferente tiempo, tanto en taxones monoicos con flores unisexuales como en los hermafroditas. Se reconoce asimismo como *dicogamia interfloral* de una *inflorescencia* con flores hermafroditas, cuando las flores en fase masculina y en fase femenina se exponen en diferentes tiempos.

En taxones monoicos con flores unisexuales, se refiere a la exposición en diferente tiempo de las flores masculinas (polen) y de las femeninas (estigma) de una inflorescencia o individuo. Algunos autores han extendido el uso de *dicogamia* a las diferencias temporales entre individuos femeninos y masculinos de una población, otros consideran estas manifestaciones como caracteres secundarios de sexo, considerando la *dicogamia* referida exclusivamente a las diferencias temporales que operan dentro de los individuos (FAEGRI & VAN DER PIJL, 1971; LLOYD & WEBB, 1977 y 1986).

Se puede distinguir varias clases de dicogamia *interfloral* según el grado y naturaleza de sincronía entre las flores de un individuo o planta: *asincrónica*, *hemisincrónica* y *sincrónica* con varios subtipos.

1.3.1.1. Dicogamia inter-floral asincrónica y hemisincrónica

La condición más abundante es la dicogamia *asincrónica*, que tiene lugar cuando no coinciden las mismas *fases* en las flores de una misma inflorescencia o individuo, coexistiendo las flores masculinas (con exposición del polen) y las flores femeninas (con exposición de estigmas receptivos).

En la mayoría de las especies con *dicogamia asincrónica*, el polinizador puede transportar polen desde una flor dadora que lo expone a otra receptora con estigmas receptivos, pudiendo ocurrir la auto-polinización y geitonogamia dentro y entre inflorescencias de una planta.

La *dicogamia hemisincrónica* tiene lugar cuando hay sincronización entre las flores de una inflorescencia o entre algunas inflorescencias del mismo individuo, pero no todas. Se ha observado que aproximadamente el 70% del polen sobre el estigma procede de otras plantas, de manera que la *hemisincronía* mantiene la *geitonogamia* (auto-polinización) en niveles relativamente bajos, evitando en gran medida la auto-polinización entre flores de una inflorescencia e inflorescencias cercanas, pero permitiendo la *geitonogamia* entre inflorescencias distantes de un individuo (WEBB & LLOYD, 1986).

Puede haber una condición intermedia entre *dicogamia asincrónica* y *hemisincrónica* cuando en una planta, algunas inflorescencias presentan todas sus flores con estigmas receptivos (fase femenina) primero y luego con exposición de polen (masculina) pero en las

otras inflorescencias las flores no están sincronizadas pudiendo coexistir flores en fase femenina y masculina (*Plantago lanceolata* en Nueva Zelanda).

1.3.1.2. *Dicogamia interfloral sincrónica*

La *dicogamia sincrónica* tiene lugar cuando todas las flores abiertas de un individuo están en la misma fase. Se ha observado en grupos primitivos como Lauraceae (Magnoliidae) en la modalidad de *protoginia sincrónica* (KUBITZKI & KURZ, 1984). Como ejemplos más conocidos están también las umbelíferas, en las que todas las flores de la misma umbela se ordenan según ciclos sucesivos masculinos y femeninos, distintos a los de la siguiente umbela. Este patrón también se ha descrito como "dioecia temporal" fenómeno distinto a la *dicogamia sincrónica* que no se debiera confundir, pues aunque se evita completamente la auto-fecundación, posee otros mecanismos de control (CRUDEN & HERMANN-PARKER, 1977).

Las fronteras entre la *dicogamia sincrónica* y *hemisincrónica* también son confusas pudiendo considerar varios tipos de *dicogamia sincrónica*, dependiendo del número de ciclos y morfos genéticos implicados:

1.3.1.2.1. *Dicogamia sincrónica multi-ciclo*

Es el tipo más común de *dicogamia sincrónica* en el que durante una floración cada planta o individuo atraviesa varios ciclos protándricos o protogínicos (polen-estigma). En varias especies de palmeras con una inflorescencia por floración, pueden tener primero dos periodos masculinos y después un periodo femenino. Otras especies tienen fases alternantes de inflorescencias masculinas y femeninas.

1.3.1.2.2. *Duodicogamia*

Es un segundo tipo de *dicogamia sincrónica* en la que hay *un ciclo y medio* por floración, en especies como *Castanea* todas las inflorescencias de un árbol están más o menos sincronizadas presentando sucesivamente flores masculinas-femeninas-masculinas. En especies andromonoicas, se puede presentar una variante donde en una o más inflorescencias, las flores hermafroditas son protándricas (presentan primero sus pólenes que sus estigmas) y posteriormente se abren las flores masculinas (polen).

1.3.1.2.3. *Dicogamia sincrónica de un ciclo*

Tiene lugar cuando todos los granos de polen de una planta están presentes antes que los estigmas o viceversa, parece ser mucho menos común que la *dicogamia multi-ciclo*. Se pueden encontrar ejemplos típicos en especies anemógamas del hemisferio norte templado, como el abedul, olmo y roble, donde la antesis de las flores femeninas de un árbol tiene lugar por lo menos un día antes que las flores masculinas. En *Alnus glutinosa* se ha confirmado que las inflorescencias de un árbol están estrechamente sincronizadas de manera que no se solapan las fases masculinas tardías y femeninas tempranas, pero los árboles vecinos pueden estar desfasados y mientras algunos han finalizado la floración otros no la han iniciado.

1.3.1.2.4. *Heterodicogamia*

Es otra variante de la *dicogamia sincrónica* presente en varios grupos de Angiospermas no relacionadas, en la que hay dos morfos genéticos (protándricos y protogínicos) que se comportan sincrónicamente, de manera que cuando uno presenta polen (protándrico) el otro presenta los estigmas receptivos (protogínico) y a lo largo del día todas las flores abren al mismo tiempo. Este tipo de *dicogamia sincrónica*, con los ejemplos típicos de Darwin en el nogal (Jungladaceae) y el avellano (Fagaceae), es el equivalente temporal del dimorfismo de las especies heterostílicas.

En otro tipo de *heterodicogamia*, las flores de las especies no son sincrónicas y los morfos protándricos o protogínicos difieren en el tiempo de antesis durante el día. En algunas Lauraceae con flores son protogínicas (*Persea americana*) y Rhamnaceae protándricas unas flores abren por la mañana y otras por la tarde (KUBITZKI & KURZ, 1984; WEBB & LLOYD, 1986; ENDRESS & LORENCE, 2004).

1.4. ORIGEN DE LA DICOGAMIA. CAUSAS Y FUERZAS SELECTIVAS

Se han contemplado cuatro fuerzas selectivas que pueden ser las causas responsables de la *dicogamia* o separación temporal del androceo (exposición del polen) y gineceo (exposición del estigma receptivo) y que al parecer pueden estar dirigidas a:

1.4.1. Interferencias y auto-fecundación

El considerable número de especies que son tanto dicógamas (protándricas) como auto-incompatibles induce a pensar que la aparición de la *dicogamia* no surge para evitar la auto-fecundación, sino más bien para restringir interferencias entre el androceo y gineceo.

No obstante la *protoginia* se ha considerado como mecanismo más eficaz para evitar la autogamia y se encuentra más frecuentemente asociada a la auto-compatibilidad (LLOYD & WEBB, 1986; WEBB & LLOYD, 1986; BERTIN, 1993; BERTIN & NEWMAN, 1993; ROUTLEY, BERTIN & HUSBAND, 2004; BARRETT, 2003).

1.4.2. Exposición prolongada de polen

En una flor, una manera de hacer que el polen esté disponible a un mayor número de visitantes es dilatar su periodo de exposición por más tiempo que el de receptividad del estigma (LLOYD & WEBB, 1986).

Si el intervalo de exposición polínica excede al del estigma receptivo, es un tipo de *protandria incompleta*. Asimismo, otro aspecto a tener en cuenta es que la presentación prolongada del polen favorece la visita de polinizadores cuando también está disponible el estigma.

1.4.3. Liberación y recepción simultánea de polen

En las especies polinizadas por animales dentro de una unidad floral, la selección actúa favoreciendo que la misma superficie y posición de un polinizador contacte simultáneamente con el polen y el estigma. No existe tal fuerza en las especies anemógamas polinizadas por el viento o agua, ya que las posiciones óptimas de dispersión y recepción de polen no necesitan ser idénticas.

1.4.4. Interferencias entre polen-estigma

No hay razones universales del por qué la *protandria* o la *protoginia* debieran ser más efectivas para evitar la interferencia entre las fases polínica y estigmática.

Sólo en algunas circunstancias se ha observado que la *protandria* o la *protoginia* evitan de forma efectiva estas interferencias y se piensa que la selección ha intervenido

favoreciendo una u otra, detallándose a continuación únicamente las fuerzas o presiones selectivas que pudieran estar vinculadas al género *Parolinia*.

1.4.4.1. *Flores con facilidad de movimiento en el androceo y gineceo*

Para evitar la interferencia polen-estigma, las flores dicógamas resuelven dos problemas consecutivos: mientras se expone el primer gametofito (polen o estigma), el que funciona en segundo lugar, se encuentra alejado para no obstaculizar a los polinizadores, de manera que, cuando se presenta el segundo, se aleja el primero. Es fácil observar distanciamiento en los dos gametofitos, ya que en muchas especies dicógamas, el segundo gametofito retrasa su crecimiento de forma que en la *protandria* los estigmas y ramas estigmáticas se encuentran unidas y verticales al principio, separándose y desplegándose más tarde. Se considera más difícil retirar los estambres después de la fase masculina, que se consigue por el movimiento o pérdida de las anteras.

1.4.4.2. *Inflorescencias verticales anemógamas*

1.4.4.3. *Inflorescencias verticales entomógamas*

La *protandria* suele estar asociada con el desarrollo floral de las *inflorescencias* y con el movimiento más frecuente de los polinizadores.

1.4.4.4. *Flores refugio, trampa y flores nido*

1.4.4.5. *Flores con esporofito que facilita la exposición de los gametofitos*

La exposición o presentación secundaria del polen sobre el gineceo se ha desarrollado en varios grupos de angiospermas. La ventaja de este tipo de *presentación* permite al polen y al estigma estar en la misma posición dentro de un antio.

1.4.4.6. *Flores con señales de recompensa en los estambres*

En algunas angiospermas, los estambres pueden ser señales de reclamo y recompensa tanto visuales referidos al polen como olfativos de néctar. En la mayoría de los casos el reclamo opera antes o durante el periodo de exposición de polen y cesa cuando se retiran o cuando los estambres marchitan y se caen.

1.4.4.7. *Flores con cambios post-exposición o senescencia*

El final de la anthesis a menudo va acompañado por la *senescencia* manifiesta de algunas piezas florales. La mayoría de las manifestaciones de senescencia floral se refieren a los cambios que tienen lugar en la corola al marchitarse, pudiendo cambiar de color, perdiéndolo o intensificándolo, cerrarse o caer. En algunas especies, los cambios visibles de la corola van acompañados por una retirada de recursos con el fin de favorecer el desarrollo del gineceo fecundado. La pérdida del periantio puede ir acompañada por la falta de néctar, falta de olor o de ambos (LLOYD & WEBB, 1986).

Estos cambios de las flores durante la senescencia pueden tener además varias consecuencias: 1º) Salvar los recursos del parental al finalizar el gasto de energía en los órganos de atracción, reclamo y recompensa, 2º) La senescencia de la corola haciendo las flores menos llamativas y conspicuas, hace que los visitantes se dirijan a las flores con recompensa, asegurando así la dispersión y recepción del polen, al mismo tiempo que se evitan las *visitas* superfluas a flores previamente visitadas, 3º) No se desperdicia polen en las flores marchitas no receptivas reduciendo además la interferencia polen-estigma, y 4º) se evitan también los predadores potenciales atraídos por los reclamos florales.

1.5. FENOLOGÍA FLORAL Y HERCOGAMIA

La *hercogamia* es la separación espacial de la exposición o presentación del polen y la receptividad del estigma lugar de acogida del mismo dentro de una flor o de las unidades de polinización (antios) de una planta o individuo. Como la dicogamia, también se ha interpretado como un mecanismo que reduce la auto-fertilización y favorece la alogamia *s.l.*

Sin embargo, como muchas plantas hercógamas son también auto-incompatibles, se ha sugerido que las distintas clases de hercogamia también pueden actuar como mecanismos que evitan la interferencia entre la dispersión del polen desde las anteras y su lugar de acogida o recepción en los estigmas.

Se han reconocido varias clases de hercogamia, aunque su clasificación es controvertida ya que no hay “acuerdo” en si todos las flores o *antios* son idénticos (hercogamia homomórfica), si todos dispersan y reciben, si la dispersión y recepción polínica ocurre de forma recíproca (hercogamia recíproca), o si algunos o todos (flores y *antios*) realizan una única función (hercogamia interfloral).

Dentro de la *hercogamia homomórfica*, se distinguiría la *desordenada* y la *ordenada*. En la primera, el polinizador dentro de un antio tiene muchos contactos con los estigmas y polen sin una secuencia definida. En la *hercogamia ordenada* los contactos son pocos y ordenados. Las otras subdivisiones están destinadas a la operatividad de los mecanismos de polinización.

Aunque para las flores y antios hercógamos las funciones masculina y femenina están separadas en el espacio, muchas flores controlan el comportamiento del polinizador procurando que ambas superficies de polinización estén en contacto durante una única visita. En los antios dicógamos la separación del polen que se dispersa y se recibe es temporal más que espacial y esta diferencia tiene varias consecuencias importantes para la biología de la polinización de los antios dicógamos y hercógamos (WEBB & LLOYD, 1986).

1.6. DICOGAMIA Y HERCOGAMIA. BRASSICACEAE. ANTECEDENTES

1.6.1. Antecedentes en dicogamia

En la familia Brassicaceae los estudios en distintos géneros, muestran que se puede favorecer tanto la *protandria*, como la *protoginia*.

Aunque según OLOWOKUDEJO & HEYWOOD (1984) Bateman en 1955 afirmó que no hay ni *protandria* ni *protoginia* en las Crucíferas, la *protoginia* en la familia se ha detectado en 61 especies de 32 géneros ordenados en 9 tribus. Posteriormente un estudio de 91 especies de Irak (AL-SHEHBAZ, 1977) encontró *protoginia* en 24 especies pertenecientes a 19 géneros, citándose por primera vez para 21 de las 24 especies pertenecientes a los géneros *Diplotaxis*, *Hirschfelda*, *Savignya*, *Erucaria* (tribu Brassiceae), *Neslia* (tribu Euclidieae), *Aubrieta* (tribu Matthioleae), *Sterigmostemum* (tribu Hesperideae) y *Sisymbrium* (tribu Sisymbrieae).

También se han encontrado ejemplos de *protoginia* en géneros como *Biscutella* L. de la tribu Lepidieae (OLOWOKUDEJO & HEYWOOD, 1984), *Erysimum* L., de la tribu Hesperideae (NIETO FELINER, 1991), *Draba* L., de la tribu Drabeae (BROCHMAN, 1993), *Sinapis* L. y *Brassica* L., ambos en Brassiceae (MASIEROWSKA, 2003), destacando al género *Lobularia* Desv., de la tribu Alysseae por su presencia en Canarias (BORGÉN,

1987). Ejemplos de *protandria* se han observado en géneros como *Streptanthus* Nutt., de la tribu Streptantheae (PRESTON, 1991), *Diploaxis* DC, tribu Brassiceae (RUSTAN, 1996), *Warea* Nuttall, tribu Stanieyae (EVANS *et al.*, 2000) y *Erysimum* L., en la tribu Hesperideae (NIETO FELINER, 1991). Además se han encontrado ejemplos de *protandria* con auto-incompatibilidad en *Streptanthus cutleri carinatus* y de *protoginia* con auto-incompatibilidad en *Brassica oleraceae* (LLOYD & WEBB, 1986).

Asimismo en Brassicaceae se ha visto que en 23 géneros existe un mecanismo de cambio de color en la flor asociado al cambio de fase a masculina o femenina. Las partes florales implicadas en el cambio de color, pueden ser: i) la flor entera o corola; ii) centro de la flor; iii) líneas como guías de néctar / estandarte; iv) ojo/corona; v) el androceo y vi) el gineceo. En el género *Lobularia* la forma blanca de *L. maritima* solo cambia de color el filamento estaminal, mientras en que la forma púrpura, cambia la flor entera (WEISS, 1995).

1.6.2. Antecedentes en hercogamia

Los únicos antecedentes de *hercogamia* que se han podido localizar en la familia corresponden a *Streptanthus tortuosus* (PRESTON, 1991), que además presenta *protandria* junto con auto-compatibilidad, y a los taxones protogínicos de los géneros *Brassica* y *Sinapis* donde la posición de las anteras dehiscentes puede evitar la auto-fertilización (MASIEROWSKA, 2003).

El conocimiento de la dinámica y eficacia reproductiva de las poblaciones naturales, requiere el conocimiento previo de sus sistemas de cruzamiento, proceso que requiere a su vez, el conocimiento de su ciclo vital, fenología floral con sus respectivos cambios morfológicos, estructurales y fisiológicos en el tiempo, detectando la dicogamia y/o hercogamia y posteriormente la fructificación y fenología del fruto.

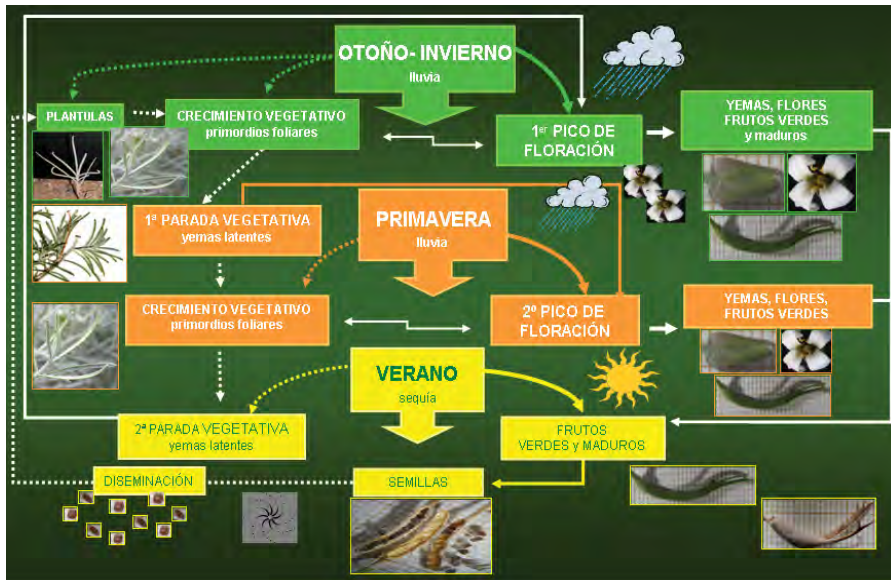
2. OBJETIVOS

Teniendo en cuenta, que la falta de información sobre biología reproductiva del género *Parolinia* es absoluta, se considera que las primeras aportaciones deben ir encaminadas al conocimiento de su ciclo vital y distintos aspectos fenológicos de la flor y fruto. Esta es la razón por la que este capítulo centra sus objetivos en el conocimiento del ciclo vital y procesos de floración y fructificación de las distintas especies del género *Parolinia* pormenorizando los siguientes apartados:

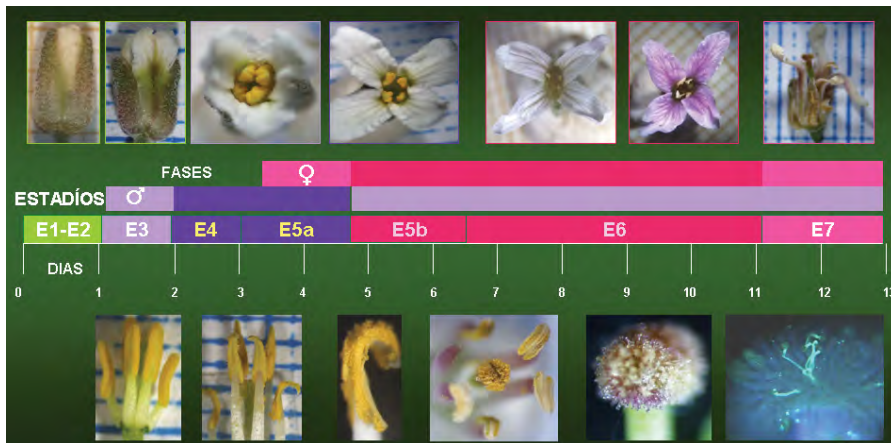
- 1) Ciclo vital y fenología estacional con picos de floración y fructificación e influencia de variables climáticas.
- 2) La flor, desarrollo fenología, dicogamia y longevidad.
- 3) Fenología del fruto, maduración y formación de las semillas.
- 4) Desarrollo y estructura de la inflorescencia y dicogamia interfloral.

La consecución de estos objetivos contribuirá al conocimiento de las poblaciones naturales, caracterizando el desarrollo de la flor y fruto, así como posibles anomalías o erosión micro-morfológico-reproductiva en las especies amenazadas (tres en estado crítico). Al mismo tiempo son de vital importancia para el diagnóstico y diseño de *estrategias de conservación* específicas ineludibles en una gestión verdaderamente efectiva.





CAPÍTULO I



Material y Métodos

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Todas las observaciones fenológicas del ciclo vital se han realizado tanto en las poblaciones naturales de las especies de *Parolinia*, como en los individuos cultivados en las zonas experimentales del Jardín Botánico Canario “Viera y Clavijo” (JBCVC) donde se mantiene un stock procedente de semillas de cada una de sus poblaciones.

ESPECIE	I S L A	FEN. ESTAC.		FENOLOGÍA FLORAL								FEN. FRUTO		FENOLOGÍA DE LA INFLORESCENCIA			
		Pob Nat	J B C V C	JBCVC		ANTERA Dehiscen		ETG Recep		ANDROCEO GINECEO		JBCVC		Población Natural		JBCVC	
				Individuos	Ind	Fl	Ind	Bot Fl	Ind	Fl	Ind	Fl	In	Fr	Ind	Infl	Ind
<i>P. glabriuscula</i> PG	GC	96	12	14	32	30	277	29	29	139	476	10	46	112	455	11	57
<i>P. filifolia</i> PF	GC	300	5	15	15	26	36	21	21	140	297	10	101	133	398	11	21
POA	GC	100	-	-	-	13	43	26	26	67	156	10	21	95	348	-	-
<i>P. ornata</i> PO	GC	300	14	22	50	59	280	51	51	262	752	10	75	149	732	12	165
<i>P. platypetala</i> PP	GC	100	25	13	38	47	165	19	19	147	376	10	34	83	346	15	109
<i>P. intermedia</i> PI	T	-	-	20	20	21	71	19	19	63	162	10	34	-	-	16	50
<i>P. schizogynoides</i> PS	G	-	8	12	38	13	69	13	13	35	133	10	55	-	-	8	32
<i>P. aridanae</i> PA	P	-	18	10	10	20	82	8	8	76	180	10	49	-	-	16	105

Tabla 1.1. Muestreo de fenología estacional, fenología floral, fenología del fruto y dicogamia inter-floral en las poblaciones naturales o cultivadas (JBCVC). Ind = número de individuos; Bot-Fl = número de botones o flores; Fl = número de flores; Fr = número de frutos; Infl = número de inflorescencias.

3.1. FENOLOGÍA ESTACIONAL Y CICLO VITAL

En cada población natural, para la caracterización del ciclo vital y fenología estacional de la floración y fructificación se han aplicado los criterios establecidos en DAFNI (1992) con algunas modificaciones (PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007a). Para ello, después de una serie de observaciones iniciales, se trató de identificar y cuantificar de forma preliminar las distintas fases del ciclo vital de los individuos a lo largo del año, estableciendo porcentajes según el estado de los mismos, de manera que se consideró en cada población:

- Inicio de floración: hasta un 25% de los individuos con flor
- Pico de floración: más de un 50% de los individuos con flor
- Final de floración y principio de fructificación: menos del 10% de los individuos con flor y alrededor del 80% con fruto verde.

A lo largo de todo el año se visitaron las poblaciones naturales realizando observaciones periódicas para detectar inicialmente los periodos anuales de crecimiento vegetativo, floración y fructificación. Las observaciones de las distintas especies y

poblaciones naturales, se realizaron en el periodo comprendido entre los años 1995-2001 (Tabla 1.1 y Anexo1.1).

Se asignó como periodo anual del ciclo vital, el comprendido entre octubre del año en curso y octubre del siguiente año toda vez que se observó inicialmente el comienzo del mismo después de la parada estival. Cuando dos visitas a la población natural tenían una separación entre 7 y 15 días, se utilizó la media de los datos obtenidos. En cada población la recopilación de datos se llevó a cabo en una muestra aproximada de 100 individuos, mediante la valoración directa de cada individuo, teniendo en cuenta que cada uno puede presentar simultáneamente varios estadios fenológicos (yema, flor y fruto verde) de su ciclo vital.

Asimismo se realizaron observaciones y seguimientos en las poblaciones cultivadas en el JBCVC, durante los periodos comprendidos entre 1997–1998 y 1999-2000, teniendo en cuenta los riegos periódicos del Jardín Botánico (realizados cada tres semanas aproximadamente), para posteriormente confrontarlos con las observaciones en las poblaciones naturales mediante una serie de gráficas.

Según DAFNI (1992), los principales parámetros fenológicos: frecuencia de la floración, intensidad, duración, ritmo, secuencia, etc., están determinados por variables ambientales como la pluviometría, temperatura, nubosidad y fotoperiodo.

En Canarias la pluviometría puede ser considerada una de las variables más decisivas e importantes por su irregularidad (VEGA, 1992), razón por la cual se quiso hacer patente la relación directa entre los periodos de floración y de lluvia. Para ello se analizaron conjuntamente en una gráfica de líneas los datos fenológicos de floración, incluyendo en cada pico los frutos recién formados expresados en porcentajes, frente a los datos pluviométricos suministrados por las estaciones meteorológicas más cercanas (EXCEL MICROSOFT OFFICE, 2001). Los datos pluviométricos de los diferentes años y zonas fueron facilitados por el Centro Meteorológico Territorial Canarias Oriental (Agencia Estatal de Meteorología, AEMET).

3.2. FENOLOGÍA FLORAL Y DICOGAMIA

Las observaciones destinadas a los estudios de fenología floral y del fruto se han llevado a cabo fundamentalmente en las zonas experimentales del JBCVC, donde el stock cultivado se mantiene bajo condiciones climáticas, edáficas y de riego iguales para todos los taxones, lo que además de facilitar las observaciones, permite identificar características ecotípicas no fijadas genéticamente.

Con el objetivo de caracterizar los diversos estadios fenológicos, así como su duración, se hicieron observaciones y seguimientos iniciales de la floración y fructificación desde los primeros estadios de yema y botón, hasta el momento en que se produce el marchitamiento y la caída de todos los verticilos excepto del gineceo siguiendo los criterios establecidos en DAFNI (1992) con algunas modificaciones (PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007a). Se ha tenido en cuenta la temperatura ambiente y la presencia de polinizadores, ya que los periodos de *presentación efectiva* del polen probablemente son más cortos y variables en las poblaciones naturales que los periodos potenciales en ausencia de polinizadores (WEBB & LLOYD, 1986; PRESTON, 1991). Por tanto para detectar y diferenciar la fase masculina y femenina de la flor, se ha tenido en cuenta la presencia de polinizadores en el JBCVC, ya que la duración de dichas fases no solo depende de la viabilidad polínica y receptividad

estigámica, sino también de la tasa de disponibilidad de polen que llega a los estigmas para fecundar los óvulos, ambos procesos íntimamente dependientes de la polinización (PRESTON, 1991).

Los muestreos se centraron en la recolección de yemas, botones, flores jóvenes, maduras, marchitas, frutos verdes, maduros y semillas, tanto en individuos de las poblaciones naturales como en los cultivados del JBCVC. Las yemas y flores recolectadas en diferentes estadios se fijaron en FAA (alcohol absoluto: formaldehído: ácido acético glacial, 8:1:1) y se almacenaron posteriormente en alcohol 70% después de 72 horas (DAFNI, 1992).

Los distintos estadios observados previamente *in vivo*, estadios *preliminares*, se confrontan posteriormente en el laboratorio. Para todas las observaciones, a excepción de las pruebas de receptividad estigámica, se ha utilizado un estereomicroscopio Olympus SZ-CTV con luz fría, realizando fotografías con una cámara digital Olympus DP10.

3.2.1. Fases del ciclo floral y selección de los marcadores morfológicos externos

Para las observaciones y seguimientos *in vivo* del ciclo floral de los individuos cultivados en el JBCVC, se marcaron 25 flores en estado de botón en cinco individuos de cada población. Cada cierto tiempo, entre 4-6 horas, a lo largo de todo el día y durante varios días, se tomaron datos del desarrollo de la flor, según los cambios de longitud, disposición y color de todos los verticilos y relación entre ellos, perfilando y determinando como punto de partida, unos “estadios florales preliminares” según características o marcadores fenológicos externos de los botones y flores.

Al mismo tiempo se tuvieron en cuenta los cambios de las variables ambientales principalmente de temperatura (tomando datos de las T^a diurnas máximas y mínimas durante los días de observación del ciclo floral), nubosidad y pluviometría. Factores bióticos como la afluencia de visitantes florales como abejas, moscas, escarabajos, mariposas, etc., se han tenido en cuenta pero no se han evaluado cualitativamente, así como la presencia de ligeros perfumes en las flores jóvenes que se abren.

3.2.2. Detección de la dicogamia o separación temporal de la fase masculina y femenina

En el laboratorio, bajo una lupa o estereomicroscopio, se han realizado diferentes tipos de observaciones y fotografías de la flor sobre papel milimetrado según los distintos “estadios preliminares” de su desarrollo y según sus diferentes verticilos en posiciones lateral y frontal y a distintos aumentos (0.4x, 0.6x, 1x, 2x).

Para determinar la separación temporal de la fase masculina y femenina, se observa el desarrollo y crecimiento del androceo en relación al gineceo y simultáneamente, localizando y detectando la dehiscencia de las anteras como signo de madurez del androceo y posteriormente la receptividad estigámica como indicador de la madurez del gineceo.

3.2.2.1. Dehiscencia de anteras. Detección y localización

Se realizan observaciones bajo lupa de anteras procedentes de una media de 128 botones y flores por especie donde PGB tiene un muestreo de 277, PF de 36, POA de 43, PO de 280, PP de 165, PI de 71, PS de 69 y PA de 82 (Tabla 1.1 y Anexo1.2). Se ha comenzado por botones tempranos con anteras indehiscentes, evaluando el proceso desde

que aparecen los primeros síntomas de línea de dehiscencia en cada teca, hasta identificar el momento de total dehiscencia en anteras abiertas con polen expuesto.

3.2.2.2. *Receptividad estigmática. Detección y localización*

Las observaciones se realizan en un Microscopio Zeiss Universal con fluorescencia, realizando fotografías a 2.5x y 10x de gineceos en una media de 23 flores por especie donde PGB tiene un muestreo de 29, PF de 21, POA de 26, PO de 51, PP de 19, PI de 19, PS de 13 y PA de 8 (Tabla 1.1 y Anexo1.2).

Se ha elegido la presencia de “tubos polínicos” en el estilo, como la técnica más adecuada y segura, ya que presupone y garantiza la detección del inicio de la receptividad estigmática y que se fundamenta en la tinción de los acúmulos de callosa que se forman periódicamente a lo largo de los tubos polínicos (KEARNS & INOUYE, 1993). Esta tinción de tubos polínicos se realiza según el protocolo de Martin en DAFNI (1992) y KEARNS & INOUYE (1993) con ligeras modificaciones, empleando Methyl blue en solución acuosa al 0.1% mezclado con K_3PO_4 0.1M de pH 8 ó 9, que bajo el microscopio con luz ultravioleta ilumina con un color amarillo brillante o amarillo-verdoso fluorescente, tanto los acúmulos de callosa como las paredes de los tubos polínicos (DAFNI, 1992).

El inicio de receptividad se determinó, partiendo desde los estadíos más avanzados de la flor, donde se asegura una gran cantidad de tubos polínicos a lo largo de todo el gineceo, retrocediendo en la observación hasta los estadíos más tempranos, con notable decrecimiento de tubos polínicos (número y desarrollo que apenas alcanzan el estilo) y que indican el comienzo del proceso de maduración del gineceo y por tanto el inicio de la fase femenina de la flor.

La dicogamia o desfase entre el desarrollo del androceo (fase masculina) respecto al desarrollo y madurez del gineceo (fase femenina) de las distintas especies del género, se representó en una serie de gráficas de líneas que expresan los porcentajes de dehiscencia y de receptividad estigmática según los diferentes estadíos (EXCEL MICROSOFT OFFICE, 2001).

3.2.3. **Detección de hercogamia o separación espacial del androceo y gineceo**

Se observó la proximidad o posición del androceo en relación al gineceo durante el desarrollo y crecimiento de ambos, en una media de 316 flores por especie, procedentes tanto de las poblaciones naturales como de las cultivadas, donde PG tiene un muestreo de 476 flores, PF de 297, POA de 156, PO de 752, PP de 376, PI de 162, PS de 133 y PA de 180 (Tabla 1.1 y Anexo 1.2) diferenciando los estambres largos o medios de los cortos o laterales. Tomando como punto de partida el índice de hercogamia de Robertson & Lloyd definido como la diferencia entre la altura del estigma (S) y el ápice de las anteras (A) donde $S-A < 0$ indicaría la posibilidad de auto-polinización siempre que el estigma fuera receptivo y las especies auto-compatibles y $S-A > 0$ indicaría la imposibilidad de auto-polinización (MORET *et al.*, 1992 y 1993).

Se ha reflejado en todas las especies la posición más frecuente del estigma en relación a las anteras medias (A) y laterales (a) según su situación en relación a la altura de la base de las anteras, mitad o ápice (Fig. 1.4c y Tablas 1.10-1.11 de porcentajes según la posición del estigma). En las especies PG y PP se ha evaluado en cada estadío, el crecimiento del gineceo y androceo (filamentos estaminales) según la longitud de los mismos (mm) que además se representa en una gráfica de líneas y en un dibujo esquemático.

Por último, para caracterizar los estadios definitivos del desarrollo de la flor, se confrontan los datos o marcadores externos de los “estadios fenológicos preliminares” observados *in vivo*, con los cambios internos de la flor observados en el laboratorio para la detección de la dicogamia, hercogamia y otros cambios. Asimismo se representa gráficamente en una escala de tiempo, la dicogamia y longevidad de la flor o duración del desarrollo y maduración según los distintos estadios florales.

3.3. FENOLOGÍA DEL FRUTO

Posteriormente se llevan a cabo las observaciones de la formación y desarrollo del fruto y semillas, empleando algunos de los criterios de RICHARDS (1986 y 1997), DAFNI (1992) y KEARNS & INOUE (1993) con modificaciones (PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007a).

En las mismas flores donde se llevó a cabo la observación del desarrollo fenológico de la flor, se realizó el seguimiento de la formación de frutos, desde que las flores pierden sus verticilos más externos (cáliz, corola y androceo) con crecimiento de los gineceos fecundados, hasta que se culmina el proceso de maduración y dispersión de las semillas.

El seguimiento y la toma de datos se realizaron periódicamente cada 24 horas en los individuos cultivados durante los primeros 15 días, y posteriormente se limitó a una vez por semana.

La madurez de los frutos y estadios asociados, se fueron perfilando mediante el seguimiento de los cambios morfológicos del desarrollo, teniendo en cuenta la longitud total de las valvas, longitud de las astas o cuernos, relación estigma/asta, pérdida de tomento y color de las valvas. Se tomaron fotografías de los detalles y estadios del fruto sobre papel milimetrado en visión lateral y frontal a distintos aumentos (0.16x, 0.75x, 1x). Los datos biométricos se tomaron en una media de 52 frutos por especie donde PG tiene un muestreo de 46 frutos, PF de 101, POA de 21, PO de 75, PP de 34, PI de 34, PS de 55 y PA de 49 (Tabla 1.1 y Anexo1.2).

La duración del desarrollo y maduración del fruto según los distintos estadios se representa gráficamente en una escala de tiempo.

3.4. INFLORESCENCIA. FENOLOGÍA Y DICOGAMIA

Con el objetivo de estudiar el desarrollo y estructura de la inflorescencia, el seguimiento fenológico de la misma, dicogamia inter-floral así como la oferta floral o flores abiertas por inflorescencia en un día concreto se tuvieron en cuenta los criterios y recomendaciones de DAFNI (1992) y BARRETT, HARDER & COLE (1994) con algunas modificaciones (PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007a). Las observaciones se llevaron a cabo en los mismos individuos donde se realizó el seguimiento estacional durante el periodo comprendido entre 1999-2001, realizándose distintas tomas de datos a lo largo de dicho periodo (Anexo1.3). Se muestrearon entre 83 y 149 individuos y de 346 a 732 inflorescencias (PP y PO) en las poblaciones naturales y de 8 (PS) a 16 (PI) individuos y 32 a 165 (PS y PO) inflorescencias en los individuos cultivados del JBCVC (Tabla 1.1 y Anexo1.3).

El seguimiento se llevó a cabo adaptando las recomendaciones de los autores citados a las exigencias del género *Parolinia*, aumentando el número de observaciones fenológicas de la flor y el fruto durante los dos periodos de floración del ciclo vital (1^{er} y 2^o Pico de

Floración), registrándose para cada inflorescencia: el número de yemas y botones (estadios E0-E2), número de flores abiertas jóvenes (E3-E4), maduras (E5-E6), marchitas (E7), número de gineceos en fructificación (E8-E10), número de frutos verdes (E11), número de frutos maduros (E12); asimismo, se contabilizó el número de yemas abortadas, número de gineceos abortados y número de cicatrices, cuyo objetivo por su incidencia en cuestiones de auto-incompatibilidad y éxito reproductivo del individuo o planta se detallará en el capítulo siguiente de Sistemas de Cruzamiento y Éxito reproductivo.

Como en el momento de llevar a cabo la oferta floral se disponía de los conocimientos necesarios sobre la fenología floral de los taxones y ya se había detectado la dicogamia, se pudo estimar el número de flores suministradoras de polen (fase masculina), frente al número de flores (en fase femenina) con estigmas receptivos.

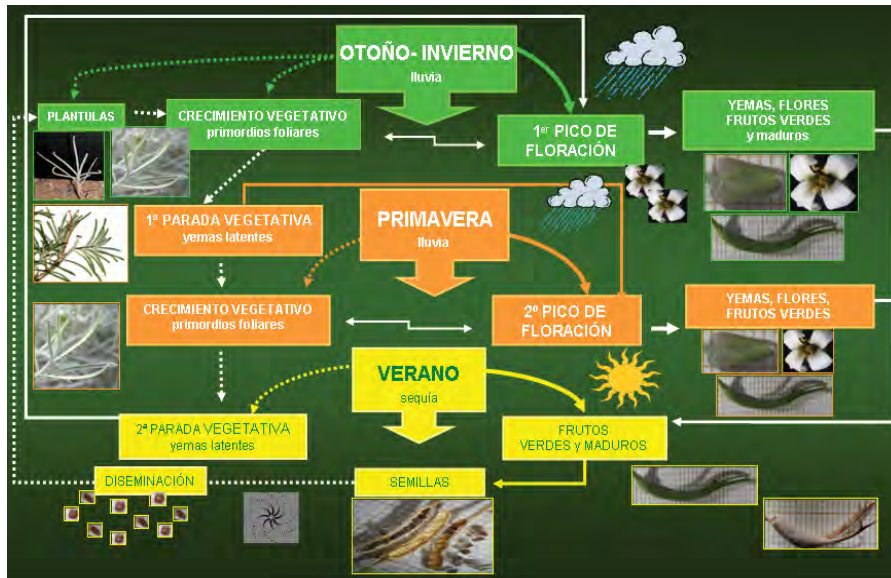
Asimismo, se ha tenido en cuenta las observaciones de PRESTON (1991) en un género de Brassicaceae con poblaciones dicógamas donde, en el pico de floración, el ratio del número de flores en fase masculina con respecto al número en fase femenina es proporcional a las duraciones relativas de ambas fases.

Se han calculado los estadísticos descriptivos para cada parámetro estudiado por visita, por pico de floración y global para cada población, distinguiendo en todos los casos la población natural y cultivada.

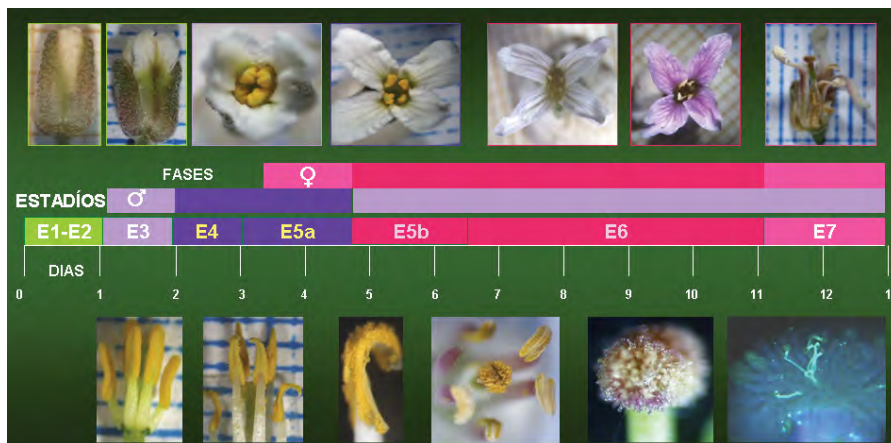
En cada población se representa gráficamente mediante *diagramas de cajas* o test gráfico de Simpson & Roe (VAN DER PLUYM & HIDEUX, 1977; DYTHAM, 2003) la dicogamia intra-floral en una inflorescencia, diferenciando las distintas fases: yemas (E0-E2), flores en fase masculina (E3-E4), flores en fase femenina (E5-E6), flores marchitas (E7) y gineceos en fructificación y frutos verdes (E8-E11). Asimismo, se representa también en un *diagrama de cajas* la oferta floral de una inflorescencia o número total de flores disponibles (E3-E6) en un día concreto en las poblaciones analizadas. Para este análisis se ha utilizado el programa STATISTICA (1996).

Se realizó un test no paramétrico de Kruskal-Wallis (comparación de k-muestras) y las comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Dunn para determinar las diferencias significativas de la oferta floral de la inflorescencia o número total de flores disponibles (E3-E6) entre las poblaciones. Dado que no se dispone de observaciones de ambos picos de floración en todas las poblaciones, los datos del 1^{er} y 2^o Pico de Floración han sido analizados conjuntamente. Estos análisis se han llevado a cabo con el programa XLSTAT (2008).





CAPÍTULO I



Resultados

4. RESULTADOS

4.1. FENOLOGÍA ESTACIONAL Y CICLO VITAL

Las observaciones que permitieron detectar las peculiaridades del género llevaron a la identificación de las fases o estadios del ciclo vital pudiendo decir que las especies de *Parolinia*, presentan “dos periodos de floración” y fructificación durante el año y “dos paradas vegetativas” íntimamente relacionados con los regímenes de lluvias (Anexo 1.1 datos originales y Figs.1.5-1.7):

1. Con las primeras lluvias de otoño se inician los primeros *primordios foliares* que pueden rodear a nuevas yemas florales *activas* (Figs.1.1a, b) que se desarrollan simultáneamente. Al mismo tiempo se activan unas yemas minúsculas procedentes de la floración anterior pero que han detenido su desarrollo en el periodo estival de parada vegetativa y que se han denominado *yemas latentes* (Fig.1.1c).



Figura 1.1.- Fenología estacional. Yemas activas en PFA y PGB respectivamente (a, b) y yemas latentes (flecha) en PGB (c).

Ambas yemas dan lugar a las primeras flores agrupadas en pequeñas inflorescencias que se desarrollan de forma ascendente o acrópeta (Figs.1.2a, 1.3a, b, 1.64 y 1.68-1.79).

En la base de las pequeñas inflorescencias, surgen los primordios foliares responsables del *crecimiento vegetativo* de las ramas (Figs.1.1 y 1.68-1.79). Es a partir de este momento, cuando se originan también nuevas ramas (Fig.1.1c y 1.3a), que paulatinamente se van desarrollando en la base de las infrutescencias y sucesivas inflorescencias, que comienzan a declinar hacia finales del invierno. Todas las especies pueden presentar también frutos maduros procedentes de floraciones anteriores que persisten sin diseminar (Figs.1.3a y 1.5).

Comienza así de forma simultánea el ciclo vegetativo y reproductivo, que alcanza el **primer pico de floración** hacia principios del invierno, dependiendo del régimen de lluvias (Fig.1.5 Esquema fenología estacional).

2. Con la culminación de la primera floración aparece la primera parada vegetativa y el desarrollo de los primeros frutos (Figs.1.2a, 1.3a, c, 1.5 y 1.64).

3. Con las lluvias de finales de invierno y/o principio de primavera se produce un **segundo pico de floración**, generalmente menos intenso, con menor número de individuos y de menor duración que el primero, que se justifica porque también en este periodo las

lluvias son habitualmente menos intensas aunque hayan excepciones como el año 2001 en PGB, PPG y POA (Figs.1.4-1.7).

En este segundo pico se vuelven a activar las *yemas latentes* de la floración anterior, se originan algunas *yemas activas* y ambas se desarrollan hasta la formación de nuevas flores, produciéndose de nuevo de forma simultánea otro *crecimiento vegetativo*, también menos intenso (Fig.1.5).



Figura 1.2.- Fenología estacional. Inflorescencia acrópeta de PGB (a) mostrando flores del mismo color y fruto temprano (flecha). Detalles de una flor de PPG (b) mostrando internamente el androceo y gineceo. Antera (c) en la que se señala la base (b) zona media (m) y ápice (a).

Se observa también la formación de nuevos frutos en estadios tempranos de desarrollo (E8-E10) que apenas sobrepasan los 15 días de flor (como se verá en el Apartado 4.3 de este capítulo) y la maduración de frutos de la floración anterior generalmente en un estadio mucho más avanzado de desarrollo E11 (Figs.1.57-1.63).



Figura 1.3.- Fenología estacional. Ramas nuevas (a) con inflorescencia (flecha verde) e infrutescencia con frutos latentes (flecha roja). Inflorescencia acrópeta (b) con flores basales que intensifican su color (fase femenina) y apicales más pálidas (fase masculina). Infrutescencia (c) con frutos basales ya diseminados mostrando replos (flecha), frutos inmaduros y flores marchitas en el ápice.

4. Con la culminación de esta segunda floración aparece la *segunda parada vegetativa* que tiene lugar durante el periodo estival y es cuando se produce la *dispersión* o diseminación de los frutos y semillas (permaneciendo solo los replos o tabiques centrales de las silicuas) formadas durante la primera floración, ya que los frutos de esta segunda están todavía inmaduros (Figs.1.3 a, c, y 1.5). La *parada vegetativa estival* (Fig.1.4) concluye con

las nuevas lluvias del otoño siguiente, momento de la culminación del ciclo pues se produce germinación de semillas, emergencia y establecimiento de plántulas y el comienzo de un nuevo ciclo anual (Fig.1.5).

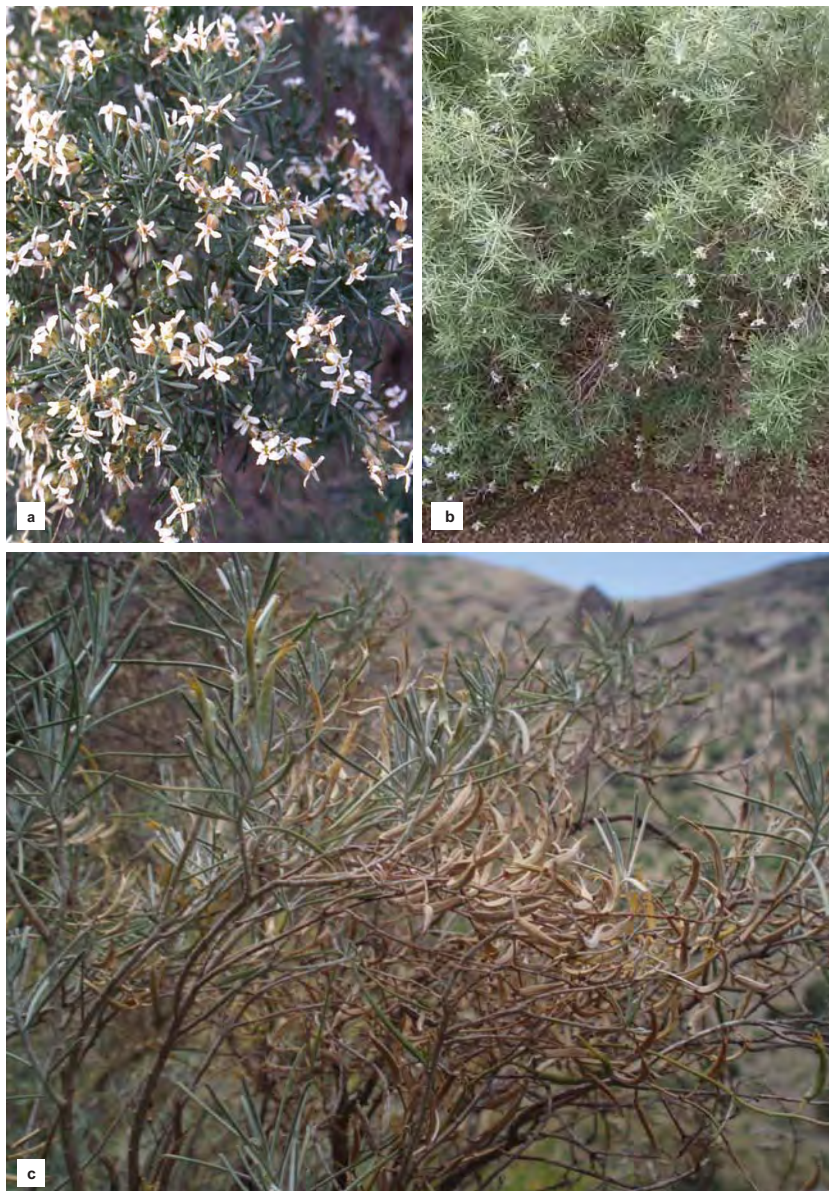


Figura 1.4.- Fenología estacional de *P. glabriuscula* (PGB). Individuos con flores en el primer pico de floración (a) y en el segundo (b). Individuo con frutos verdes y maduros en parada estival (c).

En resumen:

Las especies de *Parolinia* presentan dos periodos de floración (con pequeñas inflorescencias en racimo de desarrollo ascendente o acrópeto) y fructificación durante el año con dos paradas vegetativas (Figs.1.4 y 1.5).

1º) Se define como *parada vegetativa* al periodo del ciclo vital donde los individuos sólo presentan frutos verdes, maduros (Fig.1.4c) y/o restos de frutos ya diseminados mostrando sólo replos que pueden coexistir con *yemas latentes* pero no presentan primordios foliares, ni yemas activas, ni flores.

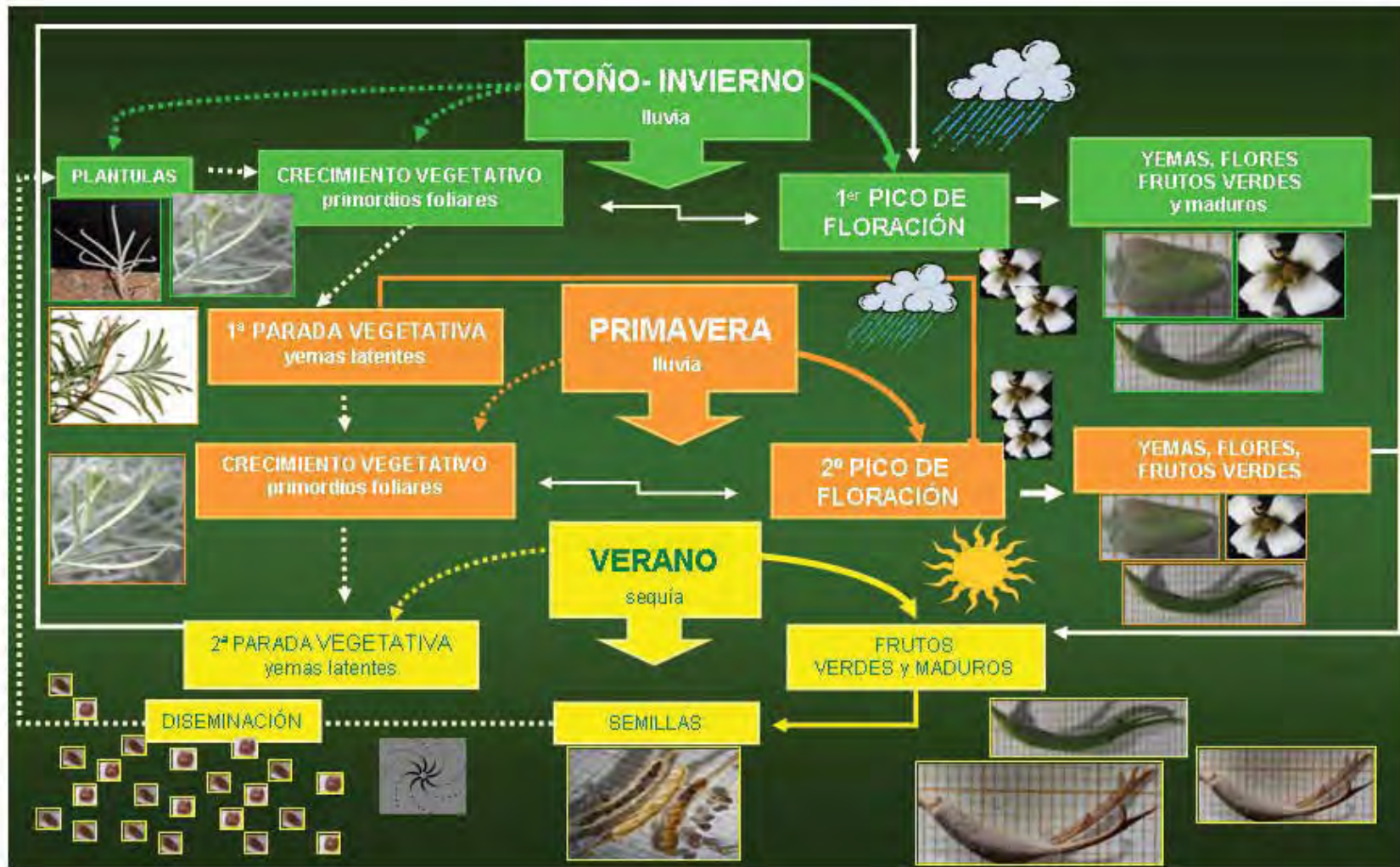


Figura 1.5.- Fenología estacional y ciclo vital de *Parolinia*: periodos de floración, fructificación y parada vegetativa.

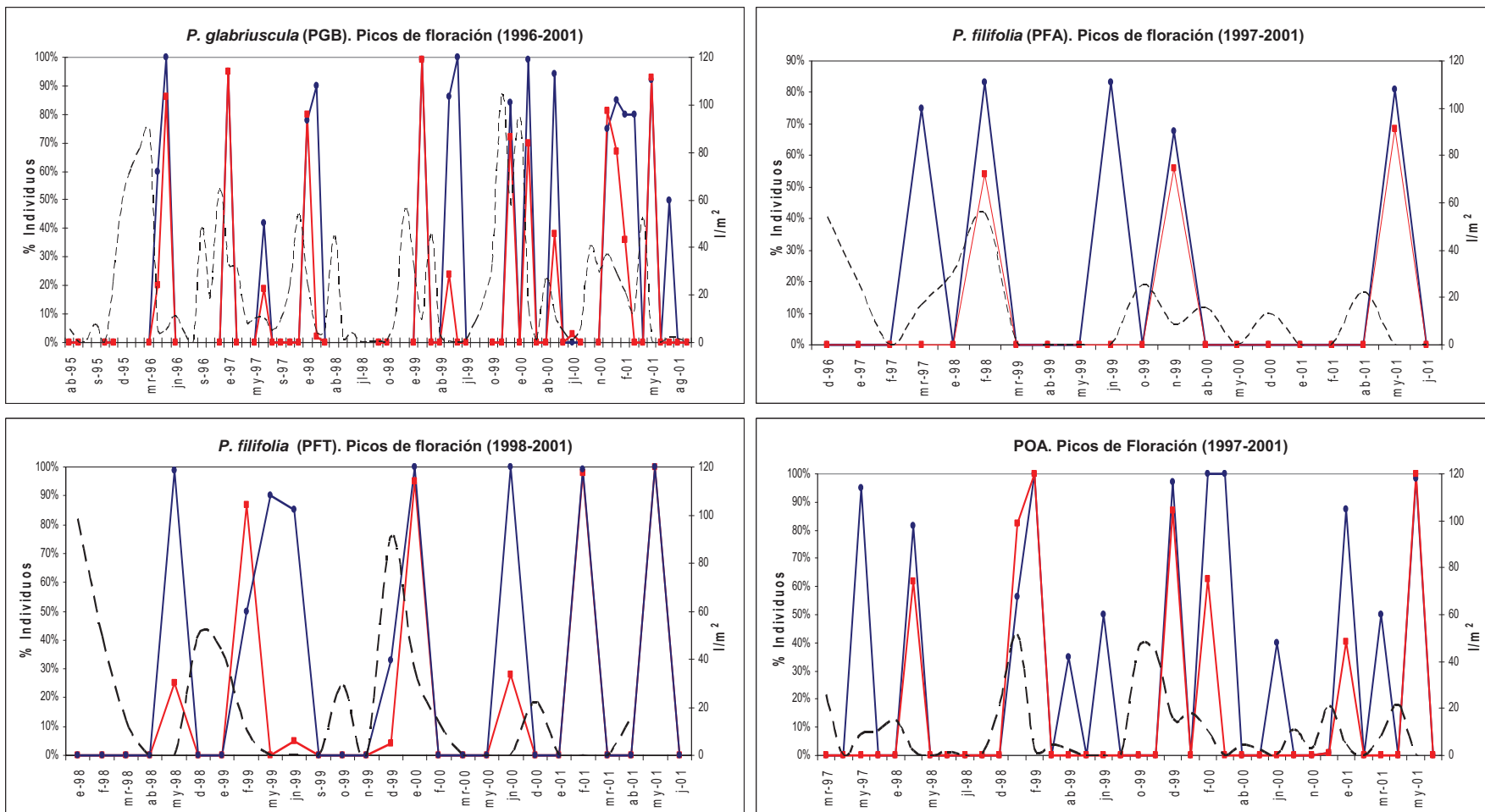


Figura 1.6a.- Fenología estacional y picos de floración de varios ciclos anuales en las poblaciones naturales. Las líneas continuas de color corresponden a los datos de flor y fruto verde y la línea discontinua a los datos pluviométricos de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET).

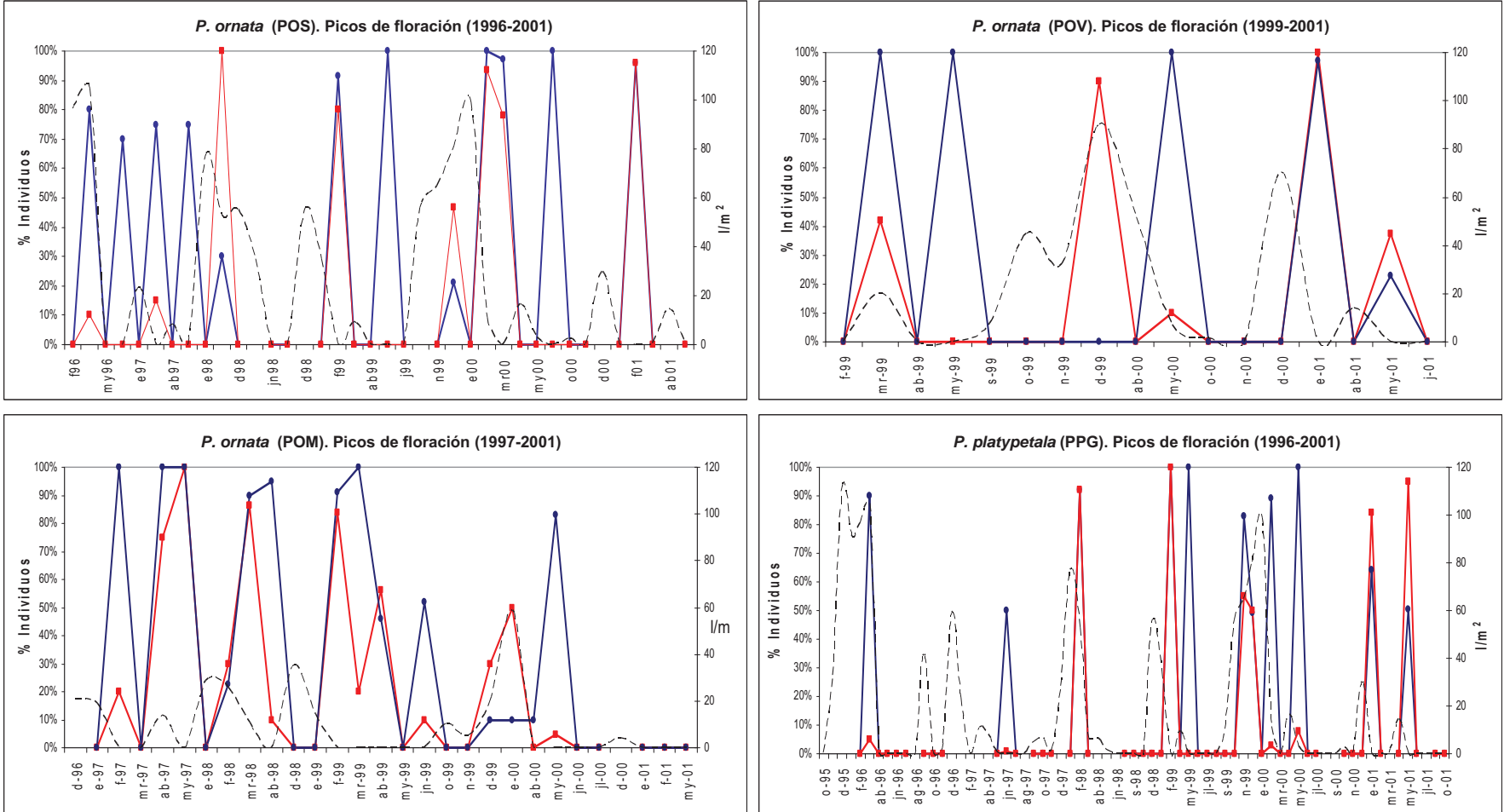


Figura 1.6b.- Fenología estacional y picos de floración de varios ciclos anuales en las poblaciones naturales. Las líneas continuas de color corresponden a los datos de flor y fruto verde y la línea discontinua a los datos pluviométricos de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET).

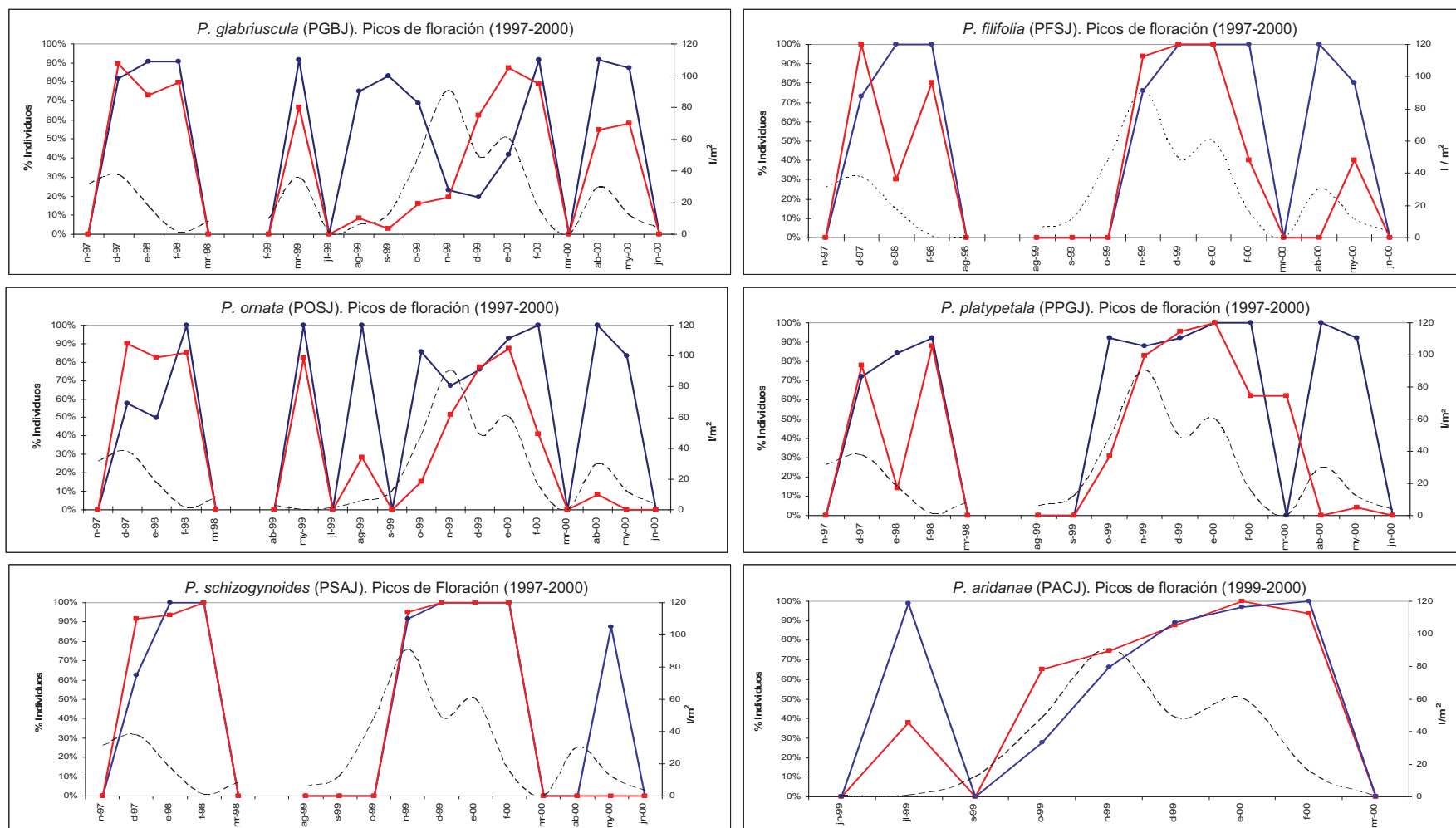


Figura 1.7.- Fenología estacional y picos de floración en varios ciclos anuales en las poblaciones cultivadas en JBCVC. Las líneas continuas de color corresponden a los datos de flor y fruto verde y la línea discontinua a los datos pluviométricos de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET).

2º) Durante los periodos de parada vegetativa, las especies pueden presentar yemas minúsculas inactivas que se han denominado *yemas latentes* y que pueden continuar su desarrollo con las siguientes lluvias del nuevo ciclo (Fig.1.1c).

3º) En el primer *pico de floración* generalmente más intenso (Fig.1.4), las especies además de presentar yemas, flores y frutos verdes, pueden presentar frutos maduros más o menos lignificados procedentes de floraciones anteriores que persisten sin diseminar.

4º) El *crecimiento vegetativo* se produce casi simultáneamente con el *periodo reproductivo* de manera que los individuos pueden presentar *primordios foliares* que coexisten con yemas activas, flores, frutos verdes y maduros.

4.2. FENOLOGÍA FLORAL Y DICOGAMIA

Como resultado de unas primeras observaciones *in vivo* durante el desarrollo de la flor, se obtuvieron los primeros marcadores externos de referencia o “estadios preliminares” referidos a una serie de cambios morfológicos de los verticilos externos tomando al mismo tiempo datos de variables climáticas de temperatura y pluviometría. Posteriormente en el laboratorio, con el seguimiento y observación de los cambios internos en cada uno de los verticilos florales y detección de la dicogamia, se han establecido y caracterizado los “ocho estadios fenológicos definitivos” (Anexo 1.2 de datos originales). Las características que definen cada estadio y su duración aproximada, se detallan a continuación:

4.2.1. Estadio 0. Yema

Las características que definen el Estadio 0 en cada taxon se muestran en las Figs.1.8-1.11 y Tabla 1.2.

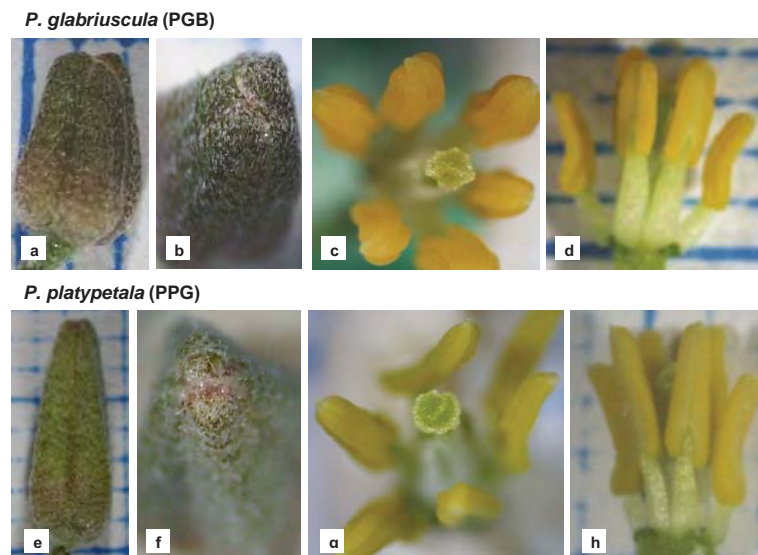


Figura 1.8.- ESTADÍO 0: YEMA. Fenología floral en *P. glabriuscula* y *P. platypetala*. Yema floral sin pétalos visibles (a, b, e, f). Androceo con anteras sin dehiscencia, filamento estaminal y gineceo poco desarrollado o inmaduro (c, d, g, h).

Se considera como punto de partida las yemas que alcanzan la talla de botón, en las que todavía no se vislumbran pétalos visibles. En el interior, el androceo presenta

estambres con el filamento verde apenas desarrollado y con las anteras aparentemente maduras pero todavía cerradas de longitud generalmente superior a su filamento estaminal a excepción de las anteras medias en PGB y PAC que lo igualan ($A=F$) y en PFA y PSA ($A \leq F$) donde son inferiores (Tabla 1.2).

E0: YEMA CON TALLA DE BOTÓN SIN PÉTALOS VISIBLES							
POB	ANDROCEO			GINECEO			Duración (días)
	Relación antera / filamento	Filamentos color	Anteras dehiscencia	longitud / color	Relación estigma/ androceo (A, a)	Estigma receptividad	
PGB	$A = F$ $a > F$	verde	0%	poco desarrollado verde	$92\% \geq A$ (m) $77\% \geq a$ (m)	0%	1 -2 según talla
PFA	$A \leq F$ $a > F$	verde	0%	poco desarrollado verde	$100\% = A$ (m) $100\% = a$ (m)	0%	1 -2 según talla
PFT	$A > 2F$ $a > 2F$	verde	0%	poco desarrollado verde	$100\% = A$ (m) $83\% \geq a$ (m)	0%	1 -2 según talla
POA	$A \geq F$ $a > F$	verdoso	0%	poco desarrollado verde	$100\% = A$ (m) $25\% = a$ (ap)	0%	1 -2 según talla
POS	$A > F$ $a > F$	verdoso	0%	poco desarrollado verde	$96\% = A$ (m) $93\% \geq a$ (m)	0%	1 -2 según talla
POV	$A \geq F$ $a > F$	verde	0%	poco desarrollado verde	$100\% = A$ (m) $100\% = a$ (m)	0%	1 -2 según talla
POM	$A > F$ $a > F$	verde	0%	poco desarrollado verde	$100\% = A$ (b) $100\% = a$ (m)	0%	1 -2 según talla
PPG	$A > F$ $a > F$	verde	0%	poco desarrollado verde	$100\% = A$ (ap) $50\% = a$ (ap)	0%	1 -2 según talla
PIT	$A \geq F$ $a > F$	verde	0%	poco desarrollado verde	$100\% = A$ (ap) $50\% = a$ (ap)	0%	1 -2 según talla
PIA	$A \geq F$ $a > F$	verde	0%	poco desarrollado verde	$100\% = A$ (m) $100\% = a$ (m)	0%	1 -2 según talla
PSA	$A < F$ $a > F$	verde	0%	poco desarrollado verde	$100\% \geq A$ (b) $64\% \geq a$ (m)	0%	1 -2 según talla
PAC	$A = F$ $a > F$	verde	0%	poco desarrollado verde	$100\% = A$ (m) $100\% \geq a$ (m)	0%	1 -2 según talla

Tabla 1.2.- Fenología floral Estadio 0: YEMA CON TALLA DE BOTÓN SIN PÉTALOS VISIBLES. A= estambres medios o largos; a= anteras estambres laterales o cortos; F= filamentos estaminales. Base de las anteras (b), mitad (m) y ápice (ap).

Asimismo el gineceo se observa todavía poco desarrollado e inmaduro en todas las especies y situado por encima de la mitad de la antera corta y en la mitad de la larga, excepto en PPG y PIT (Tablas 1.10-1.11).

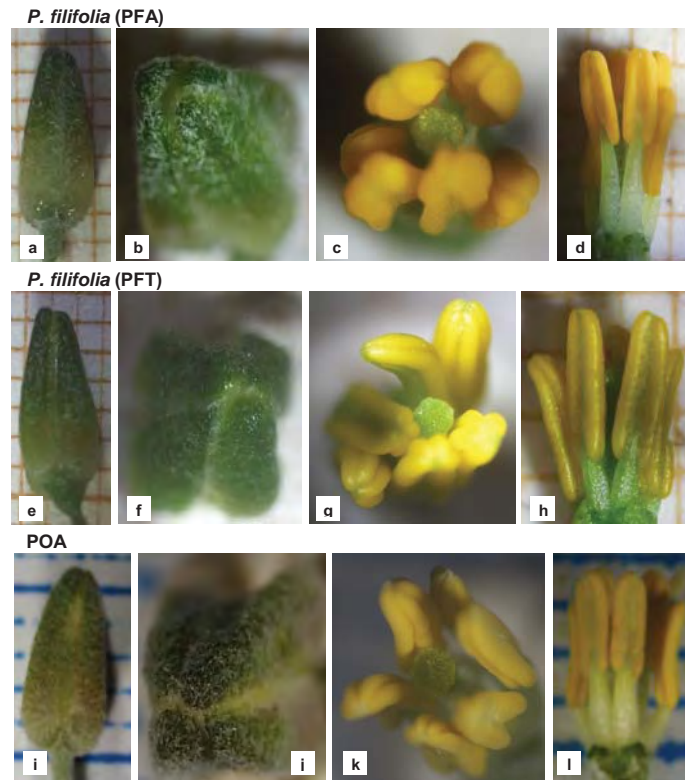


Figura 1.9.- ESTADÍO 0: YEMA. Fenología floral en *P. filifolia* y POA. Yema floral sin pétalos visibles (a, b, e, f, i, j). Androceo con anteras sin dehiscencia, filamento estaminal y gineceo poco desarrollado o inmaduro (c, d, g, h, k, l).

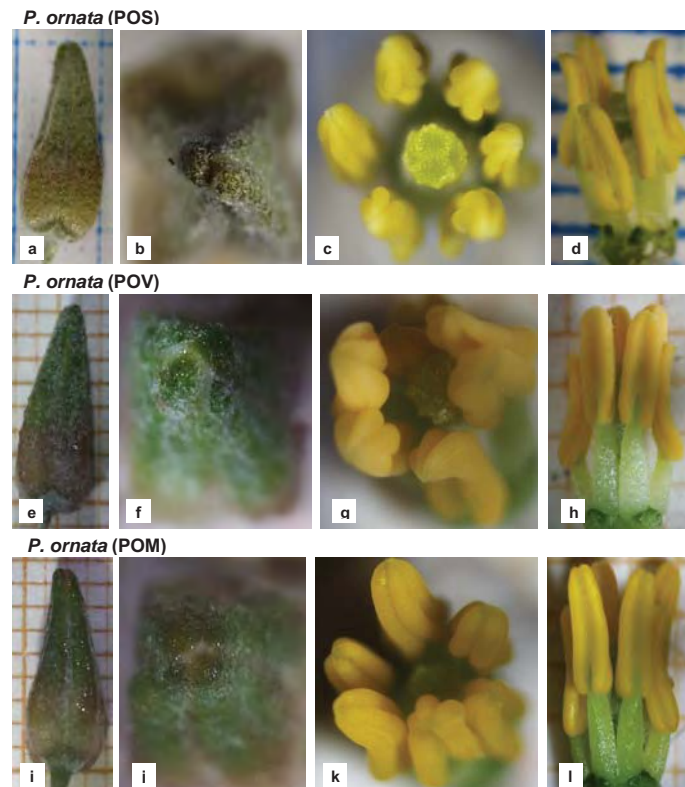


Figura 1.10.- ESTADÍO 0: YEMA. Fenología floral en *P. ornata*. Yema floral sin pétalos visibles (a, b, e, f, i, j). Androceo con anteras sin dehiscencia, filamento estaminal y gineceo poco desarrollado o inmaduro (c, d, g, h, k, l).

El tránsito al siguiente estadio puede presentar una duración variable, de 1-2 días según la talla de las yemas elegidas inicialmente (Tabla 1.2).

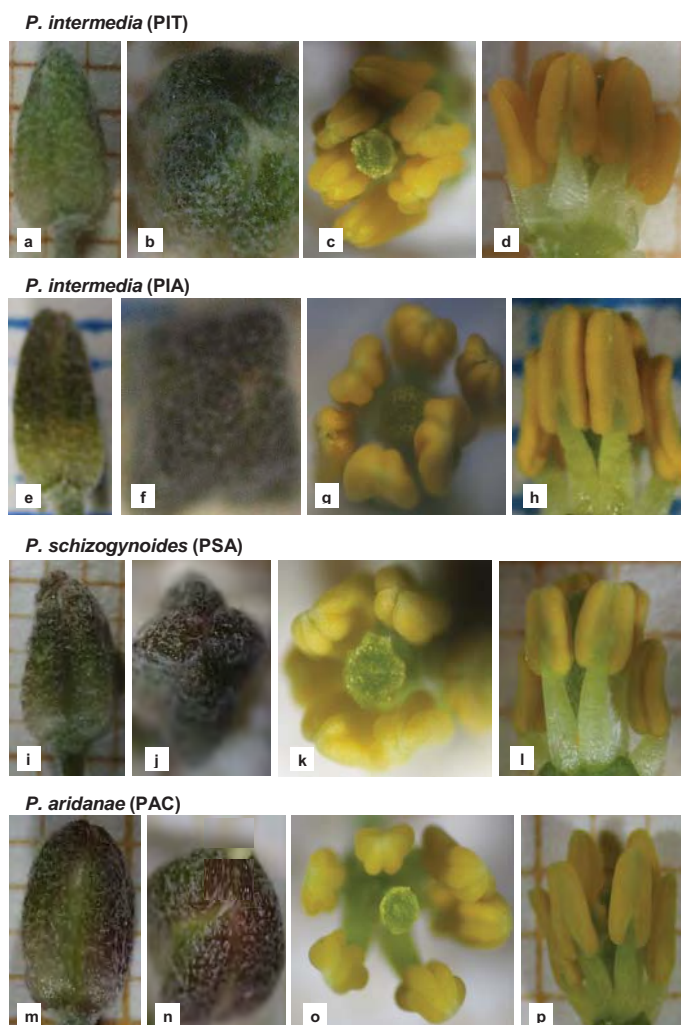


Figura 1.11.- ESTADÍO 0: YEMA. Fenología floral en *P. intermedia*, *P. schizogynoides* y *P. aridanae*. Yema floral sin pétalos visibles (a, b, e, f, i, j, m, n). Androceo con anteras sin dehiscencia, filamento estaminal y gineceo poco desarrollado o inmaduro (c, d, g, h, k, l, o, p).

4.2.2. Estadio 1. Botón cerrado

Las características que definen el Estadio 1 en cada taxon se muestran en las Figs.1.12-1.15 y Tabla 1.3.

Botones que pueden alcanzar un tamaño de 3-6 mm en *P. glabriuscula* (PG), 5-7 en *P. filifolia* (PF), 5-6 en POA, 7-10 en *P. ornata* (PO), 5-8 en *P. platypetala* (PP), 4-5 en *P. intermedia* (PI), 3-4.5 en *P. schizogynoides* (PS) y 4-5 en *P. aridanae* (PA).

Los sépalos se separan por el ápice y/o lateralmente dejando ver los pétalos, que pueden sobrepasar al cáliz en algún mm, pero todavía no presentan ningún orificio.

4.2.2.1. Androceo E1

En el interior, el androceo que sigue creciendo ligeramente, se encuentra más desarrollado que el gineceo, las anteras laterales o cortas tienen una longitud generalmente mayor o igual

a su filamento estaminal y las anteras medias pueden tanto superarlo como ser inferior (Tabla 1.3). Las anteras ya pueden presentar alguna línea de dehiscencia.

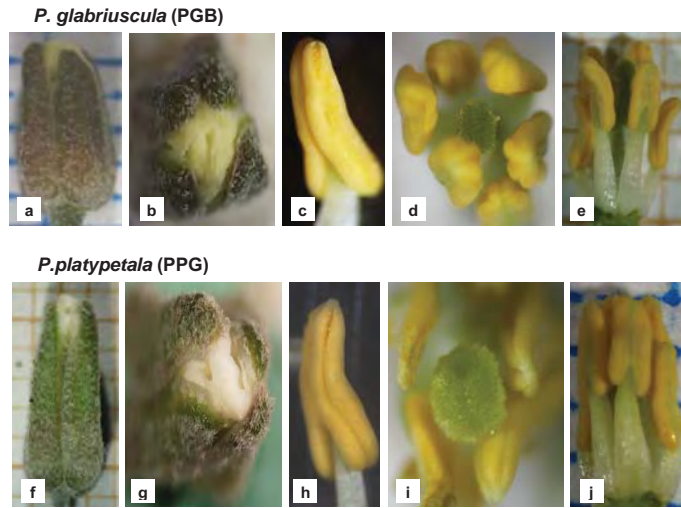


Figura 1.12.- ESTADÍO 1: BOTÓN CERRADO. Fenología floral en *P. glabriuscula* y *P. platypetala*. Pétalos visibles en el ápice y/o lateralmente (a, b, f, g). Androceo con estambres más desarrollados (d, e, i, j) y anteras algunas con línea de dehiscencia (c, h). Gineceo todavía inmaduro pero ligeramente más largo (d, e, i, j).

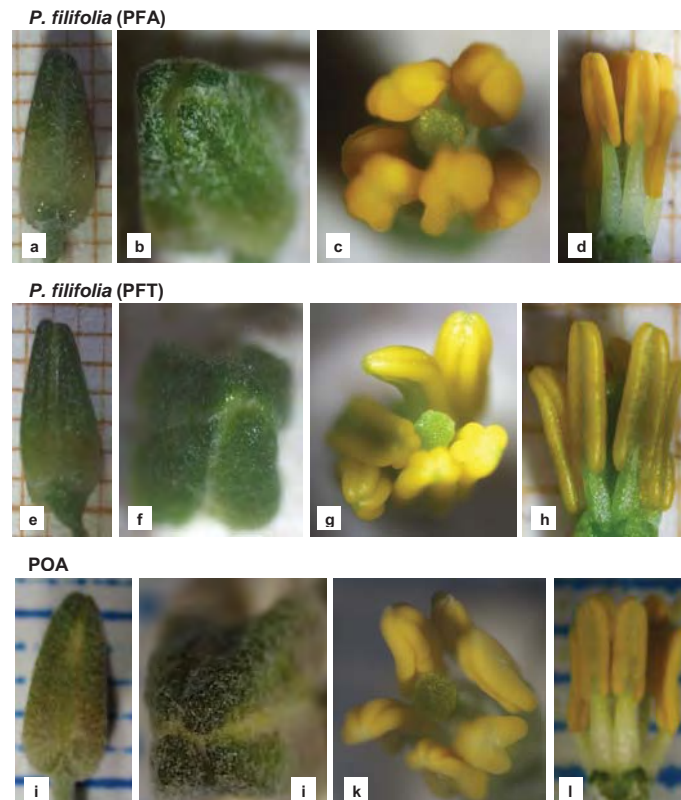


Figura 1.13.- ESTADÍO 1: BOTÓN CERRADO. Fenología floral en *P. filifolia* y POA. Pétalos visibles en el ápice y/o lateralmente (a, b, f, g, k, l). Androceo con estambres más desarrollados (d, e, i, j, n, o) y algunas anteras con línea de dehiscencia (d, h m). Gineceo todavía inmaduro pero ligeramente más largo (d, e, i, j, n, o).

E1: BOTÓN CERRADO CON PÉTALOS VISIBLES EN EL ÁPICE y/o LATERALMENTE									
POB	CARACTERES EXTERNOS	ANDROCEO			GINECEO			% Flores con néctar	Duración (horas)
	Sépalos longitud (mm) y separación	Relación Antera Filamento	Filamentos/ crecimiento y color	Anteras línea dehiscencia	crecimiento y color	Relación estigma/ androceo (A, a)	Estigma receptividad		
PGB	3 - 6 inicio lateral	$A < F$ $a > F$	↑ verdoso	A = 19% a = 11%	↑ verde	96% \geq A (b) 56% \geq a (m)	0%	34%	≈ 8-12
PFA	5 - 7	$A \leq F$ $a > F$	↑ verdoso	0%	↑ verde	92% \leq A (m) 100% \geq a (m)	0%	—	≈ 8-12
PFT	5 - 7	$A \geq F$ $a > F$	↑ verdoso	0%	↑ verde	100% = A (m) 60% = a (ap)	0%	—	≈ 8-12
POA	5 - 6 inicio lateral	$A \leq F$ $a > F$	↑ verdoso	A = 13% a = 7%	↑ verde	93% \leq A (m) 50% \geq a (m)	0%	73%	≈ 8-12
POS	8 - 10	$A \geq F$ $a > F$	↑ verdoso	A = 43% a = 38%	↑ verde	88% \leq A (m) 80% \leq a (ap)	0%	26%	≈ 8-12
POV	7 - 10	$A \geq F$ $a > F$	↑ verdoso	A = 25% a = 44%	↑ verde	88% = A (b) 100% = a (m)	0%	—	≈ 8-12
POM	7 - 10	$A \geq F$ $a > F$	↑ verdoso	A = 19% a = 19%	↑ verde	88% \leq A (m) 88% = a (m)	0%	—	≈ 8-12
PPG	5 - 8	$A \geq F$ $a > F$	↑ verdoso	A = 27% a = 21%	↑ verde	91% \geq A (b) 81% \geq a (m)	0%	39%	≈ 8-12
PIT	4 - 5 inicio lateral	$A \geq F$ $a > F$	↑ verdoso	A = 28% a = 25%	↑ verde	94% \geq A (b) 81% \geq a (m)	0%	85%	≈ 8-12
PIA	4 - 5 inicio lateral	$A \approx F$ $a > F$	↑ verdoso	A = 24% a = 18%	↑ verde	100% \geq A (m) 63% \geq a (m)	0%	94%	≈ 8-12
PSA	3 - 4.5 +señalado	$A \leq 2F$ $a \approx F$	↑ verdoso	A = 38% a = 17%	↑ verde	79% \leq A (m) 41% \leq a (ap)	0%	56%	≈ 8-12
PAC	4 - 5 +señalado	$A \leq 2F$ $a \approx F$	↑ verdoso	A = 40% a = 32%	↑ verde	88% \leq A (m) 51% \geq a (m)	0%	65%	≈ 8-12

Tabla 1.3.- Fenología floral Estadio 1: BOTÓN CERRADO CON PÉTALOS VISIBLES EN EL ÁPICE y/o LATERALMENTE. A= anteras de los estambres medios o largos; a= anteras estambres laterales o cortos; F= filamentos estaminales. ↑= aumento de longitud. Base de las anteras (b), mitad (m) y ápice (ap).

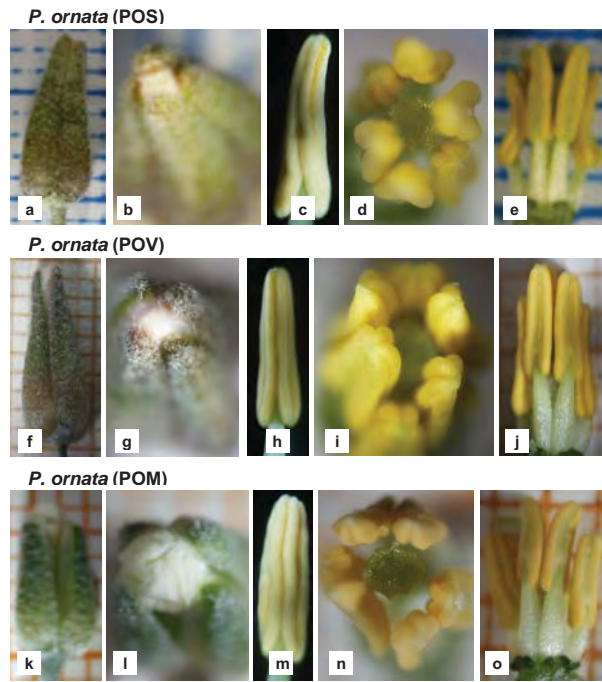


Figura 1.14.- ESTADÍO 1: BOTÓN CERRADO. Fenología floral en *P. ornata*. Pétalos visibles en el ápice y/o lateralmente (a, b, f, g, k, l). Androceo con estambres más desarrollados (d, e, i, j, n, o) y algunas anteras con línea de dehiscencia en POS (c). Gineceo todavía inmaduro pero ligeramente más largo (d, e, i, j, n, o).

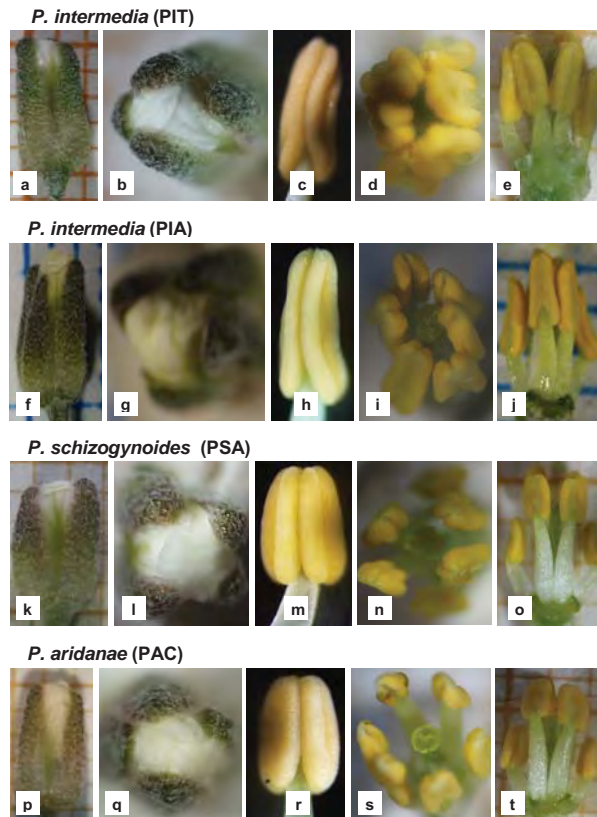


Figura 1.15.- ESTADÍO 1: BOTÓN CERRADO. Fenología floral en *P. intermedia*, *P. schizogynoides* y *P. aridanae*. Pétalos visibles en el ápice y/o lateralmente (a, b, f, g, k, l, p, q). Androceo con estambres más desarrollados y anteras indehiscentes (c, d, e, h, i, j, m, n, o, r, s, t). Gineceo todavía inmaduro pero ligeramente más largo (d, e, i, j, n, o, s, t).

4.2.2.2. Gineceo E1

El gineceo ha experimentado también un ligero crecimiento el estigma se encuentra a nivel de las anteras cortas a excepción de PSA donde mayoritariamente las supera.

Aunque frecuentemente alcanzan la mitad de las anteras medias (PG, PF, POA, POS, POM, PP, PIA, PA) en POV, PIT y PS se encuentra mayoritariamente en la base (Fig. 1.41 y Tablas 1.10-1.11).

Se ha estimado la duración de este estadio en unas 8-12 horas (Tabla 1.3, Fig.1.50).

4.2.3. Estadio 2. Botón abierto

Las características que definen el Estadio 2 en cada taxon se muestran en la Tabla 1.4 y Figs.1.16-1.19.

Botones florales donde los sépalos comienzan su separación lateral (principalmente notable en PG, PS y PA) y los pétalos continúan creciendo presentando algún tipo de orificio lateral o central.

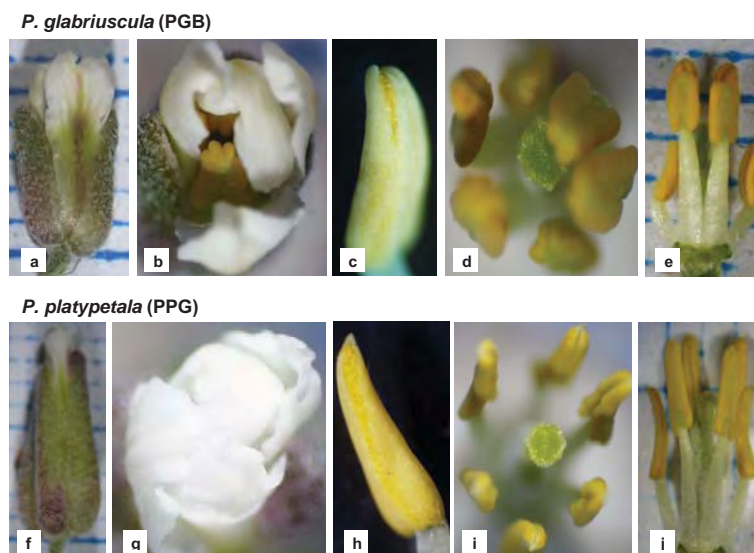


Figura 1.16.- ESTADÍO 2: BOTÓN ABIERTO. Fenología floral en *P. glabriuscula* y *P. platypetala*. Pétalos replegados y algún orificio (a, b, f, g). Ligero desarrollo del androceo y gineceo (d, e, i, j); anteras con línea de dehiscencia (c, h) y estigma sin polen pudiendo superar las anteras laterales en PGB (e) o igualarlas en PPG (j).

4.2.3.1. Androceo E2

El *androceo* sigue creciendo principalmente los filamentos de los estambres largos o medios de manera que, excepto en PFA y POA, la antera pasa a ser menor que su filamento, observándose que en PG, PS y PA las anteras largas pueden comenzar cuando terminan las cortas (Figs.1.16 y 1.19).

La longitud de las anteras cortas, sin embargo, sigue siendo mayor o igual a su filamento estaminal, aunque también puede ser inferior en PIT, PAC y PSA (Tabla 1.4).

En todas las poblaciones, las *anteras* solo muestran línea de dehiscencia sin exponer polen (Tabla 1.4) y por tanto todavía no se considera iniciada la fase masculina de la flor (Fig.1.49).

E2: BOTÓN ABIERTO CON PÉTALOS REPLEGADOS Y ALGÚN ORIFICIO

POB	CARACTERES EXTERNOS		ANDROCEO			GINECEO			% Flores con néctar	Duración (horas)
	Sépalos separación lateral	Orificio central	Relación Antera Filamento	Filamentos/ color	Anteras línea dehiscencia	Longitud/ color	Relación androceo (A, a)	Estigma receptividad		
PGB	ang ≈ 30°	inicio	A = 3.0mm < F a = 2.1mm ≥ F	blanco	A = 41% a = 26%	3mm ↑ verde	86% ≥ A (b) 35% ≤ a (ap)	0%	47%	≈ 8-12
PFA	inicio	inicio	A ≤ F a > F	verdoso	A = 75% a = 75%	↑ verde	100% ≥ A (b) 75% ≥ a (m)	0%	—	≈ 8-12
PFT	inicio	inicio	A < F a > F	verdoso	A = 32% a = 21%	↑ verde	100% ≥ A (b) 86% ≥ a (m)	0%	—	≈ 8-12
POA	inicio	inicio	A ≤ F a > F	verdoso	A = 70% a = 60%	↑ verde	100% ≥ A (b) 87% ≥ a (m)	0%	52%	≈ 8-12
POS	no	inicio	A < F a > F	verdoso	A = 62% a = 57%	↑ verde	90% ≥ A (b) 88% ≤ a (ap)	0%	52%	≈ 8-12
POV	no	inicio	A < F a > F	verdoso	A = 57% a = 50%	↑ verde	71% ≈ A (b) 86% ≥ a(m)	0%	—	≈ 8-12
POM	no	inicio	A < F a > F	verdoso	A = 25% a = 25%	↑ verde	100% ≥ A (b) 87% ≥ a (m)	0%	—	≈ 8-12
PPG	inicio	inicio	A = 3.9mm < F a = 2.3mm ≈ F	verdoso	A = 66% a = 60%	4.2mm ↑ verde	94% ≥ A (b) 80% ≤ a (ap)	0%	53%	≈ 8-12
PIT	inicio	inicio	A < F a < F	blanco	A = 64% a = 57%	↑ verde	96% = A (b) 79% ≥ a (m)	0%	83%	≈ 8-12
PIA	inicio	inicio	A < F a ≈ F	blanco	A = 42% a = 39%	↑ verde	100% ≤ A (m) 100% ≥ a (m)	0%	100%	≈ 8-12
PSA	ang ≈ 30°	inicio	A < F a < F	blanco	A = 78 % a = 45%	↑ verde	72% ≤ A (m) 56% = a (ap)	0%	83%	≈ 8-12
PAC	ang ≈ 30°	inicio	A < F a < F	blanco	A = 58% a = 49%	↑ verde	62% ≤ A (m) 51% ≥ a (m)	0%	66%	≈ 8-12

Tabla 1.4.- Fenología floral Estadio 2: BOTÓN ABIERTO CON PÉTALOS REPLEGADOS Y ALGÚN ORIFICIO. Ang= ángulo de separación de los sépalos. A= estambres medios o largos; a= anteras estambres laterales o cortos; F= filamentos estaminales. ↑= aumento de longitud. Base de las anteras (b), mitad (m) y ápice (ap).

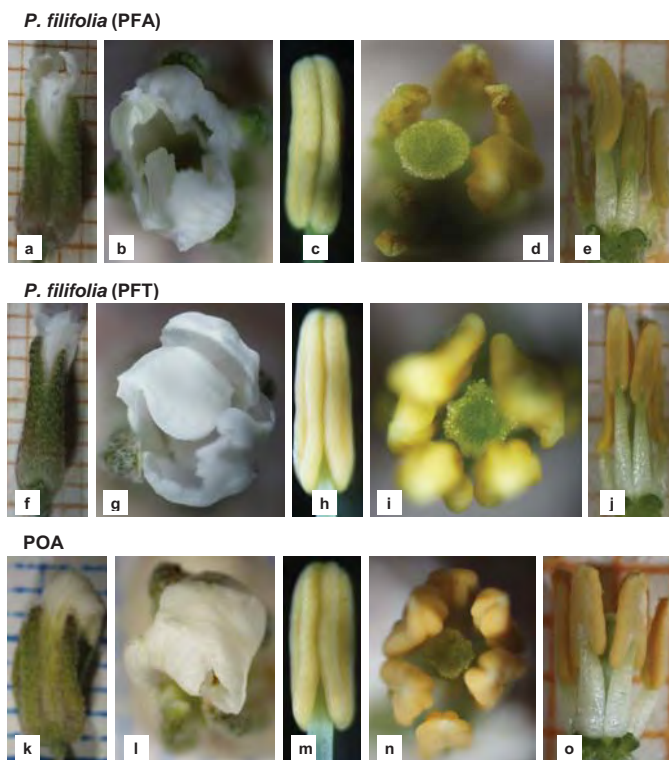


Figura 1.17.- ESTADÍO 2: BOTÓN ABIERTO. Fenología floral en *P. filifolia* y POA. Pétalos replgados y algún orificio (a, b, f, g, k, l). Liger desarrollo del androceo y gineceo (d, e, i, j, n, o); anteras con línea de dehiscencia (c, h, i) y estigma sin polen (d, i, n).

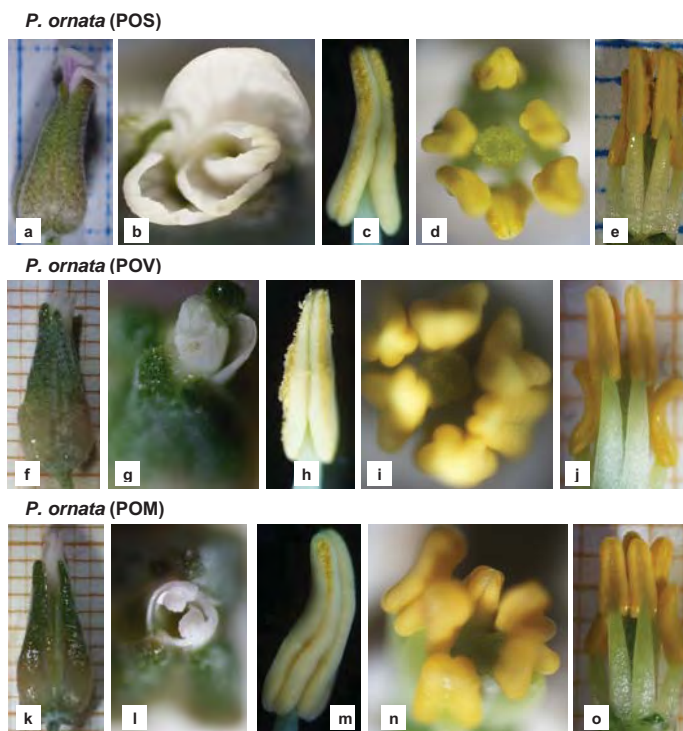


Figura 1.18.- ESTADÍO 2: BOTÓN ABIERTO. Fenología floral en *P. ornata*. Pétalos replgados y algún orificio (a, b, f, g, k, l). Liger desarrollo del androceo y gineceo (d, e, i, j, n, o); anteras con línea de dehiscencia (c, h, m) y estigma sin polen (d, i, n).

4.2.3.2. Gineceo E2

El *estigma*, generalmente sin polen, puede llegar en todas las especies al ápice de las anteras cortas o superarlas (PGB, PS y PA) y/o a la base o mitad de las anteras largas (Tablas 1.10-1.11 y Fig.1.41). Tanto el gineceo como el androceo siguen creciendo ligeramente.

La duración de este estadio varía de unas 8 a 12 horas según poblaciones (Tabla 1.4, Fig.1.50).

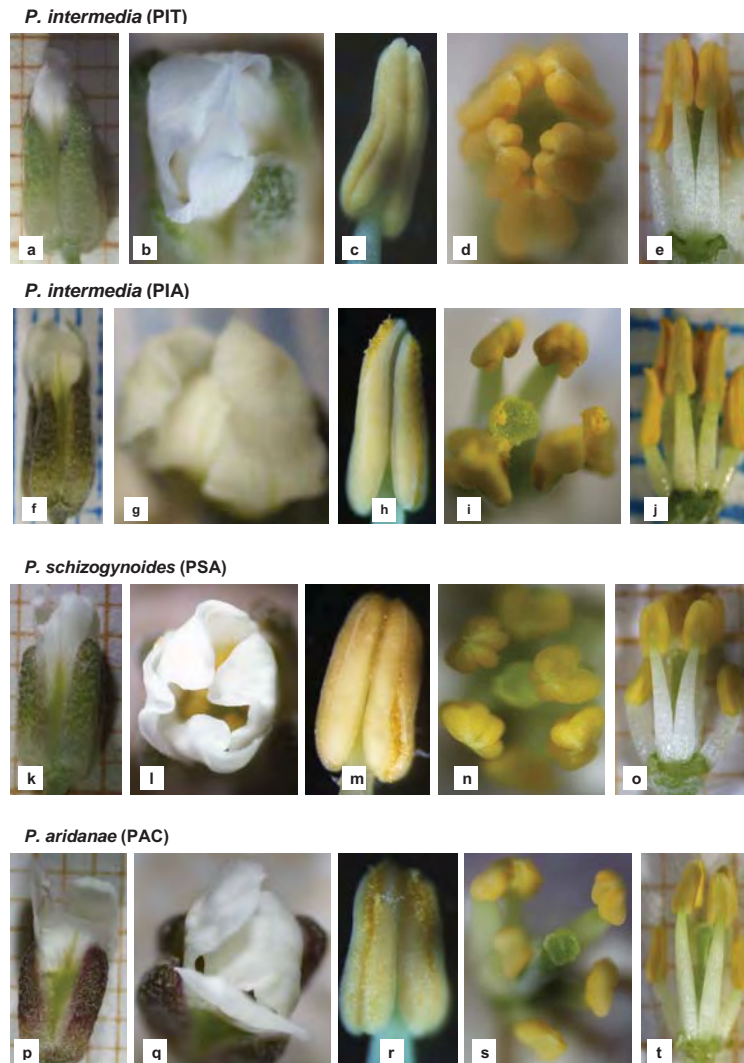


Figura 1.19.- ESTADÍO 2: BOTÓN ABIERTO. Fenología floral en *P. intermedia*, *P. schizogynoides* y *P. aridanae*. Pétalos replegados y algún orificio (a, b, f, g, k, l, p, q). Liger desarrollo del androceo y gineceo (e, f, i, j, n, o, s, t); anteras con línea de dehiscencia (c, h, m, r); estigma sin polen pudiendo igualar las anteras laterales (d, e, i, j, n, o, s, t).

4.2.4. Estadio 3. Flor joven no expandida

Las características que definen el Estadio 3 en cada taxon se muestran en las Figs.1.20-1.23 y Tabla 1.5.

E3: FLOR NO EXPANDIDA CON PETALOS DESPLEGADOS VERTICALMENTE Y ORIFICIO CENTRAL											
POB	CARACTERES EXTERNOS			ANDROCEO			GINECEO			% Flores con néctar	Duración (días)
	Sépalos Separación lateral	Orificio central		Relación Antera Filamento	Filamentos/ color	Anteras dehiscencia	Longitud/ color	Relación androceo (A, a)	Estigma con polen/ receptividad		
		Tipos	Anteras visibilidad								
PGB	ang $\approx 40^\circ$	1 orificio (2)	visibles juntas	$\uparrow A = 3.6 \text{ mm} < 2F$ $a = 2.3 \text{ mm} \geq F$	blanco	A = 31% a = 18%	$\uparrow 3.5 \text{ mm}$ verde	$70\% \leq A \text{ (m)}$ $44\% \geq a \text{ (m)}$	sin polen 0%	23%	≈ 1
PFA	más avanzada	1 orificio (2)	\pm visibles juntas	$A \leq F$ $a \approx F$	verdoso	A = 27% a = 38 %	\uparrow verde	$33\% \leq A \text{ (m)}$ $100\% \geq a \text{ (m)}$	poco polen 0%	—	≈ 2
PFT	más avanzada	1 orificio (2)	visibles juntas	$A < F$ $a \approx F$	verdoso	A = 25% a = 7%	\uparrow verde	$86\% = A \text{ (b)}$ $86\% \geq a \text{ (m)}$	sin polen 0%	—	≈ 2
POA	más avanzada	1 orificio (2)	visibles juntas	$A \leq F$ $a \approx F$	verdoso	A = 40% a = 37%	\uparrow verde	$25\% = A \text{ (b)}$ $86\% \leq a \text{ (ap)}$	poco polen 0%	90%	≈ 1
POS	inicio	1 orificio (2) inconspicuo flor cerrada	juntas no visibles: flor profunda	$A < F$ $a \geq F$	verdoso	A = 47% a = 39%	\uparrow verde	$87\% \leq A \text{ (m)}$ $73\% \geq a \text{ (m)}$	poco polen 0%	25%	≈ 1.5
POV	inicio	1 orificio (2) inconspicuo flor cerrada	juntas no visibles: flor profunda	$A < F$ $a \geq F$	verdoso	A = 57% a = 39%	\uparrow verde	$40\% = A \text{ (b)}$ $75\% \leq a \text{ (m)}$	poco polen 0%	—	≈ 1
POM	inicio	1 orificio (2) inconspicuo flor cerrada	juntas no visibles: flor profunda	$A < F$ $a > F$	verdoso	A = 9% a = 0%	\uparrow verde	$57\% = A \text{ (b)}$ $100\% \geq a \text{ (m)}$	sin polen 0%	—	≈ 1
PPG	inicio	1 orificio (2)	juntas no visibles: flor profunda	$\uparrow A = 4.5 \text{ mm} < F$ $a = 2.5 \text{ mm} \leq F$	blanco	A = 49 % a = 42 %	$\uparrow 4.7 \text{ mm}$ verde	$81\% \leq A \text{ (m)}$ $72\% \geq a \text{ (m)}$	polen 0%	58%	≈ 2
PIT	más avanzada	a veces 2 orificios	\pm visibles juntas	$A < F$ $a \leq F$	blanco	A = 18% a = 14%	\uparrow verde	$52\% = A \text{ (b)}$ $93\% \geq a \text{ (m)}$	poco polen 0%	83%	≈ 1
PIA	más avanzada	a veces 2 orificios	\pm visibles juntas	$A < F$ $a \leq F$	blanco	A = 22% a = 22%	\uparrow verde	$95\% \leq A \text{ (m)}$ $72\% \leq a \text{ (ap)}$	poco polen 0%	66%	≈ 1.5
PSA	ang $\approx 40^\circ$	1 orificio redondeado	visibles juntas	$A < F$ $a \leq F$	blanco	A = 29% a = 0%	\uparrow verde	$80\% \leq A \text{ (m)}$ $28\% = a \text{ (ap)}$	sin polen 0%	62%	≈ 2
PAC	ang $\approx 40^\circ$	1 orificio redondeado	visibles juntas	$A < F$ $a < F$	blanco	A = 42% a = 32%	\uparrow verde	$33\% \leq A \text{ (m)}$ $78\% \leq a \text{ (ap)}$	poco polen 0%	25%	$\approx 1-1.5$

Tabla 1.5.- Fenología floral Estadio 3: FLOR NO EXPANDIDA CON PÉTALOS DESPLEGADOS VERTICALMENTE y ORIFICIO CENTRAL. Ang= ángulo de separación de los sépalos. A= estambres medios o largos; a= anteras estambres laterales o cortos; F= filamentos estaminales. \uparrow = aumento de longitud. Base de las anteras (b), mitad (m) y ápice (ap).

Flor donde generalmente los *sépalos* continúan su separación lateral (menos evidente en PP y PO) y los *pétalos* se encuentran levantados verticalmente pudiendo recurrirse ligeramente por el ápice.

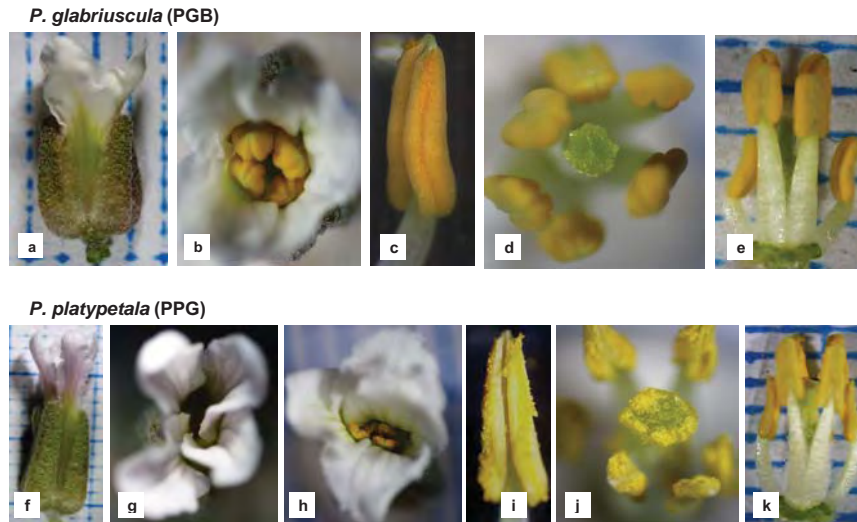


Figura 1.20.- ESTADÍO 3: FLOR NO EXPANDIDA. Fenología floral en *P. glabriuscula* y *P. platypetala*. Flor con pétalos desplegados verticalmente y orificio central (a, b, f, g, h). Pétalos imbricados y orificio central alargado en PPG (g, h) o circular en PGB (b). Inicio de la fase masculina con estambres más desarrollados (d, e, j, k) y anteras con dehiscencia (i) o línea de dehiscencia (c). Estigma ligeramente más alto alcanzando la base de las anteras medias (e, k) sin polen en PGB (d) y bordeado de polen en PPG (j).

Todas las poblaciones ponen de manifiesto el *orificio central* de la flor pudiendo a veces presentar dos orificios más pequeños que dependen del grado de imbricación de los pétalos.

Se pone de manifiesto claramente el *orificio central* de la flor, que según sus manifestaciones diferencian dos tipos de flor: uno, que permite ver el interior (flor normal) y otro que no permite ver el interior sin apenas orificio (*flor cerrada*) frecuente en PO y al parecer relacionado a la forma cónica de los botones florales.

El otro tipo de flor, que presenta un orificio manifiesto pero que no permite ver en su interior ni el androceo ni el gineceo, está relacionada al parecer a la mayor longitud de los sépalos o al poco desarrollo de los verticilos internos y se ha denominado *flor profunda*, también más frecuente en PO.

4.2.4.1. Androceo E3

El androceo se observa con las *anteras* todavía unidas. En todas las especies se manifiesta un crecimiento más acusado de los *filamentos estaminales medios* que siempre superarán a sus anteras.

Las *anteras cortas*, continúan siendo mayor o igual a sus *filamentos* en algunas poblaciones (PG, PF, POA y PO) e inferior en PP, PI PS y PA (Tabla 1.5).

Aunque la *dehiscencia de anteras* puede comenzar ligeramente, apenas supera el 50% en alguna población (POV) y por tanto no se considera generalizada la *fase masculina* (Tabla 1.5 y Fig.1.49).

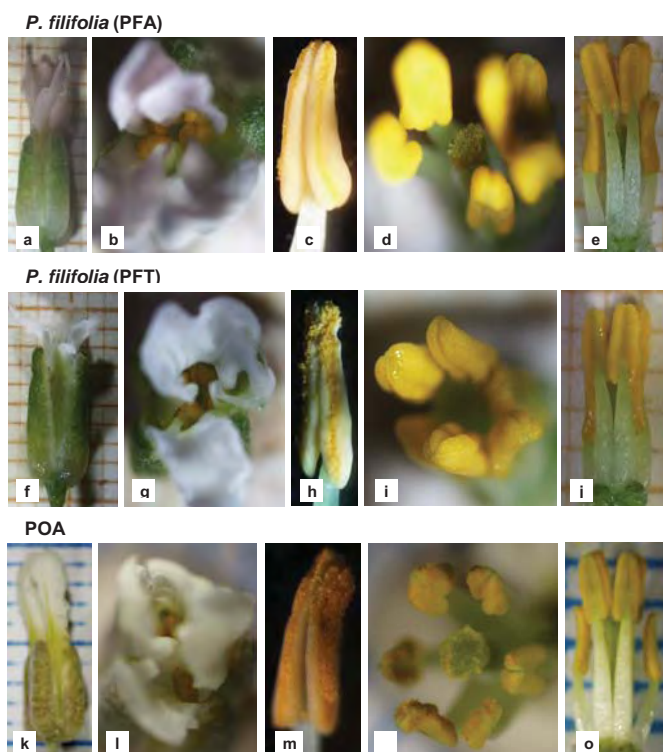


Figura 1.21.- ESTADÍO 3: FLOR NO EXPANDIDA. Fenología floral en *P. filifolia* y POA. Flor con pétalos desplegados verticalmente y orificio central (a, b, f, g, k, l). Pétalos imbricados (b, g, l) y con dos orificios (l) o un orificio central (b, g). Inicio de la fase masculina con estambres más desarrollados (d, e, i, j, n, o) y anteras con dehiscencia (c, h, m). Estigma con poco polen en PFA y POA (d, n).

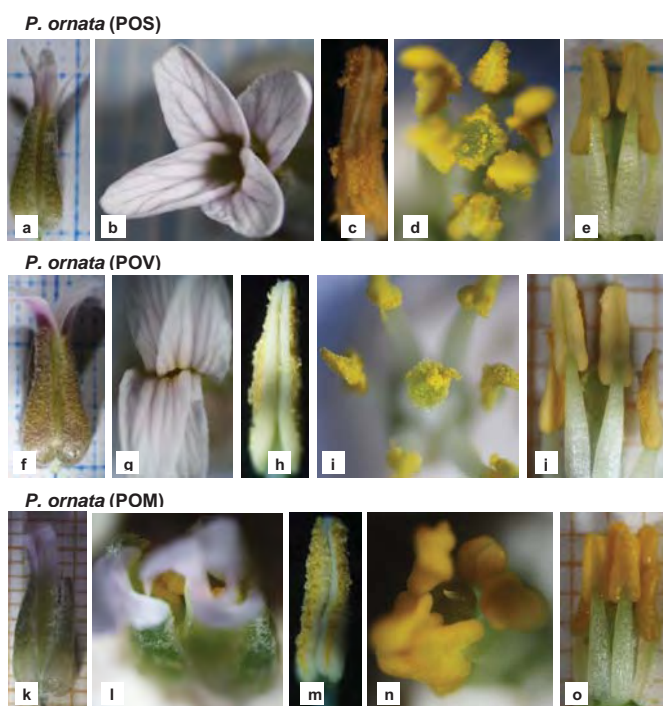


Figura 1.22.- ESTADÍO 3: FLOR NO EXPANDIDA. Fenología floral en *P. ornata*. Flor con pétalos desplegados verticalmente y orificio central (a, b, f, g, k, l). Pétalos imbricados con orificio redondo (b), orificio alargado en flor cerrada (g) o dos orificios (l). Inicio de la fase masculina con estambres más desarrollados (d, e, i, j, n, o) y anteras con dehiscencia (c, h, m) casi generalizada en POS y POV (c, h). Estigma con polen en POS y POV (d, i) y sin polen en POM (n).

4.2.4.2. Gineceo E3

El gineceo sigue creciendo moderadamente en todas las especies de manera que el *stigma* se encuentra en todas las poblaciones mayoritariamente por encima de la mitad de las *anteras cortas* excepto en PGB y PSA donde también puede superarlas (56% y 72%).

En el E3, el *stigma* solo llega a la mitad de las *anteras largas* en POS, mientras que en la mayoría se sitúa en la base (PGB, PPG, PFT, POM, PIT, PIA, PSA) o en el filamento estaminal en PFA, POA, POV, PAC (Tablas 1.10-1.11 y Fig.1.41).

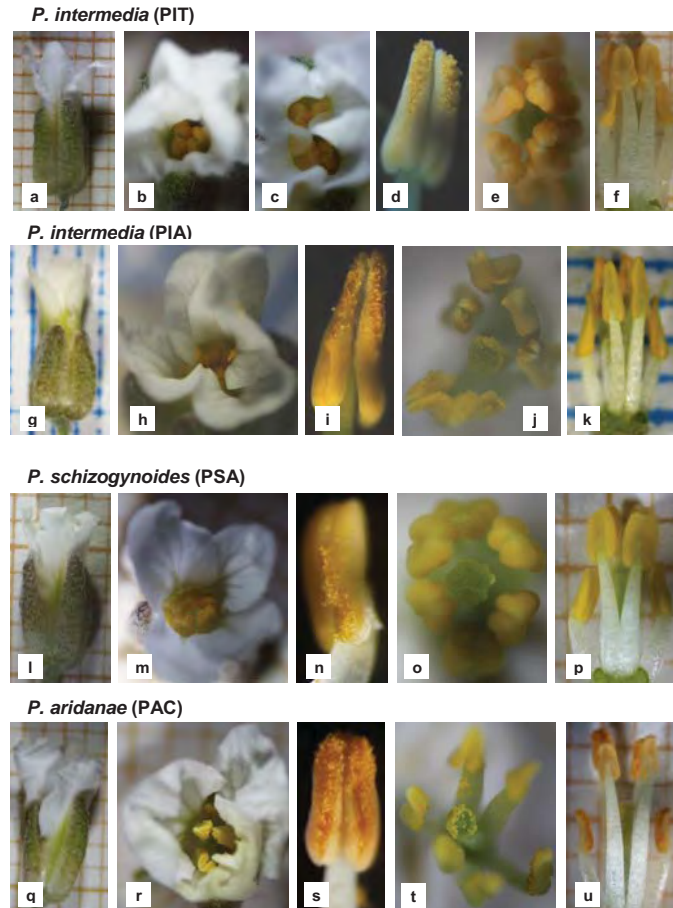


Figura 1.23.- ESTADÍO 3: FLOR NO EXPANDIDA. Fenología floral en *P. intermedia*, *P. schizogynoides* y *P. aridanae*. Flor con pétalos desplegados verticalmente y orificio central (a, b, c, g, h, l, m, q, r). Pétalos imbricados (b, c, h, m, r) con orificio circular (b, h, m, r) o dos orificios (c). Inicio de la fase masculina con estambres desarrollados y anteras dehiscentes (d, e, f, i, j, k, s, t, u) o con línea de dehiscencia en PSA (n, o, p). Estigma sin polen en PIT y PSA (e, o) y bordeado de polen en PIA y PAC (j, t).

El estigma todavía no es receptivo y se puede observar solo marginalmente con algo de polen (Tabla 1.5 y Fig.1.49).

La duración del estadio se ha estimado entre 1 y 2 días dependiendo de la especie (Tabla 1.5 y Fig.1.50).

4.2.5. Estadío 4. Flor expandida con androceo expuesto. Fase masculina

Las características que definen el Estadío 4 en cada taxon se muestran en la Tabla 1.6 y Figs.1.24-1.29.

P. glabriuscula (PGB)

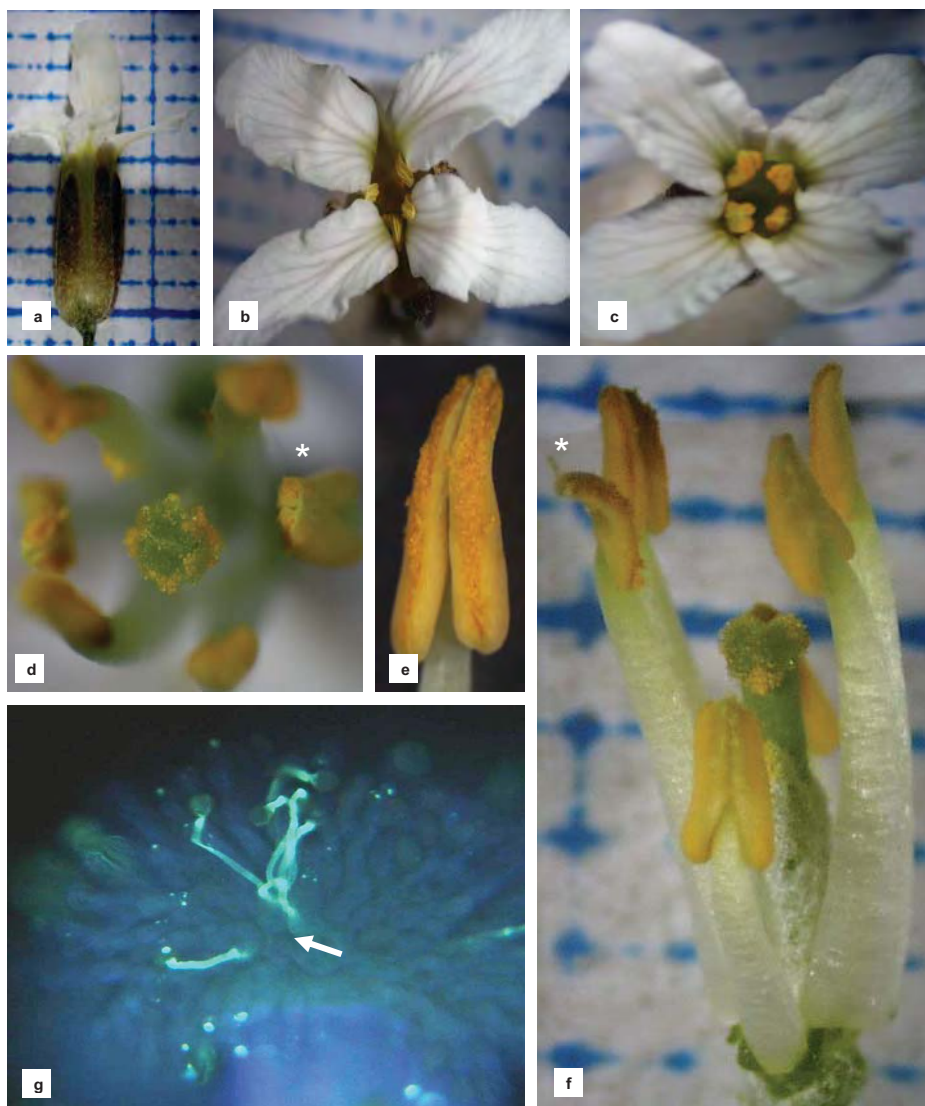


Figura 1.24.- ESTADÍO 4: FLOR EXPANDIDA. Fenología floral en *P. glabriuscula*. Flor con pétalos desplegados horizontalmente y androceo expuesto (a, b, c). Pétalos en *aspa* con orificio central alargado (b) o redondeado (c). Fase masculina de la flor con androceo más desarrollado y expuesto (b, c, f) y anteras dehiscentes llenas de polen (d, e, f), a veces con el ápice curvo (d, f). Gineceo con poco polen (d, f) y tubos polínicos en el estigma (g).

Las flores con los *pétalos ya desplegados horizontalmente*, que forman generalmente un ángulo recto respecto al eje vertical de la flor, se presentan frecuentemente con los pétalos en *aspa* (cruz de San Andrés) rodeando un orificio alargado o dos más pequeños y redondeados.

Más raramente las flores se pueden presentar con los pétalos dispuestos en *cruz griega* rodeando un orificio central generalmente redondeado.

E4: FLOR EXPANDIDA CON PETALOS DESPLEGADOS HORIZONTALMENTE Y ANDROCEO EXPUESTO										
POB	CARACTERES EXTERNOS			ANDROCEO			GINECEO			Duración (días)
	Sépalos Separación lateral	Pétalos y orificio central		Filamento/ longitud	Filamentos/ color	Anteras dehiscencia	Longitud/ color	Relación androceo (A, a)	Estigma Cobertura polen/ Receptividad TP (comienzo)	
		Tipos	Anteras/ ETG							
PGB	ang ≈ 40°	pétalos en cruz o aspa 1 orificio ó 2	ANT juntas 2 a 2 ETG no visible	↑A = 4.6mm ↑a < F	blanco	A = 58% a = 57%	↑ 4.0mm verde	61% ≤ A (m) 71% ≥ a (m)	parcial (borde) 15%-ETG	≈ 1
PFA	más avanzada	pétalos en cruz o aspa 1 orificio ó 2	ANT juntas 2 a 2 ETG no visible	↑A ↑a < F	blanco	A = 52% a = 63%	↑ verde	57% ≤ A (m) 100% ≤ a (ap)	parcial (borde) 0%	≈ 2
PFT	más avanzada	pétalos en cruz o aspa 1 orificio ó 2	ANT juntas 2 a 2 ETG no visible	↑A ↑a < F	blanco	A = 71 % a = 71 %	↑ verde	40% ≈ A (b) 62% ≤ a (ap)	parcial (borde) 15%-ETG	≈ 2
POA	más avanzada	pétalos en cruz o aspa 1 orificio ó 2	ANT juntas 2 a 2 ETG no visible	↑A ↑a < F	blanco	A = 77 % a = 73 %	↑verde	34% ≤ A (m) 92% ≥ a (m)	parcial (borde) 15%-ETG	≈ 2
POS	inicio	pétalos en cruz o aspa 1 orificio ó 2	ANT juntas 2 a 2 no visibles ETG no visible	↑A ↑a < F	blanco	A = 81% a = 85%	↑ verde	92% ≤ A (m) 87% ≤ a (ap)	total 20%-ETG	≈ 1
POV	inicio	pétalos en cruz o aspa 1 orificio ó 2	ANT juntas 2 a 2 no visibles ETG no visible	↑A ↑a < F	blanco	A = 75 % a = 80 %	↑ verde	33% ≈ A (b) 99% = a (m)	total 20%- ETG	≈ 1.5
POM	inicio	pétalos en cruz o aspa 1 orificio ó 2	ANT juntas 2 a 2 no visibles ETG no visible	↑A ↑a < F	blanco	A = 64% a = 57%	↑ verde	67% = A (b) 100% ≤ a (m)	parcial (borde) 0%	≈ 2
PPG	inicio	pétalos en cruz o aspa 1 orificio ó 2	ANT juntas 2 a 2 no visibles ETG no visible	↑A = 5.0mm ↑a = 3.0 < F	blanco	A = 91% a = 89%	↑ 5.1mm verde	79% ≤ A (m) 62% ≤ a (ap)	total 80%-ETG- (ETL)	≈ 1
PIT	más avanzada	pétalos en cruz o aspa 1 orificio ó 2	ANT juntas 2 a 2 ETG no visible	↑A ↑a < F	blanco	A = 71% a = 64%	↑ verde	50% = A (b) 99% = a (m)	parcial (borde) 0%	≈ 1
PIA	más avanzada	pétalos en cruz o aspa 1 orificio ó 2	ANT juntas 2 a 2 ETG no visible	↑A ↑a < F	blanco	A = 78% a = 72%	↑ verde	67% = A (b) 43% ≥ a (m)	total 33%-ETG	≈ 1.5
PSA	ang ≈ 40°	pétalos en cruz o aspa 1 orificio ó 2?	ANT juntas 2 a 2 ETG no visible	↑A ↑a < F	blanco	A = 69% a = 35%	↑ verde	25% = A (m) 50% ≥ a (m)	parcial (borde) 0%	≈ 1
PAC	ang ≈ 40°	pétalos en cruz o aspa 1 orificio ó 2	ANT juntas 2 a 2 ETG no visible	↑A ↑a < F	blanco	A = 75% a = 60%	↑ verde	77% < A (m) 93% ≤ a (ap)	parcial (borde) 15%-ETG	≈ 1

Tabla 1.6.- Fenología floral Estadio 4: FLOR EXPANDIDA CON PETALOS DESPLEGADOS HORIZONTALMENTE Y ANDROCEO EXPUESTO. Ang= ángulo de separación de los sépalos. ANT= anteras; ETG= estigma. A= estambres medios o largos; a= estambres laterales o cortos; F= filamentos estaminales. ↑= aumento de longitud. Base de las anteras (b), mitad (m) y ápice (ap). TP= tubos polínicos; ETL= estilo.

En los taxones donde la separación de los *sépalos* es mayor, los *pétalos* ya no se observan imbricados sino de forma alternisépala.

4.2.5.1. Androceo E4

En el androceo, se observa un crecimiento más acusado en los *estambres largos* en unas especies más que en otras. Consecuentemente el androceo queda *exposto* y las *anteras largas*, generalmente bien visibles, se observan juntas dos a dos. La *flor cerrada* se sigue manifestando pero con un orificio más abierto, y la *flor profunda* sigue sin dejar ver las anteras.

P. platypetala (PPG)

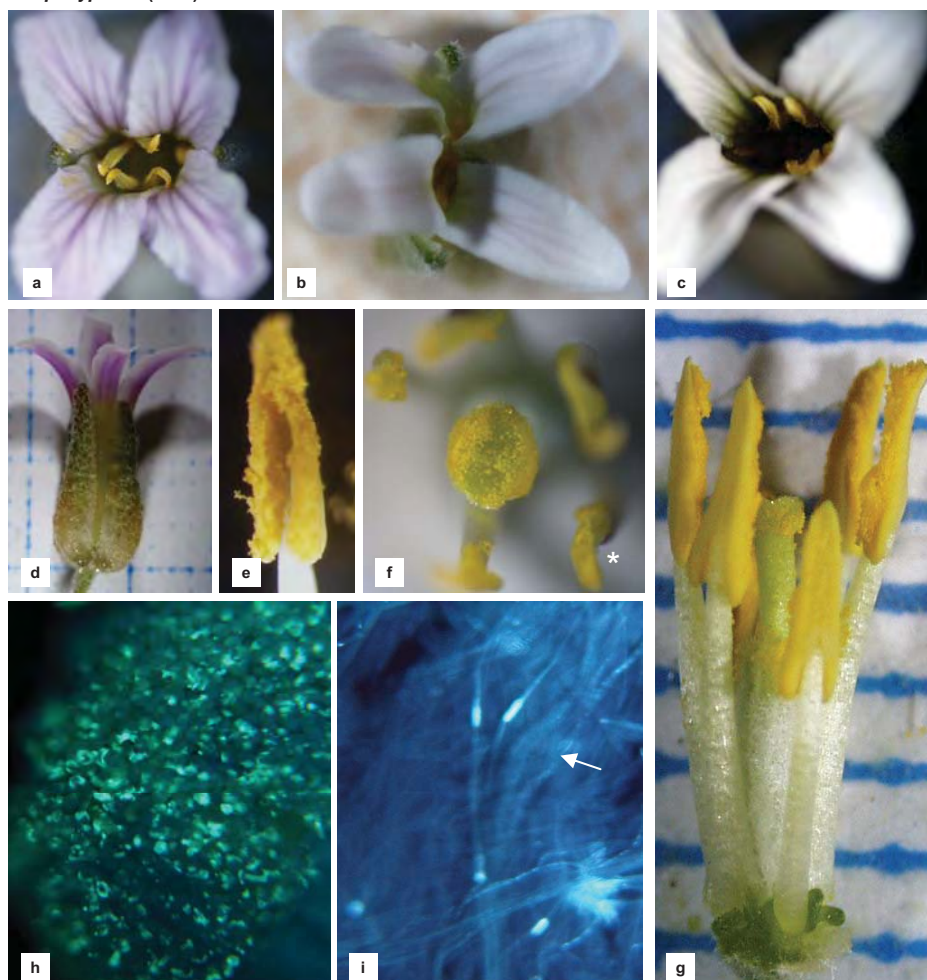


Figura 1.25.- ESTADÍO 4: FLOR EXPANDIDA. Fenología floral en *P. platypetala*. Flor con pétalos desplegados horizontalmente y androceo expuesto (a, b, c, d). Pétalos en aspa con uno o dos orificios centrales (a, b) y flor más en cruz con orificio central elíptico (c). Fase masculina de la flor con androceo más desarrollado y expuesto (a, c, g) y anteras dehiscentes con polen (e, f, g), a veces con el ápice curvo (f). Comienzo de la fase femenina: estigma con mucho polen (f, g, h) y tubos polínicos que llegan al estilo (i).

En este Estadío E4 aumenta la *dehiscencia* que se considera ya *generalizada* en la mayoría de los taxones a excepción de PGB, PFA, POM y PSA con menos de un 70% de anteras dehiscentes.

Las *anteras* van perdiendo polen y comienzan a recurvarse por el ápice, pudiendo permanecer con más o menos polen según la afluencia de visitantes florales o polinizadores.

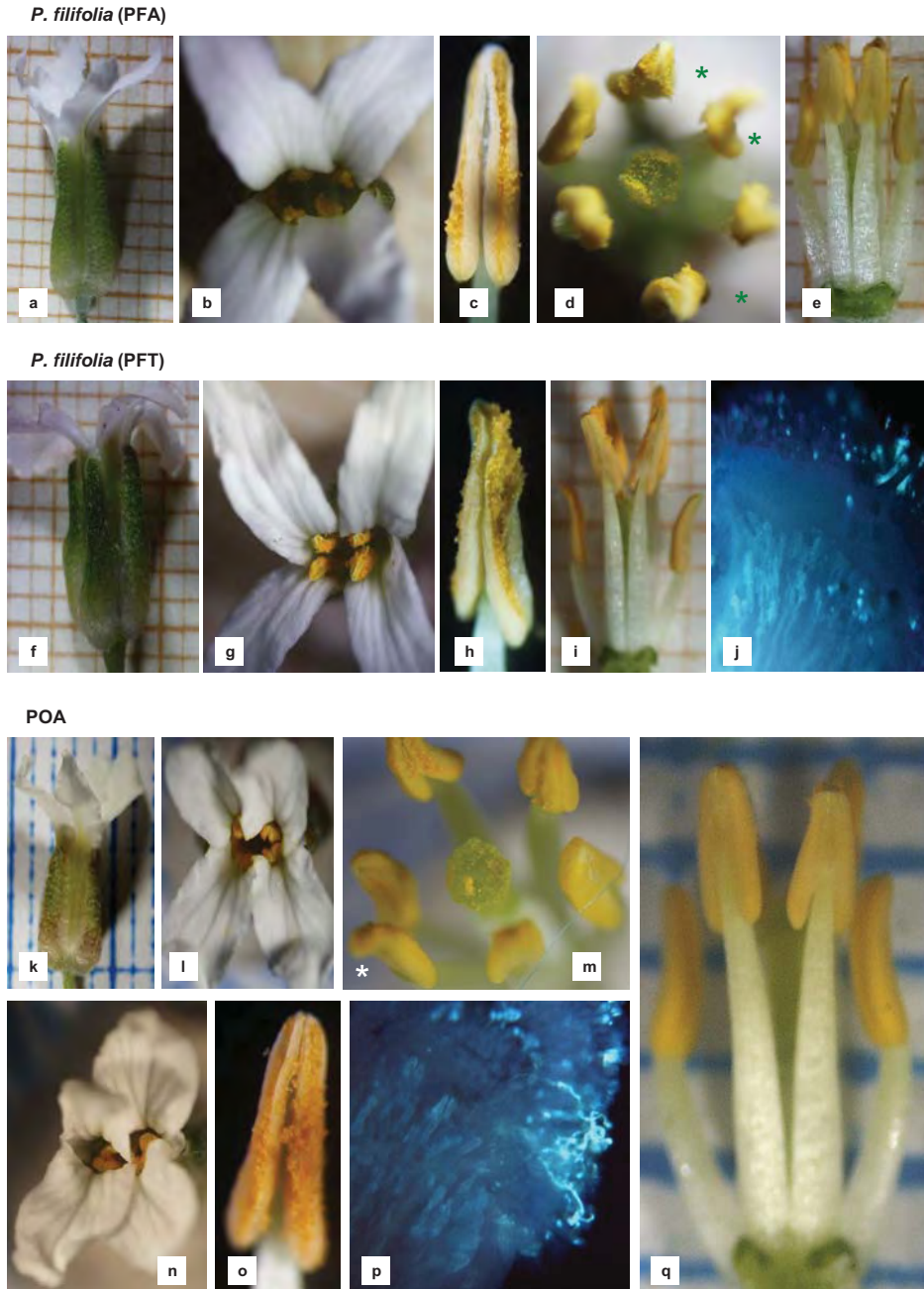


Figura 1.26.- ESTADÍO 4: FLOR EXPANDIDA. Fenología floral en *P. filifolia* y POA. Flor con pétalos desplegados horizontalmente y androceo expuesto (a, b, f, g, k, l, n). Flor en aspa con uno o dos orificios centrales alargados (b, g, l, n). Fase masculina de la flor con androceo más desarrollado y expuesto (b, d, e, g, i, l, m, n, q) y anteras dehiscentes con polen (c, h, o), a veces con ápices curvos (d, m). Comienzo de la fase femenina: estigma con poco polen (d, m) y tubos polínicos en el estigma en PFT (j) y POA (p).

4.2.5.2. *Gineceo E4*

El *gineceo* apenas es visible por encontrarse todavía muy bajo y el *estigma* con polen generalmente solo en el margen, permanece mayoritariamente enfrentado a las anteras cortas (62%-100%) o las supera en PIA y PSA (57% y 50%).

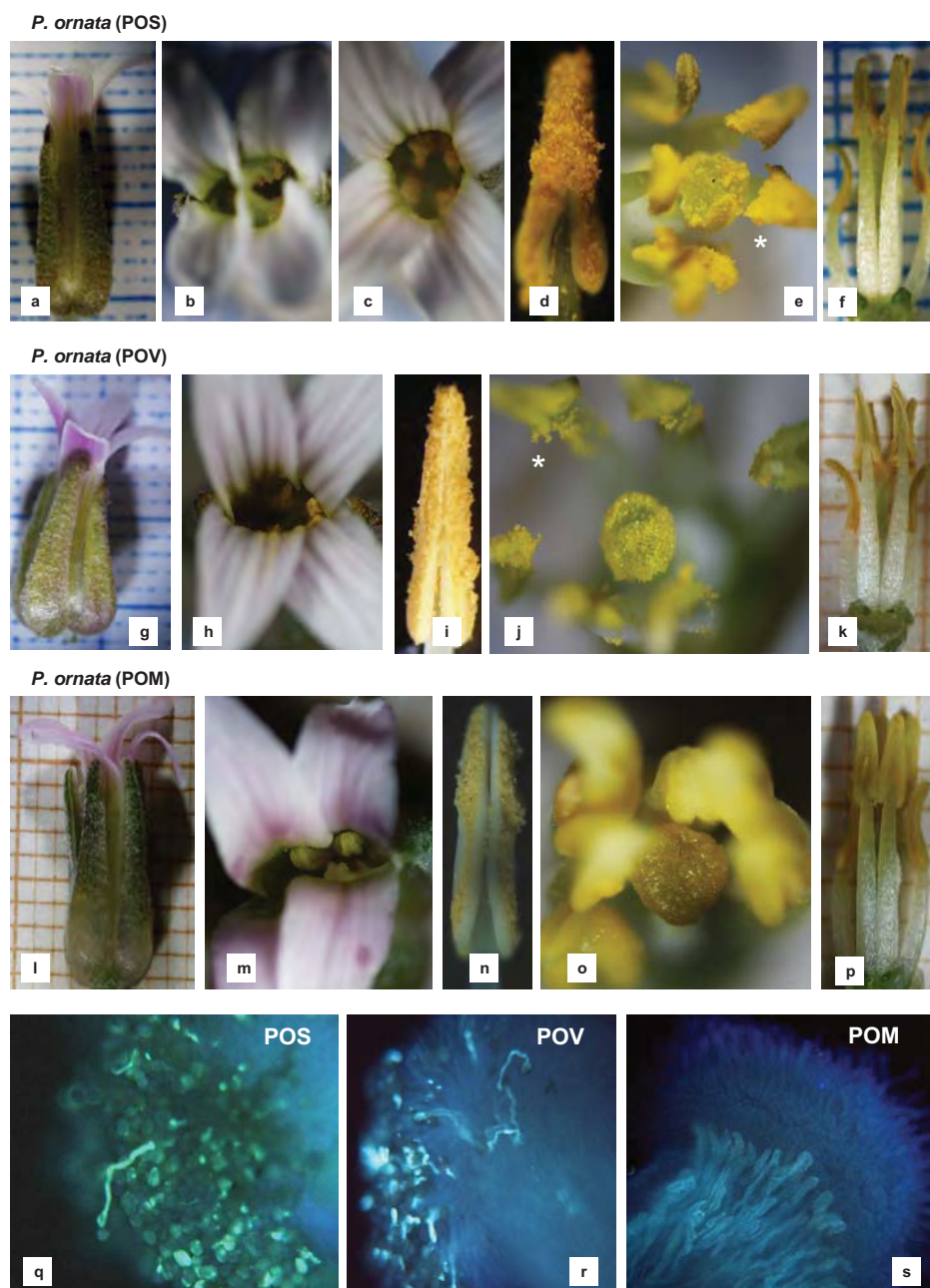


Figura 1.27.- ESTADÍO 4: FLOR EXPANDIDA. Fenología floral en *P. ornata*. Flor con pétalos desplegados horizontalmente y androceo expuesto (a, b, c, g, h, l, m). Flor en aspa con dos orificios (b) o un orificio alargado (h, m) y flor más en cruz con orificio redondeado (c). Fase masculina con androceo más desarrollado y expuesto (c, e, f, h, j, k, m, p) y anteras dehiscentes todavía con polen (d, i, n) con ápices curvados (e, j). Comienzo de la fase femenina, estigma con mucho polen y tubos polínicos en el estigma en POS y POV (e, j, q, r) y sin polen ni tubos polínicos en POM (o, s).

En relación a las anteras largas la situación del *stigma* varía pudiendo encontrarse mayoritariamente hacia la mitad (PGB, POS, PAC), en la base (PPG, POM, PIA) o en el *filamento estaminal* (PGB, POA, PSA). Entre la base y el filamento en PFA, PFT, POV y PIT (Tablas 1.10-1.11 y Fig.1.41).

P. intermedia (PIT)



P. intermedia (PIA)

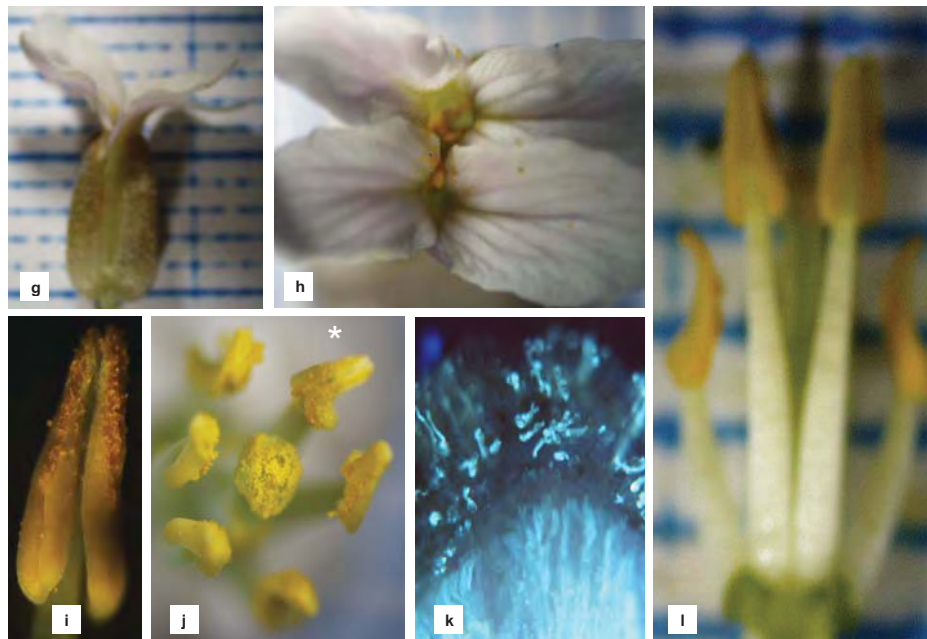


Figura 1.28.- ESTADÍO 4: FLOR EXPANDIDA. Fenología floral en *P. intermedia*. Flor con pétalos desplegados horizontalmente y androceo expuesto (a, b, d, g, h). Pétalos en aspa con dos orificios (d, h) o con orificio elíptico (b). Fase masculina de la flor con androceo desarrollado y expuesto (b,d, e, f, h, j, l) y anteras dehiscentes con polen (c, i) y ápices curvos (e, j). Comienzo de la fase femenina, estigma con mucho polen y tubos polínicos en PIA (j, k) y sin polen (e) en PIT.

En la mayoría de las poblaciones apenas se ha iniciado la *receptividad estigmática* ya que se observan algunos *tubos polínicos* todavía en el *estigma*, a excepción de PFA, POM, PIT y PSA que permanecen todavía sin tubos.

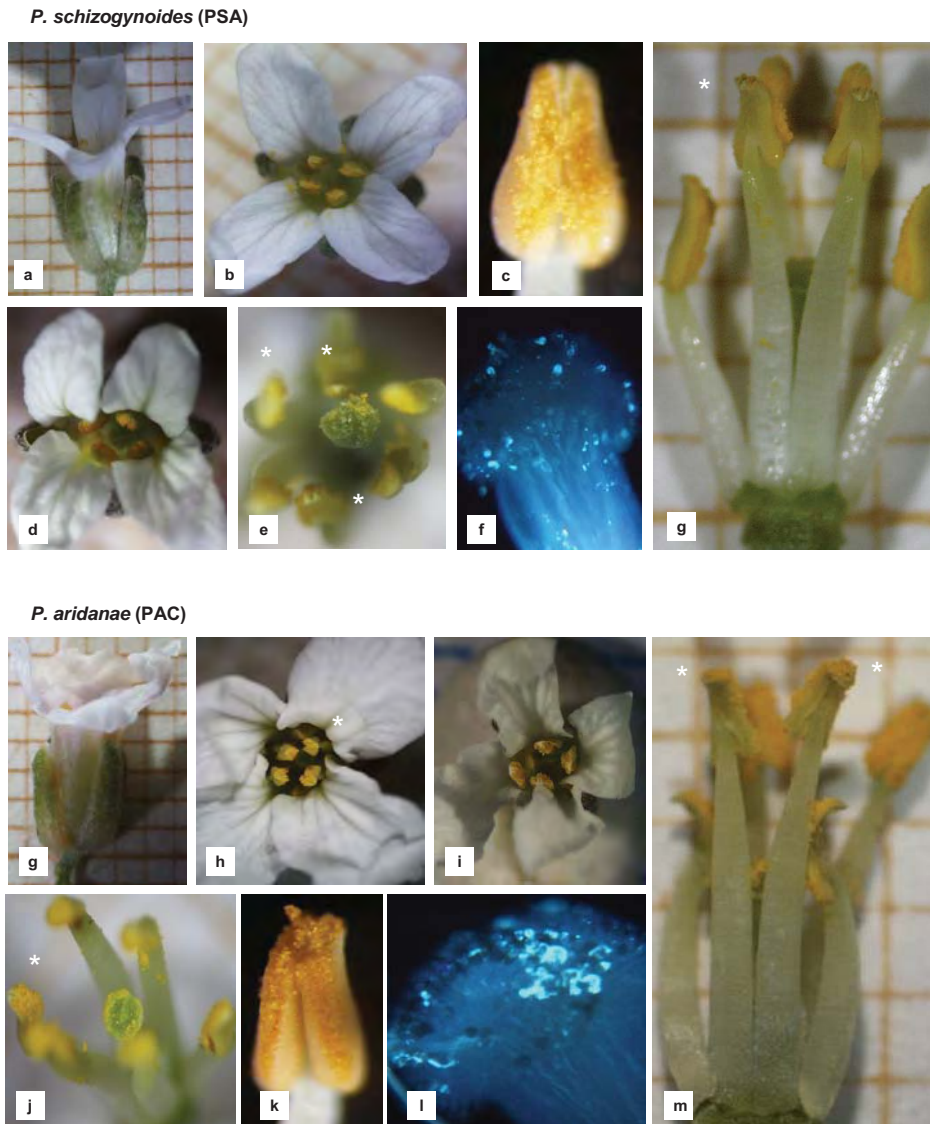


Figura 1.29.- ESTADÍO 4: FLOR EXPANDIDA. Fenología floral en *P. schizogynoides* y *P. aridanae*. Flor con pétalos desplegados horizontalmente y androceo expuesto (a, b, d, g, h, i). Flor en aspa con orificio alargado (c) o más en cruz con orificio central redondeado (b, h, i). Fase masculina con androceo desarrollado y expuesto (b, c, f, h, i, j, l) y anteras dehiscentes con polen (e, k). Comienzo de la fase femenina: estigma con poco polen (d, j) y tubos polínicos en el estigma (g, m). Anteras con ápices curvos (d, f, h, j, l).

Solo en PPG se han observado algunos *estigmas* receptivos con *tubos polínicos* llegando al *estilo* y por tanto en esta especie se considera *iniciada* la *fase femenina* (Tabla 1.6).

La duración del estadio es de aproximadamente 1 a 2 días según poblaciones (Tabla 1.6 y Fig.1.50).

4.2.6. Estadio 5. Flor con gineceo expuesto. Fase masculina y femenina

Las características que definen el Estadio 5 se muestran en las Figs.1.30-1.39 y Tablas 1.7-1.8. Este estadio se caracteriza por presentar flores con los *pétalos* ocasionalmente imbricados, ya separados y generalmente dispuestos de forma alternisépala. El *orificio central* de la flor alcanza su mayor diámetro, permitiendo ver claramente las anteras y el *estigma* cubierto de polen.

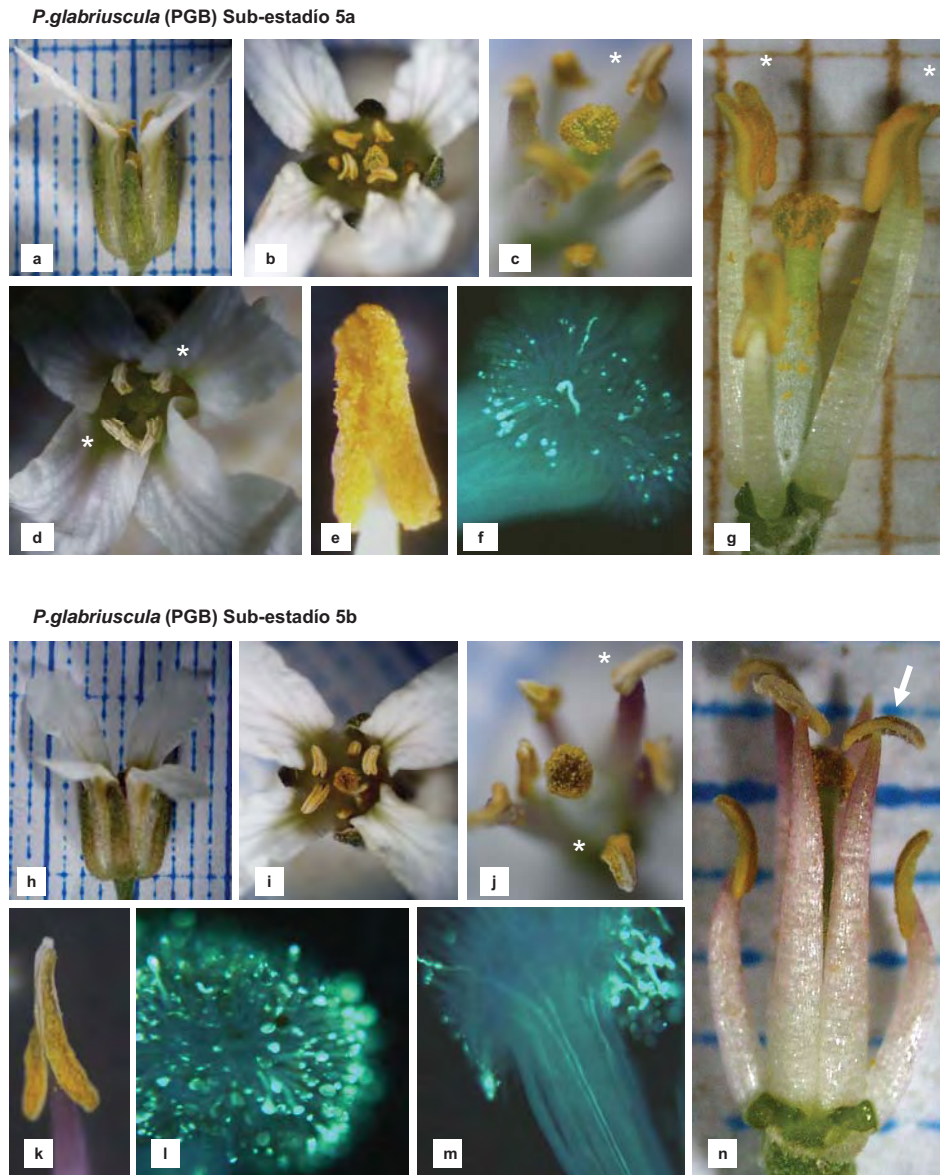


Figura 1.30.- ESTADÍO 5: FLOR CON GINECEO EXPUESTO. Fenología floral en *P. glabriuscula*. Flor con estigma cubierto de polen y cambio de color (a, b, c, d, g, h, i, j, n). Pétalos en aspa con orificio central alargado (b) o redondeado (d, i), con pétalos alternisépalos (a, b, h, i). Cambio de color en los estambres (j, k, n), anteras más o menos vacías (c, d, e, g, j, k, n) y curvadas en L (c, j) y T (j, n). Fase femenina, gineceo con polen (b, c, g, i, j, n) y tubos polínicos en el estigma (f, l) y estilo (m).

E5a: FLOR CON GINECEO EXPUESTO CUBIERTO DE POLEN									
POB	CARACTERES EXTERNOS			ANDROCEO		GINECEO			Duración (días)
	Sépalos Separación lateral	Pétalos y Orificio central		Filamentos/ longitud	Anteras dehiscencia	longitud/ color	Relación androceo (A, a)	Estigma Cobertura polen/ Receptividad TP	
		Tipos	Anteras- ETG/ disposición						
PGB	ang ≈ 45°	pétalos alternisépalos mayor diámetro anteras en ápice	ANT alrededor ETG ± arqueadas en L y en T	↑A = 5.1 mm a = 3.3 mm	A = 100% a = 100%	visible-4.5mm ↑ verde	49% ≤ A (m) 49% ≥ a (m)	mucho ETG-ETL-pocos TP	≈ 2 días
PFA	más avanzada	pétalos alternisépalos mayor diámetro anteras en ápice	ANT alrededor ETG ± arqueadas, en L y T?	↑A ↑a	A = 100% a = 100%	± visible ↑ verde	68% ≤ A (m) 78% ≤ a (ap)	mucho ETG-ETL-pocos TP	≈ 2 días
PFT	más avanzada	pétalos alternisépalos mayor diámetro anteras en ápice	ANT alrededor ETG ± arqueadas en L, retorcimiento helicoidal y ápices ± revolutos	↑A ↑a	A = 100% a = 100%	visible ↑ verde	31% = A (b) 71% ≥ a (m)	mucho ETG-ETL-algunos TP	≈ 2 días
POA	más avanzada	pétalos alternisépalos mayor diámetro anteras en ápice	ANT alrededor ETG ± arqueadas en L, en T y ápices ± revolutos	↑A ↑a	A = 100% a = 100%	bien visible ↑ verde	61% ≤ A (m) 60% ≥ a (m)	mucho ETG-ETL-muchos TP	≈ 2 días
POS	más avanzada	pétalos alternisépalos mayor diámetro anteras en ápice	ANT alrededor ETG ± arqueadas con ápices ± revolutos	↑A ↑a	A = 100% a = 100%	± visible ↑ verde	67% ≤ A (m) 80% ≥ a (m)	mucho ETG- ETL-muchos TP	≈ 2 día
POV	más avanzada	imbricados o alternisépalos mayor diámetro anteras en ápice	ANT alrededor ETG ± arqueadas ápices ± revolutos y retorcimiento helicoidal a lo largo de la antera	↑A ↑a	A = 100% a = 100%	± visible ↑ verde	34% = A (b) 99% ≤ a (ap)	mucho ETG-ETL-algunos TP	≈ 2 días
POM	más avanzada	imbricados o alternisépalos mayor diámetro anteras en ápice	ANT alrededor ETG ± arqueadas en L, ápices ± revolutos	↑A ↑a	A = 100% a = 100%	± visible ↑ verde	58% = A (b) 99% ≤ a (ap)	mucho ETG-pocos TP	≈ 2 días
PPG	más avanzada	imbricados o alternisépalos mayor diámetro anteras en ápice	ANT ± visibles alrededor ETG ± arqueadas, en L, retorcimiento helicoidal, ápices ± revolutos	↑A = 5.5 mm a = 3.5 mm	A = 100% a = 100%	± visible-5.4mm ↑ verde	51% ≤ A (m) 88% ≤ a (ap)	mucho ETG-ETL-muchos TP	≈ 2 días
PIT	más avanzada	alternisépalos y cambio de color mayor diámetro	ANT alrededor ETG ± arqueadas ápices ± revolutos y retorcimiento helicoidal	↑A ↑a	A = 100% a = 100%	bien visible ↑ verde	67% = A (b) 67% ≥ a (m)	mucho ETG-ETL-pocos TP	≈ 1 días
PIA	más avanzada	alternisépalos y cambio de color mayor diámetro	ANT alrededor ETG ± arqueadas en L, ápices ± revolutos	↑A ↑a	A = 100% a = 100%	bien visible ↑ verde	86% ≤ A (m) 36% = a (ap)	mucho ETG-ETL-algunos TP	≈ 1 día
PSA	ang ≈ 45°	alternisépalos y cambio de color mayor diámetro	ANT alrededor ETG ± arqueadas en L, ápices ± revolutos	↑A ↑a	A = 100% a = 100%	bien visible ↑ verde	52% ≤ A(m) 40% ≤ a(ap)	mucho ETG-pocos TP	≈ 1 día
PAC	ang ≈ 45°	alternisépalos mayor diámetro anteras en ápice	ANT alrededor ETG ± arqueadas en L, en T, ápices ± revolutos	↑A ↑a	A = 100% a = 100%	bien visible ↑verde	28% ≤ A(m) 62% ≤ a(ap)	mucho ETL-algunos TP	≈ 2 día

Tabla 1.7.- Fenología floral Estadio 5a: FLOR CON GINECEO EXPUESTO CUBIERTO DE POLEN. Ang= ángulo de separación de los sépalos. ANT= anteras; ETG= estigma. A= estambres medios o largos; a= estambres laterales o cortos. ↑aumento de longitud. Base de las anteras (b), mitad (m) y ápice (ap). TP= tubos polínicos; ETL= estilo.

E5b: FLOR CON GINECEO EXPUESTO Y CAMBIO DE COLOR						
POB	ANDROCEO		GINECEO			Duración
	Anteras contenido/ disposición	Filamentos cambio de color	longitud/ color	Relación androceo (A, a)	Estigma Cobertura polen/ Receptividad TP	
PGB	poco polen ± arqueadas en L y en T	ápice a rosa o violeta	5 mm ETG cambio a violeta	53% ≤ A (m) 29% ≥ a (m)	total ETG-ETL-OVA	≈ 2 días
PFA	poco polen ± arqueadas, en L y T?	ápice a rosa o violeta	ETG cambio a violeta	22% = A (b) 100% ≤ a (ap)	total ETG-ETL-OVA-OVU	≈ 2 días
PFT	poco polen ± arqueadas en L, retorcimiento helicoidal y ápices ± revolutos	ápice a rosa o violeta	ETG cambio a violeta	48% ≤ A (m) 61% ≥ a (m)	total ETG-ETL-OVA	≈ 2 día
POA	poco polen +arqueadas en L, en T y ápices ± revolutos	ápice a rosa o violeta	ETG cambio a violeta	61% ≤ A (m) 52% ≥ a (m)	total ETG-ETL-OVA-OVU	≈ 2 días
POS	poco polen ± arqueadas, ápices ± revolutos	ápice a rosa o violeta	ETG cambio a violeta	92% ≤ A (m) 67% ≥ a (m)	total ETG-ETL-OVA-OVU	≈ 2 días
POV	poco polen +arqueadas, ápices ± revolutos y retorcimiento helicoidal	ápice a rosa o violeta	ETG cambio a violeta	59% = A (b) 79% ≥ a (m)	total ETG-ETL-OVA-OVU	≈ 2 días
POM	poco polen ± arqueadas en L, ápices ± revolutos	ápice a rosa o violeta	ETG cambio a violeta	48% = A (b) 100% ≤ a (ap)	total ETG-ETL-OVA	≈ 2 días
PPG	poco polen ± arqueadas en L y retorcidas helicoidalmente, ápices ± revolutos	ápice a rosa o violeta	5.8 mm ETG cambio a violeta	54% ≤ A (m) 85% ≤ a (ap)	total ETG-ETL-OVA	≈ 2 días
PIT	poco polen ± arqueadas, ápices ± revolutos y retorcimiento helicoidal	ápice a rosa o violeta	ETG cambio a violeta	63% = A (b) 50% ≤ a (ap)	total ETG-ETL-OVA -OVU	≈ 3 días
PIA	poco polen ± arqueadas en L y T?, ápices ± revolutos	ápice a rosa o violeta	ETG cambio a violeta	79% ≤ A (m) 35% ≥ a (m)	total ETG-ETL-OVA -OVU	≈ 3 días
PSA	poco polen ± arqueadas en L, ápices ± revolutos	ápice a rosa o violeta	ETG no cambia	19% ≤ A (m) 44% ≥ a (m)	total ETG-ETL	≈ 3 días
PAC	poco polen ± arqueadas en L, en T, ápices ± revolutos	ápice a rosa o violeta	ETG cambio a violeta	14% ≤ A (m) 76% ≤ a (ap)	total ETG-ETL-OVA -OVU	≈ 2 días

Tabla 1.8.- Fenología floral Estadio 5b: FLOR CON GINECEO EXPUESTO Y CAMBIO DE COLOR. A= estambres medios o largos; a= estambres laterales o cortos; base de las anteras (b), mitad (m) y ápice (ap). TP= tubos polínicos; ETG= estigma; ETL= estilo; OVA= ovario; OVU= óvulos.

El estadio E5 es el más largo y complejo de la flor, en el que los verticilos externos del *periantio* apenas experimentan cambios perceptibles, a excepción de los cambios de color graduales en los *pétalos*, de blanco a violeta en las especies de Tenerife (PI) y La Gomera (PS), menos intenso a rosa en PA, PO y PP o prácticamente inapreciable solo en los nerviaciones para el resto.

P. platypetala (PPG) Sub-estadio 5a



P. platypetala (PPG) Sub-estadio 5b

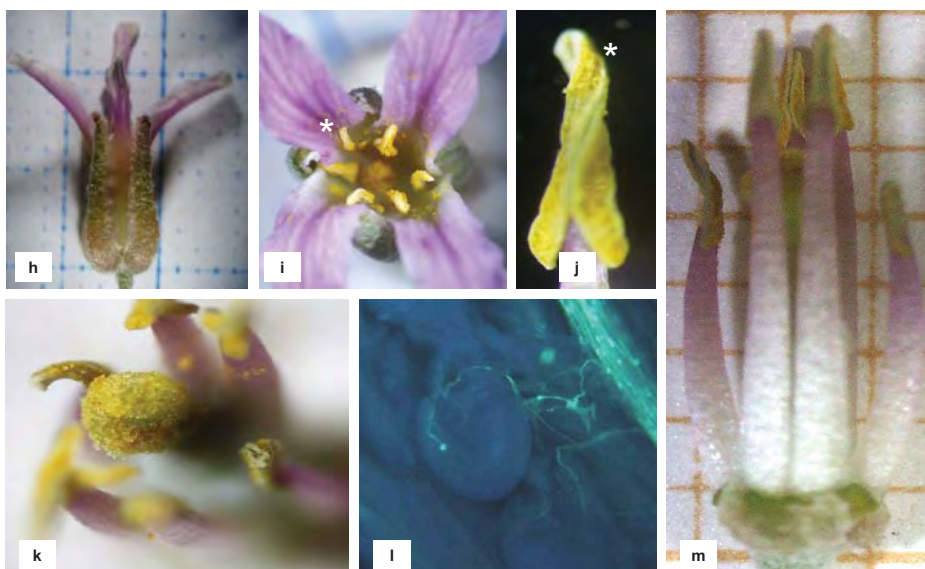


Figura 1.31.- ESTADÍO 5: FLOR CON GINECEO EXPUESTO. Fenología floral en *P. platypetala*. Flor con estigma cubierto de polen y cambio de color (a, b, c, d, g, h, i, k, m). Pétalos en aspa con orificio central alargado (b, i) y flor más en cruz con orificio central redondeado (c) con pétalos todavía imbricados (b) o alternisépalos (c, h, i). Cambio de color en estambres (j, k, m) y anteras ± vacías ± arqueadas, en L, helicoidal vertical y ápices ± revolutos (d, e, g, j, k, m). Fase femenina, gineceo cubierto de polen (b, d, g, i, k, m) con tubos polínicos en el estilo (g) y ovario llegando al óvulo (l).

En el estadio E5 se considera alcanzada la *fase femenina por excelencia* ya que todas las poblaciones comienzan por presentar *estigmas receptivos* con tubos polínicos que han llegado al menos al *estilo*, pudiendo llegar al final del estadio al *ovario* y *óvulos*.

Este estadio (E5) puede dividirse en dos fases o subestadios, según características del androceo y gineceo:

4.2.6.1. Fase o sub-estadio 5a

Las características que definen este sub-estadio en cada taxon se muestran en la Tabla 1.7 y Figs.1.30-1.32, 1.34, 1.36, 1.38, 1.39.

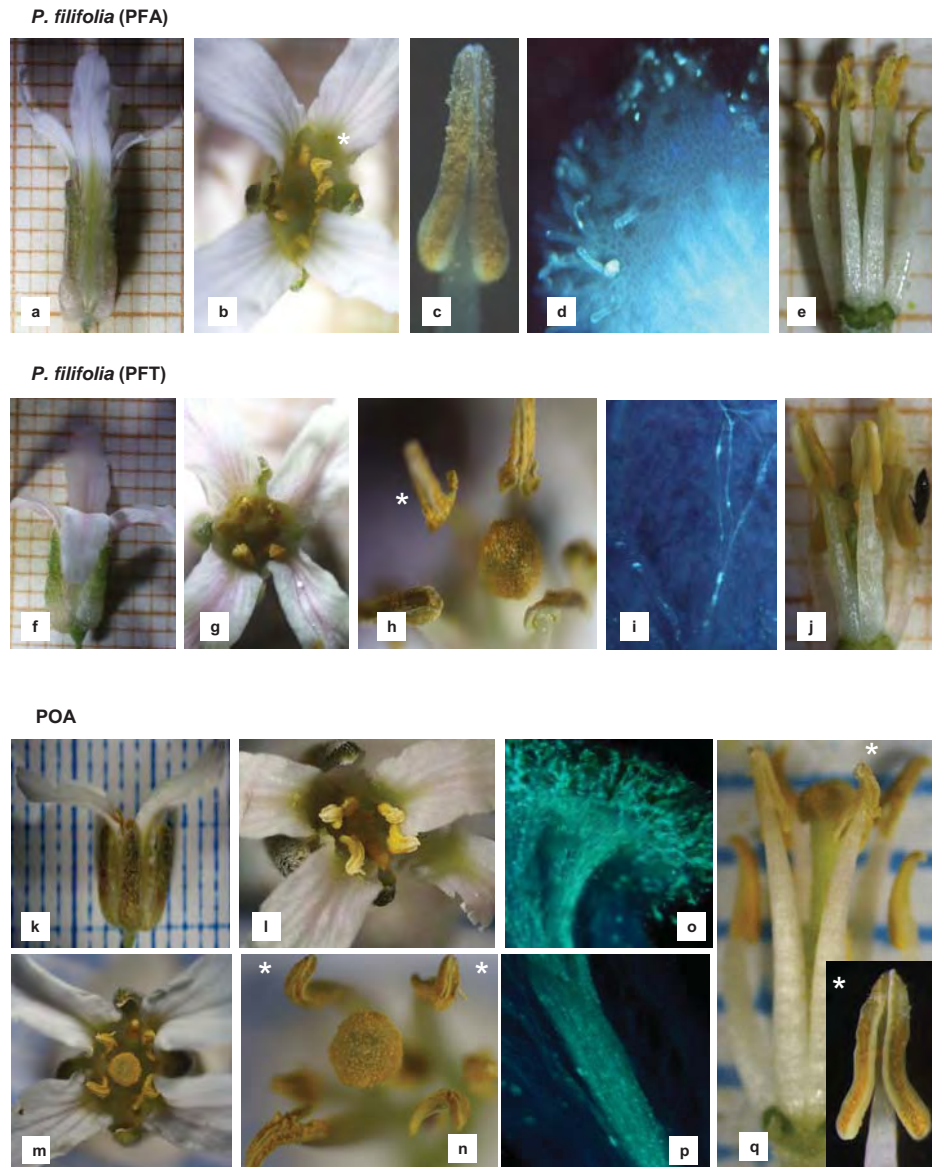


Figura 1.32.- ESTADÍO 5a: FLOR CON GINECEO EXPUESTO. Fenología floral en *P. filifolia* y POA. Flor con estigma cubierto de polen (b, e, g, h, j, l, m, n, q). Flor en aspa con orificio central alargado (b, m) o redondeado (g, l) y pétalos alternisépalos (a, b, f, g, k, l, m). Anteras ± vacías (c, r) y ± arqueadas en L (b, e, h, l, m, n, q). Fase femenina, gineceo con polen (h, m, n, q) y tubos polínicos en el estigma (d, o) y estilo (i, p).

4.2.6.1.1. Androceo E5a

En el androceo los *filamentos estaminales* de los estambres largos continúan creciendo aunque de forma más ralentizada. Las *anteras medias* se observan perfectamente separadas y dispuestas alrededor del estigma, pudiendo sobrepasar el orificio central de la

flor, mientras que las *anteras laterales* (cortas o pequeñas) no se suelen manifestar visibles porque se encuentran asociadas a los sépalos laterales o internos y aparentemente incluidas en la concavidad de los mismos.

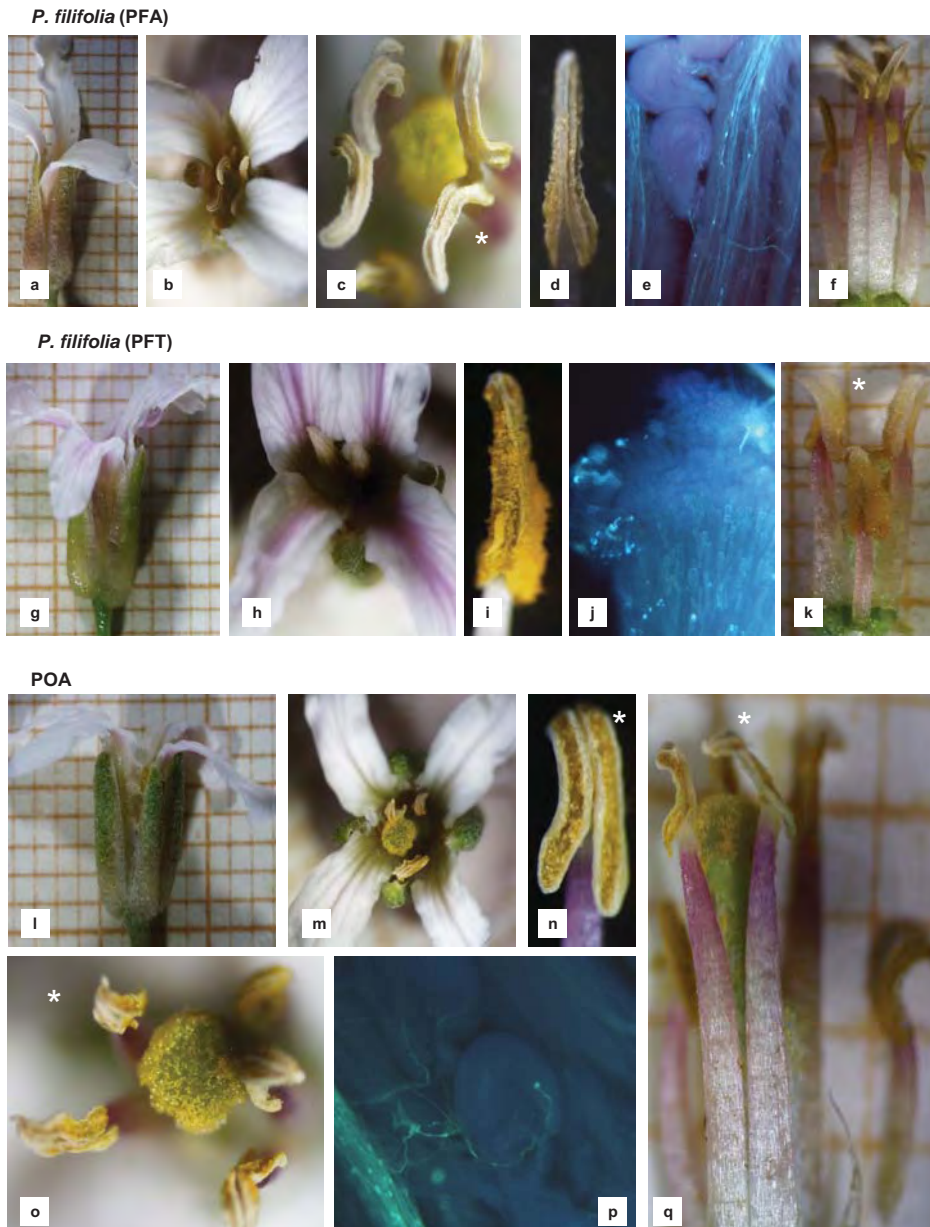


Figura 1.33.- ESTADÍO 5b: FLOR CON GINECEO EXPUESTO. Fenología floral en *P. filifolia* y POA. Flor con cambio de color (a, b, f, g, h, k, l, m, o, q). Flor en aspa con orificio alargado (b, h) y flor más en cruz con orificio redondeado y pétalos alternisépalos (l, m). Cambio de color en los estambres (c, f, k, n, o, q) y anteras más o menos vacías y arqueadas en L o T (c, d, f, k, n, o, q). Fase femenina, gineceo con polen (c, f, m, o, q) y tubos polínicos en el estigma (j), ovario (e) y llegando al óvulo (p).

En las *anteras* la dehiscencia es ya generalizada (100%) disminuyendo su contenido polínico a medida que avanza el estadio (E5a) según afluencia de polinizadores (Tablas 1.7-1.8 y Figs.1.30-1.45). A medida que se vacían presentan *cambios* de aspecto y disposición, observándose que sus ápices se pueden recurrvar hasta que se vuelven más o menos revolutos excepto en PGB y PF (Figs.1.51-1.55).

Las anteras también se pueden arquear o pueden girar horizontalmente respecto a su filamento estaminal, a modo de L (solo la mitad) que a veces continúa a totalmente horizontal y se disponen a modo de T (frecuente en PGB, POA y PAC).

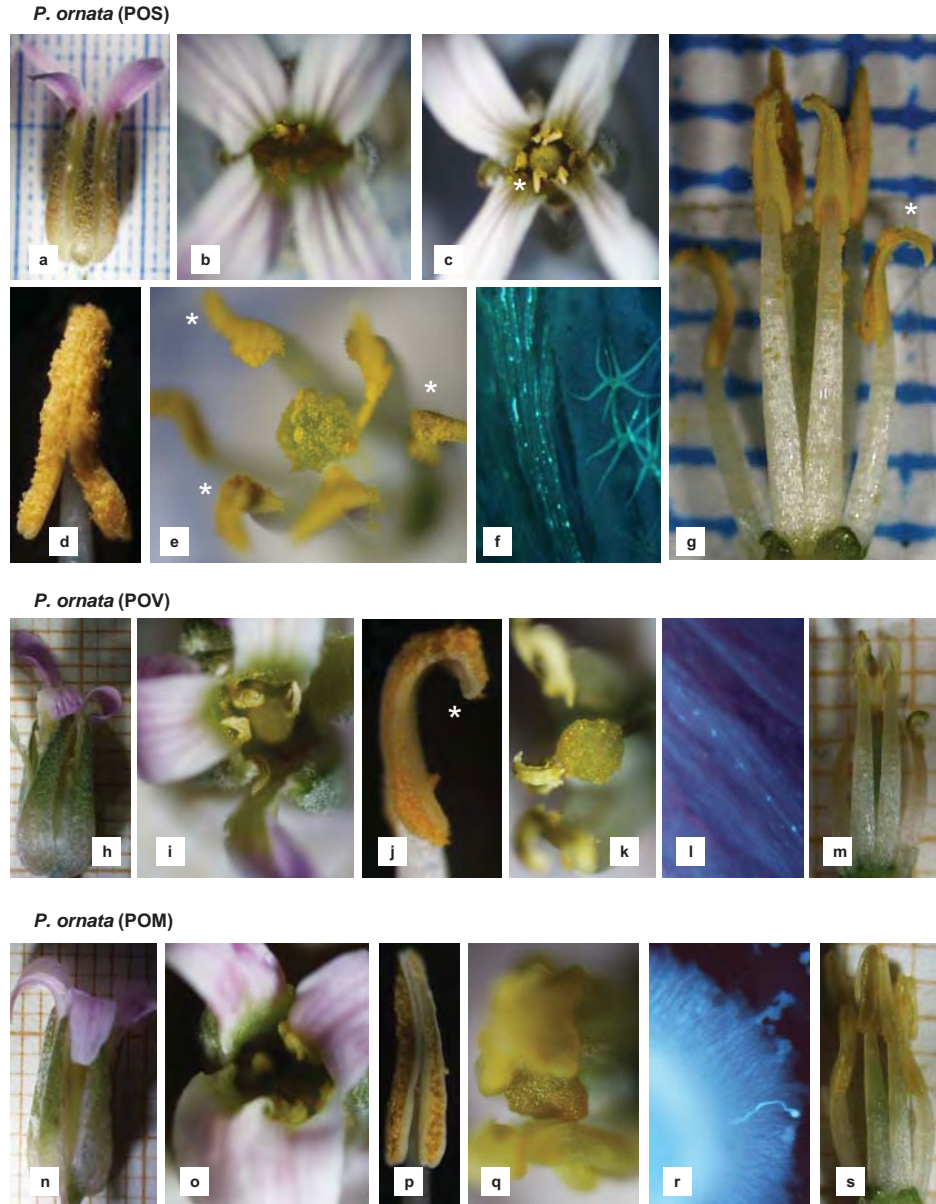


Figura 1.34. - ESTADÍO 5a: FLOR CON GINECEO EXPUESTO. Fenología floral en *P. ornata*. Flor con estigma cubierto de polen (a, b, c, g, e, h, i, k, n, o q). Pétalos en aspa con orificio alargado (b) y con orificio redondeado elíptico (c, o), pétalos alternisépalos (c, i). Anteras todavía con polen \pm arqueadas y con ápices \pm revolutos (c, d, e, g, i, j, k, m, p, q, s). Fase femenina, gineceo con polen (c, e, g, i, k, q) y tubos polínicos en el estilo en POS y POV (f, l) y todavía en el estigma en POM (r).

Casi al final, se pueden observar anteras retorcidas de forma helicoidal a lo largo de su eje (PFT, POV, PPG, PIT).

4.2.6.1.2. *Gineceo E5a*

El gineceo sigue creciendo gradualmente en todas las especies y el *estigma* bien visible se observa generalmente más cubierto de polen. Se suele encontrar en la mitad o ápice de las *anteras cortas* (62-99%) pudiendo superarlas en PGB (46%), PIA (64%) y PSA (60%).

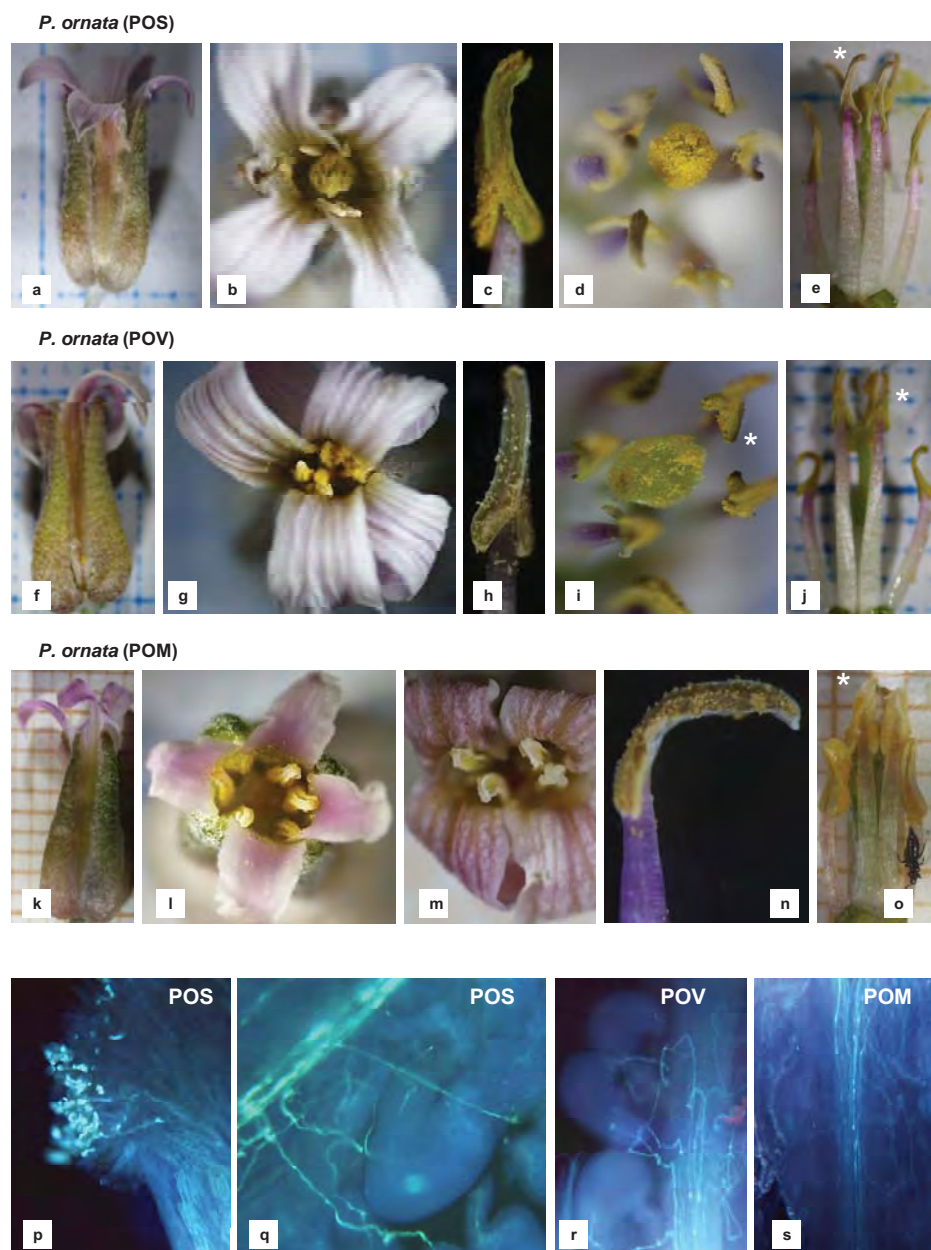


Figura 1.35.- ESTADÍO 5b: FLOR CON GINECEO EXPUESTO. Fenología floral en *P. ornata*. Flor con cambio de color (a, b, e, f, g, i, j, k, l, m). Flor en aspa con orificio elíptico (b, g, m) y con pétalos todavía imbricados (g) o alternisépalos (b) y flor más en cruz con pétalos alternisépalos (l). Cambio de color en los estambres (c, d, e, h, i, j, n, o) y anteras más o menos vacías (c, h, n), curvadas en el ápice, en L y/o helicoidal (d, e, i, j, n, o). Fase femenina, gineceo con polen (b, d, e, g, j, l) y tubos polínicos desde el estigma (p) al ovario (s) algunos llegando al óvulo en POS y POV (q, r).

El *estigma* rara vez alcanza la mitad de las anteras medias, situándose mayoritariamente en la base de las mismas (PFA, POA, POS, POM, PPG, PIT, PIA, PSA) o en el filamento estaminal en PGB, PFT, POV, PPG, PSA, PAC (Tablas 1.10-1.11 y Fig.1.41).

En el *estilo* de casi todas las poblaciones se pueden observar *tubos polínicos*, a excepción de POM y PSA todavía solo con algunos tubos en la superficie del *estigma* (Tabla 1.7).

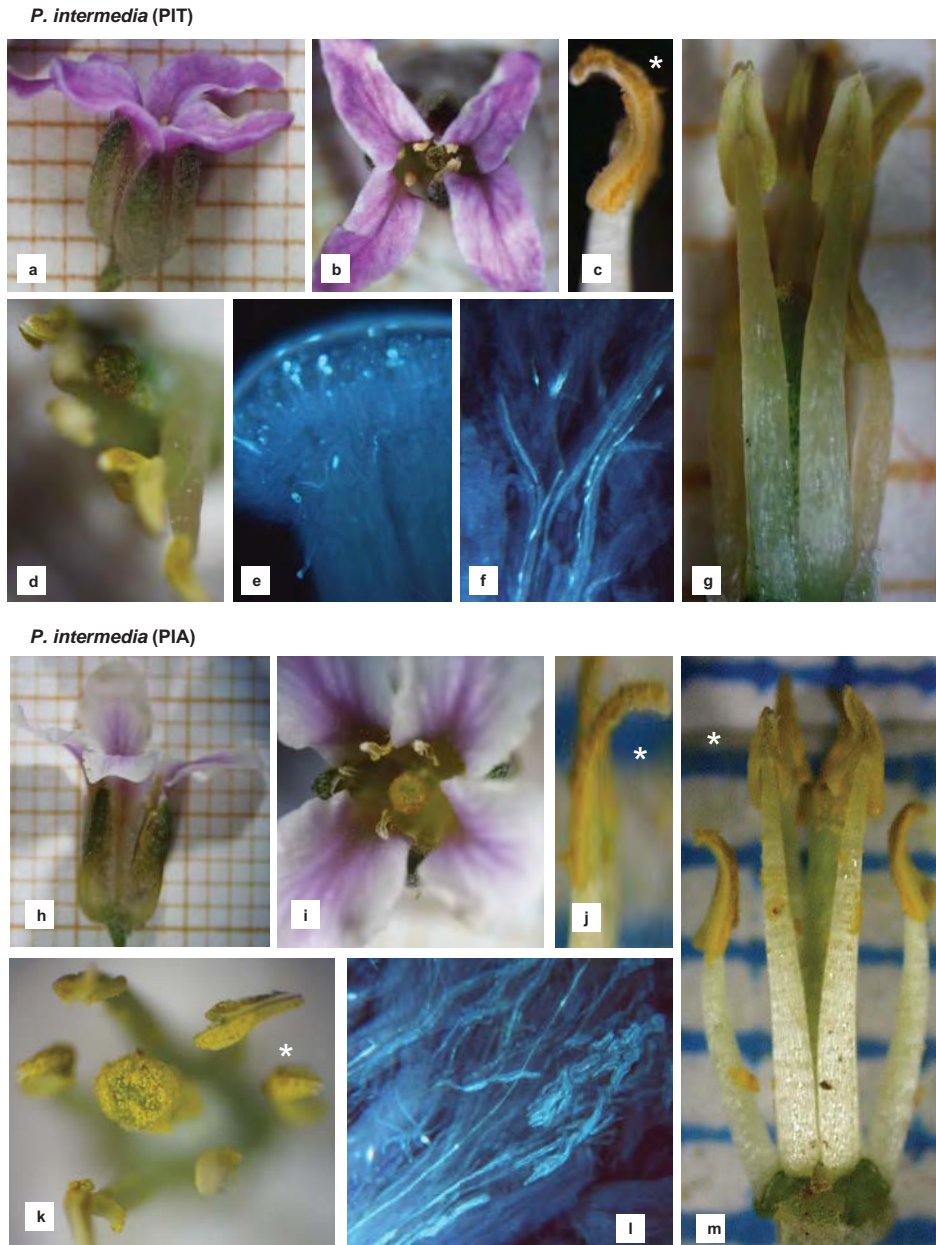


Figura 1.36.- ESTADÍO 5a: FLOR CON GINECEO EXPUESTO. Fenología floral en *P. intermedia*. Flor con estigma cubierto de polen (a, b, d, g, h, i, k, m). Flor en aspa con orificio alargado (b), pétalos alternisépalo con cambio de color (a, b, h, i). Anteras todavía con polen (c, j, k, m), arqueadas en L y ápices curvos ± revolutos (j, k, l). Fase femenina, gineceo con polen (b, d, g, i, k, m) y tubos polínicos en el estigma y estilo (e, f, l).

La duración de esta fase sub-estadio (E5a) es de uno a dos días según poblaciones (Tabla 1.7 y Fig. 1.50).

4.2.6.2. Fase o sub-estadio E5b

Las características que definen esta fase del estadio E5 en cada taxon, se muestran en las Figs.1.30, 1.31, 1.33, 1.35, 1.37-1.39 y en la Tabla 1.8.

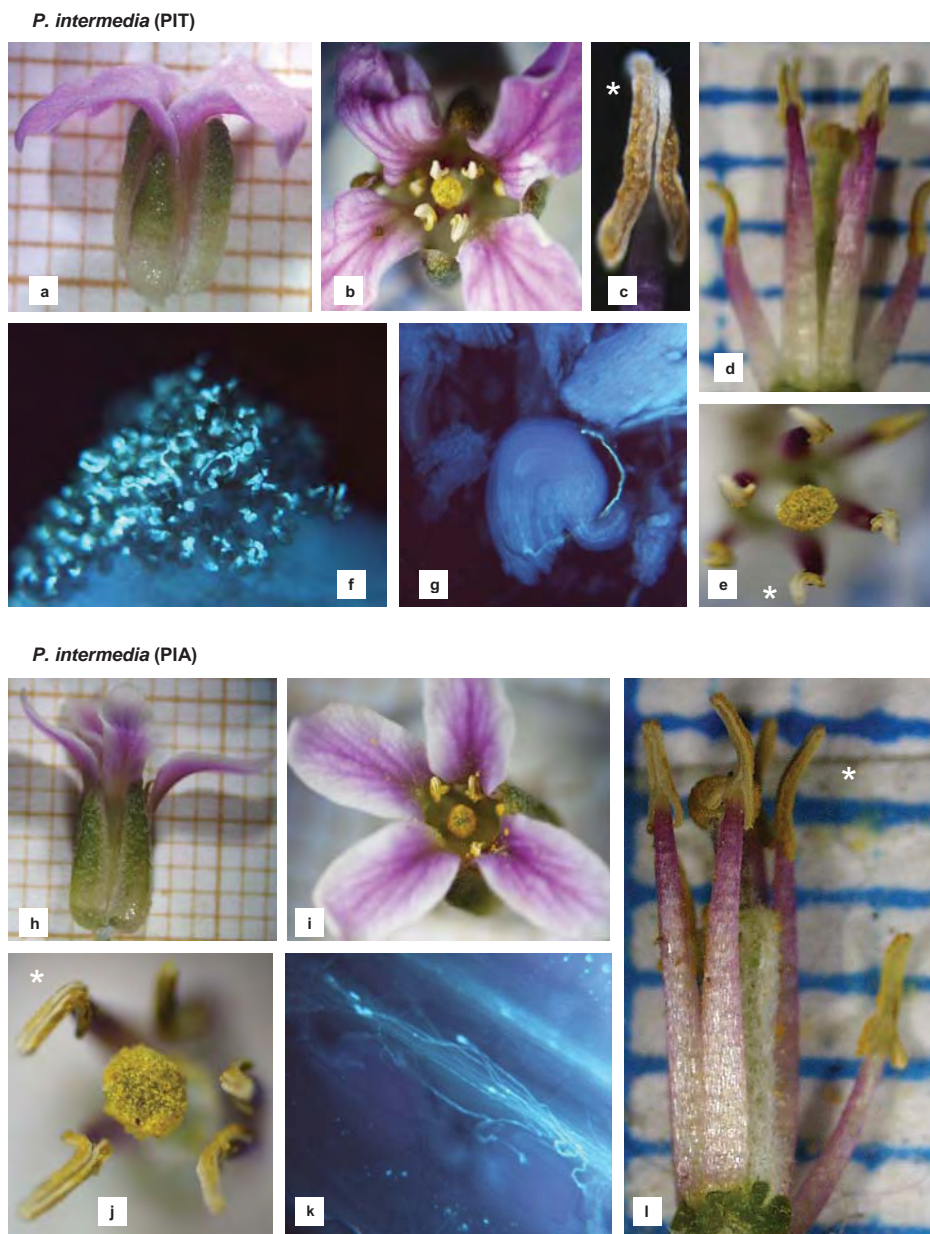


Figura 1.37.- ESTADÍO 5b: FLOR CON GINECEO EXPUESTO. Fenología floral en *P. intermedia*. Flor con cambio de color (a, b, d, e, h, i, l). Pétalos más o menos en cruz con orificio central redondeado (b) o alargado (i) y pétalos alternisépalos (a, b, h). Cambio de color en los estambres (c, d, e, j, l) y anteras más o menos vacías (b, c, d, e, i, j, l), ± arqueadas en L (b, e, j) y helicoidal (c). Fase femenina, gineceo con más polen (b, d, e, i, j, l) y tubos polínicos en estigma (f) y ovario llegando al óvulo (g, k).

El principal marcador de esta fase (E5b) es el *cambio de color* del androceo y gineceo. Se considera la *fase femenina por excelencia* ya que todas las poblaciones presentan *estigmas receptivos* con *tubos polínicos* que alcanzan el *ovario* y *óvulos* (Tabla 1.8 y Fig. 1.49).

4.2.6.2.1. Androceo E5b

En el ápice de los *filamentos estaminales* todas las especies comienzan un cambio de coloración a rosa o violeta. Las *anteras* medio vacías que todavía pueden conservar algo de polen (según visita de insectos) continúan los cambios iniciados anteriormente de forma más acusada y generalizada.

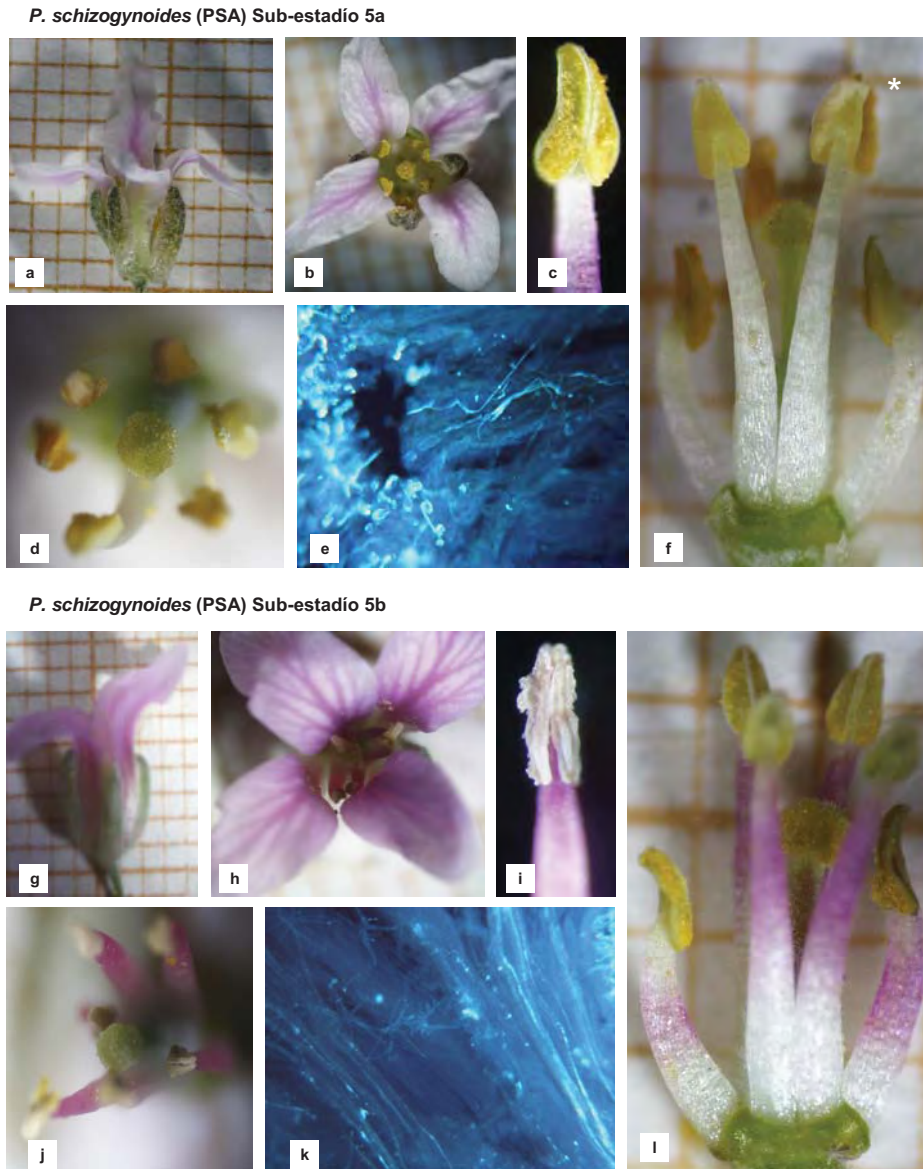


Figura 1.38.- ESTADÍOS 5: FLOR CON GINECEO EXPUESTO. Fenología floral en *P. schizogynoides*. Flor con estigma cubierto de polen y cambio de color (a, b, c, d, f, g, h, i, j, l). Pétalos en cruz, alternisépalos (a, b), con orificio central redondeado (b) y pétalos más en aspa con orificio elíptico (h). Cambio de color en los estambres (i, j, l) y anteras más o menos vacías (c, d, f, i, j, l) con ápices curvos (c, f). Fase femenina, gineceo con polen (b, d, e, h, j) y tubos polínicos en el estigma, estilo (e) y ovario (k).

4.2.6.2.2. Gineceo E5b

El gineceo continúa su crecimiento y el *estigma* se sigue observando cubierto totalmente de polen. Se observa mayoritariamente en la mitad o ápice de las anteras cortas (64-100%), a veces las puede superar (POA, PIT y PSA) o siempre (PGB y PIA).

El *estigma* en relación a las anteras largas se sitúa en general en la base de las mismas (PGB, PFT, POA, POV, POM, PPG, PIT, PIA) o mayoritariamente en el filamento (PFA, PSA, PAC). Sólo en POS se enfrenta a ellas, situándose hacia la mitad de las mismas (Tablas 1.10-1.11 y Fig. 1.41).

P. aridanae (PAC) Sub-estadio 5a



P. aridanae (PAC) Sub-estadio 5b

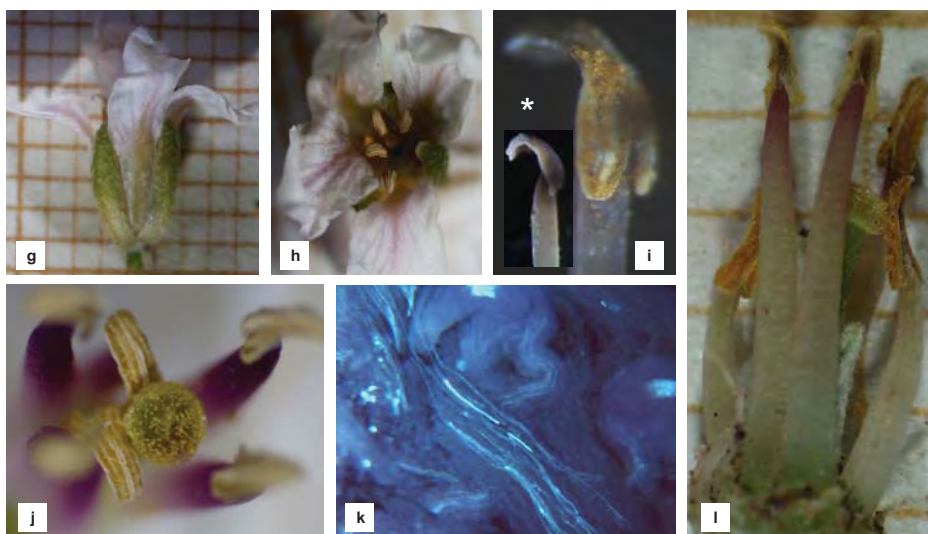


Figura 1.39.- ESTADÍOS 5: FLOR CON GINECEO EXPUESTO. Fenología floral en *P. aridanae*. Flor con estigma cubierto de polen y cambio de color (a, b, d, f, g, h, j, l). Pétalos en aspa o más o menos en cruz (a, b, g, h) con un orificio central alargado (b) o redondeado (h), pétalos alternisépalos (a, b, g). Cambio de color en los estambres (i, j, l) y anteras más o menos vacías arqueadas en L y T con ápices \pm revolutos (h, i, j, l). Fase femenina, estigmas con polen (b, d, f, j, l) y gineceo con tubos polínicos en el estilo (e) y ovario llegando al óvulo (k).

En todas las especies se pueden observar *tubos polínicos* desde el *estigma* que alcanzan el *ovario* y *óvulos* (Tabla 1.8). En la superficie del *estigma* se observan cambios a color violeta.

La duración de esta fase (E5b) oscila entre dos y tres días según poblaciones (Tabla 1.8 y Fig. 1.50).

4.2.7. Estadío 6. Flor madura. Fase femenina

Las características que definen el Estadío 6 en cada taxon se muestran en las Figs.1.40, 1.42-1.45 y Tabla 1.9.

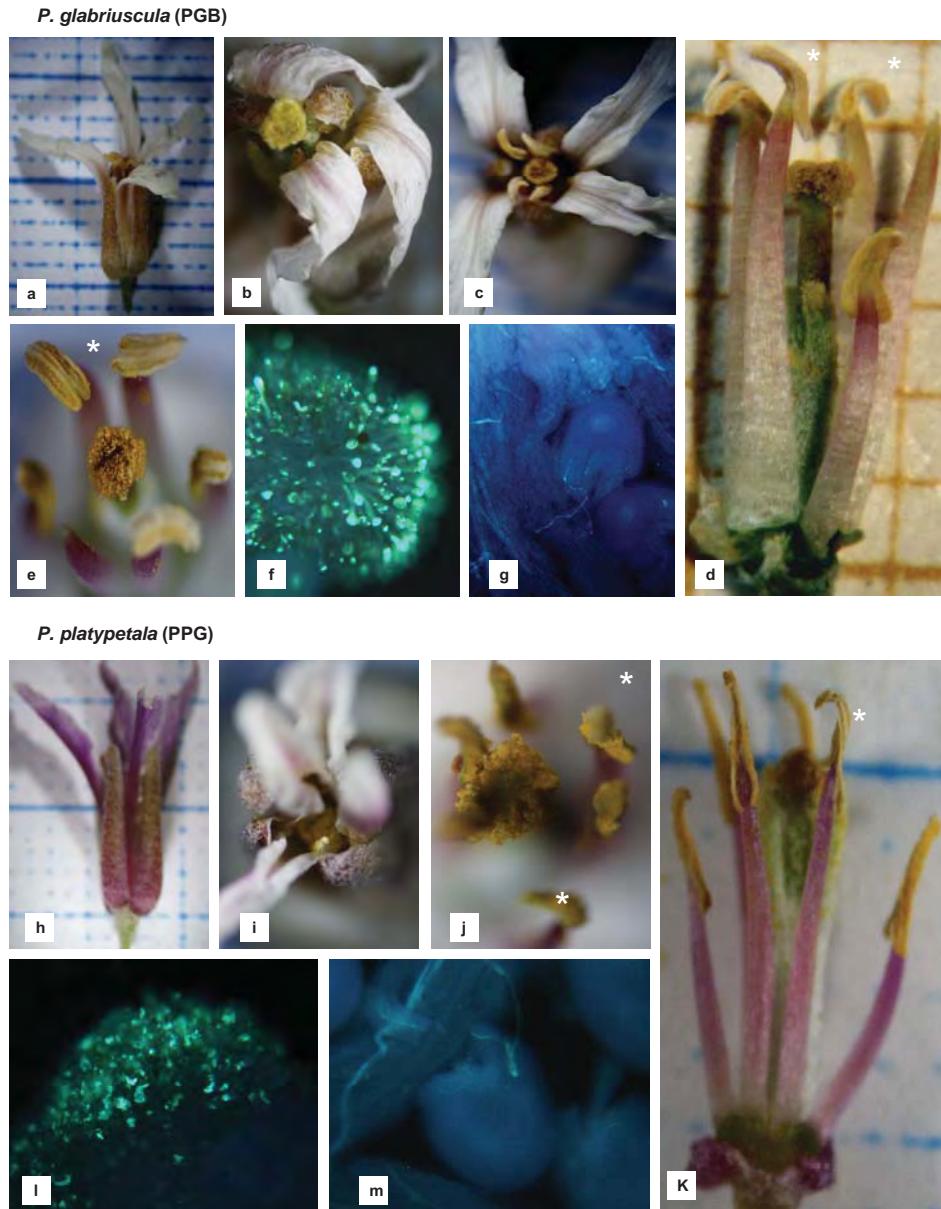


Figura 1.40.- ESTADÍO 6: FLOR FEMENINA MADURA. Fenología floral en *P. glabriuscula* y *P. platypetala*. Flor con signos de marchitamiento en los pétalos (a, b, c, h, i) e intensificación del color en los filamentos estaminales y estigma (d, e, j, k). Anteras vacías arqueadas y estigmas con polen en L, T (d, e, j, k) y tecas con ápices revolutos y retorcida helicoidalmente (k).Tubos polínicos en el estigma (f, l) que alcanzan el ovario y los óvulos (g, m).

Los *sépalos* de color verde pueden cambiar a marrón-púrpura y tienden a unirse más o menos por el ápice, de manera que se estrecha el *orificio* de la flor que a veces no permite ver el interior de la misma.

E6: FLOR FEMENINA MADURA								
POB	CARACTERES EXTERNOS		ANDROCEO		GINECEO			Duración
	Cáliz Sépalos/ color	Corola pétalos/ orificio	Anteras contenido / disposición	Filamentos color	Estigma longitud/ color	Relación androceo (A, a)	Estigma Cobertura polen/ Receptividad TP	
PGB	unión en el ápice cambio a marrón	pérdida de turgencia y retraimiento disposición vertical o caída/ estrechamiento	± vacías +arqueadas en L y en T	intensificación y frecuentemente violetas	5.5 mm violeta	44% ≤ A (m) 41% ≥ a (m)	total ETG-ETL-OVA-OVU	≈ 3 días
PFA	unión en el ápice cambio a marrón	pérdida de turgencia y retraimiento disposición vertical o caída/ estrechamiento	± vacías +arqueadas en L y T?	intensificación y frecuentemente violetas	violeta	45% ≤ A (m) 79% ≤ a (ap)	total ETG-ETL-OVA-OVU	≈ 2 días
PFT	unión en el ápice cambio a marrón	pérdida de turgencia y retraimiento disposición vertical o caída/ estrechamiento	± vacías +arqueadas en L, retorcimiento helicoidal y ápices ± revolutos	intensificación y frecuentemente violetas	violeta	22% ≤ A (m) 69% ≥ a (m)	total ETG-ETL-OVA-OVU	≈ 2 días
POA	unión en el ápice cambio a marrón	pérdida de turgencia y retraimiento disposición vertical o caída/ estrechamiento	± vacías +arqueadas en L, en T y ápices ± revolutos	intensificación y frecuentemente violetas	violeta	68% = A (m) 67% ≥ a (m)	total ETG-ETL-OVA-OVU	≈ 2 días
POS	unión en el ápice cambio a marrón	pérdida de turgencia y retraimiento disposición vertical o caída/ estrechamiento	± vacías +arqueadas, ápices ± revolutos	intensificación y frecuentemente violetas	violeta	77% ≤ A (m) 63% ≥ a (m)	total ETG-ETL-OVA-OVU	≈ 2 días
POV	unión en el ápice cambio a marrón	pérdida de turgencia y retraimiento disposición vertical o caída/ estrechamiento	± vacías +arqueadas, ápices ± revolutos y retorcimiento helicoidal	intensificación y frecuentemente violetas	violeta	59% ≤ A (m) 56% ≥ a (m)	total ETG-ETL-OVA-OVU	≈ 2 días
POM	unión en el ápice cambio a marrón	pérdida de turgencia y retraimiento disposición vertical o caída/ estrechamiento	± vacías +arqueadas en L, ápices ± revolutos	intensificación y frecuentemente violetas	violeta	44% = A (b) 88% ≤ a (ap)	total ETG-ETL-OVA-OVU	≈ 2 días
PPG	unión en el ápice cambio a marrón	pérdida de turgencia y retraimiento disposición vertical o caída/ estrechamiento	± vacías +arqueadas en L y retorcidas helicoidalmente, ápices ±	intensificación y frecuentemente violetas	6.0 mm violeta	66% ≤ A (m) 90% ≤ a (ap)	total ETG-ETL-OVA-OVU	≈ 2 días
PIT	unión en el ápice cambio a marrón	pérdida de turgencia y retraimiento disposición vertical o caída/ estrechamiento	± vacías +arqueadas, ápices ± revolutos y retorcimiento helicoidal	intensificación y frecuentemente violetas	violeta	47% ≤ A (m) 63% ≤ a (ap)	total ETG-ETL-OVA-OVU	≈ 3 días
PIA	unión en el ápice cambio a marrón	pérdida de turgencia y retraimiento disposición vertical o caída/ estrechamiento	± vacías +arqueadas en L y T?, ápices ± revolutos	intensificación y frecuentemente violetas	violeta	62% ≤ A (m) 62% ≥ a (m)	total ETG-ETL-OVA-OVU	≈ 2 días
PSA	unión en el ápice cambio a marrón	pérdida de turgencia y retraimiento disposición vertical o caída/ estrechamiento	± vacías + arqueadas en L, ápices ± revolutos	intensificación y frecuentemente violetas	ocasionalmente violeta	21% ≤ A (m) 43% ≥ a (m)	total ETG-ETL-OVA-OVU	≈ 2 días
PAC	unión en el ápice cambio a marrón	pérdida de turgencia y retraimiento disposición vertical o caída/ estrechamiento	± vacías + arqueadas en L, en T, ápices ± revolutos	intensificación y frecuentemente violetas	violeta	55% ≤ A (m) 59% ≤ a (ap)	total ETG-ETL-OVA-OVU	≈ 2 días

Tabla 1.9.- Fenología floral Estadio 6: FLOR FEMENINA MADURA. A= estambres medios o largos; a= estambres laterales o cortos; base de las anteras (b), mitad (m) y ápice (ap). TP= tubos polínicos; ETG= estigma; ETL= estilo; OVA= ovario; OVU= óvulos.

Los *pétalos*, en este estadio de flor madura en fase todavía femenina (E6), pierden *turgencia*, se retraen por los bordes y se pueden disponer verticalmente o también caer, pudiendo observarse incluso las dos formas en la misma flor.

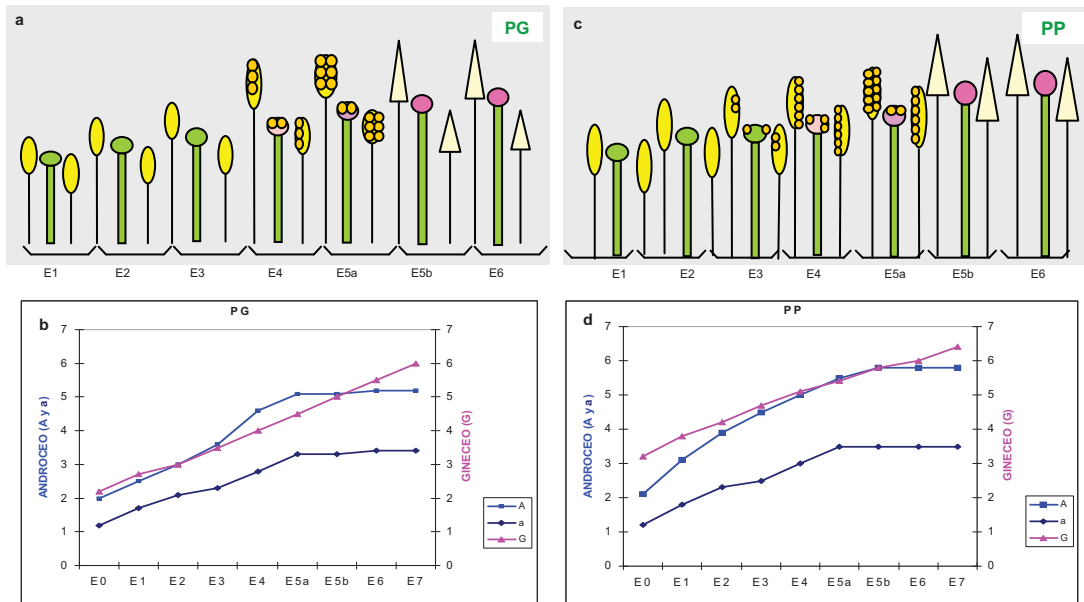


Figura 1.41.- Crecimiento del androceo y gineceo en *P. glabriuscula* (PG) y *P. platypetala* (PP) según los estadios fenológicos (E1-E6). Esquema de la posición del estigma en relación a las anteras (a, c); Gráfica de crecimiento del androceo (filamentos estaminales) y del gineceo según su longitud en mm (b, d). A= filamentos de los estambres largos o medios; a= filamentos de los estambres cortos o laterales.

PGB	ESTIGMA posición en relación a las anteras de los estambres largos (A) y cortos (a)							
	a (b)	a (m)	a (ap)	> a	F	A (b)	A (m)	A (ap)
E0	0%	15%	62%	23%	0%	8%	77%	15%
E1	3%	12%	44%	41%	4%	24%	59%	13%
E2	4%	6%	25%	65%	14%	43%	32%	11%
E3	0%	22%	22%	56%	29%	52%	18%	1%
E4	0%	28%	43%	29%	39%	23%	38%	0%
E5a	5%	12%	37%	46%	51%	32%	17%	0%
E5b	3%	4%	25%	68%	43%	26%	27%	4%
E6	0%	7%	34%	59%	56%	29%	15%	0%

PPG	ESTIGMA posición en relación a las anteras de los estambres largos (A) y cortos (a)							
	a (b)	a (m)	a (ap)	> a	F	A (b)	A (m)	A (ap)
E0	0%	0%	50%	50%	0%	0%	0%	100%
E1	2%	34%	45%	19%	1%	28%	62%	9%
E2	3%	42%	35%	20%	6%	47%	38%	9%
E3	8%	34%	38%	20%	19%	63%	18%	0%
E4	8%	37%	17%	38%	21%	62%	17%	0%
E5a	22%	49%	17%	12%	47%	41%	10%	2%
E5b	19%	31%	35%	15%	45%	44%	10%	1%
E6	17%	40%	33%	10%	34%	61%	5%	0%

Tabla 1.10.- Posición del estigma en relación a las anteras de los estambres cortos (a) y las anteras de los estambres largos (A) en *P. glabriuscula* (PGB) y *P. platypetala* (PP). b= base de las anteras; m= mitad de las anteras; ap= ápice de las anteras; F= filamento estaminal. La trama gris más oscura representa la posición del estigma que alcanza a las anteras (A, a).

4.2.7.1. Androceo E6

En el androceo, donde ya no se observa crecimiento alguno, los *filamentos estaminales* intensifican su coloración y frecuentemente se encuentran completamente violetas.

Resultados

PFA	ESTIGMA posición en relación a las anteras de los estambres largos (A) y cortos (a)							
	a (b)	a (m)	a (ap)	> a	F	A (b)	A (m)	A (ap)
E0	0%	100%	0%	0%	0%	0%	100%	0%
E1	0%	83%	17%	0%	8%	17%	75%	0%
E2	0%	17%	58%	25%	0%	69%	19%	12%
E3	0%	88%	12%	0%	67%	30%	3%	0%
E4	14%	72%	14%	0%	43%	36%	21%	0%
E5a	15%	43%	20%	22%	32%	55%	13%	0%
E5b	11%	78%	11%	0%	78%	22%	0%	0%
E6	6%	46%	27%	21%	55%	33%	12%	0%

PFT	ESTIGMA posición en relación a las anteras de los estambres largos (A) y cortos (a)							
	a (b)	a (m)	a (ap)	> a	F	A (b)	A (m)	A (ap)
E0	0%	33%	50%	17%	0%	0%	100%	0%
E1	0%	0%	60%	40%	0%	0%	100%	0%
E2	0%	36%	50%	14%	0%	64%	29%	7%
E3	0%	64%	22%	14%	14%	86%	0%	0%
E4	12%	25%	25%	38%	53%	40%	7%	0%
E5a	3%	48%	23%	26%	67%	31%	1%	1%
E5b	3%	30%	31%	36%	52%	44%	4%	0%
E6	5%	57%	12%	26%	78%	17%	5%	0%

POA	ESTIGMA posición en relación a las anteras de los estambres largos (A) y cortos (a)							
	a (b)	a (m)	a (ap)	> a	F	A (b)	A (m)	A (ap)
E0	0%	0%	25%	75%	0%	0%	100%	0%
E1	0%	7%	43%	50%	0%	9%	84%	7%
E2	0%	3%	84%	13%	0%	80%	13%	7%
E3	36%	36%	14%	14%	70%	25%	0%	5%
E4	0%	84%	8%	8%	66%	17%	17%	0%
E5a	3%	33%	27%	37%	37%	53%	8%	2%
E5b	0%	13%	39%	48%	37%	53%	8%	2%
E6	5%	14%	53%	28%	32%	68%	0%	0%

POV	ESTIGMA posición en relación a las anteras de los estambres largos (A) y cortos (a)							
	a (b)	a (m)	a (ap)	> a	F	A (b)	A (m)	A (ap)
E0	0%	100%	0%	0%	0%	0%	100%	0%
E1	0%	100%	0%	0%	12%	88%	0%	0%
E2	0%	72%	14%	14%	29%	68%	3%	0%
E3	25%	75%	0%	0%	60%	40%	0%	0%
E4	0%	99%	1%	0%	50%	50%	0%	0%
E5a	9%	79%	11%	1%	65%	34%	1%	0%
E5b	0%	47%	32%	21%	41%	59%	0%	0%
E6	4%	39%	17%	40%	37%	50%	9%	4%

POM	ESTIGMA posición en relación a las anteras de los estambres largos (A) y cortos (a)							
	a (b)	a (m)	a (ap)	> a	F	A (b)	A (m)	A (ap)
E0	0%	100%	0%	0%	0%	100%	0%	0%
E1	0%	88%	0%	12%	12%	50%	38%	0%
E2	0%	31%	56%	13%	0%	69%	25%	6%
E3	0%	71%	29%	0%	43%	57%	0%	0%
E4	50%	50%	0%	0%	33%	67%	0%	0%
E5a	20%	63%	16%	1%	42%	58%	0%	0%
E5b	19%	70%	11%	0%	52%	48%	0%	0%
E6	15%	65%	8%	12%	52%	44%	4%	0%

PIT	ESTIGMA posición en relación a las anteras de los estambres largos (A) y cortos (a)							
	a (b)	a (m)	a (ap)	> a	F	A (b)	A (m)	A (ap)
E0	0%	0%	50%	50%	0%	0%	0%	100%
E1	0%	25%	56%	19%	6%	52%	19%	23%
E2	0%	29%	50%	21%	0%	96%	4%	0%
E3	0%	50%	43%	7%	37%	52%	0%	11%
E4	0%	99%	1%	0%	50%	50%	0%	0%
E5a	0%	33%	34%	33%	33%	67%	0%	0%
E5b	12%	0%	38%	50%	37%	63%	0%	0%
E6	17%	17%	29%	37%	51%	43%	4%	2%

PIA	ESTIGMA posición en relación a las anteras de los estambres largos (A) y cortos (a)							
	a (b)	a (m)	a (ap)	> a	F	A (b)	A (m)	A (ap)
E0	0%	100%	0%	0%	0%	0%	100%	0%
E1	0%	10%	53%	37%	0%	0%	79%	21%
E2	0%	33%	67%	0%	0%	42%	58%	0%
E3	6%	22%	44%	28%	0%	75%	18%	7%
E4	0%	33%	0%	67%	33%	67%	0%	0%
E5a	0%	0%	36%	64%	14%	72%	14%	0%
E5b	0%	27%	8%	65%	21%	60%	19%	0%
E6	0%	29%	33%	38%	38%	56%	6%	0%

PSA	ESTIGMA posición en relación a las anteras de los estambres largos (A) y cortos (a)							
	a (b)	a (m)	a (ap)	> a	F	A (b)	A (m)	A (ap)
E0	0%	14%	64%	22%	0%	36%	50%	14%
E1	9%	4%	28%	59%	18%	59%	20%	3%
E2	0%	0%	52%	48%	28%	63%	8%	1%
E3	0%	0%	28%	72%	19%	69%	11%	1%
E4	0%	25%	25%	50%	75%	0%	25%	0%
E5a	0%	30%	10%	60%	43%	32%	20%	5%
E5b	0%	22%	22%	56%	81%	13%	6%	0%
E6	0%	12%	31%	57%	79%	15%	6%	0%

PAC	ESTIGMA posición en relación a las anteras de los estambres largos (A) y cortos (a)							
	a (b)	a (m)	a (ap)	> a	F	A (b)	A (m)	A (ap)
E0	0%	25%	75%	0%	0%	0%	100%	0%
E1	1%	18%	33%	48%	6%	43%	45%	6%
E2	7%	18%	38%	37%	34%	48%	14%	4%
E3	16%	28%	34%	22%	66%	27%	6%	1%
E4	37%	47%	9%	7%	23%	3%	74%	0%
E5a	26%	15%	21%	38%	71%	13%	15%	1%
E5b	26%	13%	37%	24%	86%	4%	10%	0%
E6	9%	23%	27%	41%	43%	18%	37%	2%

Tabla 1.11.- Posición del estigma en relación a las anteras de los estambres cortos (a) y las anteras de los estambres largos (A) en *P. filifolia* (PFT, PFA), POA, *P. ornata* (POS, POV, POM), *P. intermedia* (PIT, PIA), *P. schizogynoides* (PSA) y *P. aridanae* (PAC). b= base de las anteras; m= mitad de las anteras; ap= ápice de las anteras; f= filamento estaminal. b= base de las anteras; m= mitad de las anteras; ap= ápice de las anteras; F= filamento estaminal. La trama gris más oscura representa la posición del estigma que alcanza a las anteras (A, a).

En las *anteras*, más vacías, continúan los *cambios* de disposición que se hacen más generalizados. Pueden seguir recurvándose y/o arqueándose, o con giro horizontal en L y/o T, y/o más retorcidas helicoidalmente.

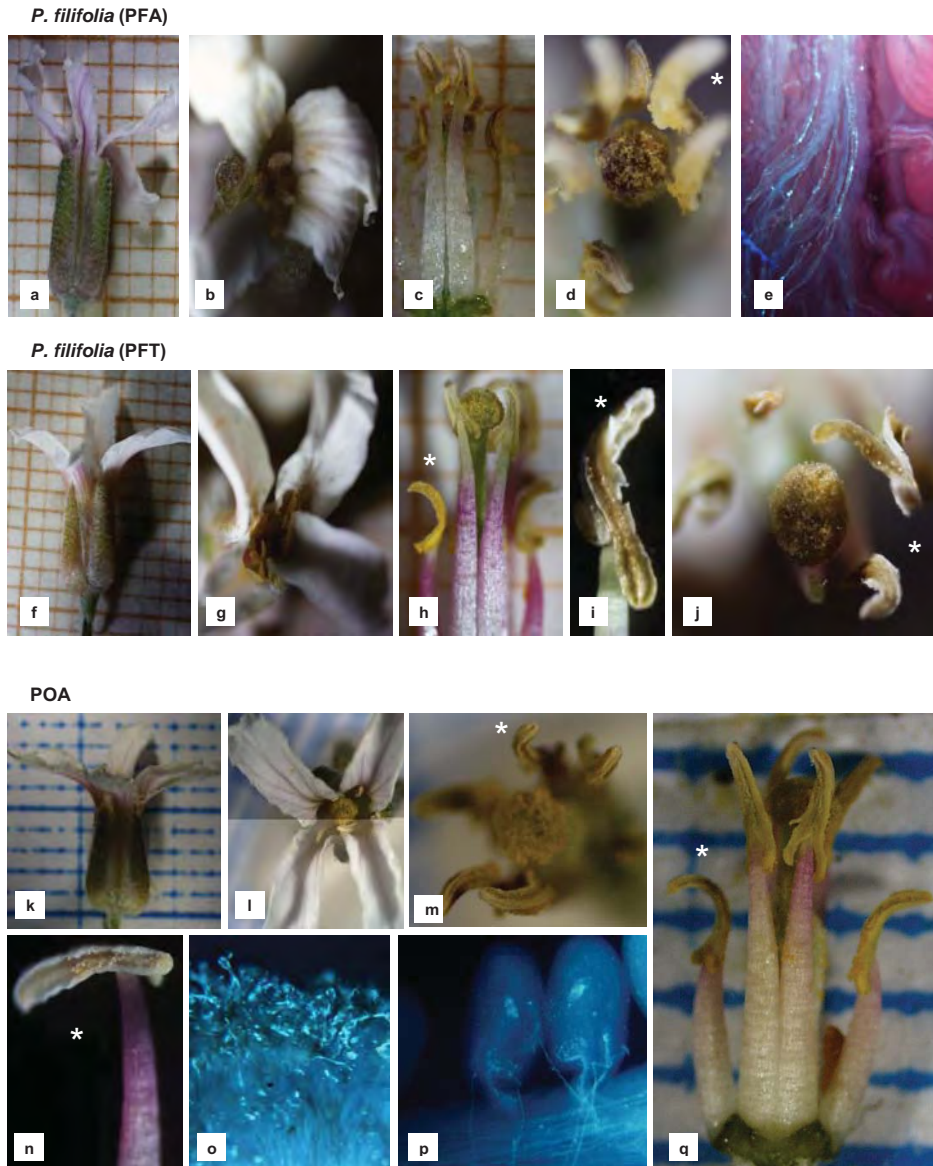


Figura 1.42.- ESTADÍO 6: FLOR FEMENINA MADURA. Fenología floral en *P. filifolia* y POA. Flor con signos de marchitamiento en los pétalos (a, b, f, g, k, l) e intensificación del color en filamentos estaminales y estigma (h, n, q). Estigmas con polen y anteras vacías arqueadas en L, T con ápices revolutos (c, d, h, j, m, n, q) retorcidas helicoidalmente (i). Tubos polínicos en estigma (o) y ovario alcanzando los óvulos (e, p).

Al final de este estadio (E6) cuando las las anteras se observan prácticamente vacías, se pueden separar las *tecas* en la base, mostrándose como una T invertida principalmente en PIT y PIA (Fig.1.54) y a veces en PGB y PAC (Figs.1.51 y 1.55).

4.2.7.2. *Gineceo E6*

El gineceo continúa creciendo pudiendo sobrepasar el orificio de la flor. El *estigma* todavía con polen, intensifica el color violeta. Se encuentra mayoritariamente a la altura de las *anteras cortas* (60-90%) o puede superarlas en PGB y PSA (50%).

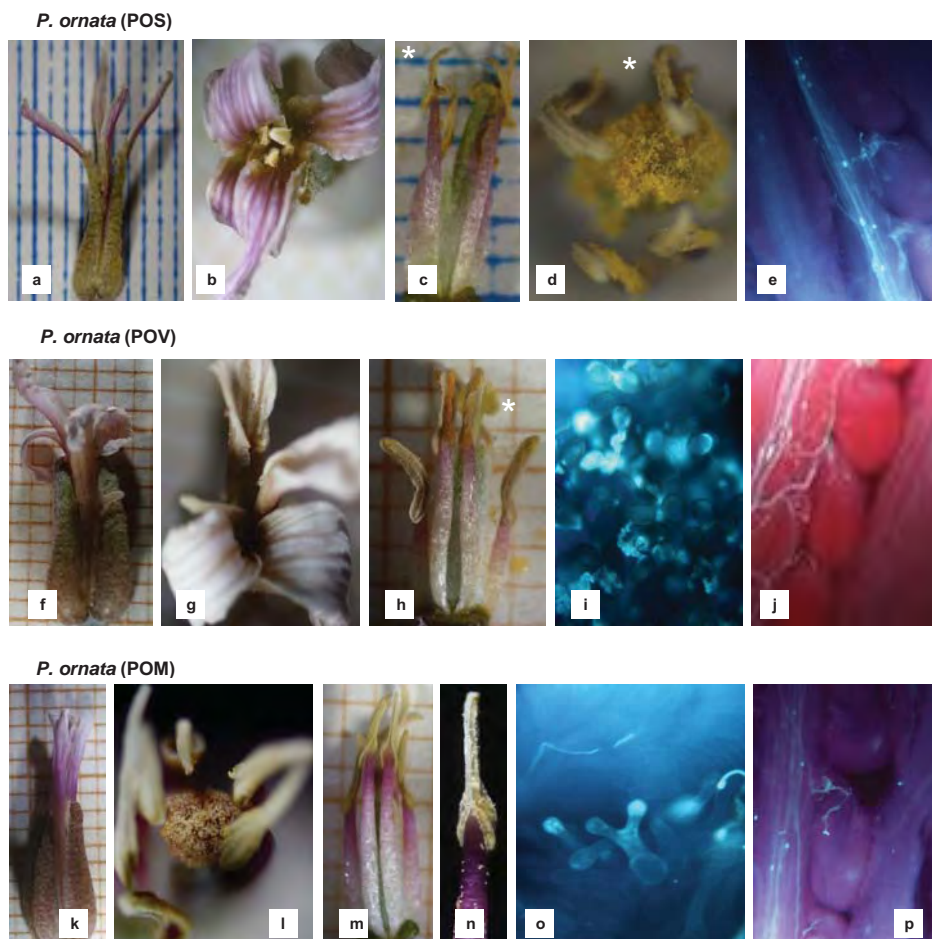


Figura 1.43.- ESTADÍO 6: FLOR FEMENINA MADURA. Fenología floral en *P. ornata*. Flor con signos de marchitamiento en los pétalos (a, b, f, g, k, l) e intensificación del color en los filamentos estaminales y estigma (c, h, m, n). Anteras vacías arqueadas con ápices revolutos (c, d, h, l, m, n). Estigmas todavía con polen (c, d, l). Tubos polínicos en el estigma (i, o) y en el ovario alcanzando los óvulos (e, j, p). Estigma con papilas Y en POM (o).

En este estadio (E6), el *estigma* rara vez alcanza la mitad de las *anteras largas* (POS y PAC) pudiendo llegar a la base (POA y PPG) o solo al filamento estaminal (PFT, PSA) en la mayoría de las poblaciones: PGB, PFA, POV, POM, PIT y PIA (Tablas 1.10-1.11 y Fig.1.41).

En el *gineceo* (E6) de todas las especies se observan *tubos polínicos* que llegan al *ovario* de forma generalizada y pueden alcanzar los *óvulos* (Tabla 1.9).

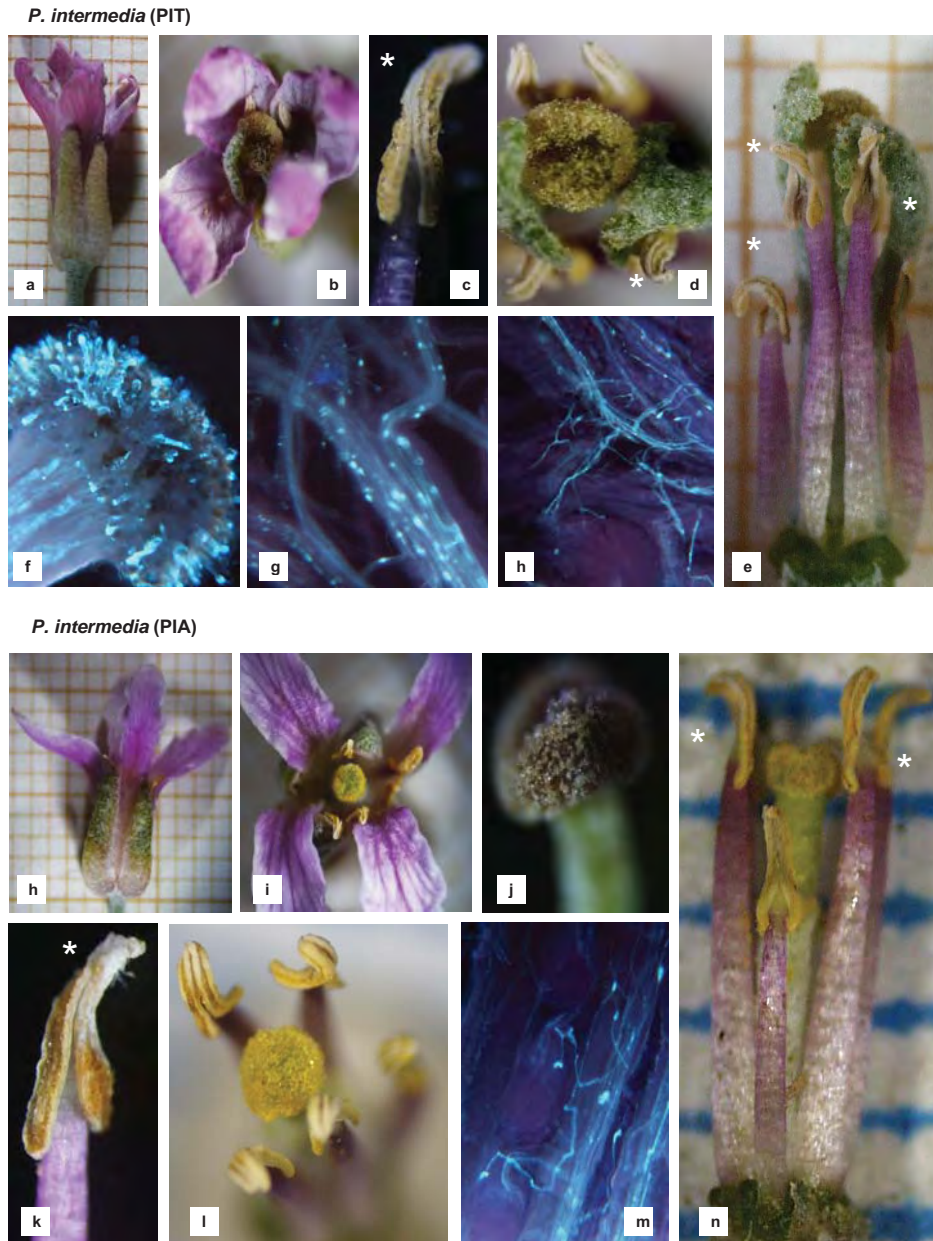
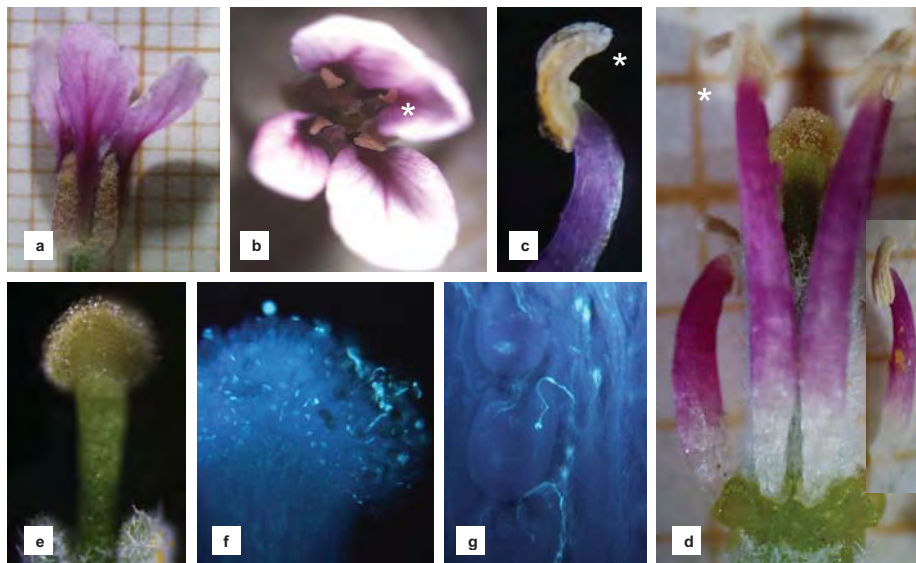


Figura 1.44.- ESTADIO 6: FLOR FEMENINA MADURA. Fenología floral en *P. intermedia*. Flor con signos de marchitamiento en los pétalos (a, b, h, i) e intensificación del color en los filamentos estaminales y estigma (c, d, e, j, k, l, n). Anteras vacías arqueadas en L, T con ápices curvos (d, e, i, m) y retorcidas helicoidalmente (c, e, k). Estigmas todavía con polen (b, d, e, i, j, l, n). Tubos polínicos en el estigma y estilo (f, g) que alcanzan el ovario y óvulos (h, m).

La duración del estadio puede oscilar entre dos y tres días (Tabla 1.9 y Fig.1.50).

P. schizogynoides (PSA)



P. aridanae (PAC)

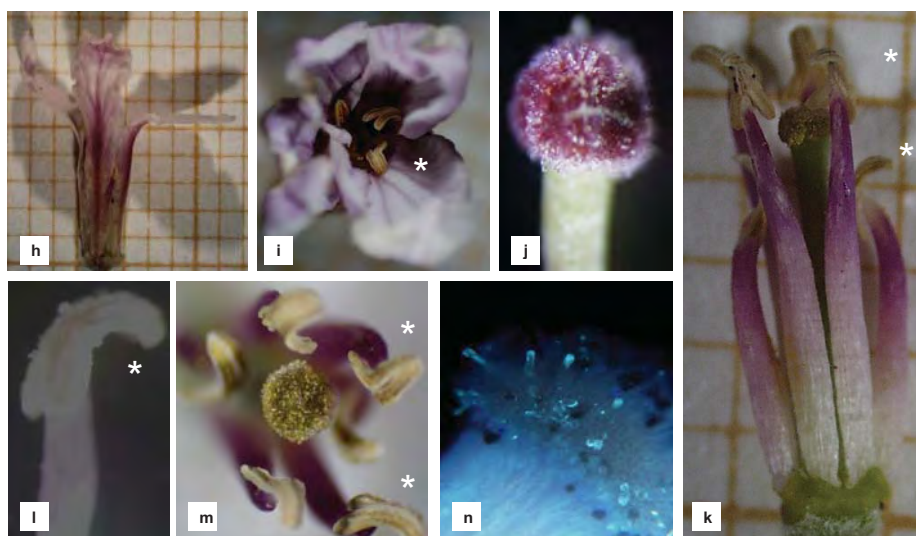


Figura 1.45.- ESTADÍO 6: FLOR FEMENINA MADURA. Fenología floral en *P. schizogynoides* y *P. aridanae*. Flor con signos de marchitamiento en los pétalos (a, b, h, i) e intensificación del color en los filamentos estaminales y estigma (c, d, j, k, l, m). Anteras vacías arqueadas en L, T con ápices curvos (b, c, d, i, k, l, m). Estigmas todavía con polen (d, e, k, m). Tubos polínicos en el estigma (f, n) que alcanzan el ovario y los óvulos (g).

4.2.8. Estadio 7. Flor marchita con pérdida de verticilos

Las características que definen el Estadio 7 en cada taxon se muestran en la Tabla 1.12 y las Figs.1.46-1.48.

En la *flor marchita* los *sépalos* y *pétalos* siguen perdiendo turgencia y cambiando su coloración con síntomas más intensos de marchitamiento, pudiendo caerse paulatinamente junto con los estambres. Al final del estadio se puede observar exclusivamente el gineceo.

4.2.8.1. *Androceo E7*

Las *anteras* cuando persisten, siguen presentando los cambios ya descritos en los últimos estadios.

E7: FLOR MARCHITA CON PÉRDIDA DE VERTICILLOS							
POB	CARACTERES EXTERNOS		ANDROCEO		GINECEO		Duración (días)
	Cáliz	Corola	Anteras contenido/ disposición	Filamentos	Longitud (mm)	Estigma polen/ color	
PGB	inicio de caída	inicio de caída	vacías +arqueadas L y en T	inicio de caída	4 - 6	poco violeta	≈ 2
PFA	inicio de caída	inicio de caída	vacías +arqueadas en L y T?	inicio de caída	5 - 8	poco violeta	≈ 1
PFT	inicio de caída	inicio de caída	vacías +arqueadas en L y helicoidal vertical , ápices ± revolutos	inicio de caída	5 - 8	poco violeta	≈ 2
POA	inicio de caída	inicio de caída	vacías +arqueadas en L, en T y ápices ± revolutos	inicio de caída	4 - 6	poco violeta	≈ 1
POS	inicio de caída	inicio de caída	vacías +arqueadas, ápices ± revolutos	inicio de caída	5 -10	poco violeta	≈ 2
POV	inicio de caída	inicio de caída	vacías +arqueadas, ápices ± revolutos y helicoidal vertical	inicio de caída	8 -10	poco violeta	≈ 1
POM	inicio de caída	inicio de caída	vacías +arqueadas en L, ápices ± revolutos	inicio de caída	8 -15	poco violeta	≈ 1
PPG	inicio de caída	inicio de caída	vacías +arqueadas en L y helicoidal vertical , ápices ± revolutos	inicio de caída	4 - 8	poco violeta	≈ 2
PIT	inicio de caída	inicio de caída	vacías +arqueadas, ápices ± revolutos y helicoidal vertical	caída	9 -10	poco violeta	≈ 2
PIA	inicio de caída	inicio de caída	vacías +arqueadas en L y T?, ápices ± revolutos	inicio de caída	4 - 7	poco violeta	≈ 2
PSA	inicio de caída	inicio de caída	vacías + arqueadas en L, ápices ± revolutos	inicio de caída	4 - 7	poco violeta	≈ 2
PAC	inicio de caída	inicio de caída	vacías + arqueadas en L, T, ápices ± revolutos	inicio de caída	4 - 6	poco violeta	≈ 2

Tabla 1.12.- Fenología floral Estadio 7: FLOR MARCHITA CON PÉRDIDA DE VERTICILLOS.

4.2.8.2. *Gineceo E7*

En el *gineceo* se observa el estilo de color verdoso, casi lampiño en PG, mientras que el *ovario* de color verde-blancuzco cubierto de pelo en toda su superficie, en el resto de las especies, principalmente en PP y PO.

En el *estigma*, que se muestra con menos polen, se hace más patente el color violeta en su superficie, y en todas especies, suele superar ampliamente el ápice de las *astas* o *cuernos*. La *longitud* del *gineceo* suele variar pero fundamentalmente depende todavía del número de *óvulos* en el *ovario*.

La duración del estadio E7 generalmente está entre 1-2 días aunque a veces la duración depende de la caída de los verticilos de la corola que se puede retardar (Tabla 1.12 y Fig.1.50).

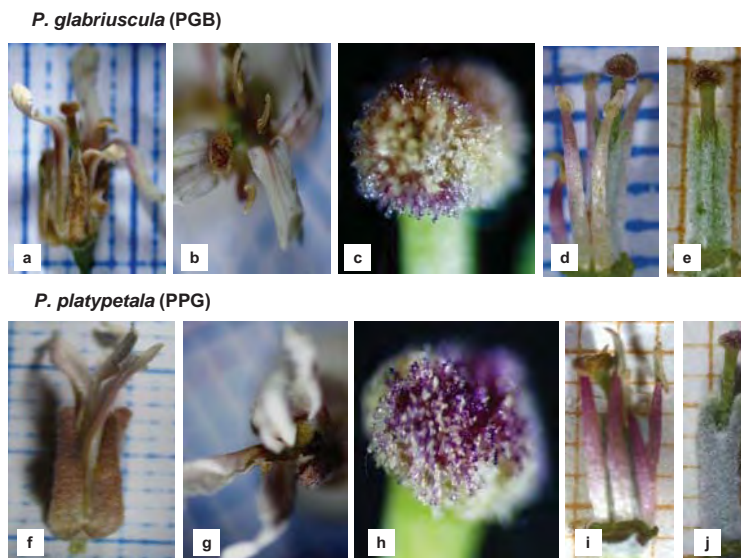


Figura 1.46.- ESTADÍO 7: FLOR MARCHITA Y CAÍDA DE VERTICILLOS. Fenología floral en *P. glabriuscula* y *P. platypetala*. Flores marchitas con pérdida de verticilos (a, b, f, g) y con intensificación en el color violeta de los filamentos estaminales (d, i) y del gineceo en el estigma (c, d, e, h, i, j).

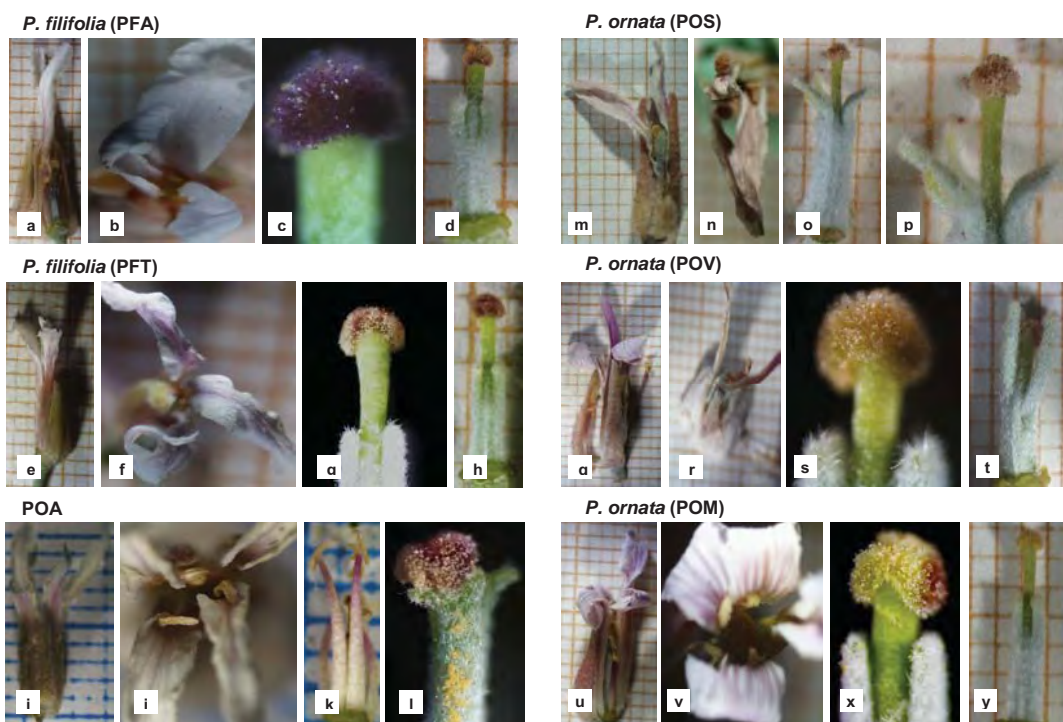


Figura 1.47.- ESTADÍO 7: FLOR MARCHITA Y CAÍDA DE VERTICILLOS. Fenología floral en *P. filifolia*, POA y *P. ornata*. Flor marchita con pérdida de verticilos (a, b, e, f, i, j, m, n, q, r, u, v) e intensificación del color violeta de los filamentos estaminales (k) y del estigma (c, d, g, h, l, o, p, s, t, x, y).

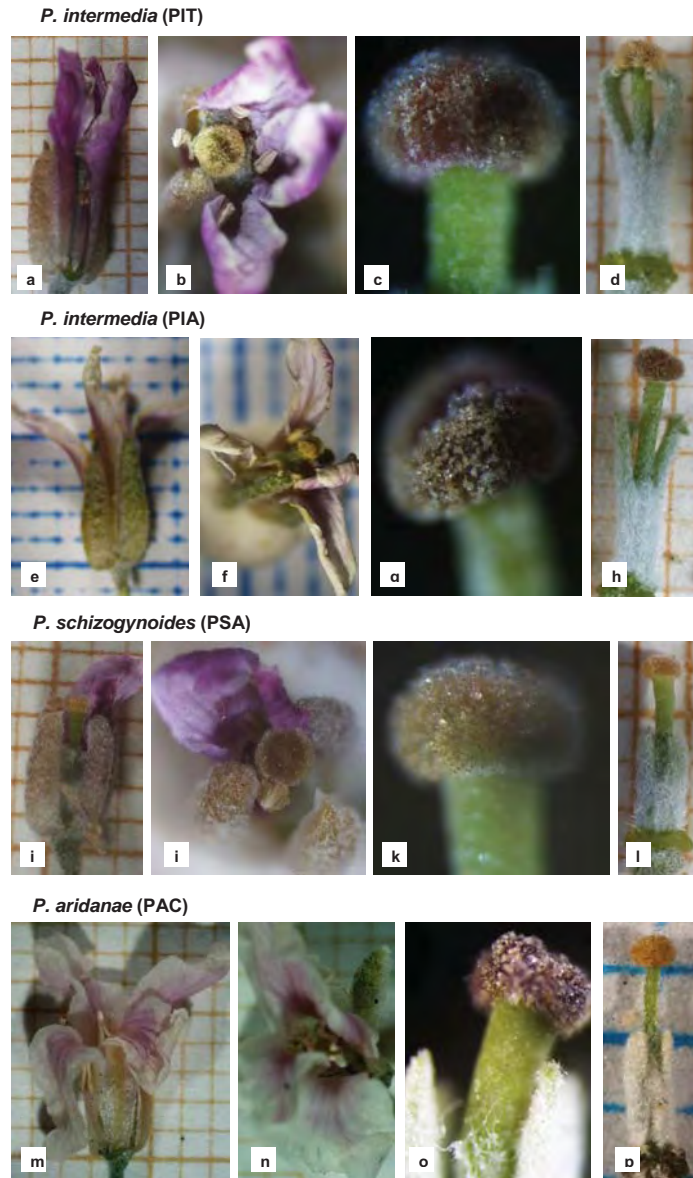


Figura 1.48.- ESTADÍO 7: FLOR MARCHITA y CAÍDA DE VERTICILOS. Fenología floral en *P. intermedia*, *P. schizogynoides* y *P. aridanae*. Flor marchita con pérdida de verticilos (a, b, e, f, i, j, m, n) y con intensificación en el color violeta de los filamentos estaminales y del gineceo en el estigma (c, d, g, h, k, l, o, p).

4.2.9. Evaluación global y resumen. Dicogamia y longevidad de la flor

Los estadios E0-E2 corresponden a *yemas* y *botones* florales con verticilos sin desplegar hasta el estadio E3 de *flor joven no expandida* y E4 de *flor expandida con androceo expuesto*. Las flores se encuentran generalmente con los pétalos en *aspa* rodeando un orificio alargado o dos más pequeños y redondeados. A partir de este estadio, las flores denominadas *cerradas* y *profundas* se van desdibujando (según taxones) a medida que la flor se desarrolla, aunque en algunos taxones, principalmente *P. ornata* y *P. platypetala*, se siguen manifestando más débilmente.

4.2.9.1. Dehiscencia de anteras. Fase masculina

Aunque en el estadio E3 la *dehiscencia* de anteras puede comenzar ligeramente con bajos porcentajes (<40%) en algunas poblaciones (Fig.1.49) la *fase masculina* verdaderamente comienza y se continúa en todos los taxones durante el estadio E4 con *anteras dehiscentes* (>60%).

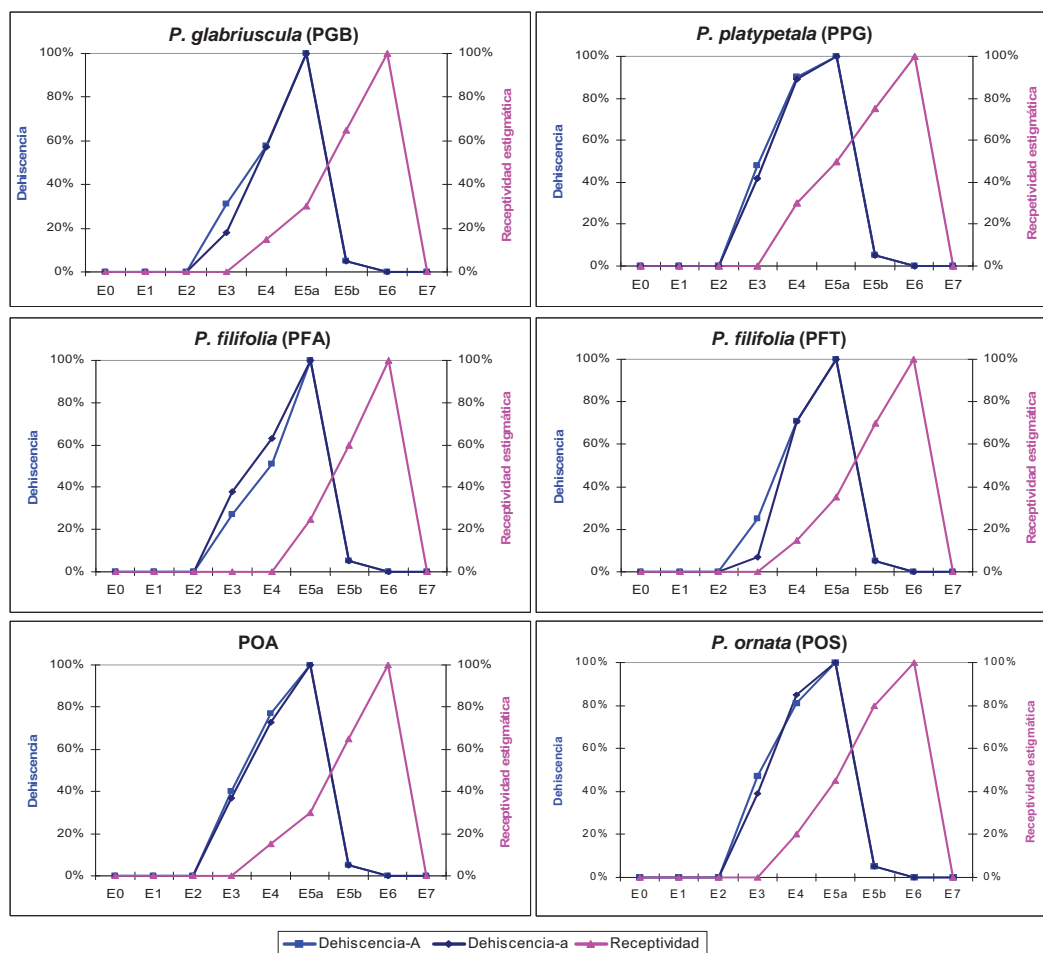


Figura 1.49a.- Fenología floral: dicogamia y madurez del androceo y gineceo en las poblaciones analizadas. Dehiscencia de anteras y receptividad estigmática expresadas en porcentajes. A= antera media o larga, a= antera lateral o corta.

La *fase masculina* se continúa en el E5a de flores más frecuentemente en cruz con *anteras dehiscentes* (100%) y *gineceo expuesto cubierto de polen*, pudiendo permanecer expuesto en la superficie del *estigma* dependiendo de los polinizadores (E6) hasta que desaparece sensiblemente (E7).

A partir de la *dehiscencia total*, las anteras comienzan a perder polen hasta que se vacían (según la afluencia de polinizadores) sufriendo una serie de cambios que afectan a la forma y posición de las tecas con respecto a su propio eje o al de su filamento estaminal hasta que se vacían completamente (E6-E7).

4.2.9.2. Receptividad estigmática. Fase femenina

En todas las poblaciones, la *fase femenina propiamente dicha* se considera iniciada en el estadio E5a de *flor con gineceo cubierto de polen* con la presencia de *tubos polínicos* en el *estigma*, pero donde solo algunos alcanzan al *estilo* (Fig.1.49).

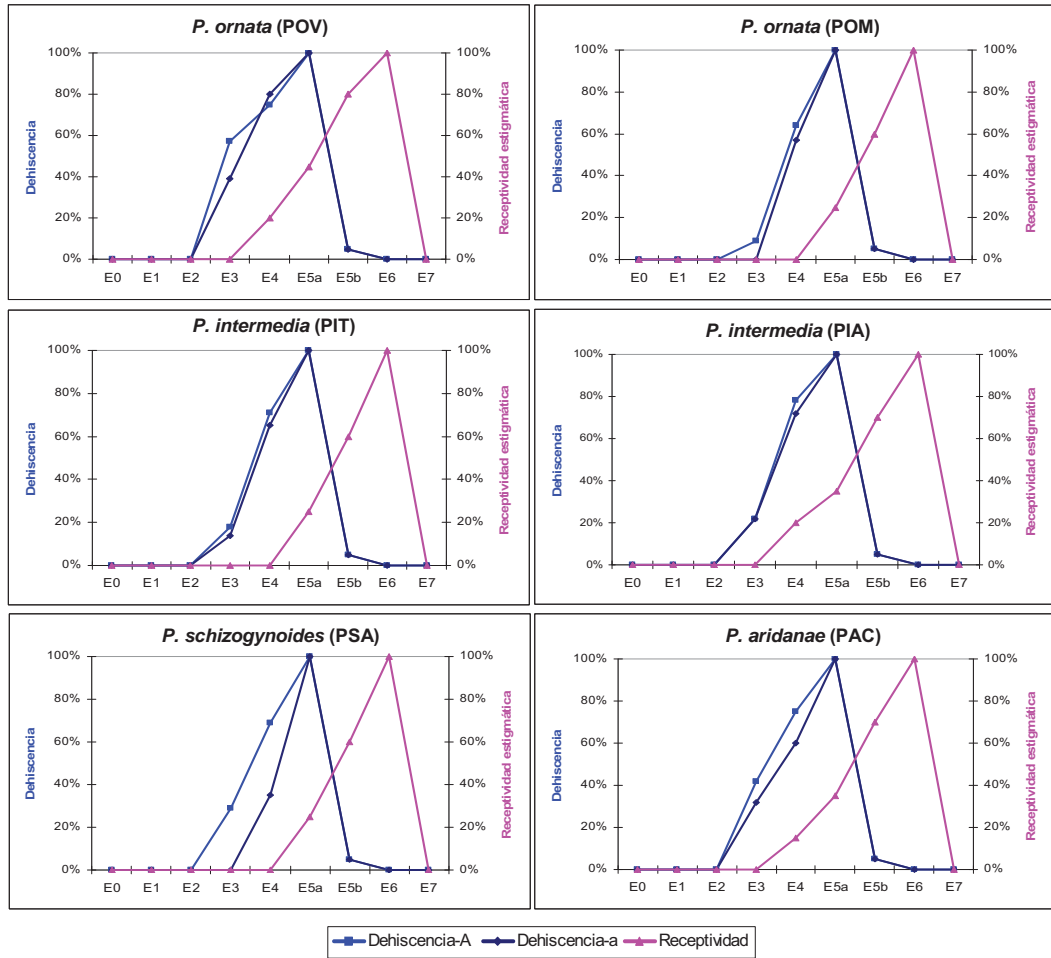


Figura 1.49b.- Fenología floral: dicogamia y madurez del androceo y gineceo en las poblaciones analizadas. Dehiscencia de anteras y receptividad estigmática expresada en porcentajes. A= antera media o larga, a= antera lateral o corta.

Se continúa en el E5b de *flor con gineceo expuesto cubierto con más polen* y cambio de color, con tubos polínicos desde el *estigma* al *ovario* continuando hasta el E6 de *flor femenina madura con síntomas de marchitamiento*, donde el *estigma* sigue *cubierto de polen* y los *tubos polínicos* todavía desde el *estigma* (receptivo), ya pueden alcanzar los óvulos. Los patrones pueden cambiar ligeramente según poblaciones.

4.2.9.3. Dicogamia y longevidad de la flor

A partir de los estadios de *flor joven* (E3 a E6), se pone de manifiesto que la *dehiscencia de las anteras* (fase masculina) tiene un período de tiempo que coincide con el

de la *receptividad estigmática* (fase femenina) poniéndose en evidencia en todos los taxones del género, que la dicogamia es por tanto incompleta.

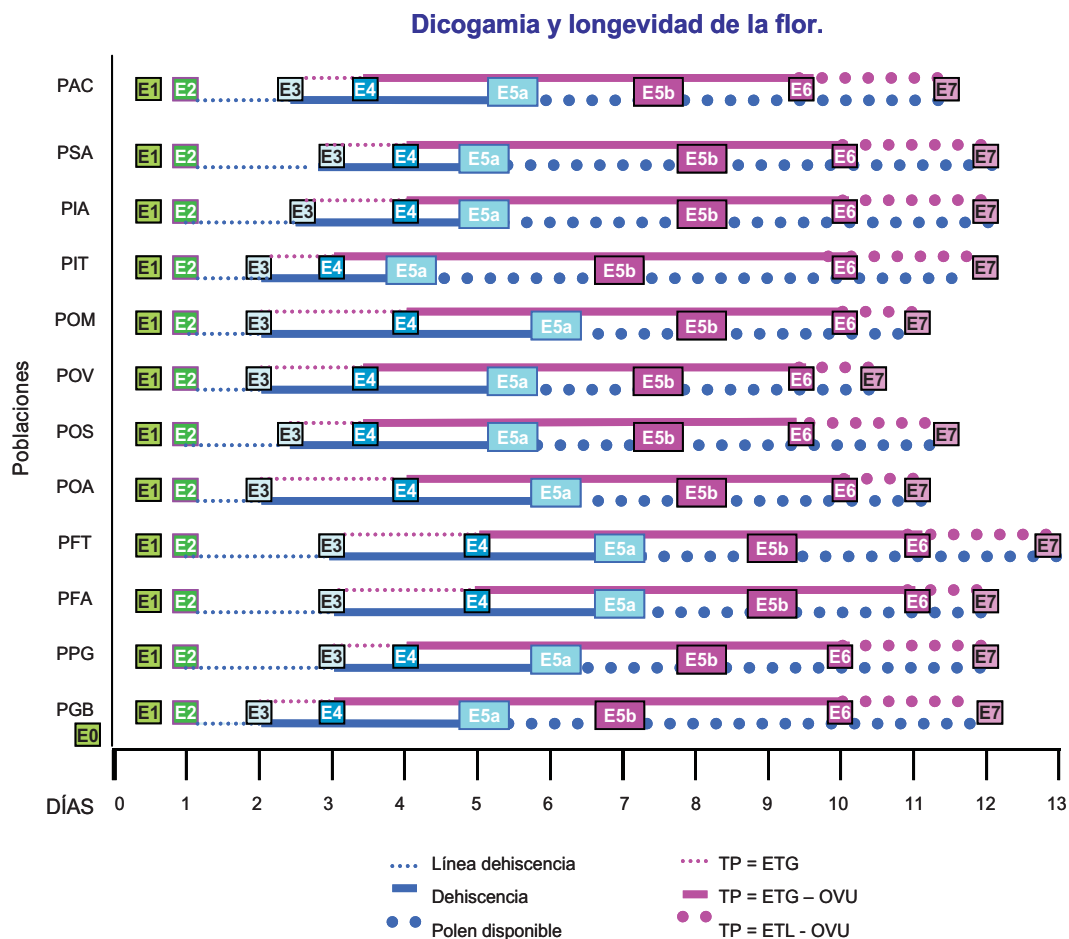


Figura 1.50.- Fenología floral, Dicogamia y longevidad de la flor. Se refleja la dicogamia incompleta al coincidir las fases masculina y femenina. Se representan los tiempos máximos de duración de cada estadio. TP = tubos polínicos; ETG = estigma; OVU = óvulo.

En relación a la duración del *ciclo y longevidad floral*, se han observado dentro y posiblemente entre las especies, ligeras variaciones durante la misma estación que pueden depender de la temperatura, pudiendo acortarse en los meses estivales (Tablas 1.2-1.9, 1.12 y Anexo 1.2). Muchas veces el alargamiento del ciclo floral, depende de la caída de los verticilos de la corola en el estadio E7.

P. platypetala puede presentar entre 8-12 días de longevidad en abril y mayo, acortándose a unos 5-8 días en julio y *P. glabriuscula*, de 6-12 días en abril-mayo puede reducirse a 4-6 días en julio. *P. filifolia* tiene un ciclo entre 7-13 días, POA entre 7-11, *P. ornata* entre 8-11 días, *P. intermedia* entre 8-12 días y *P. schizogynoides* y *P. aridanae* entre 9-12 días (Fig.1.50).

4.2.9.4. Posición del gineceo en relación al androceo

La posición del estigma en relación al androceo, varía según estadios y poblaciones (Fig. 1.41 y Tablas 1.10-1.11). Generalmente, a partir del E3, es bastante constante respecto a las anteras cortas encontrándose generalmente enfrentado a las mismas en *P. platypetala*, *P. filifolia*, *P. ornata* y *P. aridanae* (60%-100%), o también por encima de éstas en *P. glabriuscula*, POA, *P. intermedia* y *P. schizogynoides* (>50% en algunos estadios).

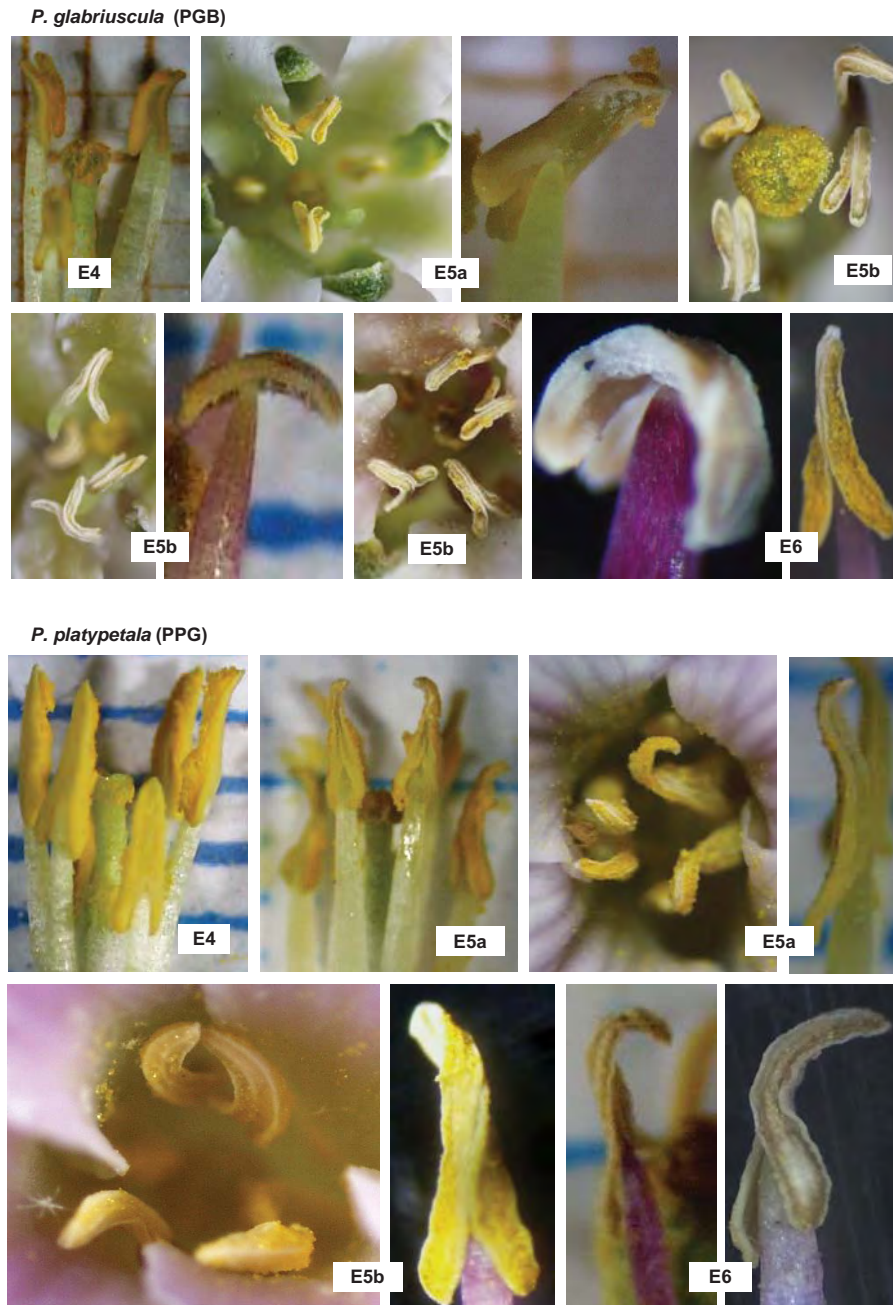


Figura 1.51. Movimientos de las anteras según estadios en *P. glabriuscula* y *P. platypetala*: PGB: anteras generalmente cortas con el ápice recurvado (E4); anteras A con giro en T (E5a); antera arqueada con giro en T y L (E5b y E6), a veces con tecas separadas en T invertida (E5b); antera no retorcida (E6). PPG: Anteras largas con el ápice \pm recurvado (E4 y E5a) o revoluto y retorcidas helicoidalmente (E5b, E6).

En relación a las anteras largas el estigma se sitúa generalmente en el filamento o en las base de las mismas, algunas veces alcanzan la mitad en PGB, PFA, POS y PAC y prácticamente nunca el ápice de las mismas.



Figura 1.52.- Movimientos de las anteras según estadios en *P. filifolia* y POA. Anteras \pm intermedias, con ápices curvos \pm revolutos (PFT y POA) y/o arqueadas con giro en L (PFA, PFT, POA) o en T en POA (E6). Antera helicoidal retorcida sobre su eje sólo en PFT.

4.2.9.5. Forma y movimiento de las anteras según estadios

Las *anteras* desde que son dehiscentes sufren una serie de cambios que afectan a la forma y posición de las tecas con respecto a su propio eje o al de su filamento estaminal.

Hasta la dehiscencia, las *anteras* se mantienen *verticales* siguiendo la línea del filamento estaminal pero después y a medida que se van vaciando de polen, su aspecto y disposición cambian con la senescencia floral (Figs. 1.51-1.55).

Cuando comienza a disminuir su contenido polínico (E5a) según afluencia de polinizadores, las *anteras* curvan sus ápices hasta que se vuelven más o menos revolutos o

se arquean. Asimismo la antera puede girar horizontalmente respecto a su filamento estaminal.

Cuando la antera se dobla girando solo su parte apical se presenta a modo de L y cuando gira toda la antera horizontalmente respecto a su filamento, se dispone a modo de T (Figs. 1.51-1.55).



Figura 1.53.- Movimientos de las anteras según estadios en *P. ornata*. Anteras generalmente largas \pm arqueadas (POS, POV y POM), con ápices revolutos en POS y POV (E4 y E5a), con disposición en L (POM). Antera helicoidal \pm retorcidas en POV y POM (E6).

Casi al final (E5b) y en algunos casos se pueden observar las tecas más o menos retorcidas de forma *helicoidal* a lo largo de su eje (Figs. 1.51-1.55)

Al final del E6 cuando las tecas se observan prácticamente vacías, se pueden separar en su porción basal o terminal mostrándose la antera a modo de T invertida que en PIT y PIA es de forma generalizada y solo a veces en PGB, PSA y PAC (Figs. 1.51, 1.54 y 1.55).

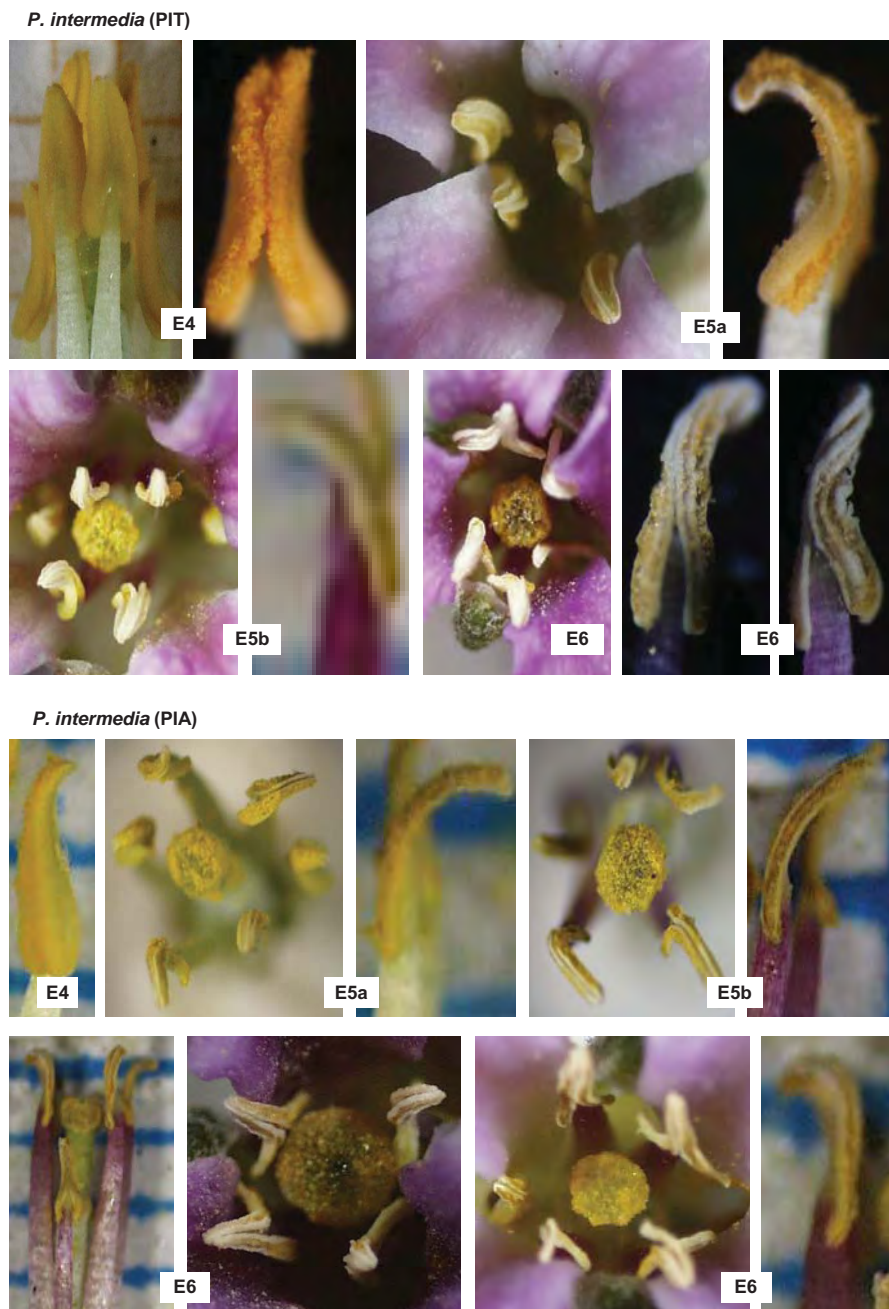


Figura 1.54.- Movimientos de las anteras según estadios en *P. intermedia*. Anteras generalmente intermedias \pm arqueadas, ápices curvos, \pm revolutos en PIT (5a) y helicoidal retorcida en PIT (E6). Anteras con disposición en L (PIT y PIA), disposición en T (PIA) y con tecas separadas en T invertida (E6) en ambas poblaciones.

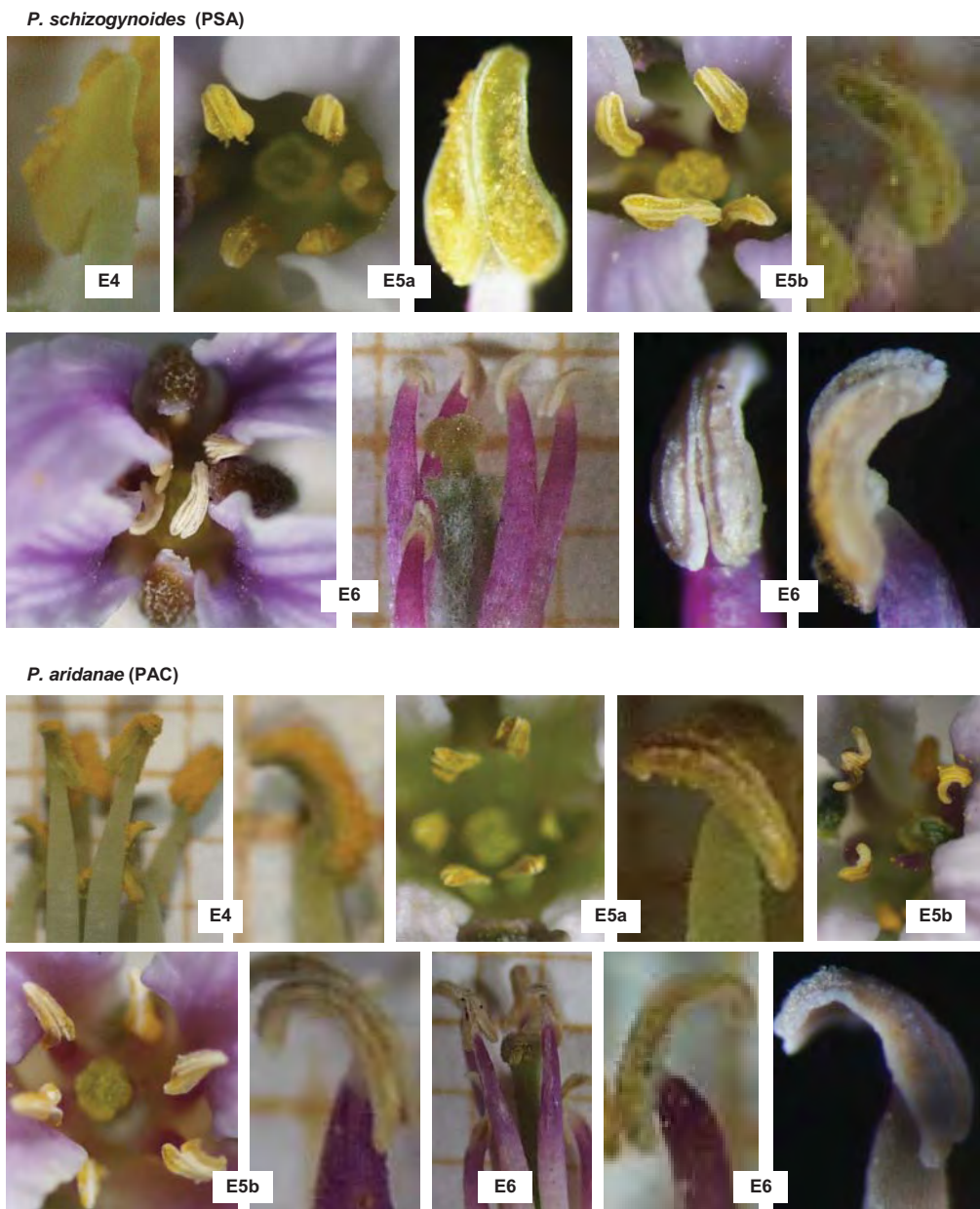


Figura 1.55.- Movimientos de las anteras según estadios en *P. schizogynoides* y *P. aridanae*. Anteras generalmente pequeñas \pm arqueadas con ápices curvos \pm revolutos (PAC), tecas con disposición en L y T (E5a, E5b y E6 en PSA y PAC). A veces con tecas en T invertida en PAC (E5b).

4.3. FENOLOGÍA DEL FRUTO

Los frutos o silicuas procedentes de los gineceos fecundados quedan agrupados en una infrutescencia que se ha identificado como un racimo (FONT QUER, 1993) y que en algunas especies del género se puede complicar y convertir en panículas más o menos complejas, pero siempre con el racimo como unidad básica.

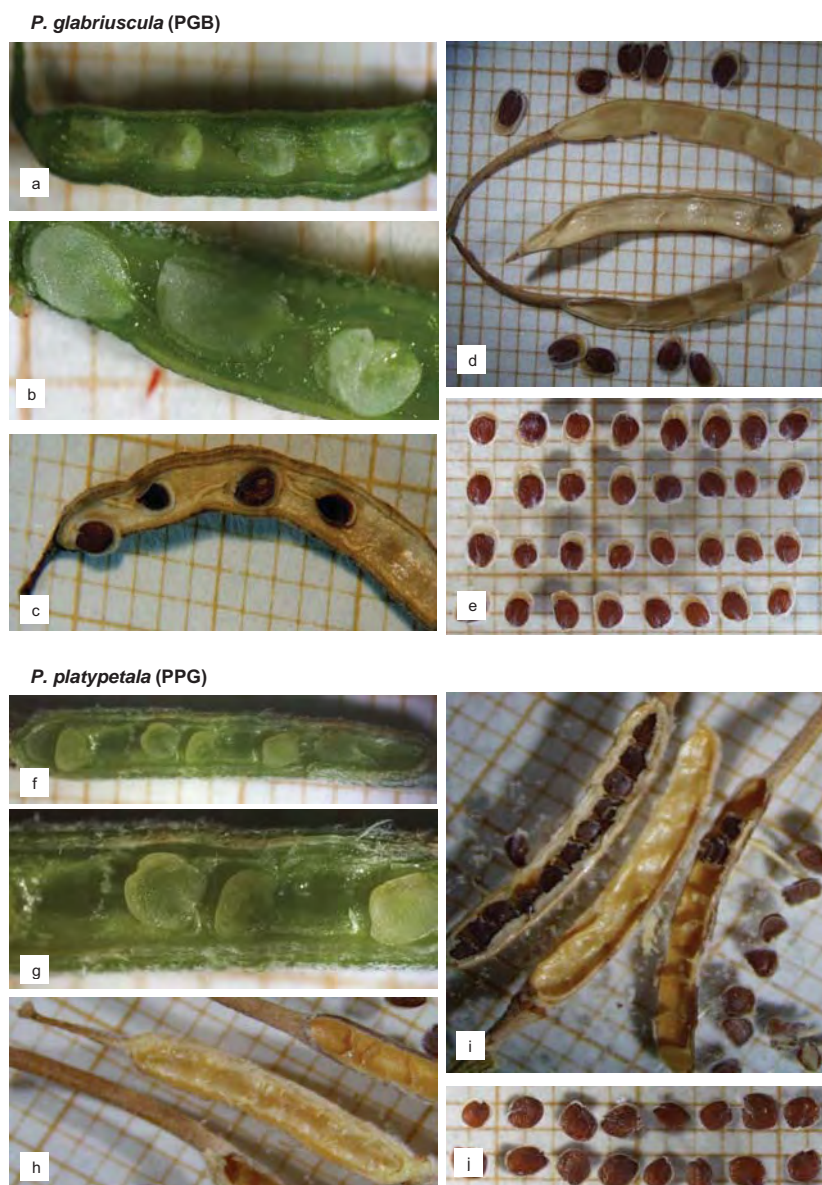


Figura 1.56.- *P.glabriuscula* (PG) y *P. platypetala* (PP). Desarrollo y maduración de las semillas procedentes de óvulos anátropos (a, b, f y g). Fruto maduro abierto con semillas maduras (c, d, i), valvas con septos (d, h, i) y replos con semillas (c) y sin semillas (d, i, h). Semillas maduras aladas (e, j).

Las infrutescencias pueden tener diferente número de frutos, de manera que cuando se observan replos en la base pueden representar dos floraciones de dos ciclos diferentes (Fig.1.3c) mientras que cuando no se observan, lo más probable es que representen uno o los dos picos de floración del mismo ciclo que suele ser lo más habitual.

La silicua de *Parolinia*, como la de otras Matthioleae-Brassicaceae, está constituida por dos *valvas* divididas transversalmente en *septos*, separadas por un tabique central denominado *repto* donde permanecen el estilo y estigma lignificados (Figs.1.56, 1.59 y 1.62).

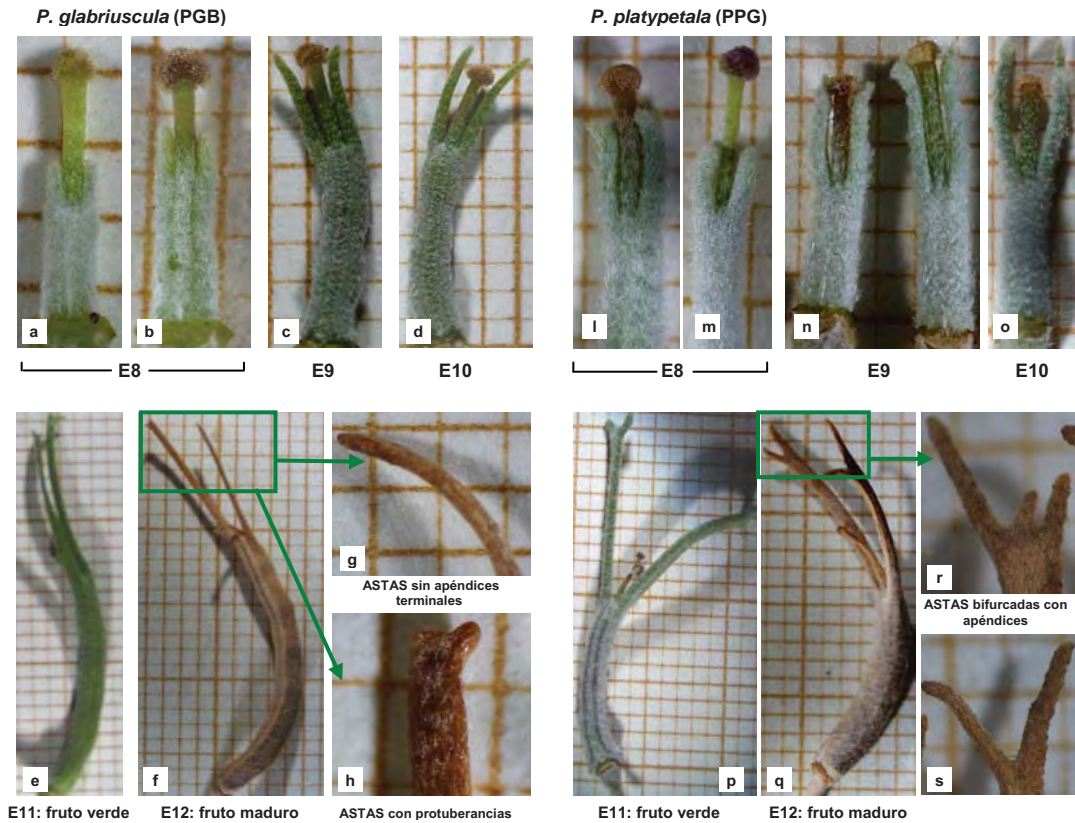


Figura 1.57.- Estadios fenológicos del fruto en *P. glabriuscula* y *P. platypetala*. E8: gineceo sin verticilos sobrepasando todavía a las astas o cuernos (a, b, l, m); E9: gineceo con astas al mismo nivel del estigma (c, n); E10: gineceo con astas que ya superan al estigma (d, o); E11: fruto verde (e, p); E12: fruto maduro ya lignificado (f, q) sin apéndices terminales en las astas o cuernos (g) o con protuberancias (h) en PGB y con apéndices terminales (r) y/o protuberancias en PPG.

Como procesos del ovario, se manifiestan unas *astas* o *cuernos* cuyos ápices varían según las distintas especies. Mientras que PP, PO, PI, PS y PA muestran ápices complejos subdivididos en apéndices y protuberancias, en PG son simples y no bifurcados (WEBB, 1840; SCHULZ, 1936; SVENIENIUS, 1960; SVENIENIUS & BRAMWELL, 1970; KUNKEL, 1975; SANTOS, 1996; MONTELONGO & BRAMWELL, 2003).

La formación del fruto comienza a partir del Estadio 7 de flor marchita donde, después de la fecundación y habiendo perdido la flor los verticilos florales del periantio y androceo, permanecen exclusivamente los gineceos fecundados, en los que se observarán los cambios propios del proceso de maduración de los frutos y semillas (Figs.1.56-1.62 y Tablas 1.13-1.17).

4.3.1. Estadio 8. Gineceo sin verticilos

Las características de este estadio en las poblaciones estudiadas se describen en la Tabla 1.13 y Figs. 1.57-1.62.

E8. GINECEO SIN VERTICILLOS							
POB	Descripción	Estigma	Estilo	Ovario	Cuerno	L_Total (cm)	Duración (días)
PGB	los cuernos se suelen encontrar generalmente por debajo del estigma, sin alcanzarlo	violeta o marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento ligero, verde-piloso, óvulos anátropos insertados de forma alterna en el reple	crecimiento ligero	0.4 - 0.7	≈ 3-4
PFA	los cuernos se suelen encontrar generalmente por debajo del estigma, sin alcanzarlo	violeta o marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento ligero, verde-piloso, óvulos anátropos insertados de forma alterna en el reple	crecimiento ligero	0.39 - 0.58	≈ 1-2
PFT	los cuernos se suelen encontrar generalmente por debajo del estigma, sin alcanzarlo	violeta o marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento ligero, verde-piloso, óvulos anátropos insertados de forma alterna en el reple	crecimiento ligero	0.44 - 0.54	≈ 1-4
POA	los cuernos se suelen encontrar generalmente por debajo del estigma, o sin alcanzarlo	violeta o marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento ligero, verde-piloso, óvulos anátropos insertados de forma alterna en el reple	crecimiento ligero	0.49 - 0.88	≈ 1-4
POS	los cuernos se suelen encontrar generalmente por debajo del estigma, sin alcanzarlo	violeta o marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento ligero, verde-piloso, óvulos anátropos insertados de forma alterna en el reple	crecimiento ligero	0.59 - 0.77	≈ 1-3
POV	los cuernos se suelen encontrar generalmente por debajo del estigma, sin alcanzarlo	violeta o marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento ligero, verde-piloso, óvulos anátropos insertados de forma alterna en el reple	crecimiento ligero	0.44 - 0.86	≈ 1-2
POM	los cuernos se suelen encontrar generalmente por debajo del estigma, sin alcanzarlo	violeta o marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento ligero, verde-piloso, óvulos anátropos insertados de forma alterna en el reple	crecimiento ligero	0.49 - 0.78	≈ 1-3
PPG	los cuernos se suelen encontrar generalmente por debajo del estigma, o sin alcanzarlo	violeta o marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento ligero, verde-piloso, óvulos anátropos insertados de forma alterna en el reple	crecimiento ligero	0.47 - 0.8	≈ 1-5
PIT	los cuernos se suelen encontrar generalmente por debajo del estigma, sin alcanzarlo	violeta o marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento ligero, verde-piloso, óvulos anátropos insertados de forma alterna en el reple	crecimiento ligero	0.39 - 0.56	≈ 1-2
PIA	los cuernos se suelen encontrar generalmente por debajo del estigma, sin alcanzarlo	violeta o marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento ligero, verde-piloso, óvulos anátropos insertados de forma alterna en el reple	crecimiento ligero	0.41 - 0.75	≈ 1-3
PSA	los cuernos se suelen encontrar generalmente por debajo del estigma, o sin alcanzarlo	verde o marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento ligero, verde-piloso, óvulos anátropos insertados de forma alterna en el reple	crecimiento ligero	0.3 - 0.47	≈ 1-4
PAC	los cuernos se suelen encontrar generalmente por debajo del estigma, sin alcanzarlo	violeta o marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento ligero, verde-piloso, óvulos anátropos insertados de forma alterna en el reple	crecimiento ligero	0.32 - 0.6	≈ 1-4

Tabla 1.13.- Fenología del fruto Estadío 8. GINECEO SIN VERTICILLOS con los cuernos situados generalmente en la base del estigma o sin alcanzarlo. Descripción, características morfológicas y duración.

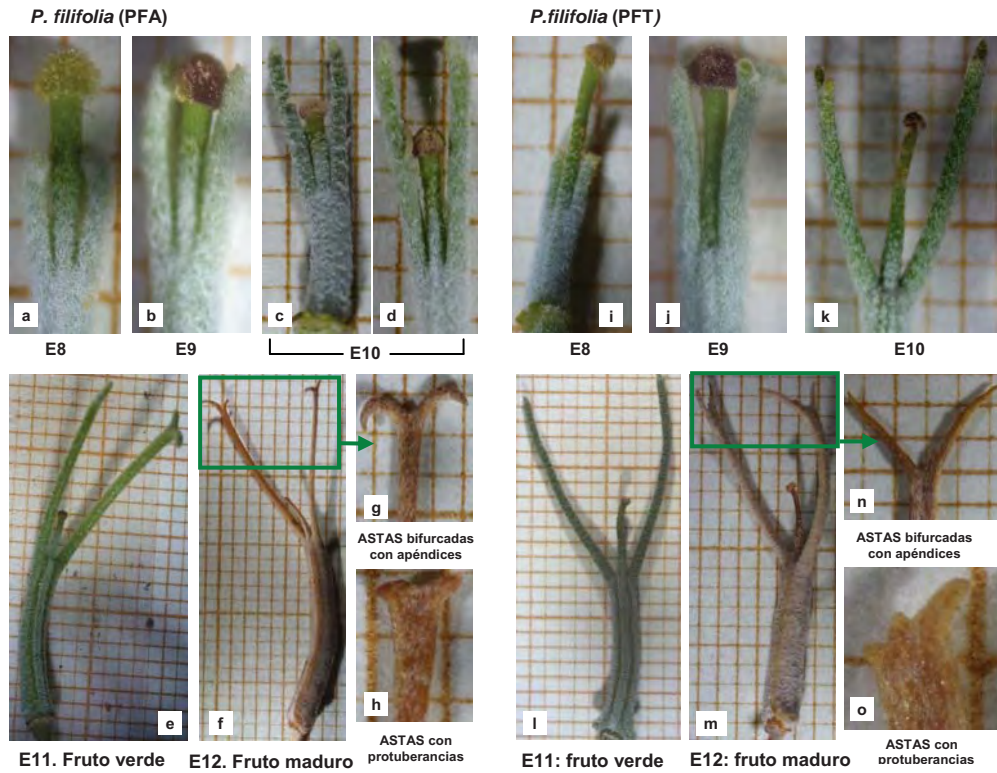


Figura 1.58.- Estadios fenológicos del fruto en *P. filifolia* (PFA, PFT). E8: gineceo sin verticilos sobrepasando todavía a las astas o cuernos (a, i); E9: gineceo con astas al mismo nivel del estigma (b, j); E10: gineceo con astas que ya superan al estigma (c, d, k); E11: fruto verde (e, l); E12: fruto maduro ya lignificado (f, m), astas o cuernos con apéndices terminales (g, n) o con protuberancias (h, o).

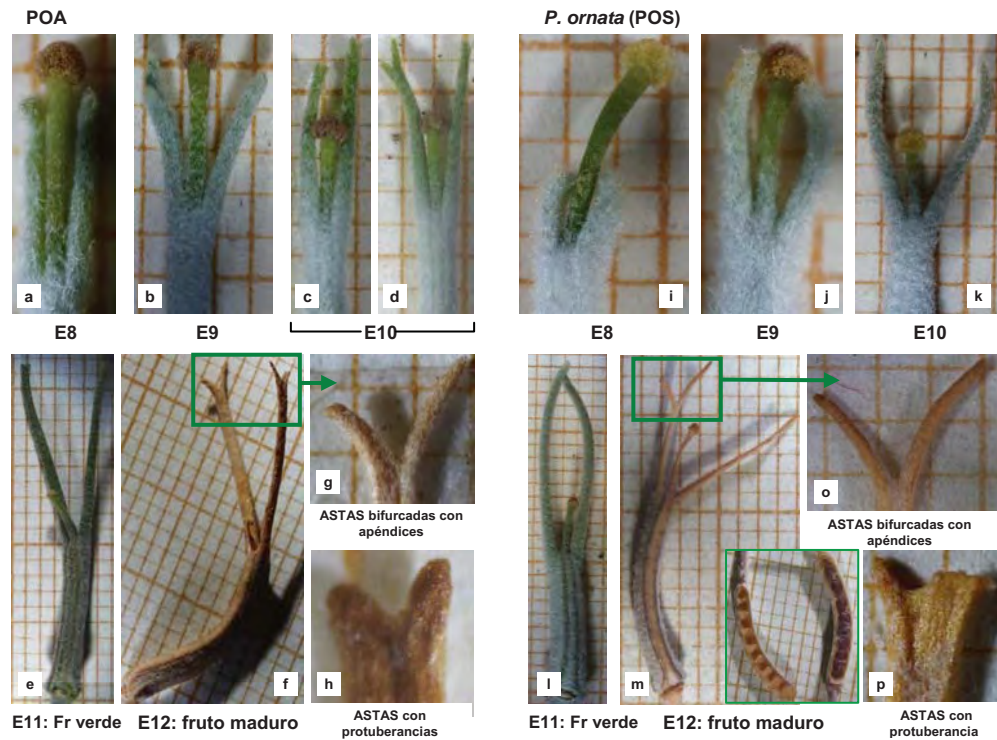


Figura 1.59.- Estadios fenológicos del fruto en POA y *P. ornata* (POS). E8: gineceo sin verticilos sobrepasando todavía a las astas o cuernos (a, i); E9: gineceo con astas al mismo nivel del estigma (b, j); E10: gineceo con astas que ya superan al estigma (c, d, k); E11: fruto verde (e, l); E12: fruto maduro ya lignificado (f, m) con apéndices terminales (g, o) o protuberancias (h, p) en las astas o cuernos. Valva con septos y replo con semillas (n) en POS.

Se considera iniciado el E8 cuando en los gineceos ha tenido lugar un ligero crecimiento del ovario y de las astas o cuernos (procesos del ovario) que todavía no alcanzan la base del estigma.

La longitud total del gineceo oscila desde 0.3 cm en PSA hasta 0.88 cm en POA.

La duración se estima entre un mínimo de un día en todas las poblaciones y un máximo de cinco días en PPG encontrándose dentro de ese rango las demás poblaciones, excepto PGB donde el estadío dura entre 3 y 4 días (Tabla 1.13 y Fig.1.63).

4.3.2. Estadío 9. Gineceo con las astas al mismo nivel del estigma

Las características de este estadío en las poblaciones estudiadas se describen en la Tabla 1.14 y Figs.1.57-1.62.

Continúa el crecimiento en el gineceo, manifestándose en el ovario y especialmente en las astas o cuernos que se observan al mismo nivel del estigma. La longitud del gineceo aumenta desde unos 0.35 cm en PSA y 1.1 cm en PGB.

E9. GINECEO CON CUERNO AL MISMO NIVEL DEL ESTIGMA							
POB	Descripción	Estigma	Estilo	Ovario	Cuerno	L_Total (cm)	Duración (días)
PGB	estigma al mismo nivel del cuerno	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.46 - 1.1	≈ 2-5
PFA	estigma al mismo nivel del cuerno	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.43 - 0.6	≈ 1-3
PFT	estigma al mismo nivel del cuerno	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.56 - 0.85	≈ 1-2
POA	estigma al mismo nivel del cuerno	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.74 - 0.8	≈ 2-3
POS	estigma al mismo nivel del cuerno	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.59 - 0.76	≈ 3-4
POV	estigma al mismo nivel del cuerno	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.6 - 0.88	≈ 3-4
POM	estigma al mismo nivel del cuerno	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.71 - 0.75	≈ 3-4
PPG	estigma al mismo nivel del cuerno	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.51 - 0.9	≈ 3-4
PIT	estigma al mismo nivel del cuerno	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.46 - 0.75	≈ 1-3
PIA	estigma al mismo nivel del cuerno	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.67 - 0.94	≈ 1-3
PSA	estigma al mismo nivel del cuerno	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.35 - 0.42	≈ 3-4
PAC	estigma al mismo nivel del cuerno	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.37 - 0.73	≈ 3-4

Tabla 1.14.- Fenología del fruto Estadío 9. GINECEO CON CUERNO AL MISMO NIVEL DEL ESTIGMA. Descripción, características morfológicas y duración.

La duración se estima entre 1-3 días en PF y PI y entre 3-4 días en el resto de las poblaciones excepto PGB y POA (Tabla 1.14 y Fig.1.63).

4.3.3. Estadío 10. Gineceos con las astas superando al estigma

Las características de este estadío en las poblaciones estudiadas se describen en la Tabla 1.15 y Figs. 1.57-1.62.

Continúa progresivamente el crecimiento en el gineceo, en el ovario y especialmente en las astas o cuernos, de manera que ya superan el ápice del estigma. La longitud del gineceo es desde unos 0.48 cm en PSA a 1.9 cm en PGB.

E10. GINECEO CON CUERNOS SUPERANDO AL ESTIGMA							
POB	Descripción	Estigma	Estilo	Ovario	Cuerno	L_Total (cm)	Duración (días)
PGB	el cuerno supera el ápice del estigma se acelera el crecimiento	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.65 - 1.9	≈ 10-15
PFA	el cuerno supera el ápice del estigma se acelera el crecimiento	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.57 - 1.55	≈ 14-19
PFT	el cuerno supera el ápice del estigma se acelera el crecimiento	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.63 - 1.46	≈ 10-11
POA	el cuerno supera el ápice del estigma se acelera el crecimiento	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.55 - 1.33	≈ 7-14
POS	el cuerno supera el ápice del estigma se acelera el crecimiento	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.71 - 1.06	≈ 10-14
POV	el cuerno supera el ápice del estigma se acelera el crecimiento	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.82 - 1.23	≈ 7-14
POM	el cuerno supera el ápice del estigma se acelera el crecimiento	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.63 - 0.77	≈ 7-14
PPG	el cuerno supera el ápice del estigma se acelera el crecimiento	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.7 - 1.05	≈ 10-15
PIT	el cuerno supera el ápice del estigma se acelera el crecimiento	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.57 - 1.47	≈ 11-14
PIA	el cuerno supera el ápice del estigma se acelera el crecimiento	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.85 - 1.19	≈ 7-11
PSA	el cuerno supera el ápice del estigma se acelera el crecimiento	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.48 - 0.96	≈ 10-14
PAC	el cuerno supera el ápice del estigma se acelera el crecimiento	marrón amarillento	verde-piloso	crecimiento	crecimiento	0.57 - 1.36	≈ 10-16

Tabla 1.15.- Fenología del fruto Estadío 10. GINECEO CON CUERNOS SUPERANDO AL ESTIGMA. Descripción, características morfológicas y duración.

La duración de este estadío oscila entre un mínimo de 7 y un máximo de 19 días, siendo lo más habitual en las poblaciones una duración aproximada de 10-14 días (Tabla 1.15 y Fig.1.63).

4.3.4. Estadío 11. Fruto verde

Las características de este estadío en las poblaciones estudiadas se describen en la Tabla 1.16 y Figs.1.57-1.62. Continúa el crecimiento en el gineceo, acelerándose progresivamente de manera que el ovario y las astas de las silicuas alcanzan el tamaño definitivo del fruto maduro (0.88 cm en PSA a 3.3 cm en POV) pero todavía presentando un color verde oscuro en todas las especies.

Se inicia la pérdida de pelo y se pueden observar franjas longitudinales en el ovario que corresponden a la unión de las valvas con el replo en todos los taxones, a excepción de PG, PS y PA donde son inapreciables.

En el interior del ovario de todas las especies, se observan las semillas que proceden de óvulos anátropos frecuentes en la familia (NIETO FELINER, 1986) y que se insertan de forma alterna en el replo (Fig.1.56).

Al final de este estadío, comienza un amarillamiento y lignificación gradual de los cuernos y posteriormente de las valvas.

La duración se estima en unos 4-5 meses para todas las especies (Tabla 1.16 y Fig.1.63).

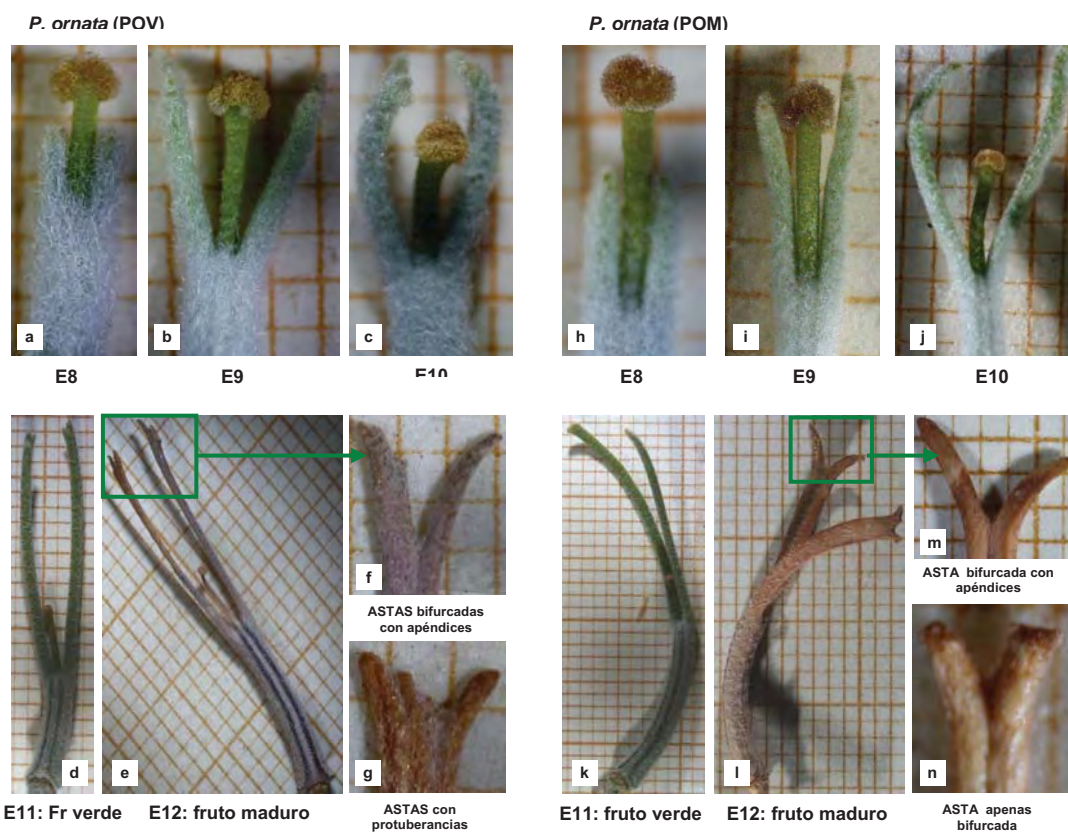


Figura 1.60.- Estadíos fenológicos del fruto en *P. ornata* (POV, POM). E8: gineceo sin verticilos sobrepasando todavía a las astas o cuernos (a, h); E9: gineceo con astas al mismo nivel del estigma (b, i); E10: gineceo con astas que ya superan al estigma (c, j); E11: fruto verde (d, k); E12: fruto maduro ya lignificado (e, l) con astas o cuernos bifurcados con apéndices terminales (f, m), apenas bifurcados (n) o con protuberancias (g).

E11. FRUTO VERDE							
POB	Descripción	Estigma	Estilo	Ovario	Cuerno	L_Total (cm)	Duración (meses)
PGB	crecimiento del fruto que alcanza el tamaño definitivo se inicia la pérdida de pelo	marrón amarillento	verde-piloso	Pérdida de pelo. Franjas longitudinales inapreciables en la unión de las valvas. Amarillamiento y lignificación. Semillas verdes, insertadas de forma alterna en el reple	amarillamiento y lignificación	1.1- 2.15	4 - 5
PFA	crecimiento del fruto que alcanza el tamaño definitivo se inicia la pérdida de pelo	marrón amarillento	verde-piloso	Pérdida de pelo. Franjas longitudinales verdes en la unión de las valvas. Amarillamiento y lignificación. Semillas verdes, insertadas de forma alterna en el reple	amarillamiento y lignificación	2.11 - 2.39	4 - 5
PFT	crecimiento del fruto que alcanza el tamaño definitivo se inicia la pérdida de pelo	marrón amarillento	verde-piloso	Pérdida de pelo. Franjas longitudinales verdes en la unión de las valvas. Amarillamiento y lignificación. Semillas verdes, insertadas de forma alterna en el reple	amarillamiento y lignificación	2.09 - 2.48	4 - 5
POA	crecimiento del fruto que alcanza el tamaño definitivo se inicia la pérdida de pelo	marrón amarillento	verde-piloso	Pérdida de pelo. Franjas longitudinales verdes en la unión de las valvas. Amarillamiento y lignificación. Semillas verdes, insertadas de forma alterna en el reple	amarillamiento y lignificación	2.08 - 2.8	4 - 5
POS	crecimiento del fruto que alcanza el tamaño definitivo se inicia la pérdida de pelo	marrón amarillento	verde-piloso	Pérdida de pelo. Franjas longitudinales verdes en la unión de las valvas. Amarillamiento y lignificación. Semillas verdes, insertadas de forma alterna en el reple	amarillamiento y lignificación	2.43 - 2.7	4 - 5
POV	crecimiento del fruto que alcanza el tamaño definitivo se inicia la pérdida de pelo	marrón amarillento	verde-piloso	Pérdida de pelo. Franjas longitudinales verdes en la unión de las valvas. Amarillamiento y lignificación. Semillas verdes, insertadas de forma alterna en el reple	amarillamiento y lignificación	2.41 - 3.3	4 - 5
POM	crecimiento del fruto que alcanza el tamaño definitivo se inicia la pérdida de pelo	marrón amarillento	verde-piloso	Pérdida de pelo. Franjas longitudinales verdes en la unión de las valvas. Amarillamiento y lignificación. Semillas verdes, insertadas de forma alterna en el reple	amarillamiento y lignificación	2.3 - 2.91	4 - 5
PPG	crecimiento del fruto que alcanza el tamaño definitivo se inicia la pérdida de pelo	marrón amarillento	verde-piloso	Pérdida de pelo. Franjas longitudinales verdes en la unión de las valvas. Amarillamiento y lignificación. Semillas verdes, insertadas de forma alterna en el reple	amarillamiento y lignificación	1.1 - 1.99	4 - 5
PIT	crecimiento del fruto que alcanza el tamaño definitivo se inicia la pérdida de pelo	marrón amarillento	verde-piloso	Pérdida de pelo. Franjas longitudinales verdes en la unión de las valvas. Amarillamiento y lignificación. Semillas verdes, insertadas de forma alterna en el reple	amarillamiento y lignificación	1.86 - 2.5	4 - 5
PIA	crecimiento del fruto que alcanza el tamaño definitivo se inicia la pérdida de pelo	marrón amarillento	verde-piloso	Pérdida de pelo. Franjas longitudinales verdes en la unión de las valvas. Amarillamiento y lignificación. Semillas verdes, insertadas de forma alterna en el reple	amarillamiento y lignificación	2.07 - 2.7	4 - 5
PSA	crecimiento del fruto que alcanza el tamaño definitivo se inicia la pérdida de pelo	marrón amarillento	verde-piloso	Pérdida de pelo. Franjas longitudinales inapreciables en la unión de las valvas. Amarillamiento y lignificación. Semillas verdes, insertadas de forma alterna en el reple	amarillamiento y lignificación	0.88 - 1. 8	4 - 5
PAC	crecimiento del fruto que alcanza el tamaño definitivo se inicia la pérdida de pelo	marrón amarillento	verde-piloso	Pérdida de pelo. Franjas longitudinales inapreciables en la unión de las valvas. Amarillamiento y lignificación. Semillas verdes, insertadas de forma alterna en el reple	amarillamiento y lignificación	1.42 - 1.8	4 - 5

Tabla 1.16.- Fenología del fruto Estadio 11. FRUTO VERDE. Descripción, características morfológicas y duración.

4.3.5. Estadio 12. Fruto maduro y lignificación

Las características de este estadio en las poblaciones estudiadas se describen en la Tabla 1.17 y Figs. 1.57-1.62.

No se observa crecimiento apreciable pero sí un manifiesto cambio de color tanto en el ovario como en el estilo y estigma, que todavía persisten y se lignifican alcanzando la gama de los tostados.

Continúa la pérdida de pelo, siendo poco notoria en todos los taxones, excepto en PGB que es completa. Los frutos son más glabros en PGB y más tomentosos en el resto de poblaciones y especies.

Las semillas más o menos aladas se disponen en dos filas uniseriadas (una por valva) unidas por el funículo al repleo. Posteriormente las valvas se abren de forma explosiva y los repleos pueden persistir en la planta una vez ocurrida la dehiscencia, dispersándose las semillas fundamentalmente por el viento.

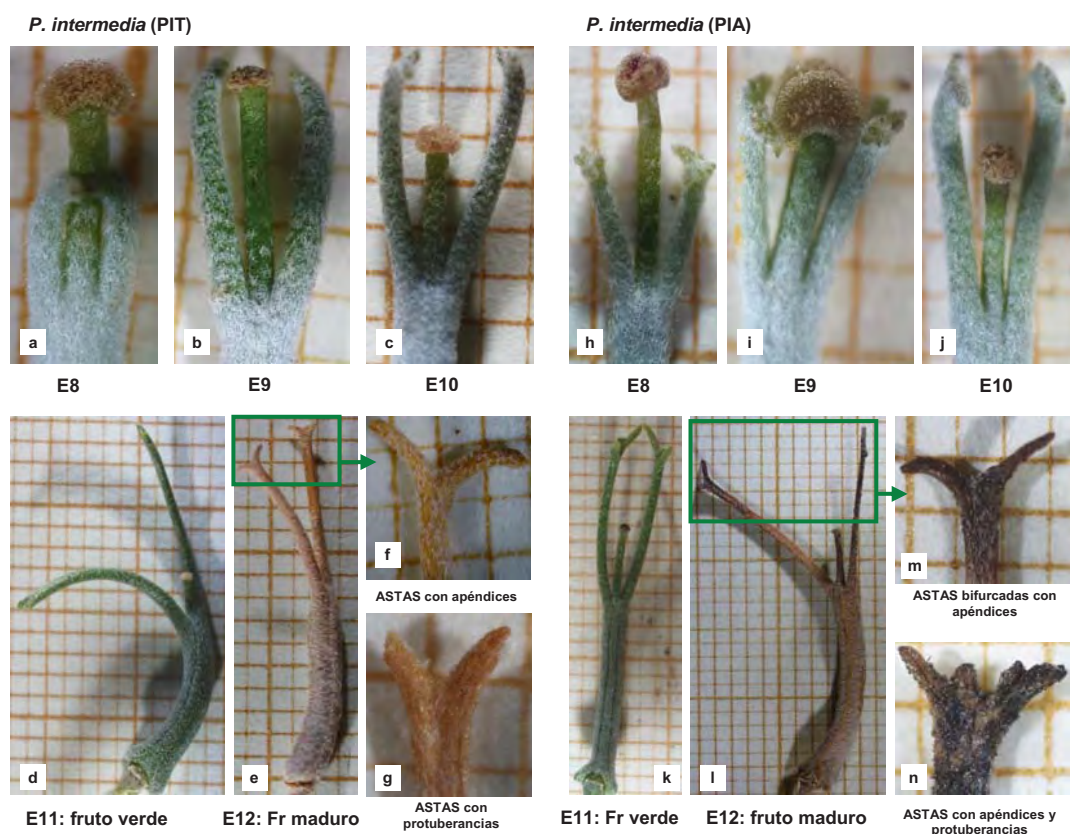


Figura 1.61.- Estadios fenológicos del fruto en *P. intermedia* (PIT, PIA). E8: gineceo sin verticilos sobrepasando todavía a las astas o cuernos (a, h); E9: gineceo con astas al mismo nivel del estigma (b, i); E10: gineceo con astas que ya superan al estigma (c, j); E11: fruto verde (d, k); E12: fruto maduro ya lignificado (e, l), astas o cuernos con apéndices terminales (f, m) y/o protuberancias (g, n).

E12. FRUTO MADURO							
POB	Descripción	Estigma	Estilo	Ovario	Cuerno	L_Total (cm)	Duración
PGB	no se aprecia crecimiento apreciable, pero si cambio de color continúa la pérdida de pelo	persiste, lignificado	persiste, lignificado	pérdida de pilosidad, glabro color tostado	color tostado, sin ápice bifurcado	0.59 - 2.86	puede permanecer indehiscente hasta el siguiente ciclo
PFA	no se aprecia crecimiento apreciable, pero si cambio de color continúa la pérdida de pelo	persiste, lignificado	persiste, lignificado	pérdida de pilosidad, pero no glabro. color tostado	color tostado, con ápice bifurcado	0.76 - 3.27	puede permanecer indehiscente hasta el siguiente ciclo
PFT	no se aprecia crecimiento apreciable, pero si cambio de color continúa la pérdida de pelo	persiste, lignificado	persiste, lignificado	pérdida de pilosidad, pero no glabro color tostado	color tostado, con ápice bifurcado	0.66 - 2.55	puede permanecer indehiscente hasta el siguiente ciclo
POA	no se aprecia crecimiento apreciable, pero si cambio de color continúa la pérdida de pelo	persiste, lignificado	persiste, lignificado	pérdida de pilosidad, pero no glabro color tostado	color tostado, sin ápice bifurcado	0.58 - 2.83	puede permanecer indehiscente hasta el siguiente ciclo
POS	no se aprecia crecimiento apreciable, pero si cambio de color continúa la pérdida de pelo	persiste, lignificado	persiste, lignificado	pérdida de pilosidad, pero no glabro color tostado	color tostado, con ápice bifurcado	0.58 - 3.70	puede permanecer indehiscente hasta el siguiente ciclo
POV	no se aprecia crecimiento apreciable, pero si cambio de color continúa la pérdida de pelo	persiste, lignificado	persiste, lignificado	pérdida de pilosidad, pero no glabro color tostado	color tostado, con ápice bifurcado	0.62 - 2.95	puede permanecer indehiscente hasta el siguiente ciclo
POM	no se aprecia crecimiento apreciable, pero si cambio de color continúa la pérdida de pelo	persiste, lignificado	persiste, lignificado	pérdida de pilosidad, pero no glabro color tostado	color tostado, con ápice bifurcado	0.55 - 3.98	puede permanecer indehiscente hasta el siguiente ciclo
PPG	no se aprecia crecimiento apreciable, pero si cambio de color continúa la pérdida de pelo	persiste, lignificado	persiste, lignificado	pérdida de pilosidad, pero no glabro color tostado	color tostado, con ápice bifurcado	0.78 - 3.23	puede permanecer indehiscente hasta el siguiente ciclo
PIT	no se aprecia crecimiento apreciable, pero si cambio de color continúa la pérdida de pelo	persiste, lignificado	persiste, lignificado	pérdida de pilosidad, pero no glabro color tostado	color tostado, con ápice bifurcado	0.71 - 2.69	puede permanecer indehiscente hasta el siguiente ciclo
PIA	no se aprecia crecimiento apreciable, pero si cambio de color continúa la pérdida de pelo	persiste, lignificado	persiste, lignificado	pérdida de pilosidad, pero no glabro color tostado	color tostado, con ápice bifurcado	0.71 - 3.75	puede permanecer indehiscente hasta el siguiente ciclo
PSA	no se aprecia crecimiento apreciable, pero si cambio de color continúa la pérdida de pelo	persiste, lignificado	persiste, lignificado	pérdida de pilosidad, pero no glabro color tostado	color tostado, con ápice bifurcado	0.43 - 1.88	puede permanecer indehiscente hasta el siguiente ciclo
PAC	no se aprecia crecimiento apreciable, pero si cambio de color continúa la pérdida de pelo	persiste, lignificado	persiste, lignificado	pérdida de pilosidad, pero no glabro color tostado	color tostado, con ápice bifurcado	0.68 - 2.17	puede permanecer indehiscente hasta el siguiente ciclo

Tabla 1.17.- Fenología del fruto Estadio 12. FRUTO MADURO. Descripción, características morfológicas y duración. Las longitudes del fruto maduro se corresponden con los datos biométricos de las poblaciones naturales.



Figura 1.62.- Estadios fenológicos del fruto en *P. schizogynoides* (PSA) y *P. aridanae* (PAC). E8: gineceo sin verticilos sobrepasando todavía a las astas o cuernos (a, h); E9: gineceo con astas al mismo nivel del estigma (b, i); E10: gineceo con astas que ya superan al estigma (c, j); E11: fruto verde con semillas en formación (d, k); E12: fruto maduro ya lignificado (e, l) y septos con semillas (m). Astas o cuernos con apéndices terminales (n) o con protuberancias (f, g, o).

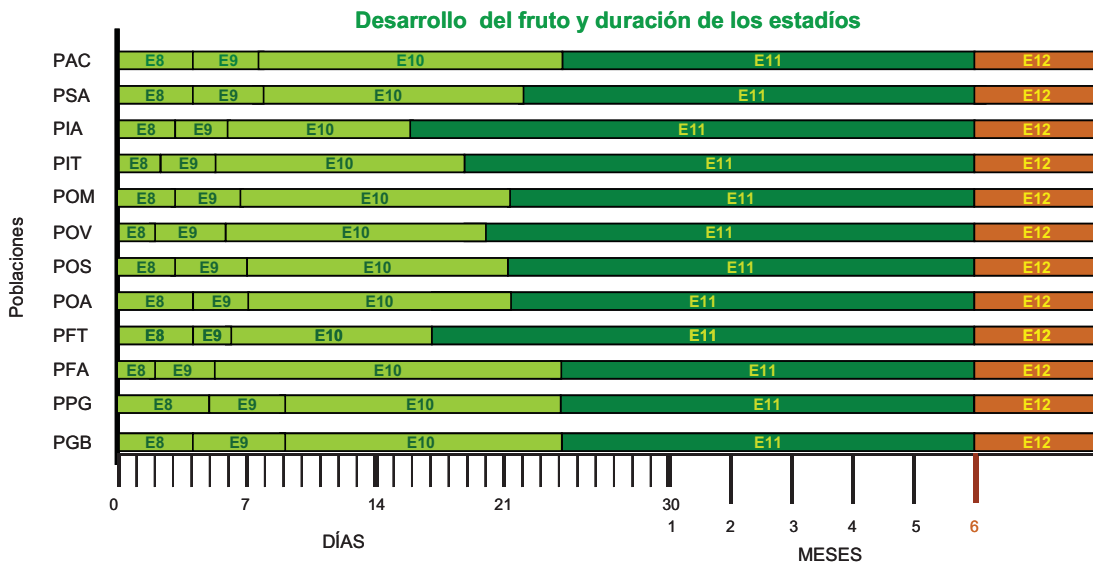


Figura 1.63.- Fenología del fruto. Desarrollo y formación de los frutos. En cada población se representa la máxima duración de cada estadio.

4.4. INFLORESCENCIA. FENOLOGÍA Y DICOGAMIA

4.4.1. Desarrollo y estructura de la inflorescencia. Dicogamia inter-floral

Las flores de *Parolinia* se encuentran asociadas en una pequeña inflorescencia con estructura de racimo de crecimiento acrópeto (de la base al ápice), donde pueden coexistir desde flores marchitas a maduras en fase femenina en posición más basal, flores jóvenes en fase masculina en posición más apical, junto con botones y yemas en el ápice de la misma (Figs. 1.64 y 1.68-1.79).

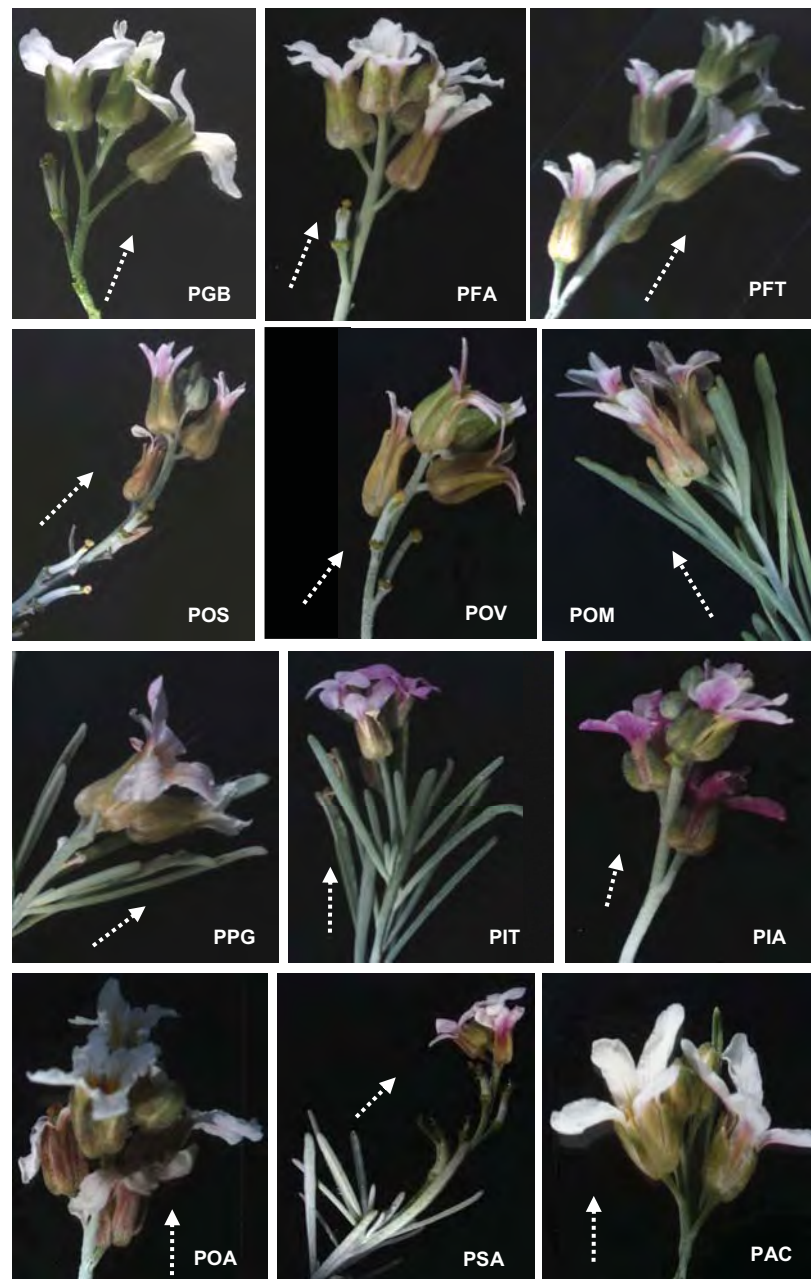


Figura 1.64.- Inflorescencias. Flores agrupadas en racimos de desarrollo ascendente o acrópeto. *P. glabriuscula* (PGB), *P. filifolia* (PFA, PFT), *P. ornata* (POS, POV, POM), *P. platypetala* (PPG), *P. intermedia* (PIT, PIA), POA, *P. schizogynoides* (PSA) y *P. aridanae* (PAC).

Los resultados obtenidos de las observaciones realizadas tanto en las poblaciones naturales como en las cultivadas del JBCVC ponen de manifiesto, desde el ápice hacia la base de la inflorescencia, la presencia de yemas (E0-E2), flores masculinas (E3-E4), flores femeninas (E5-E6), flores marchitas (E7) hasta frutos verdes (E8-E11) (Tabla 1.18 y Figs.1.64-1.79).

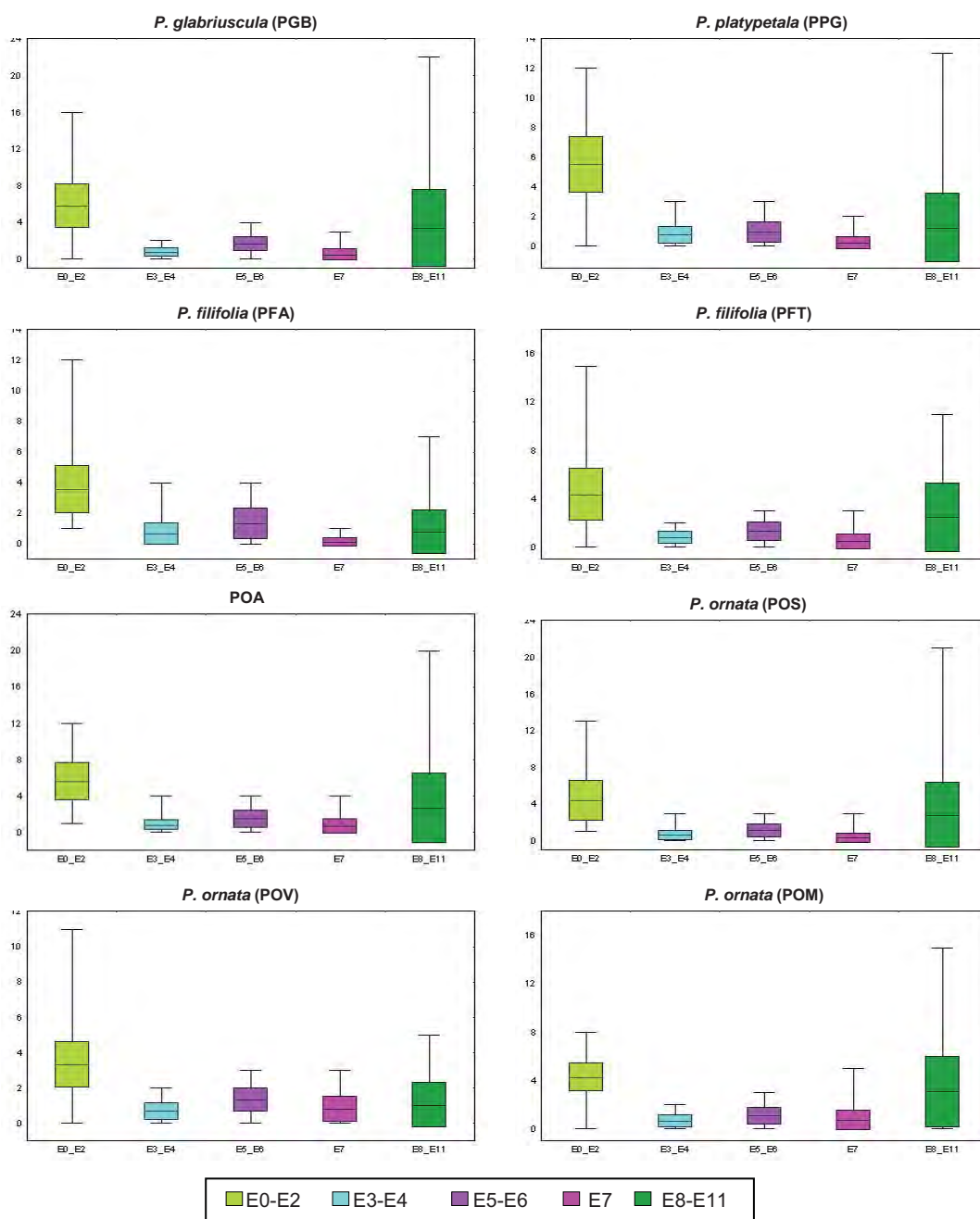


Figura 1.65.- Inflorescencia. Dicogamia interfloral y oferta floral por día en las poblaciones naturales. E0-E2= n° yemas, E3-E4= n° flores en fase masculina, E5-E6= n° flores mayoritariamente en fase femenina, E7= n° flores marchitas, E8-E11= n° de frutos verdes. Se representa el rango y la media (\pm Error estándar).

La *dicogamia interfloral* en una misma inflorescencia o rama florífera, donde coexisten flores en fase masculina y femenina, es pues *asincrónica*, de manera que al parecer no se evita la fecundación entre sus flores o geitonogamia autógama, aunque no debe tener mayor incidencia dado el bajo número de flores que conforman el racimo (Tabla 1.18 y Figs.1.64-1.79).

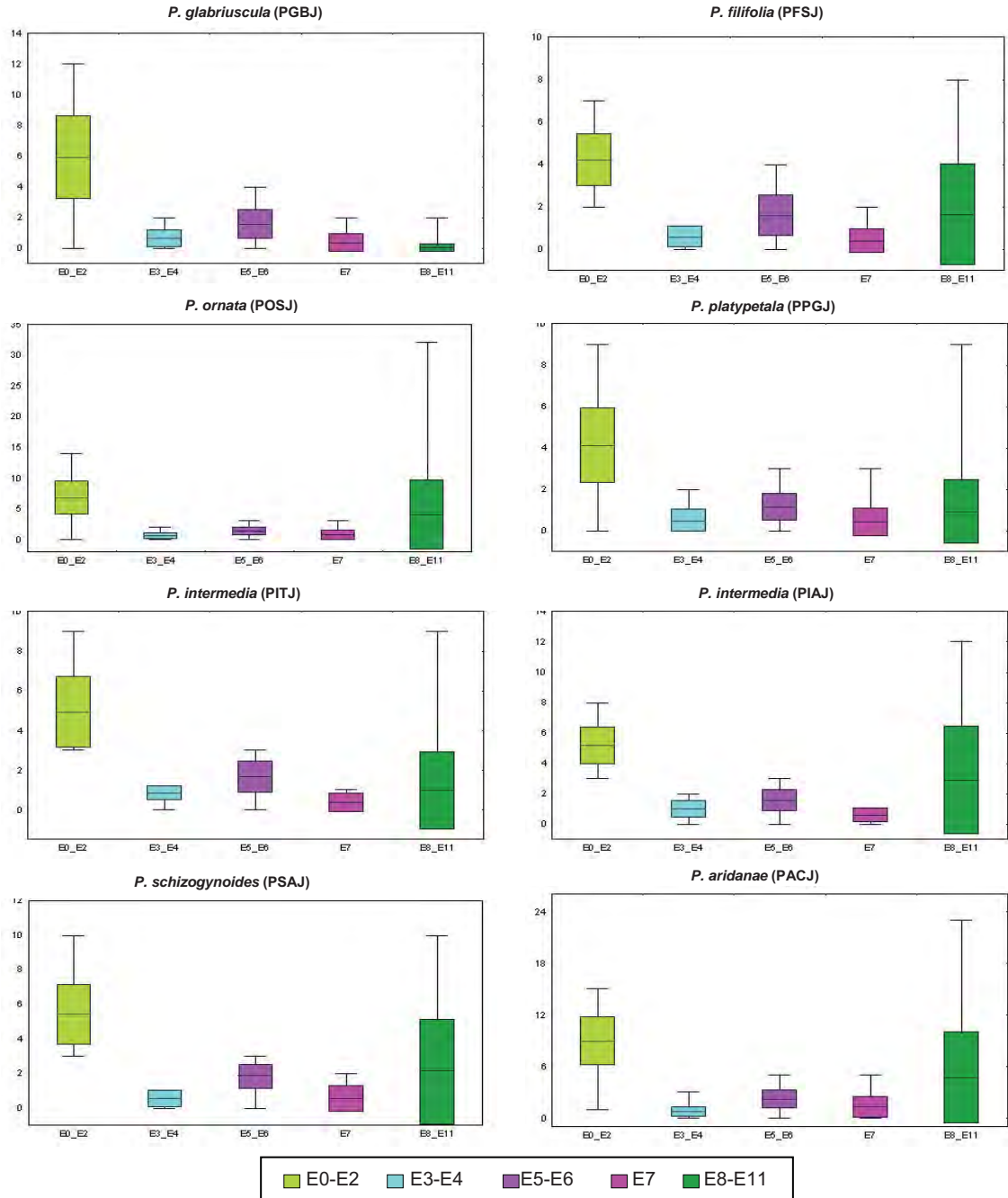


Figura 1.66.- Inflorescencia. Dicogamia interfloral y oferta floral por día en las poblaciones cultivadas. E0-E2= n° yemas, E3-E4= n° flores en fase masculina, E5-E6= n° flores mayoritariamente en fase femenina, E7= n° flores marchitas, E8-E11= n° de frutos verdes. Se representa el rango y la media (\pm Error estándar).

FENOLOGÍA Y DESARROLLO DE LA INFLORESCENCIA. DICOGAMIA INTER-FLORAL, ESTRUCTURA Y OFERTA FLORAL											
POB	N	YEMAS/ BOTONES E0 - E2	FLORES MASCULINAS E3 - E4	FLORES FEMENINAS E5 - E6	FLORES DISPONIBLES E3 - E6	FLORES MARCHITAS E7	FRUTO VERDE E8- E11	FRUTO MADURO E12	YEMAS ANÓMALAS	GINECEOS ANÓMALOS	CICATRICES
PGB	455	5.8 ± 0.11 (0-16)	0.8 ± 0.02 (0-2)	1.7 ± 0.04 (0-4)	2.4 ± 0.05 (1-4)	0.5 ± 0.03 (0-3)	3.4 ± 0.20 (0-22)	0	0.2 ± 0.03 (0-5)	0.2 ± 0.03 (0-4)	2.6 ± 0.21 (0-25)
PGBJ	57	5.9 ± 0.36 (0-12)	0.6 ± 0.08 (0-2)	1.6 ± 0.13 (0-4)	2.2 ± 0.14 (1-4)	0.3 ± 0.08 (0-2)	0.4 ± 0.04 (0-2)	0	0.4 ± 0.12 (0-4)	0.02 ± 0.02 (0-1)	1.5 ± 0.54 (0-18)
PFSJ	21	4.2 ± 0.27 (2-7)	0.6 ± 0.11 (0-1)	1.6 ± 0.21 (0-4)	2.1 ± 0.22 (1-4)	0.4 ± 0.13 (0-2)	1.6 ± 0.52 (0-8)	0	0.7 ± 0.27 (0-4)	0.05 ± 0.05 (0-1)	0.9 ± 0.34 (0-5)
PFA	144	3.6 ± 0.13 (1-12)	0.7 ± 0.06 (0-4)	1.3 ± 0.08 (0-4)	2.0 ± 0.08 (1-4)	0.1 ± 0.02 (0-1)	0.8 ± 0.12 (0-7)	0	0.01 ± 0.01 (0-1)	0.01 ± 0.01 (0-2)	0.03 ± 0.02 (0-3)
PFT	233	4.3 ± 0.14 (0-15)	0.8 ± 0.03 (0-2)	1.3 ± 0.05 (0-3)	2.1 ± 0.06 (1-4)	0.4 ± 0.04 (0-3)	2.5 ± 0.19 (0-11)	0.2 ± 0.07 (0-8)	0.1 ± 0.02 (0-2)	0.1 ± 0.04 (0-6)	0.4 ± 0.09 (0-10)
POA	348	5.6 ± 0.11 (1-12)	0.8 ± 0.03 (0-4)	1.4 ± 0.05 (0-4)	2.5 ± 0.05 (1-4)	0.6 ± 0.05 (0-4)	2.6 ± 0.21 (0-20)	0.02 ± 0.01 (0-3)	0.1 ± 0.03 (0-7)	0.1 ± 0.01 (0-2)	0.3 ± 0.06 (0-10)
POS	465	4.4 ± 0.10 (1-13)	0.6 ± 0.03 (0-3)	1.1 ± 0.03 (0-3)	1.7 ± 0.03 (1-3)	0.3 ± 0.03 (0-3)	2.8 ± 0.17 (0-21)	0	0.1 ± 0.03 (0-14)	0.02 ± 0.01 (0-2)	0.12 ± 0.03 (0-8)
POSJ	165	6.7 ± 0.21 (0-14)	0.5 ± 0.04 (0-2)	1.3 ± 0.06 (0-3)	1.8 ± 0.06 (1-3)	0.6 ± 0.07 (0-3)	3.9 ± 0.44 (0-32)	0	1.0 ± 0.13 (0-7)	0.04 ± 0.01 (0-1)	0.9 ± 0.20 (0-16)
POV	95	3.3 ± 0.13 (0-11)	0.7 ± 0.05 (0-2)	1.3 ± 0.07 (0-3)	2.0 ± 0.07 (1-3)	0.8 ± 0.08 (0-3)	1.0 ± 0.13 (0-5)	0	0.02 ± 0.01 (0-1)	0.1 ± 0.02 (0-1)	0.01 ± 0.01 (0-1)
POM	172	4.2 ± 0.09 (0-8)	0.6 ± 0.04 (0-2)	1.1 ± 0.06 (0-3)	1.7 ± 0.05 (1-3)	0.7 ± 0.06 (0-5)	3.1 ± 0.23 (0-15)	0.02 ± 0.01 (0-2)	0.03 ± 0.01 (0-1)	0.1 ± 0.03 (0-2)	0.8 ± 0.14 (0-11)
PPG	346	5.5 ± 0.10 (0-12)	0.7 ± 0.03 (0-3)	0.9 ± 0.04 (0-3)	1.7 ± 0.04 (1-3)	0.2 ± 0.02 (0-2)	1.2 ± 0.13 (0-13)	0.1 ± 0.04 (0-8)	0.1 ± 0.03 (0-3)	0.05 ± 0.02 (0-2)	0.2 ± 0.05 (0-8)
PPGJ	109	4.1 ± 0.17 (0-9)	0.5 ± 0.05 (0-2)	1.1 ± 0.07 (0-3)	1.6 ± 0.06 (1-3)	0.4 ± 0.07 (0-3)	0.9 ± 0.15 (0-9)	0.1 ± 0.05 (0-4)	0.4 ± 0.09 (0-5)	0.02 ± 0.01 (0-5)	1.5 ± 0.27 (0-12)
PITJ	25	4.9 ± 0.36 (3-9)	0.8 ± 0.07 (0-1)	1.6 ± 0.16 (0-3)	2.5 ± 0.16 (1-4)	0.4 ± 0.10 (0-1)	1.0 ± 0.39 (0-9)	0	0.2 ± 0.07 (0-1)	0.04 ± 0.04 (0-1)	3.3 ± 1.42 (0-28)
PIAJ	25	5.2 ± 0.25 (3-8)	1.0 ± 0.12 (0-2)	1.6 ± 0.14 (0-3)	2.6 ± 0.15 (1-4)	0.6 ± 0.10 (0-1)	2.9 ± 0.71 (0-12)	0	0.1 ± 0.06 (0-1)	0.04 ± 0.04 (0-1)	0.5 ± 0.17 (0-3)
PSAJ	32	5.4 ± 0.31 (3-10)	0.5 ± 0.09 (0-1)	1.8 ± 0.13 (0-3)	2.3 ± 0.16 (1-4)	0.5 ± 0.13 (0-2)	2.1 ± 0.54 (0-10)	0.3 ± 0.21 (0-6)	0.2 ± 0.11 (0-3)	0.2 ± 0.10 (0-3)	0.6 ± 0.34 (0-7)
PACJ	105	8.9 ± 0.27 (1-15)	0.7 ± 0.06 (0-3)	2.2 ± 0.11 (0-5)	2.9 ± 0.12 (1-5)	1.3 ± 0.12 (0-5)	4.7 ± 0.52 (0-23)	0	0.1 ± 0.03 (0-2)	0.1 ± 0.06 (0-5)	1.4 ± 0.38 (0-20)

Tabla 1.18.- FENOLOGÍA Y DESARROLLO DE LA INFLORESCENCIA. DICOGAMIA INTER-FLORAL en las poblaciones naturales y cultivadas del JBCVC. Desarrollo de la inflorescencia: yemas y botones (E0-E2), flores en fase masculina (E3+E4), flores mayoritariamente en fase femenina (E5+E6), total flores disponibles (E3-E6), frutos (E8-E11), fruto maduro (E12). Yemas y gineceos abortados y cicatrices. N= número de inflorescencias.

4.4.2. Inflorescencia. Oferta floral por día

En las Figs.1.65-1.66, Tabla 1.18 y Anexo 1.3 se muestran los resultados de la oferta floral de la inflorescencia. En general, se observa que el número medio de *yemas* por inflorescencia supera siempre al número medio de *flores* disponibles en fase *masculina* y en fase *femenina*.

Asimismo se detectan grandes oscilaciones tanto en el número de *frutos verdes* (con medias entre 0.4 en PGBJ y 4.7 en PACJ) como en el número de *yemas* (entre 3.3 en POV y 8.9 en PACJ) dependiendo de lo avanzado de la floración.

En todas las poblaciones en relación al número total de *flores disponibles* (E3-E6) de la inflorescencia, las flores en fase *femenina* (E5-E6) superan a las flores en fase *masculina* (E3-E4).

En fase masculina se observa el número de flores mínimo en POSJ, PPGJ y PSAJ (0.5) y el máximo en PIA (1.0), PGB, PFT, POA y PIT (0.8), mientras que en fase femenina (E5-E6) la media mínima de flores (0.9) se observa en PPG frente a los máximos de 2.2 en PACJ.

Se detectan diferencias en el número de flores disponibles (E3-E6) por inflorescencia en un día determinado entre los taxones y poblaciones de *Parolinia*, observándose que *P.ornata* (POS, POSJ, POV y POM) y *P.platypetala* (PPG, PPGJ) presentan el menor número de flores disponibles, con medias de 1.6 a 2 y rangos de 1-3 flores.

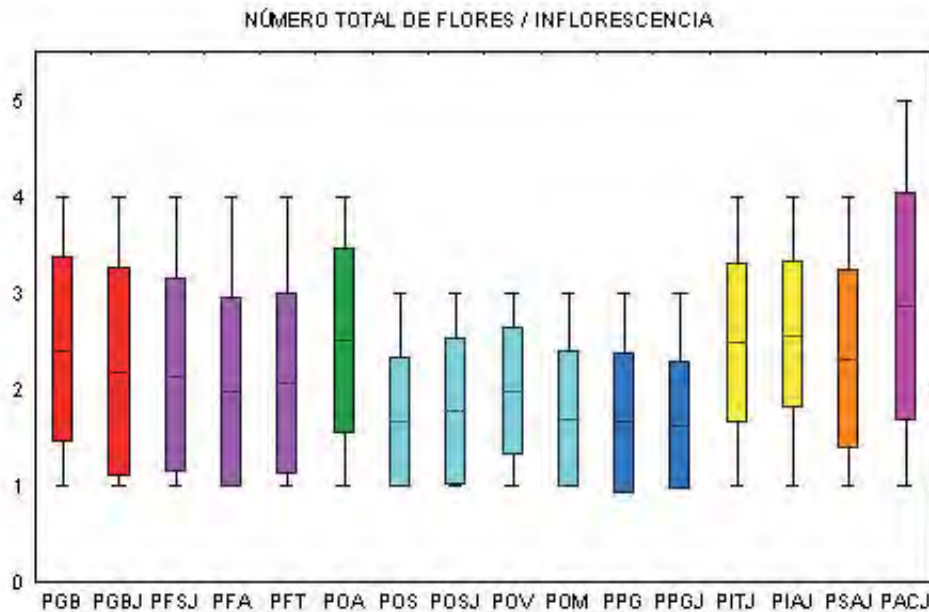


Figura 1.67.- Número total de flores disponibles (E3-E6) por inflorescencia. Las inflorescencias con menos flores disponibles se observan en *P. ornata* (POS, POSJ, POV y POM) y *P. platypetala* (PPG) y con mayor nº de flores en *P. aridanae* (PACJ). La producción de flores es similar en las poblaciones del mismo taxon (naturales y/o cultivadas).

La mayor producción de flores disponibles por inflorescencia se pone de manifiesto en *P. aridanae* (PACJ) con un rango que alcanza las 5 flores y una media de 2.9, seguida por las restantes poblaciones que muestran de 1-4 flores disponibles y valores medios desde 2.6-2.5 en *P. intermedia* y POA a 2.1-2.0 en *P. filifolia*, presentando *P.glabriuscula* y *P. schizogynoides* valores intermedios a éstos (Tabla 1.18 y Fig.1.67).

Los estadísticos descriptivos de los distintos estadios por visita y pico de floración, así como los análisis de Kruskal-Wallis del número total de flores disponibles (E3-E6) por población se muestran en el Anexo 1.3.



Figura 1.68.- Inflorescencias e individuo. Dicogamia interfloral intra e inter inflorescencias. *P.glabriuscula* (PGB). Floración hemisincrónica por grupos de inflorescencias. Inflorescencia en ramas péndulas con flores que se exponen horizontalmente funcionando como *antios* individuales o agrupados.

No se detectan diferencias significativas en la producción de flores entre las poblaciones naturales y cultivadas: PGB-PGBJ, POS-POSJ y PPG-PPGJ (Anexo 1.3), lo que permite hacer comparables los datos obtenidos para aquellos taxones donde no se dispone de observaciones en la población natural.

Excepto en *P. ornata* donde POV difiere ligeramente de las demás poblaciones (POS-POSJ-POM), no se observan diferencias significativas entre las poblaciones del mismo taxon ni en *P. filifolia* ni en *P. intermedia* (Anexo 1.3).



Figura 1.69.- Inflorescencias e individuo. Dicogamia interfloral intra e inter inflorescencias. *P. filifolia* (PFS). Floración hemisincrónica por grupos de inflorescencias. Flores en aspa y cruz.

4.4.3. Nivel individuo. Disposición floral e inflorescencias

Las inflorescencias en racimos verticales se observan generalmente con las flores expuestas de frente a los polinizadores de manera que, aunque las inflorescencias se encuentren en ramas péndulas de la base del individuo, las flores se orientan de forma más o menos horizontal hacia el exterior del individuo.



Figura 1.70.- Inflorescencias e individuo. Dicogamia interfloral intra e inter inflorescencias. *P. filifolia* (PFA). Floración hemisincrónica por grupos de inflorescencias. Flores en aspa y cruz.

Las distintas inflorescencias de un individuo o planta funcionan como unidades de polinización o *antios* formadas por la agrupación de pequeñas inflorescencias (Figs.1.68-1.79).



Figura 1.71.- Inflorescencias e individuo. Dicogamia interfloral intra e inter inflorescencias. *P. filifolia* (PFT). Floración hemisincrónica por grupos de inflorescencias. Flores en aspa dos orificios y en cruz con uno.



Figura 1.72.- Inflorescencias e individuo. Dicogamia interfloral intra e inter inflorescencias. POA. Floración hemisincrónica por grupos de inflorescencias con flores en aspa y cruz. Inflorescencias e infrutescencias del pico anterior en el mismo ciclo anual. Yema abortada (flecha roja).



Figura 1.73.- Inflorescencias e individuo. Dicogamia interfloral intra e inter inflorescencias. *P. ornata* (POS). Floración hemisincrónica por grupos de inflorescencias. Infrutescencia con fruto verde del primer pico y flor del segundo pico. Flor más blanca en fase masculina y flores con ligero cambio de color en los pétalos en fase femenina.

A nivel de *individuo* la producción de inflorescencias parece ser bastante sincrónica según grupos sucesivos de las mismas durante el mismo periodo de floración (Figs.1.68-1.79), en los cuales la dicogamia puede ocurrir de forma *hemisincrónica*, según terminología de WEBB & LLOYD (1986) ya que puede haber solapamiento entre las distintas inflorescencias con flores en fase masculina de exposición de polen y flores en fase femenina con receptividad estigmática, pudiendo por tanto ocurrir la auto-polinización dentro y entre inflorescencias de una misma planta, en el caso de que estas especies de *Parolinia* fueran auto-compatibles.



Figura 1.74.- Inflorescências e individuo. Dicogamia interfloral intra e inter inflorescencias. *P. ornata* (POV). Floración hemisincrónica por grupos de inflorescencias. Flores con cambio de color a rosa en la fase femenina generalmente en cruz y pétalos revolutos y flores más blancas en fase masculina generalmente en aspa y más cerradas.



Figura 1.75.- Inflorescencias e individuo. Dicogamia interfloral intra e inter inflorescencias. *P. ornata* (POM). Floración hemisincrónica por grupos de inflorescencias. Flores donde se aprecia un ligero cambio de color a rosa en los pétalos, generalmente más en cruz y resolutos, de las flores femeninas en relación a flores más blancas en fase masculina generalmente en aspa.



Figura 1.76.- Inflorescências e individuo. Dicogamia interfloral intra e inter inflorescencias. *P. platypetala* (PPG). Floración hemisincrónica por grupos de inflorescencias. Flores femeninas donde se aprecia un ligero cambio de color a rosa en los pétalos generalmente más en cruz y flores más blancas en fase masculina generalmente en aspa.



Figura 1.77.- Inflorescencias e individuo. Dicogamia interfloral intra e inter inflorescencias. *P. intermedia* (PIT). Floración hemisincrónica por grupos de inflorescencias. Cambio de color de las corolas con flores en aspa más blancas y en fase masculina o en cruz más coloreadas y en fase femenina.



Figura 1.78.- Inflorescencias e individuo. Dicogamia interfloral intra e inter inflorescencias. *P. intermedia* (PIA). Floración hemisincrónica por grupos de inflorescencias. Intenso cambio de color de la corola con flores en cruz más coloreadas en fase femenina y más blancas en fase masculina generalmente con los pétalos en aspa.

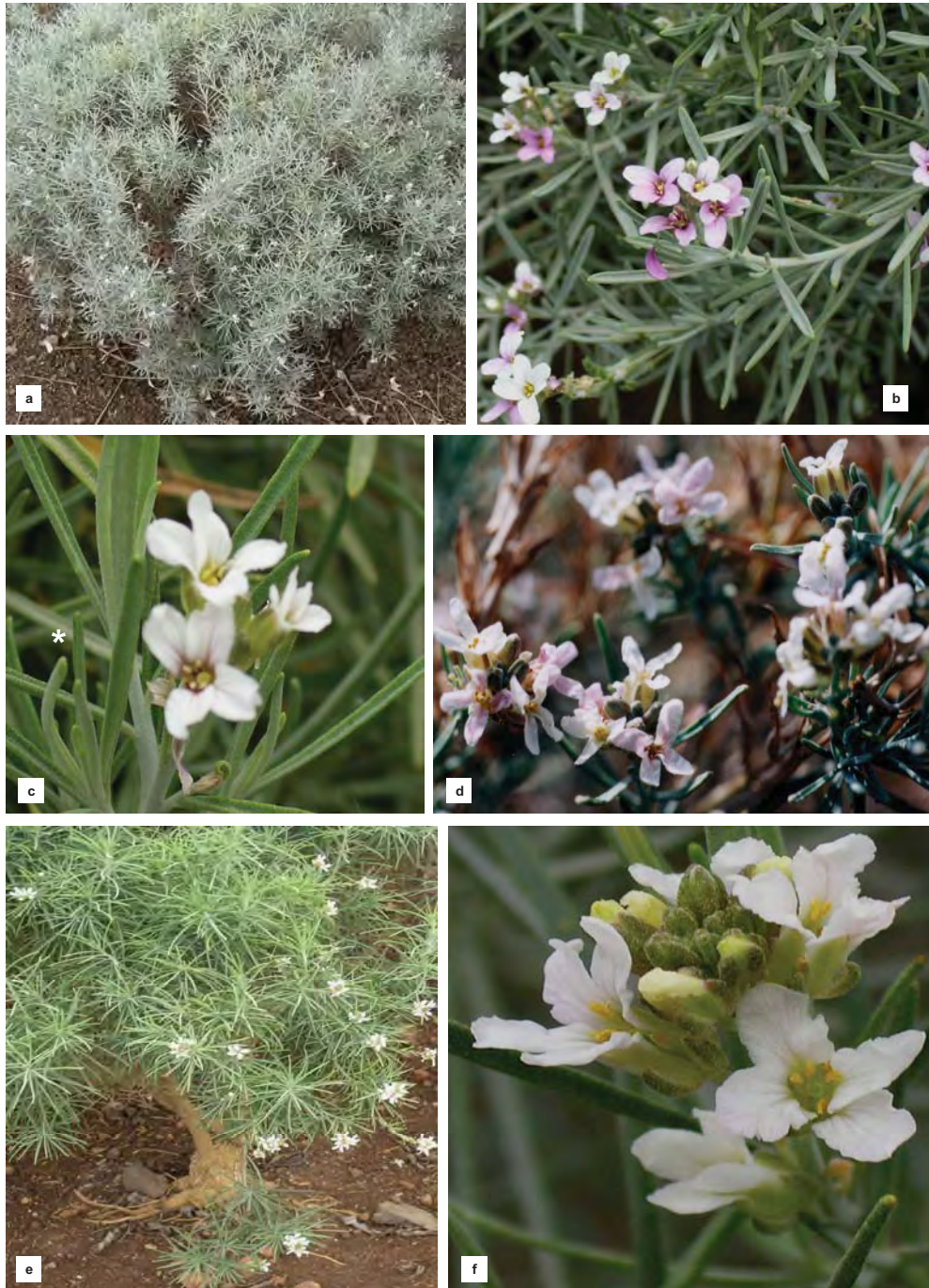
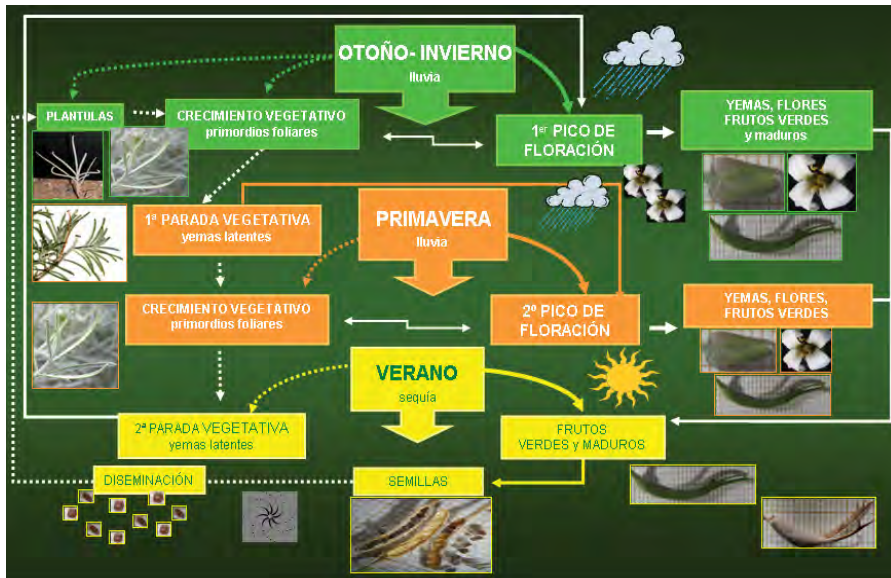
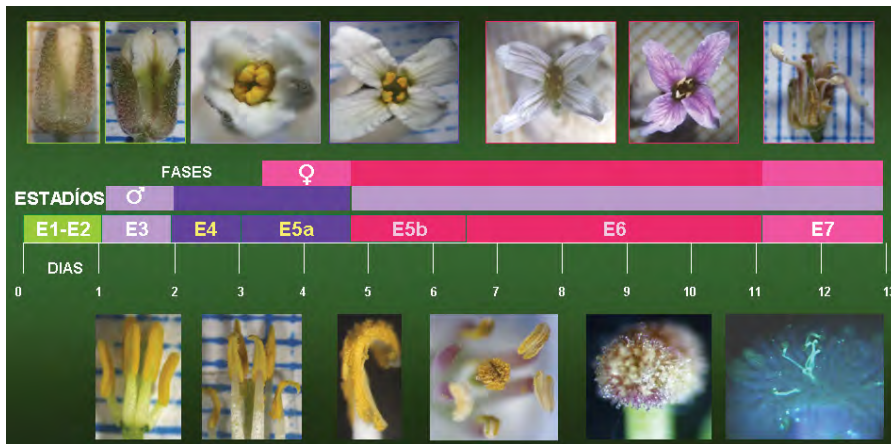


Figura 1.79.- Inflorescencias e individuo. Dicogamia interfloral intra e inter inflorescencias. *P. schizogynoides* PSA (a, b, c) y *P. aridanae* PAC (c, d, e). Floración hemisincrónica por grupos de inflorescencias o antios. Cambio de color de la corola en fase femenina y pétalos en aspa o cruz (b, d). Inflorescencia y primordios foliares (*) con estadios más jóvenes con pétalos verticales en PSA (c). Inflorescencia con yemas, botones y estadios más jóvenes (E3-E4) algunos con pétalos verticales (E3) en PAC (f).





CAPÍTULO I



Discusión y Conclusiones

5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

1. FENOLOGÍA ESTACIONAL Y CICLO VITAL

En todas las especies del género *Parolinia* el *ciclo vital* está relacionado directamente con la pluviometría. Se han observado *dos picos de floración* (otoño y primavera) íntimamente relacionados con el régimen de lluvias, aunque el segundo no suele presentar la misma intensidad que el primero. Los periodos de fructificación precedidos por los de floración, suele quedar inmersos en las dos paradas vegetativas con yemas latentes, frutos verdes y maduros. El *crecimiento vegetativo* se produce casi simultáneamente con el *periodo reproductivo* de manera que los individuos pueden presentar primordios *foliares* que coexisten con yemas activas, flores, frutos verdes y maduros.

En verano durante la *parada vegetativa* más larga y patente, en el ápice de las infrutescencias, se observan *yemas latentes* inactivas, que con las primeras lluvias del otoño continúan de nuevo su desarrollo, hecho que se ha interpretado como un mecanismo de floración inmediato, en el que las plantas pueden desarrollar flores en un periodo mucho más corto. Ninguna de estas especies pierden sus hojas en el periodo estival y la formación de nuevos primordios foliares no comienzan hasta el inicio de la floración.

Igual que *Parolinia*, otros endemismos canarios también presentan dos picos de floración, igualmente relacionados con el régimen de lluvias y en los que también el segundo pico no siempre tiene la misma intensidad que el primero. Ejemplos frecuentes se pueden encontrar en *Neochamaelea pulverulenta* (Cneoraceae), *Rumex lunaria* (Polygonaceae), *Maytenus canariensis* (Celastraceae), *Echium decaisnei* (Boraginaceae), etc., (PÉREZ DE PAZ, 2002; PÉREZ DE PAZ *et al.*, en prensa). A diferencia de *Parolinia* en otros endemismos canarios, durante la parada vegetativa, los individuos pierden todas sus hojas y el inicio del nuevo ciclo anual comienza con la formación de primordios foliares. Este sería el caso de algunas especies de *Argyranthemum* (OLANGUA *et al.*, 2004).

Fenología estacional. Filogenia y factores ambientales

Según HELENURM & BARRETT (1987) en un estudio de herbáceas forestales boreales llegaron a la conclusión que la *filogenia* es el factor principal que influye en la evolución de los patrones reproductivos (floración y fructificación) pudiendo determinar los periodos de floración, considerando que también pueden influir *factores abióticos* pudiendo ser generalmente más importantes que los bióticos.

BAWA, KANG & GRAYUM (2003), en su análisis de los patrones de floración de 302 especies arbóreas de bosques tropicales húmedos comprobaron el control filogenético respecto a la *época*, *duración* y *frecuencia* de la floración, examinando el efecto de cada una de estas variables sobre las otras dos. Sus conclusiones fueron que entre especies de la misma familia la filogenia influye en la *frecuencia* pero no en la época ni la duración de la floración (BAWA *et al.*, 2003). Otros autores sin embargo, creen que la época de floración es filogenéticamente conservativa encontrando que la *filogenia* también influye en caracteres reproductivos como, la longevidad de la flor, masa de las semillas, forma del fruto, etc (JOHNSON, 1992; WRIGHT & CALDERON, 1995). La fuerte similitud en la época y duración de la floración entre congéneres y cofamiliares especialmente de monocotiledóneas fue una sorpresa que se explica por el refuerzo del patrón filogenético de

las adaptaciones y especies que inicialmente comparten fenologías florales similares, siguen sometidas a fuerzas selectivas similares como freno a las mutaciones.

En *Parolinia* la época, duración y frecuencia de la floración puede estar determinada filogenéticamente y reforzada por el estasis ecológico de las fuerzas selectivas ambientales, donde el ecosistema del piso basal, laderas soleadas de los barrancos de las islas, podría estar manteniendo la estacionalidad de su ciclo vital. De todas formas, la influencia del régimen variable de pluviometría de Canarias, como detonante de la floración de *Parolinia*, le confiere cierta plasticidad en la homogeneidad estacional de su ciclo vital (y posiblemente la temperatura en la longevidad de la flor), coincidiendo además con la idea de HELENURM & BARRETT (2000) y BAWA, KANG & GRAYUM (2003) que, en las especies boreales y tropicales las variables abióticas parecen influir localmente de forma más directa y determinante.

Según algunos autores, en regiones tropicales la estacionalidad de la floración depende de los periodos secos y húmedos y puede verse reflejada de forma más patente en las diferentes poblaciones de una sola especie, cuyo rango se extiende desde zonas húmedas a secas. La lluvia o la temperatura actúan de detonantes para la floración, considerando también la disponibilidad de los polinizadores como otra razón indirecta (ENDRESS, 1994). En otro estudio a nivel comunidad con géneros tropicales de la familia Arecaceae (HENDERSON *et al.*, 2000) se observó que no mostraban un claro patrón estacional con las precipitaciones, aunque algunas especies florecieran fundamentalmente en la estación de lluvias y otras en la seca. Sin embargo observaron en las cuatro comunidades, que la época de floración de las especies podía estar relacionada con la de otros géneros de similar sistema de polinización y fenología también similar, concluyendo que los factores bióticos también tienen importancia en la fenología.

En *Parolinia* la homogeneidad estacional de su ciclo vital parece estar controlada filogenéticamente, aunque también íntimamente ligada al régimen de lluvias que actúa como detonante en el inicio del periodo de floración. La talla pequeña de las semillas y su naturaleza alada, podría relacionarse con la diseminación y régimen de vientos locales en la época estival.

Como indican algunos autores, los periodos de floración más largos son comunes en especies con floración en invierno-primavera (RODRIGUEZ-RIAÑO, ORTEGA-OLIVENCIA & DEVESA, 1999) donde además se ha visto que producen diariamente menos flores. La explicación es que en primavera aumenta el número de especies que compiten por los mismos polinizadores y la selección, que va en contra del flujo génico inter-específico, obliga a un acortamiento de la oferta floral diaria.

En las distintas especies de *Parolinia*, no se confirma este mismo patrón. La larga floración del primer pico mantiene una mayor oferta floral en la población, toda vez que se produce un mayor número de inflorescencias por individuo, que en el segundo pico de floración.

Fenología estacional y ciclo vital. Cambio climático

En Canarias, los resultados obtenidos en *Parolinia* acerca del tiempo, duración y frecuencia de la floración parecen predecir que además de estar forzados filogenéticamente, el factor abiótico (régimen irregular de precipitaciones) actúa como detonante estacional de la floración.

Ante el actual contexto de *cambio climático*, se hacen necesarios estudios fenológicos para predecir las consecuencias del incremento de la temperatura y otras variables climáticas sobre los patrones fenológicos de las especies y sus consecuencias en el ciclo vital. Sería necesario, realizar estudios fenológicos estacionales y *ciclo vital* de las especies a nivel de comunidad vegetal, para diferenciar el componente filogenético de los patrones fenológicos y valorar la influencia de las variables ambientales abióticas en las distintas fases del ciclo vital de cara al *cambio climático*.

En concreto los periodos de floración y fructificación se consideran como los estadios fenológicos más lábiles y significativos del *ciclo vital*, donde se podría valorar la sensibilidad ante el cualquier cambio climático. La alteración de los procesos de floración y fructificación, podría redundar en una mayor plasticidad y amplitud ecológica en unas especies (vía evolutiva), o en una vía irremediable de extinción para otras, cambiando a largo plazo, la estructura y composición de las comunidades vegetales y floras locales (CHUINE, BELMONTE & MIGNOT, 2000; LLORENS & PEÑUELAS, 2005; BRAMWELL, 2009).

Asimismo el conocimiento de la incidencia de las fuerzas ambientales abióticas (climáticas) sobre los factores bióticos (simbiosis, parasitismo, polinizadores y dispersores) principalmente con *síndromes isleños* de adaptaciones muy específicas y locales, sería de especial importancia por su repercusión en los procesos de establecimiento de plántulas y mantenimiento de las poblaciones naturales de las floras isleñas (BRAMWELL, 2009).

En este sentido, algunos autores recomiendan la confrontación con épocas pasadas de cambio climático donde los estudios de paleoecología: polen fósil, reconstrucción de las vegetaciones y periodos de extinción, ayudarían a predecir asimismo la influencia del cambio climático actual (PETIT, HAMPE & CHEDADI, 2005; BLACKMORE, 2007).

2. FENOLOGÍA FLORAL. FASES DE LA FLOR

Para caracterizar el desarrollo de la flor de *Parolinia* se han establecido 8 estadios aunque los patrones pueden cambiar ligeramente según las especies: E0: *yema*, E1: *botón cerrado*, E2: *botón abierto*, E3: *flor inmadura con los pétalos no expandidos*, E4: *flor joven masculina con los pétalos expandidos y anteras dehiscentes*. E5a: *flor con androceo y gineceo expuesto cubierto de polen*, E5b *flor femenina con cambio de color (pétalos, androceo y gineceo)*, E6: *prolongación de la fase femenina* y E7: *flor marchita con pérdida de verticilos*.

Los estadios E0-E2 corresponden a *yemas* y *botones* florales con verticilos sin desplegar hasta el estadio E3 de *flor inmadura no expandida* y estadio E4 de *flor joven expandida con comienzo de dehiscencia y androceo expuesto*. Las flores se encuentran generalmente con los pétalos en *aspa* rodeando un orificio alargado o dos más pequeños y redondeados. A partir de este estadio, las flores *cerradas* y *profundas* se van desdibujando (según taxones) a medida que se desarrollan, aunque en algunos taxones (*P.ornata* y *P.platypetala*) permanecen fundamentalmente casi cerradas. La *fase masculina* se continúa en el estadio E5a de flores más frecuentemente en cruz con *anteras dehiscentes* (100%) y *gineceo expuesto cubierto de polen*, pudiendo permanecer expuesto en la superficie del *estigma* dependiendo de los polinizadores (E6) hasta que desaparece sensiblemente (E7).

A partir de la *dehiscencia total*, las anteras comienzan a perder polen (según la afluencia de polinizadores) sufriendo una serie de cambios que afectan a la forma y posición

de las tecas, respecto a su propio eje o al de su filamento estaminal, hasta que se vacían completamente (E6-E7).

Reconsideración de las fases masculina y femenina de la flor

En los ocho estadios descritos de *Parolinia* se pueden reconsiderar algunas remodelaciones a partir del estadio E4 donde comienza la *dehiscencia de anteras* o fase masculina:

- *Estadio E4: dehiscencia de anteras* en la mayoría de los taxones a excepción de PGB, PFA, POM y PSA (<70% de anteras dehiscentes). Gineceo muy bajo con *estigma* cubierto de polen solo en el margen. Duración de 1-2 días.

- *Estadio E5: flor masculina*. Con *dehiscencia* generalizada (100%) las anteras disminuyen su contenido polínico a medida que avanza el estadio (antiguo E5a) según afluencia de polinizadores. *Estigma* bien visible más cubierto de polen. *Tubos polínicos* en el *estilo* de casi todas las poblaciones, a excepción de POM y PSA todavía con tubos solo en el *estigma*. Duración de 1-2 días.

- *Estadio E6: flor femenina*. Se considera la *fase femenina por excelencia* ya que todas las poblaciones presentan estigmas receptivos con *tubos polínicos* que pueden alcanzar el ovario y óvulos. El principal marcador de esta fase (antigua E5b) es el *cambio de color* del androceo y gineceo. *Anteras* medio vacías con *estigma* cubierto totalmente de polen. Duración de 2-3 días.

- *Estadio 7. Flor femenina e inicio de marchitez*. *Pétalos* que pierden turgencia, *anteras* prácticamente vacías que continúan *cambiando*, recurvándose, arqueándose, o girando horizontalmente en L y/o T, y/o se retuercen helicoidalmente (antiguo E6). El *gineceo* continúa creciendo pudiendo sobrepasar el orificio de la flor. El *estigma* todavía con polen, intensifica el color violeta. *Los tubos polínicos* llegan al ovario y óvulos de forma generalizada (100%). Duración de 2-3 días.

- *Estadio 8. Flor marchita con pérdida de verticilos*. Marchitez (antiguo E7) con pérdida paulatina de la corola junto con los estambres, de manera que al final del estadio se conserva exclusivamente el gineceo. Duración 1-2 días aunque la caída de verticilos se puede retardar según el viento.

Estos ocho estadios de *Parolinia*, quedan enmarcados en los cuatro establecidos para dos Brassicaceae (*Brassica juncea* y *Sinapis alba*): (i) yema, pétalos no expandidos; (ii) corola abierta e inicio de la dehiscencia de anteras; (iii) corola expandida con exposición de polen; (iv) corola completamente abierta, después de la exposición del polen (MASIEROWSKA, 2003). Asimismo los estadios de *Parolinia* coinciden en general con los nueve establecidos de *Streptanthus tortuosus* otra Brassicaceae, aunque el desarrollo de los estambres en esta especie no es homogéneo y se encuentra separado en estadios distintos según tres pares desiguales (PRESTON, 1991), a diferencia de *Brassica*, *Sinapis* y *Parolinia*, donde ambos verticilos de estambres exponen el polen casi simultáneamente.

Duración del ciclo de la flor y longevidad

En relación a la duración del ciclo y longevidad floral de *Parolinia* se dan ligeras variaciones durante la misma estación que pueden depender de la temperatura, pudiendo acortarse en los meses estivales. Muchas veces el alargamiento del ciclo floral, depende de la caída de los verticilos de la corola en el estadio E8. En *Parolinia* el alargamiento del ciclo

floral, puede oscilar entre 7 y 12 días dependiendo de la temperatura, coincidiendo con una longevidad similar con especies del género *Matthiola* (*M.longipetala* y *M.tricuspidata*) de 7 y 8 días respectivamente (KUNIN & SHMIDA, 1997) y de 11 días en *Streptanthus tortuosus* (PRESTON, 1991), contrastando fuertemente con las flores de un día de *Lepidium ruderae* o *Sinapis alba* y *Brassica juncea* con 1.5 y 2 días respectivamente (KUNIN & SHMIDA, 1997; MASIEROWSKA, 2003).

Aunque hay algunos autores que mantienen que la *longevidad* floral o *tiempo en que las flores permanecen abiertas y funcionales* está relacionada con la *ecología* de la flor más que con la *filogenia* (VESPRINI & PACINI, 2005), el ciclo de la flor es importante para entender la ecología de la polinización como un proceso dinámico en el que pueden influir también variables ambientales de carácter abiótico (RODRÍGUEZ-RIAÑO et al., 1999).

En las angiospermas, la *longevidad floral* parece estar asociada al grupo taxonómico, sistema de cruzamiento, ecología o hábitat y tipo de polinizador, siendo además una característica que influye en la cantidad de polen recibido y diseminado por una planta, y por lo tanto, importante para su eficacia reproductiva (ENDRESS, 1994; SCHOEN & ASHMAN, 1995). Al parecer, las flores de larga duración o longevidad se favorecen por la presencia de *dicogamia* en relación a la *homogamia* que favorece flores de corta duración (SCHOEN & AHSMAN, 1995).

Al igual que en otros grupos (Genisteae) donde el ciclo de la flor está correlacionado con la temperatura (RODRIGUEZ RIAÑO et al., 1999), según los resultados obtenidos en este trabajo, la longevidad floral en las especies de *Parolinia*, parece estar fijada genéticamente aunque influida por las condiciones climáticas de temperatura, alargándose en los periodos más fríos y húmedos y acortándose en los periodos más cálidos y secos. No obstante, se debe tener en cuenta que también los cambios del ciclo y longevidad floral se pueden asociar a las visitas de *polinizadores* que al parecer acortan el ciclo, acelerando la senescencia (PRESTON, 1991).

Flor y síndromes de polinización asociados a la dicogamia

Según diferentes autores las distintas manifestaciones de la flor a lo largo de su desarrollo o *estadios fenológicos*, principalmente asociados a los cambios de la fase masculina y femenina o *dicogamia*, se han interpretado como síndromes de *polinización* en los que la selección ha actuado favoreciendo el *reclamo* y disponibilidad del polen a los insectos a modo de señales visuales de recompensa (CLEMENTE & HERNÁNDEZ, 1978a; LLOYD & WEBB, 1986; WEISS, 1995; GOMEZ, PERFECTTI & MARTINEZ CAMACHO, 2005).

Periantio. Disposición de los pétalos, cambio de color y protandria

En *Parolinia* durante los primeros *estadios* relacionados a la fase masculina se puede encontrar dos tipos de flor: i) *normal* que permite ver fácilmente el androceo (frecuente en las especies PG, PI y PS) y ii) *profundo*, donde apenas se vislumbra el androceo que no alcanza el orificio (frecuente en las especies PP y PO). Estos tipos parecen estar asociados a la longitud del cáliz, más corto en la flor normal y más largo en la flor profunda, sin descartar la longitud de los filamentos estaminales que habría que considerar y evaluar pero que con los datos actuales parecen influir de forma secundaria.

En Brassicaceae, los pétalos pueden presentarse en *aspa* o cruz de San Andrés o en forma de *cruz* griega (CLEMENTE & HERNÁNDEZ, 1978a). En *Parolinia* los dos tipos de

disposición que configuran dos tipos de flor suelen ir asociados a las fases masculina y femenina: i) *flores con pétalos en aspa, generalmente en estadios más jóvenes de flor masculina que pueden delimitar dos orificios o uno alargado* y ii) *flores con pétalos en cruz rodeando un orificio circular generalmente en estadio más avanzado femenino*. En este mismo sentido GOMEZ, PERFECTTI & MARTINEZ CAMACHO (2005) señalan como justificación de las flores zigomorfas y actinomorfas de una especie del género *Erysimum* son consecuencia de una fuerte selección ante las presiones selectivas de *polinizadores* específicos.

Los cambios en la *disposición* de los pétalos (*en aspa* en estadios tempranos de fase masculina a *en cruz* en estadios más avanzados de fase femenina) pueden encontrarse asociados a cambios de color en el androceo y gineceo, razón por la cual pudieran ser considerados como marcadores e indicadores fenológicos de la flor con incidencias en los polinizadores, y por tanto considerados síndromes florales de polinización.

Los *cambios del color* de la corola desde la fase masculina a la femenina, se hacen más patentes e intensos en las especies de las islas de Tenerife, *P. intermedia* (PIT y PIA) y de La Gomera, *P. schizogynoides* (PSA). Menos patente en las especies de la isla de Gran Canaria, en las tres poblaciones (POM, POS y POV) de *P. ornata*, *P. platypetala* (PPG), *P. glabriuscula* (PGB) y también en poblaciones de *P. filifolia* (PFT, PFA y POA) donde el cambio es prácticamente inapreciable (solo en los nervios) con una aparente uniformidad incluso dirigida a los aromas de la flor quizás relacionados con el néctar.

Hay que distinguir también cambios de color asociados a síntomas de senescencia floral que van acompañados del marchitamiento del cáliz y corola que acaban por cerrarse y caer (LLOYD & WEBB, 1986) que de la misma manera se han observado en las especies de *Parolinia*.

Androceo y gineceo. Cambio de color, polinización y protandria

La exposición o *presentación secundaria de polen* se ha observado (marginamente) sobre el estigma de la flor de *Parolinia* desde estadios tempranos (E4) donde puede haber comenzado la dehiscencia pero todavía no hay receptividad estigmática. El estigma puede observarse cubierto en el E5 pudiendo permanecer a veces así hasta el marchitamiento de la flor (E7). Esto se explica, por la forma en que tiene lugar la dehiscencia de las anteras, donde el desgarramiento longitudinal-lateral de la teca y liberación de polen se orienta directamente hacia el estigma, depositándose primero en los bordes hasta que queda totalmente cubierto, hecho que se refuerza porque no existe hercogamia (anteras y estigmas no están separados espacialmente).

La *posición del estigma* respecto a las anteras laterales y medias sugiere que ambas podrían ser las suministradoras del *polen del estigma*, en todas las poblaciones excepto en PIA y PSA que solo podrían ser las anteras laterales. Una posible respuesta podría estar en que la tetradinamia de *Parolinia* favorece a las *anteras laterales* (cortas) como suministradoras de polen a insectos de pequeño tamaño (moscas, pequeños escarabajos, etc.) que entran en la flor en busca de néctar, mientras que las *anteras medias* podrían ser suministradoras de polen a insectos de mayor tamaño (abejas, avispas, etc.).

En *Parolinia* la *protandria* (exposición de polen antes que del estigma) viene acompañada de cambios de color. Al final de la fase masculina, una vez que se considera iniciada la fase femenina (E6) de la flor, todas las especies presentan cambios de color en el androceo (filamentos estaminales) y gineceo (papilas del estigma) confirmando que este grupo de especies, pueden entrar a formar parte de los géneros de Brassicaceae que,

según WEISS (1995), poseen mecanismos de cambio de color en la flor asociado al cambio de la fase masculina a la femenina.

También se ha detectado cambio de color asociado a la *protandria* en especies de *Erysimum* (*E. albescens*) endemismo de la isla de Gran Canaria acompañada de cambio de color de los pétalos blancos que se tornan azul-violeta en fase femenina (PÉREZ DE PAZ & FEBLES, sin publicar) como las dos poblaciones de *P. intermedia* (PIT y PIA) y *P. schizogynoides* de La Gomera (PSA). También presentan protandria las especies macaronésicas del género *Diplotaxis* en Cabo Verde (RUSTAN, 1996). En relación a la fase femenina PRESTON (1991) observa crecimiento del gineceo en *Streptanthus* a medida que va desarrollándose la flor y en cambio NIETO FELINER (1991) solo aprecia crecimiento en los pétalos de *Erysimum*.

De cualquier forma los recursos del androceo y gineceo en *Parolinia* también van a estar íntimamente relacionados a los *sistemas de cruzamiento* mediante el *ratio* Polen/Óvulo de CRUDEN (1977) como se verá en el Capítulo II.

***Parolinia*. Dicogamia incompleta y fuerzas evolutivas**

Se puede decir que la *dicogamia* floral en el género *Parolinia* es *incompleta* toda vez que las fases masculina y femenina se superponen a partir del estadio E5a donde la exposición de polen coincide con la *receptividad estigmática* de los estadios E5b y E6.

La misma *dicogamia incompleta* de *Parolinia* ocurre también en otras Brassicaceae. En *Streptanthus tortuosus*, cuyos estigmas no son receptivos hasta la fase de transición estaminada-pistilada justo antes de la expansión estigmática (PRESTON, 1991). En otros géneros (*Brassica* y *Sinapis*) la *dicogamia* parece ser también *incompleta* y la *protoginia* parcial en relación a la fase masculina que comienza antes que finalice la femenina (PROCTOR, YEO & LACK, 1996; MASIEROWSKA, 2003). Sin embargo, de acuerdo con estos autores *Brassica juncea* es una especie con *protoginia* y auto-compatible: en los botones florales de la *mostaza* los estigmas se proyectan generalmente por encima de los pétalos (que se hacen receptivos inmediatamente) la tarde anterior a la apertura de las flores.

Conviene destacar que el mecanismo de la *dicogamia incompleta* presente en *Parolinia* (*protandria*) refuerza las *hipótesis* propuestas por LLOYD & WEBB (1986) y BARRETT (2003):

Exposición prolongada de polen que garantiza los polinizadores en el estigma receptivo

Todas las especies de *Parolinia* son *protándricas* con la dehiscencia de las anteras en estadios tempranos (E4-E5a) y exposición de polen en el estigma. La exposición secundaria de polen en el *estigma (pollen presenter)* como órgano suministrador de polen (además de las anteras) perdura durante la fase femenina de la flor (E5b), alargando el reclamo de polinizadores y garantizando su presencia durante la fase femenina. La ventaja de esta *exposición secundaria (pollen presenter)* es que permite al polen y estigma formar parte de la misma *unidad de polinización* permitiendo la retirada y deposición del polen al mismo tiempo.

La *exposición secundaria* de polen con el *estigma* como órgano suministrador es un síndrome de polinización más o menos generalizado que se ha observado en distintos grupos vegetales. En la mayoría de los casos se ha relacionado con taxones alógamos donde se evitan interferencias androceo-gineceo por *dicogamia* (protandria) impidiendo la

auto-fecundación por mecanismos de auto-incompatibilidad (LADD, 1994; HOWELL *et al.*, 1993; O'BRIEN, 1996; MEDAN & ARCE, 1999) estrategia asimismo compartida por el género *Parolinia*.

Favorecer un tipo de flor que impide interferencias polen-estigma

Los tipos de flores que evitan interferencias *polen-estigma* se pueden configurar por diferentes estrategias que durante el desarrollo floral, distancian al androceo del gineceo, favoreciendo la efectividad en la unidad de polinización, al mismo tiempo que se evita la pérdida de recursos. En *Parolinia* como en otras angiospermas, la presencia de estos mecanismos que evitan las interferencias androceo-gineceo se justifica también de forma efectiva:

- Señales de recompensa en los estambres

Los estambres actúan como señales de recompensa en forma de grandes anteras con mucho polen, desde que las tecas se hacen dehiscentes y se expone el polen, hasta que se vacían y los estambres marchitan o caen.

- Movimiento del androceo o gineceo: protandria y movimiento de anteras

Para evitar la interferencia polen-estigma, las flores protándricas de *Parolinia* resuelven al mismo tiempo dos problemas, retrasar el gineceo y apartar el androceo: en un primer momento mientras que el polen se expone en las anteras, el estigma no receptivo también está cubierto de polen. Cuando se vuelve receptivo, las anteras, a medida que se vacían, se alejan (adoptando una posición más o menos horizontal) para no obstaculizar el acceso de los polinizadores al estigma.

En *Parolinia* como en algunos géneros de otras familias se observan una serie de cambios en el androceo, después de liberar el polen que se interpretan como una forma de evitar interferencias con el gineceo, presentando un mejor acceso de los polinizadores al estigma receptivo. Una vez que ha tenido lugar la dehiscencia longitudinal de las anteras, se observan cuatro tipos de cambios según la forma y disposición de las *tecas vacías*, que pueden o no ser consecutivos, simultáneos y variar según taxones:

i) *Recurvamiento* de los ápices hasta que se hacen más o menos revolutos, que puede afectar a toda la antera. ii) *Giro horizontal* de la antera respecto al filamento estaminal: iia) *incompleto en L*, cuando la porción apical de la teca gira horizontalmente quedando libre mientras el resto permanece vertical como el filamento y iib) *completo en T*, cuando el giro también afecta a la porción terminal de la antera disponiéndose totalmente horizontal en T respecto a su filamento. iii) *Enrollamiento helicoidal* a lo largo del eje de la antera. iv) Separación progresiva de la base de las tecas vacías *a modo de T invertida*.

Tales cambios que se consideran como especializaciones del androceo al proceso de polinización, se manifiestan en otros grupos. Las anteras en horizontal se ha observado en especies canarias del género *Echium* (MORA *et al.*, en prep.) y las anteras recurvadas o en espiral en algunos géneros de la familia Gentianaceae (MANSION & STRUWE, 20004). En Brassicaceae, como en *Parolinia*, el género *Biscutella* el cambio de posición de las anteras en relación al estigma, parece responder a patrones que varían según edad de la flor de manera que las anteras pueden cambiar a posición horizontal, cuando las tecas se encuentran casi vacías (OLWOKUDEJO & HEYWOOD, 1984).

- Cambios post-exposición o de senescencia

De acuerdo a las hipótesis de LLOYD & WEBB (1986) en *Parolinia* se ha observado que la *senescencia* también va acompañada por cambios en los verticilos florales. Los pétalos van perdiendo turgencia y cambiando de color, marchitándose y cayendo, al mismo

tiempo que cesa la producción de néctar y el olor. Los cambios externos del periantio van acompañados por cambios en los verticilos sexuales donde se intensifica el color, las anteras pierden polen, cambian de posición hasta que caen con los estambres, y se observa de forma manifiesta el desarrollo del gineceo (cuando se ha producido fecundación).

En las especies de *Parolinia* los cambios de la flor durante la senescencia pueden tener además otras consecuencias: a) con el cese de los síndromes de reclamo y recompensa, la planta reserva recursos para la formación de frutos y semillas; b) la senescencia también hace a las flores menos llamativas, favoreciendo que los visitantes se dirijan a las flores que ofrecen recompensa permitiendo la dispersión y recepción del polen, al mismo tiempo que se evitan *visitas* superfluas a flores previamente visitadas; c) se reduce la interferencia polen-estigma y no se desperdicia polen en flores no receptivas; d) se evitan los predadores potenciales atraídos por los reclamos florales.

3. INFLORESCENCIA. DICOGAMIA INTERFLORAL

Actualmente se reconoce como *dicogamia interfloral* de una *inflorescencia* con flores hermafroditas, cuando las flores en fase masculina no coinciden con flores en fase femenina que se exponen en diferentes tiempos.

Las flores de *Parolinia* se encuentran en una pequeña inflorescencia o *racimo* con crecimiento acrópeta (de la base al ápice), donde pueden coexistir desde flores marchitas a maduras en fase femenina (más coloreadas) en posición más basal, flores jóvenes en fase masculina (generalmente blancas), junto con botones y yemas en el ápice.

Inflorescencia

Como en la mayoría de las especies protándricas con inflorescencias verticales, entomógamas y desarrollo floral acrópeta, no se evita la interferencia interfloral excepto por la presencia de auto-incompatibilidad (WYATT, 1982; RICHARDS, 1986 y 1997; LLOYD & WEBB, 1986; MEDAN, 1994; MEDAN & ARCE, 1999; BARRETT, 2003).

En una *inflorescencia* de *Parolinia*, la *dicogamia interfloral* se considera *asincrónica* de manera que no se evita la fecundación entre las flores (geitonogamia), en el supuesto que este grupo de especies fuera auto-compatible.

En todas las poblaciones las flores en fase femenina (E5-E6) más coloreadas superan a las flores en fase masculina (E3-E4) más blancas. Sin embargo PRESTON (1991) encuentra en *Streptanthus* una mayor proporción de flores en *fase masculina* que además se correlacionan negativamente con el número de flores por planta (72-80%). En ambos casos parece indicar una íntima relación con los polinizadores pero con diferente estrategia, mientras en *Streptanthus* se favorece la liberación de polen de las anteras, en *Parolinia* se favorece la recepción de polen en el estigma.

Individuo

En todas las especies del género *Parolinia*, la producción de inflorescencias a nivel *individuo*, tiene lugar por grupos, que se producen de forma sucesiva durante el mismo periodo de floración, y donde cada uno funciona de manera casi sincrónica. Las inflorescencias en racimos verticales se observan con las flores expuestas de frente a los

polinizadores de manera que, aunque las que se encuentren en ramas péndulas de la base del individuo, sus flores se orientan de forma más o menos horizontal hacia el exterior del individuo.

En un individuo de *Parolinia*, la *dicogamia interfloral* ocurre de forma *hemisincrónica* según terminología de WEBB & LLOYD (1986), solapándose las *fases masculina* y *femenina* de las flores de las distintas inflorescencias, permitiendo por tanto, la autopolinización dentro y entre inflorescencias de una misma planta, en el caso de que las especies de *Parolinia* fueran auto-compatibles.

Según varios autores los modelos de apareamiento dependen de la cantidad y calidad de las flores y de la interacción de los polinizadores. En contra de la idea tradicional *floricentrista* (enfoque individualista de la biología de la polinización), la incidencia de la polinización en el apareamiento de individuos depende de la producción de flores en toda la planta, de manera que siempre que un individuo exponga simultáneamente múltiples flores, se deben considerar como una exposición conjunta o unidad de polinización (antio) (BARRETT, 2003; HARDER *et al.*, 2004).

4. FENOLOGÍA DEL FRUTO Y DISPERSIÓN DE SEMILLAS

En Brassicaceae no se ha encontrado ninguna referencia bibliográfica acerca del desarrollo y formación de frutos. En las Brassicaceae se ha correlacionado la diversidad morfológica de los frutos y semillas con la gran diversidad de dispersión encontrados en la familia (anemocoria, hidrocoria, zoocoria, autocoria, etc.) aunque el modo más generalizado en la familia es la anemocoria y ha sido reconocida en géneros canarios (*Parolinia*, *Descurainia* y *Erysimum*) cuyas semillas pequeñas, aladas y aplastadas actúan probablemente como diminutos propágulos mediante el viento (BRAMWELL, 1986; APPEL & AL-SHEHBAH, 2003).

En todas especies de *Parolinia*, las *silicuas* con las semillas tardan en madurar unos 6 meses, pudiendo persistir los frutos de la primera floración en la planta hasta la llegada de la parada estival, donde suele tener lugar una diáspora explosiva (común en la familia) y dispersión de semillas generalmente *anemócora* (según los síndromes morfológicos) aunque en este trabajo este aspecto no ha sido objeto de estudio, no se descarta una posible *mirmecoría*. En *Parolinia* el fruto experimenta una serie de cambios morfológicos referidos tanto a longitud del ovario como a los apéndices (astas o cuernos), que alcanzan un desarrollo más acentuado que en otros géneros de la tribu Matthioleae (*Matthiola*, *Morettia* y *Diceratella*) existiendo una relación de altura con el estigma que ha servido como referencia para definir los estadios fenológicos del fruto. Asimismo, otros cambios morfológicos, como el color y pérdida de tomento, están relacionados, por un lado al proceso de maduración de los frutos verdes y por el otro, a la diferenciación de algunas especies (mayor pilosidad en *P.platypetala* que en *P.glabriuscula*).

El mantenimiento del fruto en la planta madre también se ha observado de forma generalizada en otras familias. En una especie mediterránea de Fabaceae (*Retama sphaerocarpa*) en la que al contrario de otras especies que dispersan sus diásporas antes del nuevo ciclo de floración, los frutos indehiscentes alcanzan la madurez en la misma estación que se producen, permaneciendo en la planta hasta que se liberan escalonadamente durante un año o dos (RODRIGUEZ-RIAÑO, ORTEGA-OLIVENCIA & DEVESA, 1999).



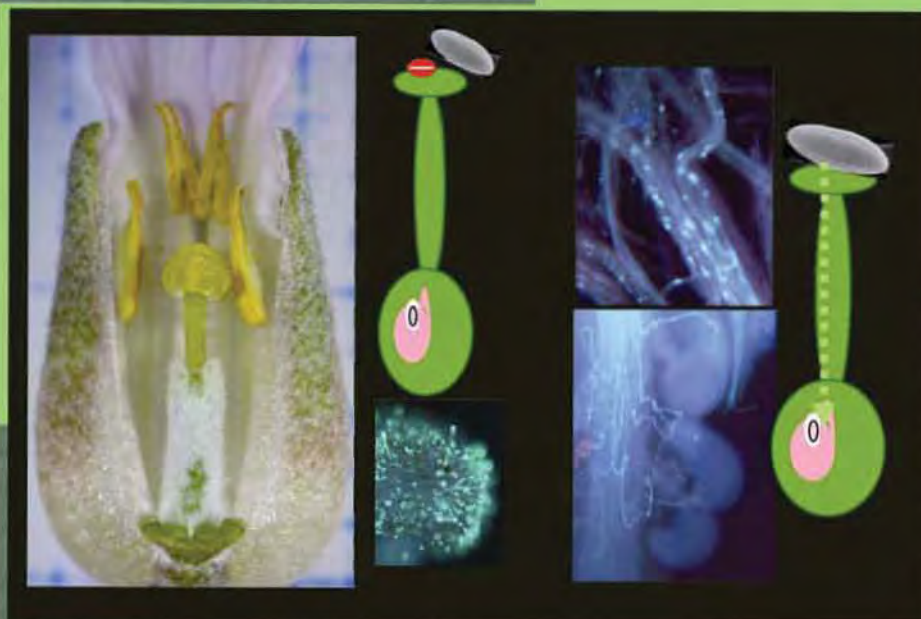
El grado de superposición o solapamiento de los periodos de fructificación y floración es importante respecto a la disponibilidad de recursos ya que mientras se invierte en la producción de flores nuevas, se necesitan también recursos para la maduración de frutos. Esta misma situación ocurre en todas las poblaciones estudiadas de *Parolinia*, donde se pueden encontrar frutos verdes de floraciones anteriores coexistiendo con flores de nueva floración con solapamiento de ambas fases fenológicas y teniendo por tanto que compartir recursos.

El desarrollo del fruto ha sido de interés botánico en especies económicamente importantes. Entre las que han recibido más atención están las de frutos drupáceos, aunque se encuentran pocos trabajos con estudios detallados. En el género *Rhus* (*R.aromática* y *R.glabra*) de la familia Anacardiaceae se ha estimado que el desarrollo (entre unos 1.5-2.5 meses) es mucho más rápido que el de otros géneros (*Protorhus* y *Pistacia*) aunque sin establecer estadios (LI, BASKIN & BASKIN, 1999). En *Aquilegia canadienses* (Ranunculaceae) se establecen cuatro estadios para el desarrollo del fruto, estimando su duración en días (22.7 ± 3.1) y con una serie de cambios morfológicos relativos al aumento de volumen y al color (GRIFFIN, MAVRAGANIS & ECKERT, 2000).



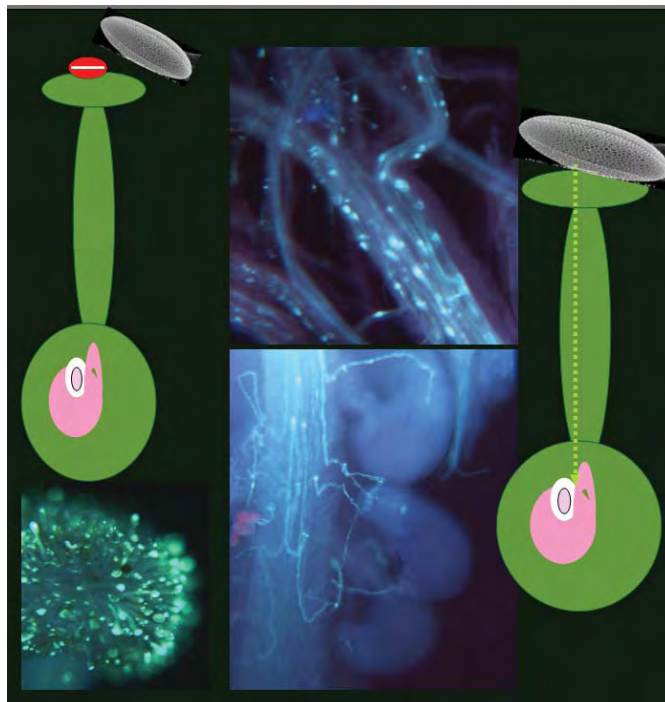
CAPITULO II

Sistemas de Cruzamiento y Eficacia Reproductiva de las Poblaciones Naturales





CAPÍTULO II



Introducción y Objetivos

1. SISTEMAS DE CRUZAMIENTO. INTRODUCCIÓN

Los *sistemas de cruzamiento*, causa determinante de la biodiversidad poblacional, se consideran sin duda alguna íntimamente relacionados con los *síndromes florales* morfológicos y fisiológicos, configurando los distintos mecanismos de *polinización* (primera oportunidad de flujo génico), sistemas *sexuales* y/o distintos sistemas de *auto-incompatibilidad*, a su vez responsables del *éxito reproductivo* y de la transmisión *genética* entre generaciones. Tras la doble fecundación, la *flor* se transforma en *fruto* conformando las *semillas* que se dispersan, haciendo posible la segunda oportunidad de migración del flujo génico (WEBB, 1984; RICHARDS, 1986, 1997; HUSBAND & SCHEMSKE, 1995, 1996 y 2000; BARRETT, HARDER & WORLEY, 1996 y 1997; HAMRICK & GODT, 1996; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BRIGGS & WALTERS, 1997; GIVNISH, 1997 y 1998; BARRETT, 1998b y 2003; GRANT, 1998; PÉREZ DE PAZ, 2002).

Los *sistemas de reproducción* y el *éxito reproductivo* de los individuos, están influenciados a su vez por la integración funcional de los caracteres reproductivos y vegetativos del ciclo vital, incluyendo los cambios que se producen en la diversificación poblacional (BARRETT & HARDER, 1996; BARRETT, 2003; NEAL & ANDERSON, 2005). A nivel de *población natural*, los caracteres *florales* (morfológicos y fisiológicos) que configuran los *apareamientos* entre individuos, influyen de manera decisiva en los procesos de diversificación y especiación vegetal controlando la transmisión y cambios de estructura genética entre las generaciones y, por tanto, la dinámica evolutiva de las poblaciones naturales (BARRETT, HARDER & WORLEY, 1997) causas subyacentes de los procesos de *micro-evolución* vegetal.

Bajo esta perspectiva se considera fundamental que el estudio de los *sistemas de cruzamiento* se realice con una perspectiva globalizadora que incluya la observación de todos los aspectos del ciclo vital, que no se ha propiciado debido a la fragmentación de los estudios de Biología Reproductiva en diferentes disciplinas botánicas (ORDNUFF, 1969; ANDERSON *et al.*, 2001).

Por otro lado, el estudio del *éxito reproductivo* de las especies en sus poblaciones naturales se considera de importancia vital, no solo por su efecto directo en la estructura genética, dinámica y procesos micro-evolutivos, sino por la posibilidad de identificar los *fallos reproductivos* y diseñar las *estrategias de recuperación* y conservación de los taxones amenazados (RICHARDS, 1986 y 1997; BARRETT, HARDER & WORLEY, 1996 y 1997; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BRIGGS & WALTERS, 1997; PÉREZ DE PAZ, 2002).

1.1 SISTEMAS DE CRUZAMIENTO. AUTOGAMIA Y XENOGAMIA

Partiendo de la íntima relación entre la estructura de la flor y su función en los distintos mecanismos de polinización, sistemas sexuales, sistemas de auto-incompatibilidad y apareamientos de los individuos, los *sistemas de cruzamiento* están sometidos a la transmisión polínica dentro y entre los individuos o plantas de una población natural.

Cuando la polinización y fecundación tiene lugar entre las flores de individuos diferentes se denomina *xenogamia*, frecuentemente considerada sinónimo de *alogamia* en sentido amplio (*sl*), aunque este último término en sentido estricto (*ss*) se refiere exclusivamente a los cruces entre flores diferentes. Se dice que existe *autogamia* cuando la polinización tiene lugar dentro de una misma flor auto-fecundándose (*ss*) o entre flores de un mismo individuo

(*sl*). El término de *geitonogamia* se usa cuando la transferencia polínica tiene lugar dentro o entre inflorescencias que cuando pertenecen al mismo individuo es sinónimo de *autogamia sl* y por tanto de endogamia (RICHARDS, 1986 y 1997).

Los *sistemas de cruzamiento* se consideran muy difíciles de conocer y detectar, no solamente por la complejidad del proceso de polinización o transporte polínico, que depende también de factores ambientales como los polinizadores, sino también por los posibles cambios de un sistema a otro en una misma población natural, donde según taxones, se pueden producir cruzamientos mixtos con situaciones indistintas de auto-xenogamia. Asimismo, esta dificultad se puede agudizar por las distintas situaciones de *auto-incompatibilidad* entre determinados individuos de las poblaciones, que dependen, a su vez, de la presencia de determinados alelos S de auto-incompatibilidad.

Actualmente se considera de vital importancia el estudio de los recursos del androceo y gineceo de la flor ya que tanto el número de pólenes como el de óvulos se consideran directamente implicados con los sistemas de cruzamiento o tasas de auto-alo-xenogamia (BARRETT, HARDER & WORLEY, 1997). El *ratio* Polen/Óvulo (P/O) debidamente interpretado se utiliza para predecir los sistemas de cruzamiento o *niveles de alogamia (sl)* de las especies de manera que se considera significativamente mayor en los taxones alógamos (xenógamos) como se comprobó también para la familia Brassicaceae (CRUDEN, 1977 y 2000; PRESTON, 1986).

Algunos autores analizan las variaciones del *ratio* P/O y los sistemas de cruzamiento, incluyendo también caracteres de la flor (sistemas sexuales), talla del polen, vectores de polinización, etc. Los resultados evidencian la disminución del número de granos desde la xenogamia obligada y facultativa, hasta la autogamia obligada y cleistogamia, desde la anemofilia a la zoofilia (variable según vectores) y desde especies con recompensa de sólo polen hasta las que poseen también néctar (BARRETT, HARDER & WORLEY, 1997; CRUDEN, 2000 y 2009).

El estudio de la *función reproductiva* centrada en los caracteres de la flor requiere la observación de otros caracteres del *ciclo vital* o caracteres vegetativos referidos principalmente al *hábito* o forma de crecimiento implicados directamente en la longevidad de las especies (WEBB, 1994; BARRRETT, HARDER & WORLEY, 1997).

Aunque no se tenga realmente la certeza de cual fue el sistema de cruzamiento primitivo, al parecer está ampliamente generalizada la idea de Whitehouse y Nettancourt (BRIGGS & WALTERS, 1997) que señalan a la *alogamia* con *auto-incompatibilidad* como situación primitiva de las Angiospermas, frente a la *autogamia* con *auto-compatibilidad*, que representaría la condición derivada propia de los grupos modernos de Angiospermas. Esto parece estar reforzado por los testimonios fósiles de la primera radiación de las Angiospermas en el Cretácico, donde las primeras estructuras florales parecen favorecer los mecanismos de alogamia, y posteriormente durante la segunda radiación, parecen favorecer los mecanismos para la autogamia.

1.1.1. Autogamia. Endogamia y pérdida de vigor (*inbreeding depression*)

Aunque el término de *autogamia ss* se refiere a la polinización y fecundación dentro de una misma flor, habitualmente se puede referir a la transferencia polínica y fecundación dentro del mismo individuo. Se considera común en especies herbáceas de ciclo vital corto, anual, bianual o monocárpico y sigue estando bastante generalizada la idea de que puede haberse originado a partir de ancestros xenógamos.

Aunque con excepciones, la *autogamia* o auto-polinización tiene una serie de características vegetativas y florales asociadas (ver Tabla): taxones con menos flores y más pequeñas, flores sin néctar con poco polen y colores menos llamativos, hábito herbáceo con ciclo de vida corto, *hábitats* inestables o extremos, etc (WEBB, 1984; BARRRETT, HARDER & WORLEY, 1997; BRIGGS & WALTERS, 1997). Asimismo los *ratio* Polen/Óvulo suelen ser bajos en especies *autógamas*, aunque cuando aumenta la talla polínica, puede ir acompañada de un número menor de pólenes (CRUDEN, 1977 y 2000).

AUTOGAMIA Y XENOGAMIA. CARACTERES FLORALES (Ornduff y Wyatt modificados en Briggs & Walters, 1997)	
ANCESTROS XENÓGAMOS	DERIVADOS AUTÓGAMOS
Muchas flores	Pocas flores
Pedicelos o pedúnculos largos	Pedicelos o pedúnculos más cortos
Sépalos grandes	Sépalos más pequeños
Corolas abiertas	Corolas + cerradas en fonil o cilíndricas
Pétalos emarginados	Pétalos menos emarginados
Colores florales muy contrastados	Colores florales menos contrastados
Nectarios presentes	Nectarios reducidos o ausentes
Flores olorosas	Flores no olorosas
Guías para nectarios presentes	Guías para nectarios ausentes
Anteras grandes	Anteras más cortas
Anteras extrorsas	Anteras introrsas
Anteras lejos del estigma	Anteras junto al estigma
Muchos granos de polen	Pocos granos de polen
Polen expuesto	Polen no expuesto
Pistilo largo	Pistilo más corto
Estambres a distinta altura del pistilo	Estambres iguales al pistilo
Estilo exerto	Estilo incluido
Área estigmática bien definida	Área estigmática poco definida
Dicogamia	Homogamia
Muchos óvulos por flor	Pocos óvulos por flor

Estas características se justifican por la necesidad de los taxones herbáceos y fugaces de desarrollar semillas en el menor tiempo posible. Necesidad que implica anteras y estigmas cercanos que permitan el contacto sin apenas polen. Cuando no ocurre así, se suele pensar que la *autogamia* puede ser de reciente adquisición.

La principal *ventaja* de la *autogamia* y posiblemente una de las principales causas de su origen, es la de constituir un mecanismo seguro para producir descendencia o progenie rápida, sin necesidad de polinizadores (RICHARDS, 1986 y 1997; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BRIGGS & WALTERS, 1997). Otra de las *ventajas* es la de producir y mantener genotipos bien adaptados en *hábitats* extremos, marginales o inestables donde se pueden reproducir prácticamente sin cambios, en relación a la polinización cruzada donde se podrían romper complejos co-adaptados bien establecidos.

La capacidad de producir un gran número de semillas en poco tiempo a partir de un solo individuo, con una rápida reproducción y propagación de los genotipos bien adaptados, es una de las características que hace que los taxones *autógamos* y herbáceos sean mejores candidatos para la colonización, que los xenógamos, que producen menos semillas pero con mayor variabilidad y vigor, condiciones deseables para los *hábitats* estables donde las plantas pueden ser más longevas, competir y adaptarse a nuevos cambios ambientales.

La presencia generalizada de *autogamia* es muy común en especies poliploides y se explica por la capacidad de ser menos sensible a las mutaciones perjudiciales por la cantidad de material genético “extra” duplicado.

- La principal desventaja de la *autogamia* podría estar en que después de varias generaciones puede producir una descendencia genéticamente uniforme por la que se puede llegar a la casi completa homocigosis sin posibilidad de nuevas combinaciones y sin una mínima variabilidad que originaría los consiguientes problemas de *endogamia* y pérdida de vigor por consanguinidad o *inbreeding depression* (LANDE & SCHEMSKE, 1985; SCHEMSKE & LANDE, 1985; RICHARDS, 1986 y 1997; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BRIGGS & WALTERS, 1997). Se define como *inbreeding depression* la *reducción de vigor* experimentada por la progenie *autógama* o del apareamiento de individuos emparentados estrechamente relacionados, frente a la progenie *alógama* o de individuos no relacionados.

Sin embargo hay que considerar que en algunas poblaciones *autógamas*, los problemas de consanguinidad o *inbreeding depression* son mínimos o no existen, pudiendo ser la *autogamia* incluso ventajosa frente a la *xenogamia*. Esto se explica porque algunas especies o poblaciones *autógamas* pueden sufrir situaciones con altos índices de mortalidad en individuos homocigotos que les permite eliminar los alelos recesivos producto de las mutaciones perjudiciales, que se conservan en los individuos heterocigotos de las poblaciones *alógamas*, con la consiguiente *carga genética* (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987; BARRETT & CHARLESWORTH, 1991; BARRETT & HARDER, 1996; CARR & DUDASH, 1996; HUSBAND & SCHEMSKE, 1996; BARRETT, 1998b y 2003; FU, NAMKOONG & CARLSON, 1998; KOELEWIJN, 1998; WILLIS, 1999; CRNOKRAK & BARRETT, 2002; LEIMU, 2004).

Se piensa que la falta de vigor por endogamia es una fuerza poderosa en la evolución de los *sistemas de cruzamiento* como mecanismo que se opone a la *autogamia* o transmisión automática (LANDE & SCHEMSKE, 1985; SCHEMSKE & LANDE, 1985; CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987; BARRETT & HARDER, 1996; MAYER, CHARLESWORTH & MEYERS, 1996; BARRETT, 2003).

1.1.2. Xenogamia. Heterosis y pérdida de vigor por *outbreeding depression*

La idea de que las flores hermafroditas parecen estar primitivamente adaptadas a la polinización cruzada se debe a Darwin cuando observó en varios grupos vegetales que la *xenogamia* tiene más ventajas, no sólo en el peso, calidad y germinación de las semillas producidas, sino en el vigor y supervivencia de la progenie obtenida. Para evitar la autofecundación, las especies desarrollan estrategias reproductivas que pueden favorecer la separación de individuos según sexos (dioecia, diclinia) o desarrollar mecanismos complejos como los sistemas de *auto-incompatibilidad*, que también impiden la autofecundación y favorecen la *xenogamia*.

Hay una serie de características asociadas a la *xenogamia* que se centran en el hábito perenne de las especies, generalmente leñosas y longevas en hábitats más o menos estables y *ratios* Polen/Óvulo más altos que las *autógamas* (CRUDEN, 1977 y 2000; WEBB, 1984; BARRETT, HARDER & WORLEY, 1997).

La *xenogamia* tiene sobre la *autogamia* dos grandes *ventajas*:

- Favorece la producción de semillas con mayor variabilidad y vigor aunque en menor cantidad. Los cruces entre individuos producen nuevas combinaciones genéticas generando una gran diversidad de individuos capaces de resistir cambios ambientales, desarrollar

resistencia a parásitos o herbívoros y adaptarse, condiciones importantes para una supervivencia a largo plazo. Este tipo de taxones se hacen deseables en los ecosistemas isleños después de la colonización y establecimiento, cuando pueden ser más longevos, competir y adaptarse a nuevos hábitats.

Se conoce como *heterosis* o vigor híbrido (término opuesto al de *inbreeding depression*) al vigor de la progenie obtenida por *xenogamia*, asociada a la existencia de altos niveles de *heterocigosidad* consecuencia de una gran cantidad de cruces entre individuos más o menos lejanos de la población natural. Está asociada a la existencia de un gran flujo génico debido a migraciones polínicas o de semillas. Los límites de la *heterosis* vendrían impuestos por la llamada “*distancia óptima de alogamia*” distancia a partir de la cual los cruzamientos entre individuos disminuyen el vigor de la progenie produciéndose *outbreeding depression* o pérdida de vigor por exceso de heterosis (WASER & PRICE, 1991 y 1994; WASER, SHAW & PRICE, 1995; SCHIERUP & CHRISTIANSEN, 1996).

- Otra *ventaja* de la *xenogamia* es la rápida *difusión* de las *mutaciones*, paternas por la polinización y maternas por la dispersión de frutos y semillas. Aunque se puedan producir mutaciones potencialmente peligrosas que pueden limitar las condiciones de vida y ser letales, también se puede producir más variabilidad y con ello, mayor tolerancia y potencial evolutivo.

Asimismo la *xenogamia* puede tener grandes *desventajas*:

- Dependencia de un agente *polinizador* externo para transportar el polen de un individuo a otro, con frecuencia animal, lo cual no siempre es posible, ya que con el tiempo los polinizadores pueden fluctuar e incluso desaparecer.

- En hábitats muy específicos con poblaciones bien adaptadas, producción de progenies con gran variabilidad y vigor, pero menos adaptadas y por tanto con carga genética (*genetic load*).

- En especies auto-incompatibles, se puede crear un problema de espacio y competencia en el estigma, entre el polen legítimo de otro individuo y el auto-polen no viable. Las especies hermafroditas y monoicas suelen evitar las interferencias entre el androceo y gineceo por los procesos de separación de sexos (dicogamia y hercogamia), al mismo tiempo que evitan la auto-fecundación (Capítulo I). Los mecanismos de auto-incompatibilidad paralizan el proceso de auto-fecundación pero no evitan la llegada al gineceo del auto-polen no viable.

1.1.3. Sistemas de cruzamiento. Evolución e *inbreeding depression*

Entre las interacciones ecológico-reproductivas de las especies vegetales, hay que destacar los modelos de *apareamiento* entre individuos (*mating system*) toda vez que se encuentran determinados por la polinización o dispersión del polen entre flores del mismo o diferentes individuos (BARRETT, 1995 y 2003).

A pesar de la evidente unión funcional entre los procesos de polinización y *apareamiento* de individuos, la investigación de estos dos aspectos básicos de la reproducción vegetal ha permanecido largo tiempo disgregada, prestando poca atención al proceso de la fecundación cruzada o *xenogamia* (BARRETT & HARDER, 1996). Por una parte, la mayoría de los estudios de polinización han sido ecológicos y han dedicado poca atención a la influencia de las formas de transporte polínico en los *apareamientos* de individuos y vigor de la progenie. Por otra parte, los estudios de los *sistemas de cruzamiento* han estado generalmente dominados por la *genética de poblaciones* prestando bastante

poca atención a los factores ecológico-reproductivos que determinan la dispersión del polen e influyen en el *apareamiento* de los individuos.

Después de los primeros estudios llevados a cabo por Darwin, en la actualidad la investigación en los procesos de *polinización*, *apareamiento de individuos* y *vigor* de la descendencia de las especies vegetales, continúan siendo unos de los campos más activos y todavía desconocidos de la *biología evolutiva*. Aunque se han producido una serie de avances en el conocimiento de los mecanismos de control de las diferentes estrategias de apareamiento y cruces de individuos, evaluando su complejidad y consecuencias genéticas y evolutivas.

Hoy día se tiene la idea que la mayoría de las especies, poseen *cruzamientos mixtos* y que incluso las altamente *auto-incompatibles* y *xenógamas* pueden ser capaces de autofecundarse, hasta el punto que muy pocas especies se pueden considerar completamente *xenógamas* o completamente *autógamas* (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987; BARRETT & HARDER, 1996; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BARRETT, 2003; LEIMU, 2004). En estas especies, se considera que la presencia de *autogamia* está unida al fenómeno de *inbreeding depression* o pérdida de vigor por endogamia, que se favorece, si la progenie obtenida alcanza por lo menos, la mitad del *vigor* de la progenie alógama. Según algunos autores la evolución de la *autogamia* va acompañada de los cambios, incidencia e intensidad de la *xenogamia* proceso o factor opuesto, toda vez que en la mayoría de las poblaciones, *autogamia* y *xenogamia*, pueden ser situaciones alternativas estables producto de los *apareamientos* entre individuos (LANDE & SCHEMSKE, 1985; SCHEMSKE & LANDE, 1985; BARRETT & ECKERT, 1990; SOLTIS & SOLTIS, 1992; BARRETT, 2003).

A partir de la década de los noventa, el objetivo de los estudios de la evolución de los *sistemas de cruzamiento* se ha dirigido a la evaluación y relación de las tasas de *autogamia* e *inbreeding depression* o *vigor* de las especies *autógamas* y *alógamas* bajo diversas condiciones experimentales (DUDASH, 1990; ECKERT & BARRETT, 1994; JOHNSTON & SCHOEN, 1995). Se confirma que la magnitud del *inbreeding depression* puede disminuir con una *autogamia* continuada porque los alelos perjudiciales recesivos en individuos homocigotos, se purgan por la muerte de dichos individuos. Se detectan además diferencias en la expresión de *inbreeding depression* durante las fases del *ciclo vital* entre las especies predominantemente *autógamas* y *alógamas*. Las especies o poblaciones alógamas lo expresan en fases tempranas, mientras que las *autógamas* lo expresan en fases más tardías (BARRETT & CHARLESWORTH, 1991; LLOYD & SCHOEN, 1992; ECKERT & BARRETT, 1994; LANDE, SCHEMSKE & SCHULTZ, 1994; HUSBAND & SCHEMSKE, 1995 y 1996; DUDASH & FENSTER, 2001; BARRETT, 2003; LEIMU, 2004).

La *xenogamia* o fecundación cruzada se considera ventajosa toda vez que implica altos niveles de heterocigosidad y por tanto una progenie superior a la *autógama*, aunque por mecanismos genéticos pueda padecer *inbreeding depression*, dado que la heterocigosis puede ocultar alelos recesivos perjudiciales y carga genética, lo cual se considera al mismo tiempo una desventaja.

Actualmente la *autogamia* está considerada como una estrategia o mecanismo que garantiza y asegura la reproducción, de manera que muchas especies y poblaciones alógamas poseen apareamientos mixtos que favorecen la *autopolinización*, cuando factores ecológicos y ambientales como la limitación de polen y escasez de polinizadores, pueden provocar reducción de *apareamientos*. Esto es probable que ocurra en poblaciones

pequeñas o recientemente colonizadas como las isleñas (PROCTOR, YEO & LACK, 1996; LARSON & BARRETT, 1998; LEIMU, 2004).

1.1.4. Auto-alo-xenogamia e *inbreeding depression*. Incidencia y evaluación

Al contrario que en los animales, los estudios de los *sistemas de cruzamiento* en las especies vegetales han estado dominados por análisis comparativos de la evolución de la tasa de *autogamia* y *alogamia* en las poblaciones y sus consecuencias en el vigor de la descendencia (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987; HAMRICK & GODT, 1989; LLOYD & SCHOEN, 1992; BARRETT, 1995 y 2003; BARRETT & HARDER, 1996). Dichos estudios generalmente se dirigen al estudio de:

i) Adquisición de *autogamia* como determinante decisivo en la evolución floral que puede afectar tanto a la configuración de la *flor* como a la asignación de sus recursos sexuales (*ratio* Polen/Óvulo).

ii) Vigor de la progenie según los niveles de *inbreeding depression* (coeficiente de *inbreeding depression* δ) y/o de *heterosis*.

iii) Presencia de *alogamia* como determinante más importante de la estructura genética de la población, afectando tanto a la diversidad genética de especies y poblaciones, como a la diferenciación y estructuración de las mismas.

1.1.4.1. *Autogamia* y *Xenogamia*. *Ratio* Polen/Óvulo y experimentos de polinización

Para evaluar los cruzamientos y apareamientos de los individuos de una población vegetal se necesitan varios tipos de datos, según constituyan una evidencia directa o indirecta de los *sistemas de cruzamiento* (LLOYD & SCHOEN, 1992).

(i) El *ratio* Polen/Óvulo, se considera *evidencia indirecta* de la contribución de los individuos a la siguiente generación a través del número de gametos masculinos y femeninos capaces de generar, asumiendo que los caracteres florales controlan los apareamientos, el flujo génico (polínico o de semillas), al mismo tiempo que los niveles de éxito reproductivo y diversidad de su descendencia (CRUDEN, 1977, 2000 y 2009; QUELLER, 1984; PRESTON, 1986; BOAZ, PLITMANN & HEYN, 1990). El *ratio* P/O es pues un indicador conservativo fiable cuando se correlaciona con los *sistemas de cruzamiento* (auto-alo-xenogamia) de especies pertenecientes a un mismo grupo taxonómico y puede ser variable según los distintos grupos donde puede estar asociado con otros parámetros.

Las Brassicáceas fueron estudiadas inicialmente por Cruden y Preston, quienes evaluaron los *sistemas de cruzamiento* para varios géneros y especies de acuerdo a sus *ratios* P/O. Caracteres asociados con el *sistema de cruzamiento* como número de granos por flor, número de óvulos y longitud de los pétalos entre distintas categorías (*xenogamia obligada*, *xenogamia* o *autogamia facultativa* y *autogamia obligada*) revelaron que las especies *xenógamas* diferían significativamente de las *autógamas* en el número de granos de polen, y longitud de pétalos siendo mucho más reducida en las especies *autógamas*. En esta familia, la longitud de los pétalos está especialmente correlacionada con el *ratio* P/O y en principio se puede usar como indicador adicional del *sistema de cruzamiento*.

(ii) Los *experimentos de polinización*, se consideran *evidencia directa* que clasifica los cruces o apareamientos de los individuos (*alogamia* o *autogamia*) según las tasas de fecundación o formación de frutos y semillas obtenidas en los *cruces experimentales* de polinización manual (KARRON, 1987; DAFNI, 1992; LLOYD & SCHOEN, 1992).

1.1.4.2. Coeficiente de *inbreeding depression* (δ) por estudios de polinización y estudios moleculares de isoenzimas

Como se ha demostrado que la pérdida de *vigor* por endogamia (*inbreeding depression*) influye en la evolución de los *sistemas de cruzamiento*, afectando a la estructura de las poblaciones naturales de las especies parcialmente autógamas, se considera necesario conocer su presencia mediante la estimación del llamado coeficiente de *inbreeding depression* (δ).

En términos generales se puede decir que la estimación del valor de *inbreeding depression* (δ) y de la tasa de *autogamia* (s) se puede obtener a partir de datos moleculares de electroforesis de isoenzimas, si no se dispone o no son practicables estudios experimentales de polinización o, a partir de experimentos y estudios de polinización, si las técnicas electroforéticas no son posibles.

Ante la posibilidad de *cruzamientos mixtos* en las especies, algunos autores han creído conveniente el cálculo de *inbreeding depression* (δ) dependiendo de los índices de autoalogamia de cada población (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987; RITLAND, 1990). Según estos autores este valor (aunque sobredimensionado) se puede determinar, según la relación de la producción de frutos o semillas entre flores auto-polinizadas (W_s) y flores con *polinización cruzada* (W_c): $\delta = 1 - (W_s / W_c)$.

Para evitar las complicaciones asociadas a las variables ambientales, se ha desarrollado un método para medir la cantidad de *inbreeding depression* a partir de datos moleculares de electroforesis de isoenzimas, basado en el cambio del coeficiente de *inbreeding* en los distintos estadios del ciclo vital (RITLAND, 1990; BARRETT & KOHN, 1991; BARRETT & HARDER, 1996).

Según estos últimos autores en las poblaciones de especies perennes, se puede asumir que el coeficiente F de *inbreeding* (WRIGHT, 1931) tiende a mantenerse constante en cada generación de adultos, de manera que: $\delta = 1 - [2F(1 - s) / s(1 - F)]$.

1.1.4.3. *Inbreeding depression*: relación entre los sistemas de cruzamiento y ciclo vital

La presencia de *inbreeding depression* implica la actuación de muchos genes que se expresan en distintas fases del *ciclo vital* con efectos diferentes sobre el *vigor*, en relación a su magnitud y tiempo de actuación (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987; BARRETT & HARDER, 1996).

HUSBAND & SCHEMSKE (1996) compararon la magnitud de *inbreeding depression* en especies autógamas y alógamas en varias fases del *ciclo vital*. La mayoría de las especies autógamas expresaron *inbreeding depression* en fases tardías, mientras que las alógamas lo mostraron en fases más tempranas. Estos resultados sugieren que el *inbreeding depression* de acción temprana está asociado con alelos letales que pueden ser fácilmente purgados por *autogamia* (homocigosis). Por el contrario, la presencia de *inbreeding depression* tardío en el ciclo vital parece ser el resultado de muchas mutaciones débilmente perjudiciales, que son difíciles de eliminar por heterocigosis (BARRETT & HARDER, 1996; HUSBAND & SCHEMSKE, 1996). Se identifica y se calcula como *inbreeding depression acumulativo* al producto del vigor de la progenie en varias fases del ciclo vital: germinación de semillas, supervivencia de plántulas, crecimiento vegetativo de individuos jóvenes y fase reproductiva de los mismos (JOHNSTON & SCHOEN, 1996; HUSBAND & SCHMESKE, 1996; BARRETT & HARDER, 1996; KEPHART, BROWN & HALL, 1999).

1.2. SISTEMAS DE CRUZAMIENTO Y DE AUTO-INCOMPATIBILIDAD

La mayoría de los autores, incluido Darwin definen la autoesterilidad como la incapacidad de las plantas hermafroditas de reproducirse por *autogamia* o de producir cigotos después de autopolinizarse (De NETTANCOURT, 1977 y 2001; RICHARDS, 1986 y 1997; IGIC, LANDE & KOHN, 2008).

En las especies con flores *hermafroditas* la forma más común de evitar la *autogamia* es mediante los *sistemas de auto-incompatibilidad* (SI) como barreras fisiológicas y genéticas que imposibilitan la auto-fecundación mediante la interrupción de los tubos polínicos en el gineceo, permitiendo que el polen de individuos no relacionados, germine, fecunde sus óvulos y forme frutos y semillas, haciendo posible la primera oportunidad de flujo génico (polínico) en las poblaciones naturales.

Estos sistemas de *auto-incompatibilidad*, que posiblemente hayan sido el mecanismo de evolución más común de las angiospermas, proporcionan a las especies la capacidad de reconocer y rechazar su propio polen evitando que germine y fecunde sus óvulos. La presencia o ausencia de los *sistemas de incompatibilidad* es fácil de detectar, pero no así los detalles de los distintos mecanismos, para los que se requieren estudios fisiológicos y moleculares. Dependiendo del sistema implicado, los genes que gobiernan el SI se expresaran a nivel del estigma, estilo u ovario.

1.2.1. Clasificación de los sistemas de auto-incompatibilidad y características

Los sistemas de auto-incompatibilidad se han clasificado en un principio de acuerdo a criterios como: tiempo de acción genética, asociación o no con polimorfismos florales, lugar de inhibición de los *tubos polínicos* del auto-polen, número de *loci*, así como del número de alelos que controlan la reacción de incompatibilidad, estando clasificados principalmente en dos grandes sistemas: (i) *auto-incompatibilidad gametofítica* (GSI) donde la incompatibilidad del *polen* está determinada por su propio *genotipo haploide* y (ii) *auto-incompatibilidad esporofítica* (SSI) donde la incompatibilidad del polen está gobernada por el *esporofito diploide* de sus parentales (De NETTANCOURT, 1977 y 2001; GIBBS, 1986 y 1988; RICHARDS, 1986 y 1997; BARRETT, 1988; DAFNI, 1992; LEACH & MAYO, 2005).

La diferencia entre ambos sistemas (SSI y GSI) también puede depender del tiempo de acción del *locus S* que en los *gametofíticos* ocurre en las células madres del polen después de la primera metafase meiótica, y en los sistemas *esporofíticos* se retrasa hasta la individualización de las tetradas polínicas. A su vez los sistemas *esporofíticos* pueden subdividirse en *homomórficos* y *heteromórficos* donde los heteromorfismos florales presentan diferencias importantes como el número de alelos implicados y mecanismos de incompatibilidad (lugar de rechazo, etc).

1.2.2. Principales tipos de auto-incompatibilidad

Dentro de cada uno de los principales tipos de auto-incompatibilidad hay una variedad de sistemas que difieren en sus bases genéticas (Tabla de características y tipos de auto-incompatibilidad de BARRETT, 1988) pero que todavía requieren una mayor profundidad de estudios tanto con técnicas moleculares que identifiquen genes y alelos, como un mayor conocimiento acerca del número de grupos taxonómicos involucrados e historias evolutivas, con conocimientos integrados micro-morfológico, reproductivo, fisiológico y filogenético de

los sistemas, que complete la información referida acerca de los lugares y mecanismos de las reacciones de auto-incompatibilidad.

DIFERENCIAS DE LOS SISTEMAS GAMETOFÍTICO Y ESPOROFÍTICO (Richards, 1986 y 1997; Barrett, 1988; Dafni, 1992)					
INCOMPATIBILIDAD	Polen	Exudado estigmático	Cutícula de la papila	Hidratación del polen	Entrada del polen
GAMETOFITICA	2-nucleado	Presente	Hueca	Externa	Intercelular
ESPOROFITICA	3-nucleado	Ausente	Continua	Interna	Intracelular

1.2.2.1. Auto-incompatibilidad gametofítica (GSI)

Es un sistema multialélico que se manifiesta de forma homomórfica en unas 36 familias donde se ha descubierto hasta más de 45 alelos en las poblaciones naturales, con un número variable de *loci* (de uno a cuatro) y donde un individuo puede ser compatible con alrededor del 50% de los individuos de la población (RICHARDS, 1986 y 1997; BARRETT, 1988; DAFNI, 1992; PÉREZ DE PAZ, 2002; IGIC, LANDE & KOHN, 2008).

En los sistemas gametofíticos, el alelo S del polen o gametofito haploide es quién determina el pistilo compatible. Una vez que el grano de polen llega al estigma se hidrata y germina emitiendo el tubo polínico y el reconocimiento tiene lugar a lo largo del estilo donde se puede bloquear el crecimiento del tubo en la mayoría de los grupos vegetales.

Las especies que presentan este sistema suelen tener polen bi-nucleado (núcleo vegetativo y generativo), la papila estigmática suele ser hueca y húmeda con hidratación externa del polen y entrada del tubo polínico intercelular (Tabla de diferencias de los sistemas gametofítico y esporofítico según RICHARDS, 1986 y 1997, BARRETT, 1988 y DAFNI, 1992).

1.2.2.2. Incompatibilidad tardía (LSI)

Toman este nombre un conjunto de mecanismos de auto-incompatibilidad calificados antiguamente como *gametofíticos*, donde la interrupción del tubo polínico tiene lugar, después de la entrada en el *ovario*, antes o después de entrar en el saco embrionario y/o óvulo (SEAVEY & BAWA, 1986).

Se han distinguido tres tipos de respuestas ante el polen propio: 1ª) inhibición en el ovario antes de alcanzar los óvulos, 2ª) inhibición en los óvulos pre-fecundación y 3ª) rechazo post-fecundación. Aunque el aborto de embriones o reacción de auto-rechazo post-cigótico se puede confundir y puede ser similar a la acción de *inbreeding depression*, el tiempo de acción de este sistema de *auto-incompatibilidad tardía* suele interrumpir el desarrollo del embrión (postcigótica) en un momento concreto, mientras que la expresión de *inbreeding depression* (endogamia) se suele manifestar en cualquier fase del *ciclo vital* (SEAVEY & BAWA, 1986).

Recientemente con la aparición de numerosos casos de inhibición en el ovario (23 familias y 58 géneros), se refuerza la idea de que el LSI está más ampliamente distribuido de lo que se pensaba (BARRETT, 1988; GIBBS, 1988; SAGE, BERTIN & WILLIAMS, 1994; LUGHADHA, 1998; GIBBS & BIANCHI, 1999; PÉREZ DE PAZ, 2002; LADOUX & FRIAR, 2006). Se considera urgente la caracterización de estos sistemas de una forma más exhaustiva integrando y combinando técnicas genéticas, moleculares y fisiológicas de actuación celular.

1.2.2.3. *Auto-incompatibilidad críptica (CSI)*

Otro sistema es el que se conoce como incompatibilidad críptica y se refiere a un tipo de incompatibilidad encontrado en el género *Clarkia* (Onagraceae) y algunos taxones de Ericaceae (*Vaccinium* con endemismos en Azores y *Rhododendron*), detectable solamente cuando hay presencia simultánea de auto-polen y polen de otros individuos, pues es cuando se rechaza al auto-polen (BARRETT, 1988; GIBBS, 1988; RICHARDS, 1997; PÉREZ DE PAZ, 2002).

También fue estudiada por Darwin y ha sido denominado como *auto-incompatibilidad críptica* por Bateman en 1956 (BARRETT, 1988).

En realidad podría llamarse preferencial o alternativa ya que el rechazo no se produce con la presencia exclusiva del auto-polen. El crecimiento del tubo polínico del polen **alo** es significativamente más rápido que el del propio polen.

CARACTERÍSTICAS Y TIPOS DE AUTO-INCOMPATIBILIDAD (Barrett, 1988 modificado)						
AUTO-INCOMPATIBILIDAD	Nº GENES	Nº ALELOS	ACCIÓN ALÉLICA	SITIO INHIBICIÓN	EFEECTO POLIPLOIDIA	FAMILIAS
1. HOMOMÓRFICA						
GSI	1	muchos	codominante	estilo	ruptura	30 Rosaceae, Leguminosae, Solanaceae
GSI	2	muchos	codominante	estilo	ninguno	1 Gramineae
GSI	4	muchos	codominante	estilo	ninguno	2 Ranunculaceae, Chenopodiaceae
SSI	1	muchos	dominante	estigma germinación del polen	ninguno	20 Cruciferae, Compositae, Rubiaceae
SSI	3-4	muchos	dominante codominante	estigma germinación del polen y penetración	ninguno	1 Cruciferae (<i>Eruca sativa</i>)
LSI (GSI & SSI)	1	muchos	—	ovario	—	1 Sterculiaceae (Theobroma cacao)
LSI	muchos	muchos	—	ovario	—	1 Boraginaceae (<i>Borago officinalis</i>)
2. HETEROMÓRFICA						
DÍSTILIA	1	2	dominante	estigma y estilo germinación del polen y penetración	ninguno	23 Primulaceae, Linaceae, Turneraceae
TRISTILIA	2	2	dominante	estilo y ovario	ninguno	3 Lythraceae, Oxalidaceae, Pontederiaceae
DISTILIA "ANÓMALA"	1	2 muchos SI florales	dominante	ovario	ninguna	2 Boraginaceae (<i>Anchusa</i>), Amaryllidaceae (<i>Narcissus</i>)
ENANTIOSTILIA	1?	2?	—	—	—	2 Haemodoraceae (<i>Wachenforia</i>) ¿Tecophilaeaceae (<i>Cyanella</i>) Solanaceae (<i>Solanum</i>)

1.2.2.4. *Auto-incompatibilidad esporofítica homomórfica (SSI)*

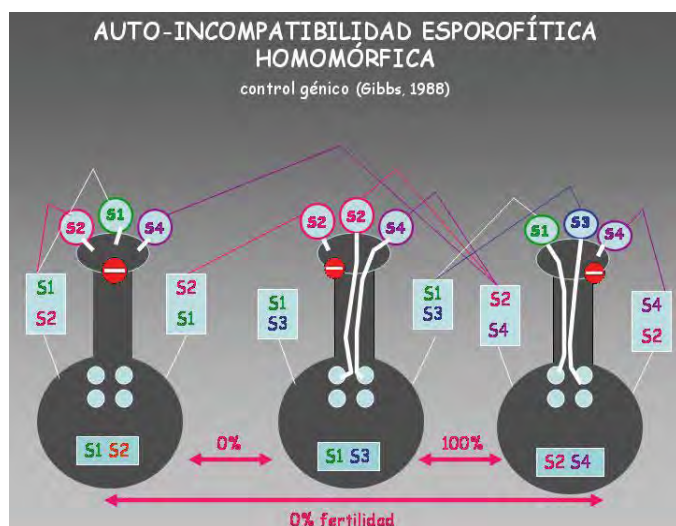
Este sistema *esporofítico homomórfico* es característico de dos de las más importantes familias de Angiospermas: Brassicaceae y Asteraceae, aunque también se ha encontrado en otras ocho (Convolvulaceae, Betulaceae, Geraniaceae, Caryophyllaceae, Nyctaginaceae, Caprifoliaceae, Polemoniaceae y Malvaceae) cuya base genética es conocida pero donde se necesitan estudios que caractericen su base molecular (De NETTANCOURT, 1977 y

2001; GIBBS, 1986 y 1988; RICHARDS, 1986 y 1997; BARRETT, 1988; LEWIS, 1994; PÉREZ DE PAZ, 2002; LEACH & MAYO, 2005; IGIC, LANDE & KOHN, 2008).

En Brassicaceae este sistema suele estar asociado a un solo *locus* S multialélico, en el que se han estimado unos 80 alelos e identificado unos 49 (BATEMAN, 1955a, De NETTANCOURT, 1977 y 2001; GIBBS, 1986 y 1988; RICHARDS, 1986 y 1997; BARRETT, 1988; CASTRIC & VEKEMANS, 2004; LEACH & MAYO, 2005; IGIC, LANDE & KOHN, 2008).

La reacción de *incompatibilidad* del polen (3-nucleado con un núcleo vegetativo y dos generativos: células espermáticas o gametos masculinos) está determinada por el fenotipo de sus parentales masculino y femenino (esporofito) reduciendo la posibilidad de cruces compatibles a una tercera parte cuando hay codominancia de alelos S (GIBBS, 1986).

En un esquema simplificado que ignora las relaciones de dominancia inter-alélica aunque un individuo S_1S_2 produzca pólenes S_1 y S_2 , ambos son incompatibles con estigmas S_1S_2 de manera que: $S_1S_2 \times S_1S_2 = 0\%$ compatibilidad; $S_1S_3 \times S_1S_2 = 0\%$ compatibilidad; $S_2S_3 \times S_1S_3 = 0\%$ compatibilidad; $S_1S_3 \times S_2S_4 = 100\%$ compatibilidad (GIBBS, 1988).



Los estigmas de los sistemas *esporofíticos* tienen papilas estigmáticas secas (Tabla de GSI y SSI) y se mantienen receptivos o turgentes generalmente durante el periodo en que la flor permanece abierta, hasta que concluye con la necrosis de estas células (RICHARDS, 1986).

Se considera el más exigente de los sistemas, toda vez que el rechazo del polen inadecuado suele tener lugar en la superficie del *estigma* por el

reconocimiento de una proteína que se encuentra en la cubierta más externa del polen (ectexina) responsable de la interrupción inmediata del crecimiento de los tubos polínicos. Dicha proteína exínica procede de las células del tapete (anteras) dominio del esporofito, razón por la que este sistema de incompatibilidad toma su denominación. Es verdaderamente significativo que mientras las proteínas de la *intina* (pared celular más interna del polen) proceden de células gametofíticas haploides, las proteínas de la exina proceden de residuos del tapete y por tanto son de origen *esporofítico* diploide (GIBBS, 1988).

Cuando tiene lugar la reacción de incompatibilidad en la superficie estigmática donde el polen incompatible no suele germinar, se produce generalmente una deposición de calosa en las papilas adyacentes al polen o tubo polínico auto-incompatible. El crecimiento del tubo se bloquea siempre desde el principio razón por la que se considera uno de los sistemas más eficaces.

En poblaciones grandes con mayor número de alelos S, hay más posibilidades de cruces fértiles al no compartir alelos de incompatibilidad (BYERS & MEAGHER, 1992; VEKEMANS, SCHIERUP & CHRISTIANSEN, 1998; BUSCH & SCHOEN, 2008).

Al mismo tiempo se considera un sistema flexible por las relaciones de dominancia entre los distintos alelos S. A diferencia del GSI (sistema gametofítico) caracterizado por las relaciones de codominancia entre los alelos S, el SSI se hace más flexible permitiendo un mayor número de cruces entre los individuos de la población, por las relaciones de dominancia/recesividad de los alelos S (BYERS & MEAGHER, 1992; VEKEMANS, SCHIERUP & CHRISTIANSEN, 1998; LEACH & MAYO, 2005; BUSCH & SCHOEN, 2008).

1.2.2.4.1. Control genético y relaciones de dominancia

En la *auto-incompatibilidad esporofítica* (SSI) son posibles interacciones de dominancia entre los alelos del *locus* S porque el fenotipo de incompatibilidad del polen está determinado por el fenotipo diploide de los parentales (RICHARDS, 1986 y 1997; BYERS & MEAGHER, 1992; SCHIERUP, VEKEMANS & CHRISTIANSEN, 1997; VEKEMANS, SCHIERUP & CHRISTIANSEN, 1998; LEACH & MAYO, 2005; BUSCH & SCHOEN, 2008).

Las interacciones de *dominancia* entre los alelos del *locus* S actúan de forma independiente en el polen y en el estigma y pueden tener consecuencias importantes ya que no son necesariamente lineales: 1º) los modelos de incompatibilidad entre individuos pueden mostrar *incompatibilidad recíproca* diferente según se trate del polen (generalmente dominante) o del estigma lo cual permite que la *dominancia* pueda actuar independientemente y 2º) los alelos recesivos (s) pueden conseguir frecuencias altas en las poblaciones porque están enmascarados por los alelos dominantes (S) situación imposible en el GSI.

A diferencia del sistema *gametofítico*, en el *esporofítico homomórfico* el control génico del comportamiento del polen viene del *esporofito* diploide (antera) e incluye a todos los granos de la *antera* lo cual implica una serie de consecuencias genéticas:

En especies diploides, la *dominancia* determinará el fenotipo del polen aunque exprese solo uno de los alelos de la antera. A su vez la *interacción* alélica puede producir individuos homocigotos para los alelos S de manera que si $S_1 > S_2 > S_3$: el cruce S_1S_2 (♂) x S_2S_3 será compatible porque el polen S_2 muestra el fenotipo S_1 pudiendo fertilizar al óvulo S_2 y generar progenie homocigota S_2S_2 . Este modelo describe la operatividad del sistema *esporofítico multi-alélico* que asume una dominancia jerárquica simple de los alelos de la antera, independiente de la expresión de los alelos del estigma.

En una misma población se pueden reconocer frecuentemente dos tipos de interacciones entre los alelos, que por orden de importancia son: (i) Dominancia: $S_1 > S_2 > S_3 > S_4$ con genotipos S_1S_2 y fenotipos S_1 y (ii) Codominancia o independencia: $S_1 = S_2$ con genotipos S_1S_2 y fenotipos S_1S_2 . Se ha observado que en Brassicaceae es más común encontrar la dominancia en la antera como sistema más importante y la codominancia o independencia de alelos en el estigma. En Asteraceae y Convolvulaceae se observa dominancia tanto en polen como en pistilo y en Caryophyllaceae predomina la codominancia tanto en polen como en pistilo.

Dada la distancia filogenética entre Asteraceae y Brassicaceae, se debe asumir que el SSI se ha desarrollado de forma independiente aunque muestren similitudes importantes: (i) los múltiples alelos del *locus* S pueden mostrar relaciones de codominancia o dominancia-recesividad diferentes dependiendo de si están en el polen o en el gineceo. (ii) el estigma como lugar de la reacción de incompatibilidad, distintivo del SSI. (iii) La reacción de incompatibilidad siempre tiene lugar sobre la superficie estigmática donde el polen incompatible es incapaz de rehidratarse y germinar e incapaz de penetrar la papila (GIBBS, 1986).

En el género *Eruca* (*E. sativa*) donde se han encontrado tres o posiblemente cuatro *loci* (S, Z y W) con múltiples alelos, el fenotipo del polen al parecer está controlado de forma esporofítica, pudiendo actuar tanto la *dominancia* como la *codominancia* que suele ser más frecuente (Lewis en LEACH & MAYO, 2005).

1.2.2.5. Sistemas mixtos esporofítico-gametofítico (SSI con loci S y G)

Cuando en algunas especies de Brassicaceae (*Raphanus sativus* y *Brassica campestris*) se detectaron auto-fecundaciones anómalas no esperadas y fácilmente explicables a pesar de la complejidad de los distintos modos y formas de actuar del SSI, se descubrió que parecían tener dos *loci* de procedencia mixta. El mecanismo de actuación se considera producto de un SSI y GSI en el que ligado al *locus-S* (SSI) reside un *locus-G* (GSI) que actúa de forma gametofítica y complementaria al *locus-S*, sugiriendo algunos autores que se trata de un sistema GSI ancestral que ha persistido de forma secundaria a través de los sistemas SSI (LEWIS, 1994; RICHARDS, 1997; De NETTANCOURT, 2001).

En las mayoría de las Crucíferas y Compuestas con este sistema mixto se ha visto que la *incompatibilidad* suele estar gobernada por dos genes: S (esporofítico multi-alelico) y G (gametofítico probablemente con solo dos alelos G1 y G2). Sus descubridores consideran al gen G como un ancestro del gen S que se encuentra en estado homocigoto en las poblaciones naturales, donde está silenciado permaneciendo oculto. En especies con alelos S de apenas *dominancia* jerárquica, no es necesario el G para el funcionamiento de la incompatibilidad (SI).

Se ha visto que el gen G (o equivalentes) está ampliamente distribuido en más de una docena de especies diferentes y en dos o tres familias donde la *incompatibilidad gametofítica-esporofítica* parece tener un alto valor adaptativo, considerándose la posibilidad de que el gen G sea universal (LEWIS, 1994).

1.2.2.6. Auto-incompatibilidad esporofítica heteromórfica (SSI-He)

Los heteromorfismos de auto-incompatibilidad ocurren cuando en una población natural coexisten dos o tres morfos florales hermafroditas, heterostilia (pin-thrum) o dimorfismo polínico-estigmático (cob-pap) con frecuencias similares siendo compatibles solamente los cruces entre morfos pero incompatibles los cruces intra-morfos. Fue reconocido ya por Darwin como un sistema de auto-incompatibilidad que evita la auto-fecundación y favorece la xenogamia (RICHARDS, 1997). La SSI-He es importante desde el punto de vista evolutivo como modelo de sistema que revela una adaptación muy precisa (LEACH & MAYO, 2005).

Se ha encontrado en unas 25 familias entre las que se encuentran la familia Plumbaginaceae (BAKER 1953a, b y 1966; GANDERS, 1979; GIBBS, 1986; BARRETT, 1988; RICHARDS 1997; IGIC, LANDE & KOHN, 2008) y Oleaceae también identificado en los endemismos canarios del género *Limonium* y *Jasminum* (ROCA SALINAS, 1983; PÉREZ DE PAZ, 2002 y sin publicar; SUAREZ *et al.*, 2002 y 2009; OLESEN *et al.*, 2005; IGIC, LANDE & KOHN, 2008).

En la heterostilia o heteromorfismo de flores *pin* y *thrum*, los morfos o individuos tienen los estigmas y anteras en posiciones y altura diferentes en la corola y se pueden diferenciar a simple vista (GANDERS, 1979; GIBBS, 1986; RICHARDS, 1986, 1997; BARRETT, 1988). Existe también otro dimorfismo floral, generalmente homostilo, con dos morfos o individuos que muestran flores dimórficas aparentemente iguales, que al microscopio óptico pueden diferenciar dos clases de estigmas, cob y pap, asociados a dos tipos de polen (A y B

respectivamente). El control genético de este sistema se debe a bloques de genes ligados que actúan como un super gen con dos alelos donde generalmente los morfos *thrum* y *cob* son heterocigotos (Ss) mientras que los *pin* y *pap* (ss) son homocigotos (GANDERS, 1979; GIBBS, 1986 y 1988; BARRETT, 1988; RICHARDS, 1997; PÉREZ DE PAZ, 2002; LEACH & MAYO, 2005).

1.2.3. Evolución, mantenimiento y pérdida de los sistemas de auto-incompatibilidad

La visión tradicional de los orígenes de la auto-incompatibilidad para evitar la autogamia ha permanecido sin modificar durante largo tiempo. Los sistemas de auto-incompatibilidad están ampliamente distribuidos en todas las regiones geográficas, en todos los hábitos o formas de crecimiento y se han detectado en por lo menos 19 ordenes y 100 familias tanto dicotiledóneas como monocotiledóneas. Hay dos hipótesis opuestas sobre los orígenes evolutivos de los sistemas de *auto-incompatibilidad* (De NETTANCOURT, 1977 y 2001; RICHARDS, 1986 y 1997; BARRETT, 1988; LEACH & MAYO, 2005; IGIC, LANDE & KOHN, 2008):

(i) Whitehouse sugiere que los SI surgen asociados al origen de las angiospermas y se caracterizan por poseer un *locus* ancestral que persiste en todas las familias. Las variaciones entre los distintos sistemas se producirían por la superposición de un mecanismo básico que refuerza el auto-rechazo. (ii) La visión alternativa en contra del origen monofilético de los sistemas de auto-incompatibilidad es de Bateman, que sugiere como más probable que se haya producido una incompatibilidad poligénica *de novo* para los distintos sistemas con progresivas modificaciones genéticas.

La investigación futura de los SI se dirige a cuestiones como distribución taxonómica, bases genéticas y propiedades fisiológicas que podrán ser resueltas por la caracterización molecular de los *loci* o genes S de especies con diferentes sistemas de incompatibilidad.

1.2.3.1. Mantenimiento de los sistemas de auto-incompatibilidad

La mayor fuerza selectiva que puede explicar el mantenimiento de los sistemas de auto-incompatibilidad es la pérdida de vigor por endogamia o *inbreeding depression* de la progenie *autógama*, debido a la expresión de mutaciones perjudiciales recesivas en homocigosis. Virtualmente, cada planta alógama es susceptible de presentar los efectos contrarios (heterosis) a la pérdida de vigor por endogamia o *inbreeding depression* (BARRET, 1988).

Olmstead en BARRET (1988) considerando la relación entre el sistema de auto-incompatibilidad y niveles de endogamia, propone que la evolución y mantenimiento de la auto-incompatibilidad es independiente de los niveles de endogamia. Evitar la *autogamia* (objetivo de los sistemas de auto-incompatibilidad) apenas tiene influencia sobre la endogamia, en comparación con la talla poblacional, aunque tampoco se cumple siempre ya que muchas especies con pequeña talla poblacional pueden presentar heterosis y no padecer endogamia. Olmstead propone que el efecto beneficioso de la *endogamia* es mantener los complejos genéticos coadaptados, y por el contrario, el *mantenimiento de auto-incompatibilidad* depende de los niveles de *inbreeding depression* de la progenie alógama.

1.2.3.2. Pérdida de la incompatibilidad o modificación

La ruptura de los sistemas de auto-incompatibilidad (SI) se puede producir por muchas y variadas razones donde el estudio comparativo de los sistemas de cruzamiento puede proporcionar además evidencias fuertes de pérdida de auto-incompatibilidad (De NETTANCOURT, 1977 y 2001; BARRETT, 1988; ORTIZ *et al.*, 2006; IGIC, LANDE & KOHN, 2008):

(i) La *mutación* de los genes de incompatibilidad o *mutación* de los alelos S hacen a las especies compatibles generalmente sin retorno. Se ha demostrado tanto en sistemas homomórficos como heteromórficos, la tendencia de mutación del *loci* de incompatibilidad hacia la auto-compatibilidad.

Entre los sistemas homomórficos, la *perdida de auto-incompatibilidad* ha sido bien estudiada particularmente en géneros como *Leavenworthia* (Brassicaceae), en la que dos especies (*L. crassa* y *L. alabamica*) muestran poblaciones tanto auto-incompatibles como auto-compatibles. Las poblaciones auto-compatibles han desarrollado adaptaciones que aumentan la eficacia de la auto-polinización (por ejemplo, anteras introrsas, pequeño tamaño de flor). En otros casos, la pérdida de auto-incompatibilidad puede estar asociada con la especiación (*Stephanomeria malheurensis* y *Lasthenia maritima*) donde parece que las modificaciones genéticas del *loci* que gobierna la *incompatibilidad esporofítica* ha iniciado una serie de cambios que conducen al aislamiento reproductivo (BARRET, 1988). Las *mutaciones* del *loci* de *incompatibilidad* no significan necesariamente que los individuos auto-compatibles sean autofecundados pues el grado de *autogamia* dependerá de diversos factores entre los que la morfología floral y abundancia de vectores de polen pueden ser más importantes (BARRETT, 1988).

(ii) Los efectos de la *poliploidización* en los SSI-He así como en algunos GSI pueden producir pérdida del SI por formación de *homostilia* en especies *distilas* neutralizando los alelos S de auto-incompatibilidad, sin embargo la pérdida de SI por *poliploidización* no parece ser importante en el SSI (RICHARDS, 1986 y 1997; HURKA & NEUFFER, 1997; RAMSEY & SCHEMSKE, 1998; MABLE, 2004; RODRÍGUEZ-RIAÑO, ORTEGA OLIVENCIA & DEVESA, 2004; FERRER & GOOD-ÁVILA, 2007; HÖRANDL, 2008).

(iii) La ruptura de los SI se puede producir por pérdida de diversidad de alelos S por *cuello de botella* y *deriva genética* en poblaciones pequeñas (ORTIZ *et al.*, 2006). Si las variantes auto-compatibles se establecen, la presencia de *inbreeding depression* probablemente es el mayor factor que restringe la expansión. Se puede favorecer *autogamia* y *cuello de botella* por escasez de polinizadores en menos de 100 generaciones ya que estos procesos reducen la carga genética y la magnitud del *inbreeding depression* (LANDE & SCHMESKE, 1985; ORTIZ *et al.*, 2006).

En poblaciones limitadas, la pérdida de diversidad de alelos-S puede limitar el éxito reproductivo al reducir la capacidad de cruces fértiles. Se ha demostrado que poblaciones pequeñas y fragmentadas tienen limitada la posibilidad de cruces. La posibilidad de caracterización molecular de alelos-S en muchas especies, ha revelado la posibilidad de valorar cuantitativamente la limitación de cruces, proporcionando como y por qué de la ruptura de los sistemas de SI, su frecuencia en la naturaleza y los factores ecológicos responsables (BUSCH & SCHOEN, 2008).

(iv) En algunos otros casos (particularmente *Brassica*) la ruptura del SSI se puede producir de forma temporal por *cambios fisiológicos* que no son heredables, pero que pueden tener consecuencias en el vigor y estructura genética de las poblaciones. Los cambios fisiológicos que se producen en la longevidad floral y los producidos por un

aumento de temperatura donde las enzimas que intervienen en la acción del gen *S* tienen temperaturas óptimas más bajas, que las que controlan el crecimiento del tubo polínico y la fecundación (De NETTANCOURT, 1977 y 2001; RICHARDS, 1986 y 1997).

La investigación futura está relacionada probablemente con los recientes avances de la biología molecular. La caracterización molecular de los sistemas de auto-incompatibilidad por el uso de tecnologías de ADN contrastando los sistemas (esporofítico *versus* gametofítico y homomórfico *vs* heteromórfico) por técnicas de hibridación podrían establecer fundamentos básicos más rigurosos de relaciones filogenéticas, además de esclarecer cuestiones como:

a) la clarificación de las propiedades generales (mecanismos de inhibición genéticos) de los sistemas de auto-incompatibilidad de acción *tardía* y *críptica*; b) evaluación del papel del *inbreeding depression* en el mantenimiento de la auto-incompatibilidad; c) estimación de los parámetros de *mating system* en especies auto-incompatibles, y d) correlaciones ecológicas, demográficas y ciclo de vital de diferentes sistemas de auto-incompatibilidad. Será de interés especial ver si la visión clásica de la auto-incompatibilidad como un mecanismo de *alogamia* sobrevive al cambio de hipótesis alternativas que serán formuladas indudablemente en años venideros (BARRETT, 1988).

1.2.4. Sistemas de cruzamiento y de auto-incompatibilidad. Antecedentes en la familia

En la familia Brassicaceae existe una extensa literatura de los sistemas de cruzamientos y auto-incompatibilidad donde se considera la *auto-incompatibilidad esporofítica homomórfica* como ancestral en la familia con múltiples orígenes evolutivamente independientes como ocurre en algunas especies diploides de *Leavenworthia* (*L.uniflora* y *L.crassa*), *Capsella* (*C.rubella* y *C.grandiflora*), *Arabidopsis* (*A.cebenensis*, *A.croatica* y *A.thaliana*) y *Boechera* (HURKA & NEUFFER, 1997; CHARLESWORTH & YANG, 1998; MITCHELL-OLDS *et al.*, 2005; BECK, AL-SHEHBAZ, SCHAAL, 2006, etc.).

1.2.4.1. Sistemas de auto-incompatibilidad y de cruzamiento

En líneas generales se puede observar, que en esta gran familia (por número de géneros y especies) existen géneros con especies que presentan ambos sistemas, tanto auto-compatible como auto-incompatible, *Arabis*, *Biscutella*, *Brassica*, *Capsella*, *Coincya*, *Diplotaxis*, *Erysimum*, *Lobularia*, *Raphanus*, *Streptanthus* y *Warea* e incluso especies que a nivel de población, presentan ambos sistemas, *Leavenworthia crassa* y *L.alabamica* (BATEMAN, 1955a y 1956; LLOYD, 1968; OLOWOKUDEJO & HEYWOOD, 1984; GIBBS, 1986 y 1988; PRESTON, 1986; RICHARDS, 1986 y 1997; BORGAN, 1987; LEADLAY & HEYWOOD, 1990; NIETO FELINER, 1991; ROY, 1995; RUSTAN, 1996; HURKA & NEUFFER, 1997; KUNIN & SHMIDA, 1997; CHARLESWORTH & YANG, 1998; EVANS *et al.*, 2000; ESCHMANN-GRUPE, NEUFFER & HURKA, 2004; MOYLE, OLSON & TIFFIN, 2004; BUSCH, 2005a; LEACH & MAYO, 2005, etc.).

Asimismo se pueden encontrar géneros con especies diploides y poliploides que presentan uno u otro sistema (*Biscutella*, *Brassica*, *Capsella*, *Coincya* y *Erysimum*), e incluso ambos (*B.cichoriifoli*). En algunos casos se ha asociado la auto-compatibilidad con el hábito anual y la auto-incompatibilidad con el hábito perenne (BATEMAN, 1955a y 1956; OLOWOKUDEJO & HEYWOOD, 1984; LEADLAY & HEYWOOD, 1990; NIETO FELINER, 1991; HURKA & NEUFFER, 1997).

Hay que señalar el trabajo de KUNIN & SHMIDA (1997), con 52 especies anuales, nativas del Mediterráneo (Israel), entre las que merece destacar por su pertenencia a la tribu Matthioleae, *Matthiola longipetala* y *M. tricuspidata*, ambas auto-incompatibles y las autógamas *Crambe hispanica* y *Erysimum repandum*, géneros presentes en Canarias con secciones y especies endémicas.

Además hay que destacar el estudio realizado por BOAZ, PLITMANN & HEYN (1990) en 86 especies, también de Israel, donde especifican el sistema de cruzamiento por medio de estudios realizados en las poblaciones de la producción de frutos con tratamientos de polinización abierta y aislada, *ratio* P/O y caracteres florales (longitud del pétalo), por el cual las especies de la tribu Matthioleae, *Matthiola aspera*, se considera auto-incompatible y *Notoceras bicornis*, es preferentemente autógama o auto-compatible.

Como se mencionó en el Capítulo I, la auto-incompatibilidad acompañada de protandria se ha documentado en *Streptanthus cutleri carinatus* y la protoginia asociada con auto-incompatibilidad en *Brassica oleraceae* (LLOYD & WEBB, 1986).

Ocasionalmente se pueden encontrar en la familia síndromes de polinización anemófila (*Pringlea antiscorbutica* y *Hormathophylla spinosa*) con auto-incompatibilidad pero con ligera geitonogamia, monoecia (*Megacarpaea megalocarpa*), dioecia (*Lepidium sisymbrioides*, único en la familia) y ginodioecia como en *Cheesemaniania wallii* e *Hirschefeldia incana* (BATEMAN, 1955b; GARNOCK-JONES, 1991; GÓMEZ & ZAMORA, 1996; ALLEN, 1998; WEBB, LLOYD & DELPH, 1999; APPEL & AL-SHEHBAZ, 2003; MITCHELL-OLDS *et al.*, 2005).

No obstante se ha comprobado que la *autogamia* puede llegar a ser común, especialmente en crucíferas leñosas y se considera responsable de la reducción de variabilidad genética en un 50% si se la compara con especies alógamas (APPEL & AL-SHEHBAZ, 2003; CHARLESWORTH, 2003).

1.2.4.2. Apomixia o agamospermia

La *apomixia* (agamospermia) en la familia Brassicaceae está fuertemente asociada con la poliploidía aunque a veces pueda ser común en especies diploides.

En la familia se pueden encontrar especies con *pseudogamia*, modalidad de *apomixia* donde el polen es necesario para fecundar al endospermo aunque no fecunde el cigoto. En el género *Arabis* (ROY, 1991) se manifiesta en taxones poliploides como *A. gunnisoniana* ($2n=21; 3x$) y *A. holboellii* var. *retrofracta* ($2n=14,21,28; 2x,3x,4x$) y diploides como *A. lignifera* ($2n=14; 2x$). Este autor sugiere que la evolución de la *pseudogamia* en este género es más compleja de lo que se piensa pudiendo derivar desde situaciones diversas: i) de especies *auto-compatibles* estrechamente relacionadas con alogamia poco frecuente aunque haya alguna excepción, ii) de especies donde el polen, no siempre desencadena el desarrollo de semillas agamospérmicas, iii) de especies poliploides ocasionalmente diploides.

Los estudios en el grupo *Boechea* con número básico $x=7$ donde los taxones asexuales con poliploidía ($3x$) y aneuploidía, también muestran *agamospermia* condición extremadamente rara entre especies asexuales (ROY, 1995; SHARBEL & MITCHELL-OLDS, 2001; DOBES, MITCHELL-OLDS & KOCH, 2004). También se reproducen por *diplosporia* (apomixia donde la megaspóra entra en meiosis pero falla en la fase de reducción cromosómica y continúa normalmente formando núcleos no reducidos (SCHRANZ *et al.*, 2005 y 2006).

En el género *Draba*, también se ha confirmado la presencia de *agamospermia* en los taxones poliploides y triploides con números básicos aberrantes donde el mecanismo de

formación del saco embrionario y la producción de semillas no se ha determinado. En estas especies se observan meiosis irregulares y polen abortado (GREENE, 1978; BROCHMANN, 1993). En la actualidad, las evidencias sugieren que la *agamospemia* en *Draba* está restringida a unas pocas especies y puede estar conectada con números de cromosomas aneuploides o niveles de ploidía raros (BROCHMANN, 1993).

En especies como *Erysimum hieraciifolium* y *Parrya arcaica* la observación de meiosis anómalas y producción de semillas viables en triploides, se han asociado con agamospermia (GREENE, 1978).

En el género endémico *Parolinia* no se conoce ningún antecedente de reproducción asexual o apomixia (propagación vegetativa y/o agamospermia) ni sobre su sistema de cruzamiento, presencia de auto-incompatibilidad o incluso sobre la eficacia reproductiva en sus poblaciones naturales.

1.2.5. Sistemas de cruzamiento y auto-incompatibilidad en islas

La condición de poseer flores hermafroditas auto-compatibles con una estructura floral capaz de ser polinizadas por un amplio rango de polinizadores, y con dispersión a larga distancia, se consideran ventajas para la colonización de islas oceánicas (BAKER, 1955; BARRETT, 1998; GRANT, 1998).

Sin embargo el éxito de la colonización y establecimiento de un determinado taxon en los ecosistemas isleños, dependerá en gran medida, de la historia evolutiva de sus sistemas de cruzamiento (auto-xenogamia) en el continente, resultado a su vez de la historia y evolución de sus sistemas sexuales o de auto-incompatibilidad. Este potencial será el que le permita establecerse, en principio desde la autogamia y posteriormente "escapar de ella" buscando la *xenogamia* (por dioecia o *auto-incompatibilidad*) que le permita recuperar la variabilidad suficiente y potencial evolutivo para, fundar una población y poder diversificar en los distintos hábitats de las islas (BAKER, 1955; EHRENDORFER, 1979; BARRETT, 1998; GRANT, 1998; PÉREZ DE PAZ, 2002).

En islas o después de un evento fundador, la *respuesta evolutiva* a las nuevas condiciones ecológicas, se evidencia en la fase reproductiva del ciclo vital y en concreto en las estructuras florales con nuevos síndromes de polinización y nuevos modos de apareamiento. Los cambios reproductivos pueden ser producto de la *deriva genética* y subsecuentes *adaptaciones* donde se han favorecido los genotipos y fenotipos más vigorosos y mejor adaptados (RICHARDS, 1986 y 1997; BARRETT & HARDER, 1996; BARRETT, HARDER & WORLEY, 1996 y 1997; BARRETT, 2003). Los principales cambios reproductivos, tienen lugar preferentemente en los recursos del androceo y gineceo de una flor (*ratio* Polen/Óvulo) relacionados íntimamente con los sistemas de cruzamientos (BAKER, 1955; WEBB, 1984; BARRETT, HARDER & WORLEY, 1996 y 1997; CRUDEN 1977 y 2000).

La ley de Baker sugiere que para que las especies se establezcan después de una dispersión a larga distancia deben ser auto-compatibles, aunque "escapar de la homocigosidad" se ha visto como un requisito esencial para la posterior radiación y diversificación en las islas. Después del establecimiento, la selección de los "mecanismos de alogamia" es un aspecto especialmente importante en la biología reproductiva de plantas isleñas (BARRETT, 1998). La polinización anemófila y los caracteres florales implicados en sistemas sexuales (como dioecia, diclinia, ginodioecia), hercogamia y dicogamia, han sido las vías de acceso a la alogamia más frecuentes en los ecosistemas isleños. Finalmente

antes de asumir que las condiciones isleñas han resultado con la selección de "mecanismo de alogamia" es importante determinar el origen de los caracteres reproductivos y si los colonizadores ya lo poseían antes de su llegada (BARRETT, 1998).

BAKER & COX (1984) denominaron al fenómeno "*leaky dioecism*" y "*leaky self-incompatibility*" como vacío de *dioecia* o *auto-incompatibilidad* en islas, cuando en poblaciones de especies dioicas o incompatibles se manifiesta hermafroditismo o bisexualidad a niveles bajos. Asimismo CARR, POWELL & KHYOS (1986) en Hawaii encuentran *auto-incompatibilidad* en algunas especies de *Dubautia* de la tribu Madiinae (Asteraceae) que consideran como excepciones a la *Ley de Baker* interpretando que la dispersión a larga distancia y colonización se efectuaron al mismo tiempo y lugar por un número de individuos suficiente para mantener intacto el mecanismo de auto-incompatibilidad *multi-alélico* pre-existente. Otra hipótesis que se plantean es la del establecimiento a partir de un individuo *pseudo-auto-compatible* que es capaz de producir *progenie auto-incompatible*. McMULLEN (1987) en 30 familias de las islas Galápagos, INOUE, MAKI & MASUDA (1996) en las islas Izu (Japón) y ANDERSON *et al.* (2001) en 17 familias de las islas de Juan Fernández encuentran un predominio de especies auto-compatibles, de acuerdo con la ley de Baker. En unos grupos, la dispersión por pájaros de frutos carnosos con múltiples semillas y polinización generalista favorece el establecimiento de taxones con dimorfismo sexual en islas. En otros los dimorfismos sexuales se pueden haber producido autóctonamente a partir de individuos hermafroditas (EHRENDORFER, 1979; BARRETT, 1998).

Recientemente CRAWFORD *et al.* (2008) en un estudio del género *Tolpis* en Canarias propone un colonizador *pseudo-auto-compatible* con posibilidad de *autogamia* derivado de ancestros alógamos, con diversidad genética suficiente para diversificar después de su llegada a las islas, lo cual constituye también una excepción a la ley de Baker como el género *Dubautia* de la *silversword alliance* en Hawai (CARR, POWELL & KHYOS, 1986).

Se evidencia una vez más la necesidad de investigación futura en *biología reproductiva* y *diversidad genética* en especies isleñas, como oportunidad única para la *biología evolutiva* y bases genéticas de los procesos de adaptación y especiación. Permite el conocimiento de la evolución de los mecanismos de *autogamia* y *alogamia* con procesos estocásticos y su incidencia en la biodiversidad y estructura poblacional.

Desafortunadamente las poblaciones isleñas son más vulnerables a la extinción que las continentales, y muchas de las especies endémicas son raras y se encuentran en peligro.

Esto hace más acuciante la necesidad de investigación en las floras isleñas, toda vez que la pérdida de biodiversidad puede suponer asimismo, una pérdida de oportunidad para acceder al conocimiento de los sistemas de cruzamiento y su evolución en ecosistemas isleños.

1.3. EFICACIA REPRODUCTIVA DE LAS POBLACIONES NATURALES. SISTEMAS DE CRUZAMIENTO

Los *Sistemas de Reproducción* constituyen la primera causa inmediata determinante de la *eficacia reproductiva*, supervivencia y biodiversidad poblacional (genotipos y fenotipos) o estructura genético-morfológica de sus individuos, que influenciados por factores ambientales y genéticos, determinan además el potencial evolutivo de una especie de manera que, siendo causa o efecto, el *éxito reproductivo* constituye uno de los factores

limitantes ante cambios ambientales y demográficos (RICHARDS, 1986 y 1997; FALK & HOLSINGER, 1991; SCHEMSKE *et al.*, 1994; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BRIGGS & WALTERS, 1997; BARRET, 1998; GRANT, 1998; PÉREZ DE PAZ, 2002).

La fecundación es la fusión de los gametos con dotación cromosómica haploide (n) contenidos en el polen (masculino) y en los óvulos (femenino), para formar una célula huevo o cigoto de dotación cromosómica diploide (2n) y producir así nuevos individuos o semillas fecundadas.

En las Angiospermas se produce como característica propia, la doble fecundación mediante la doble fusión típica, de uno de los núcleos espermáticos del tubo polínico (gameto masculino) con la oosfera (gameto femenino) para producir el embrión o semilla, y del otro núcleo espermático con los dos núcleos del endospermo para conformar el tejido nutritivo. El número de semillas estará en función del número de óvulos (RICHARDS, 1997; PÉREZ DE PAZ, 2002; PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007a). Tras la doble fecundación en las plantas superiores, la *flor* se transforma en *fruto* (endospermo y embrión) y *semillas* que se dispersan, haciendo posible la segunda oportunidad de la migración del flujo génico después del proceso de polinización.

El *éxito reproductivo* de las plantas superiores depende de la funcionalidad y eficacia de una estructura especializada como la flor. La flor en órganos como las anteras y pistilos produce células femeninas y masculinas y en los verticilos del periantio (sépalos y pétalos) atraen a los polinizadores y protegen a los óvulos y semillas (VAN TUNEN, VAN DER MEER & MOL, 1994; PÉREZ DE PAZ, 2002; PÉREZ DE PAZ, *et al.*, 2007a).

Para el conocimiento pues de los Micro-Marcadores de *eficacia reproductiva* según los sistemas de reproducción en *Parolinia*, además de estudios de *fenología* y *ciclo vital* de las especies, *fenología floral* (dicogamia y hercogamia) *sistemas de cruzamiento* (niveles auto/xenogamia) se requiere un estudio minucioso acerca del *éxito reproductivo femenino* de las poblaciones naturales. Para lo cual se necesita evaluar la fecundidad o producción de frutos y semillas, así como de la relación esfuerzo y éxito reproductivo (*ratios* Fruto/Flor y Semilla/Óvulo) y datos de germinación de semillas y supervivencia de plántulas.

El estudio del *éxito reproductivo* de las especies en sus poblaciones naturales se considera de importancia vital, no solo por su efecto directo en la estructura genética, dinámica y procesos micro-evolutivos, sino por la posibilidad de conocer los posibles *fallos reproductivos* y diseñar las *estrategias de recuperación* y conservación de los taxones amenazados (RICHARDS, 1986 y 1997; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BARRETT, HARDER & WORLEY, 1996 y 1997; BRIGGS & WALTERS, 1997; PÉREZ DE PAZ, 2002).

1.3.1. Éxito y Esfuerzo reproductivo

Actualmente el conocimiento del *éxito reproductivo* se reconoce como una cuestión prioritaria en la *biología de poblaciones* que constituye un proceso biológico primordial, prácticamente inexplorado que necesita estudios (WIENS, *et al.*, 1987; BARRETT & ECKERT, 1990; MEDAN, 1993).

Según algunos autores el *éxito reproductivo* se identifica como éxito reproductivo *femenino* o producción de frutos y semillas (WIENS, *et al.*, 1987; BARRETT & ECKERT, 1990; D'AMBROGIO & MEDAN, 1993; MEDAN, 1993; GIBBS, 1997; LUGHADHA, 1998; MEDAN & D'AMBROGIO, 1998), que además se puede dividir en dos fases: *éxito reproductivo pre-emergente* (PERS) y *post-emergente* (PoERS).

El *éxito reproductivo femenino* de las poblaciones naturales, se ha definido como la relación de flores que se transforman en fruto y la proporción de óvulos que se transforman en semillas viables. Está referido a la relación entre el *esfuerzo reproductivo* (producción de flores de una inflorescencia y óvulos por flor) y el *éxito reproductivo femenino* (producción de frutos por infrutescencia y semillas por fruto).

En las especies perennes, la inversión de recursos durante el periodo de reproducción sexual, se puede considerar como un intercambio entre los costes de producción de semillas viables y los costes de supervivencia y fertilidad futura, de manera que, si hay limitación de recursos en la producción de frutos y semillas, deben estar en equilibrio con los recursos necesarios para el crecimiento vegetativo y supervivencia. La selección iría dirigida a optimizar el *esfuerzo reproductivo*, definido como el *ratio* de recursos destinados a la reproducción sexual (BROWN & McNEIL, 2006).

Sin embargo, muchas de las especies producen más flores que las que se transforman en fruto maduro, lo que puede parecer contradictorio ya que aparentemente se incrementa el *esfuerzo* sin incrementar el *éxito reproductivo*. No obstante parece que en la mayoría de las especies perennes, la inversión de la floración puede variar en función de condiciones ambientales como, reclamo a polinizadores o disponibilidad de recursos.

La evaluación del PERS también se ha identificado con el *Éxito Reproductivo Relativo* (ERR) de Staton & Preston en DAFNI (1992) que se contempla asimismo como el producto del *ratio* Fruto/ Flor (Fr/FI) y *ratio* Semilla/ Óvulo (S/O).

1.3.1.1. *Éxito reproductivo pre- y post-emergente (PERS y PoERS)*

El *Éxito Reproductivo Pre-emergente* (PERS) o medida de fecundidad, es el número de cigotos que finalizan su desarrollo y sobreviven al entrar en el ecosistema. Presumiblemente refleja la selección de un fenotipo durante el desarrollo del embrión, y se evalúa por el número de *óvulos* que se transforman en *semillas* viables desde el parental materno.

En las angiospermas, donde las flores se consideran como módulos inmaduros y los frutos como sus derivados maduros, el PERS sería el producto de Fruto/Flor o Progenie/Cigoto (P/C).

En las especies vegetales con múltiples módulos reproductivos (flores, frutos y semillas), el problema se complica por el posible aborto de la mayoría de los módulos. Si no se dispone de datos, como es el caso de la mayoría de los estudios, se puede utilizar el *ratio* Semilla/Óvulo (S/O) como una aproximación del *ratio* P/C. Sin embargo, este *ratio* tiende a sobrestimar el PERS por no incluir los datos de *germinación* de semillas aunque compensa el desconocimiento entre la no fecundación y el aborto temprano de los cigotos (WIENS *et al.*, 1987).

Una de los problemas es determinar si los factores que afectan al *ratio* S/O, son la distribución de recursos o la carga genética (WIENS *et al.*, 1987). La disponibilidad de recursos no afecta a las tasas de aborto de las semillas, pero si al número de flores producidas, por lo que parece que el *ratio* S/O está determinado genéticamente, mientras que la limitación de recursos es más determinante en la producción de flores. Una producción de semillas escasa puede ser producto de un *sistema de auto-incompatibilidad* o *inbreeding depression* (WIENS, 1984; ALLPHIN, WIENS & HARPET, 2002).

Las poblaciones con *ratios* S/O $\leq 5\%$ se deben considerar en la "zona roja" de extinción porque supone que la *eficacia reproductiva* está afectada por la baja producción de semillas y supervivencia de plántulas (*selección dura* según Wallace en WIENS *et al.*, 2002). Para un

PERS $\leq 5\%$ se recomienda la inclusión en *listas rojas de especies amenazadas* que prevean planes de actuación y recuperación urgentes (WIENS *et al.*, 2002).

- El *Éxito Reproductivo Post-emergente* (PoERS) se refiere al porcentaje de progenie que sobrevive y se desarrolla hasta reproducirse. En las plantas con semillas, el PoERS representa los distintos *estadios* del *ciclo vital* que incluyen, desde la *germinación* de semillas, establecimiento de *plántulas*, crecimiento vegetativo juvenil, hasta la nueva fase reproductiva con fecundación y formación de nueva progenie. Se puede estimar de forma *acumulativa* a partir del producto de los porcentajes de *germinación* de semillas, supervivencias de *plántulas*, individuos *jóvenes*, *adultos reproductores*, etc (WIENS *et al.* 1987; MEDAN, 1993).

Es importante tener en cuenta que mientras la fase *post-emergente* (PoERS) del *Éxito Reproductivo* ha sido estudiada mayoritariamente, la fase *pre-emergente* (PERS) ha sido universalmente ignorada, a pesar de sus repercusiones tanto en los procesos de selección natural, como en la evaluación del *vigor* de los individuos. Esta última, especialmente importante en las especies amenazadas para su posible aplicación en las estrategias de conservación tanto *in situ* como *ex situ* (WIENS *et al.*, 1987; WIENS *et al.*, 2002).

1.3.2. *Éxito reproductivo global (ORS) o Eficacia Reproductiva*

El *Éxito Reproductivo Global* se asume en este estudio como *Eficacia Reproductiva* de una población natural y se define como el número de cigotos que sobreviven hasta reproducirse con éxito y formar descendencia. El cálculo del *Éxito Reproductivo global: ORS (Overall Success Reproductive)* se establece como el producto del *Éxito Reproductivo Pre-emergente* y el *Éxito Reproductivo Post-emergente* (MEDAN, 1993). La expresión: $ORS = PERS \times PoERS$, se refiere a la proporción de progenie potencial que alcanza la fase reproductiva y forma nueva descendencia.

Tanto en el campo teórico como práctico, el *éxito reproductivo* constituye uno de los objetivos centrales de la biología reproductiva (WIENS *et al.*, 1987) y su estudio se considera necesario y elemental, porque contribuye al conocimiento de los modelos que relacionan el *ratio Semilla/Óvulo* con el *sistema de cruzamiento* solamente conocidos en un pequeño número de especies. Hay que considerar además que los factores que influyen en el *éxito reproductivo*, pueden sufrir interacciones complejas que producen fluctuaciones en el tiempo y en el espacio.

Para el conocimiento pues de los Micro-Marcadores de *Eficacia Reproductiva* en *Parolinia* según los sistemas de reproducción, además de estudios de *fenología del ciclo vital* de las especies, *desarrollo y fenología floral* (dicogamia: protandria-protoginia, hercogamia), *sistemas de cruzamiento* y niveles *xenogamia*, se requiere un estudio minucioso del *éxito reproductivo femenino* de las poblaciones naturales.

Es fundamental la evaluación de la fecundidad o producción de frutos y semillas (PERS) o relación esfuerzo y éxito reproductivo (*ratios Flor/Fruto* y *Óvulo/Semilla*) así como los porcentajes de *germinación de semillas* y *supervivencia de plántulas* (PoERS), para estimar el *Éxito reproductivo global (ORS) o Eficacia Reproductiva*.

La detección de *fallos reproductivos* en las especies amenazadas contribuirá sin duda alguna al conocimiento de la erosión o agentes causales y podrá diseñar estrategias de recuperación y conservación.

1.3.3. Antecedentes de eficacia reproductiva e *inbreeding depression* en Brassicaceae

Como en el caso de los sistemas de cruzamiento y de auto-incompatibilidad, existe una extensa literatura que documenta la eficacia reproductiva y la incidencia del *inbreeding depression* en la familia Brassicaceae.

1.3.3.1. Eficacia reproductiva

El éxito reproductivo femenino y masculino del género *Raphanus* ha sido muy estudiado, y también se ha investigado el vigor de la progenie, presencia de *inbreeding depression* y sobre todo la influencia del heteromorfismo cromático, característico de este género, sobre el éxito reproductivo (STATON, 1984 y 1987a y b; SUTHERLAND & DELPH, 1984; DEVLIN, CLEGG & ELLSTRAND, 1992; NASON & ELLSTRAND, 1995; CONNER, RUSH & JENETTEN, 1996; CONNER *et al.*, 1996; MARSHALL, 1998; LEHTILA & STRAUSS, 1999; MARSHALL & OLIVERAS, 2001; MARSHALL *et al.*, 2007).

También merecen ser destacados estudios del éxito reproductivo realizados en taxones de la Península Ibérica, como en la anual *Moricandia moricandioides* (GÓMEZ, 1996) y *Hormatophylla spinosa* (GOMEZ & ZAMORA, 2003). Además se han investigado los efectos de la talla poblacional y la densidad de plantas sobre el éxito reproductivo en *Lesquerella mustard* (ROLL *et al.*, 1997), en *Brassica kaber* (KUNIN, 1997) y en la endémica *Cochlearia bavarica* (PASCHKE, ABS, SCHMID, 2002). Se ha estudiado, asimismo, el éxito reproductivo en *Arabidopsis thaliana*, especie colonizadora de América del Norte (GRIFFITH, KIM & DONHOUE, 2004).

1.3.3.2. Pérdida de vigor por endogamia (*inbreeding depression*)

La presencia de *inbreeding depression* también se ha estudiado en varios géneros de la familia, como *Arabis fecunda* (HAMILTON & MITCHELL-OLDS, 1994), *Brassica rapa* (GUREVITCH *et al.*, 1996) y *Cakile edentula* (DONOHUE, 1998) que además estudia la eficacia reproductiva de esta especie. Asimismo se han estudiado las diferencias de *inbreeding depression* en poblaciones auto-compatibles y compatibles de *Leavenworthia alabamica* (BUSCH, 2005b) y las bases genéticas de la presencia de *inbreeding depression* de *Arabis peterea* por isoenzimas y microsatélites (KARKKAINEN *et al.*, 1999).

Asimismo, BROCHMAN (1993) estudia en profundidad 15 especies árticas-alpinas del género *Draba*, para investigar las posibles relaciones entre las estrategias reproductivas y evolución poliploide en el género, proponiendo que la *alopoliploidía* es un escape a la depauperación genética causada por *inbreeding uniparental* provocado en el nivel diploide.

2. OBJETIVOS

Con la finalidad de obtener información acerca de los *sistemas de cruzamiento* y niveles de *auto-incompatibilidad*, *eficacia reproductiva* e incidencia de *agamospermia* en *Parolinia*, este capítulo centra su atención en los siguientes objetivos:

1) Detección de las tasas de *autogamia* y/o *xenogamia* por evaluación indirecta según recursos del androceo y gineceo: *ratio* Polen/Óvulo y otras características florales como el índice OCI de *alogamia*.

2) Detección de los niveles de *autogamia* y/o *xenogamia* por evaluación directa de *auto-incompatibilidad* mediante cruces experimentales de polinización.

3) Detección de *apomixia* por *agamospermia* o formación de semillas sin fecundación.

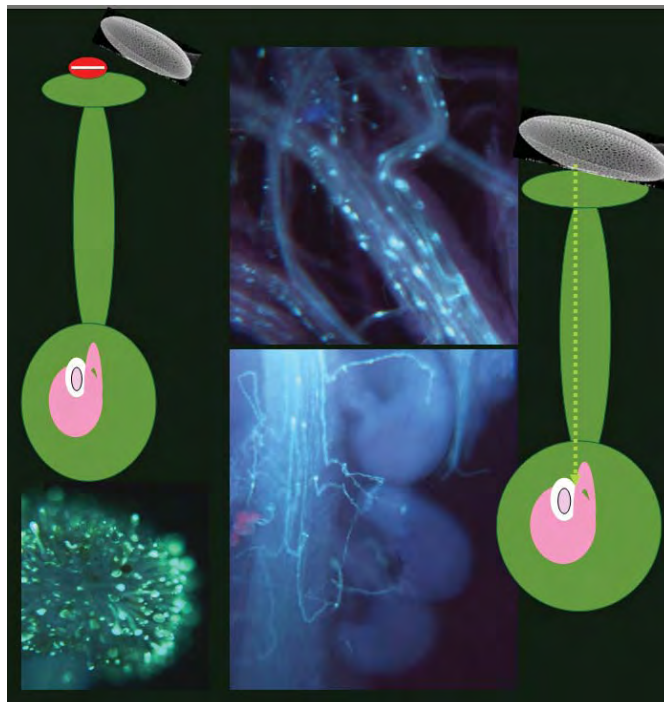
4) Evaluación de la *eficacia reproductiva* de las poblaciones naturales, relación entre el *esfuerzo reproductivo* y el *éxito reproductivo femenino* o porcentaje de formación de *semillas* y evaluación de su calidad. Detección de posibles problemas de *endogamia* o incidencia de *inbreeding depression* en las primeras fases del ciclo vital de las especies.

La consecución de estos objetivos repercutirá en el entendimiento de los niveles de biodiversidad (*genético-morfológica*) y *eficacia reproductiva* de vital importancia en el diseño de *estrategias de conservación y gestión* verdaderamente efectivas.





CAPÍTULO II



Material y Métodos

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Como se ha visto anteriormente, los *sistemas de cruzamiento* (auto-alo y xenogamia) están íntimamente ligados a los síndromes florales y por tanto, a los mecanismos de polinización, sistemas sexuales y/o a los sistemas de auto-incompatibilidad siendo esa la razón por la que a veces se consideren en cierto modo como sinónimos de estos aspectos reproductivos (WEBB, 1984; RICHARDS, 1986 y 1997; HUSBAND & SCHEMSKE, 1995, 1996 y 2000; BARRETT, HARDER & WORLEY, 1996 y 1997; HAMRICK & GODT, 1996; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BRIGGS & WALTERS, 1997; BARRETT, 1998a y 2003, etc.).

En las especies con flores *hermafroditas* la forma más común de evitar la auto-fecundación es mediante los *sistemas de auto-incompatibilidad* como barreras fisiológicas y genéticas que imposibilitan la auto-fecundación mediante la interrupción de los tubos polínicos en el gineceo, permitiendo que el polen de las flores de otros individuos no emparentados, germine, fecunde a sus óvulos y forme frutos y semillas, haciendo posible además, la primera oportunidad de migración del flujo génico (polínico) en las poblaciones naturales.

Los *sistemas de cruzamiento* íntimamente relacionados con las flores, no sólo están estrechamente ligados a los sistemas de *auto-incompatibilidad*, sino también a los *recursos del androceo* (anteras, polen) y *gineceo* (óvulos) y por ello su detección estará fundamentada: i) en la valoración de los recursos del androceo y gineceo, método considerado indirecto y ii) de forma directa detectando los niveles de auto-compatibilidad mediante *cruzamientos experimentales* de auto-polinización y polinización cruzada, valorando los resultados según la formación de frutos y semillas (CRUDEN, 1977; ZAPATA & ARROYO, 1978; CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987; KARRON, 1987; CHARLESWORTH, 1988; DAFNI, 1992; LUGHADHA, 1998; PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007a).

En este trabajo dedicado al género *Parolinia* los *sistemas de cruzamiento* se han evaluado pues: 1º) por métodos indirectos, según los recursos del androceo y gineceo (*ratio* Polen/Óvulo por flor e índice OCI) y 2º) por métodos directos detectando los niveles de *auto-incompatibilidad* con experimentos de polinización manual. Asimismo, se ha hecho una evaluación indirecta de los mismos según los datos genéticos obtenidos por la técnica molecular de *isoenzimas* (Capítulo III).

En este capítulo también se valora y cuantifica, la *eficacia reproductiva* en las poblaciones naturales o porcentaje de flores que se transforman en *frutos maduros* con *semillas* viables que se dispersan y conforman la nueva progenie que hace posible además la segunda oportunidad de migración del flujo génico en las poblaciones según los distintos mecanismos de dispersión (PROCTOR, YEO & LACK, 1996; RICHARDS, 1997; BRIGGS & WALTERS, 1997).

Se definirá pues en primer lugar la metodología empleada para la evaluación de los *sistemas de cruzamiento* y en segundo lugar, los métodos empleados para la valoración de la *eficacia reproductiva* en las poblaciones naturales estudiadas de las especies de *Parolinia*, según los frutos y semillas viables formados en cada una de ellas en relación a la producción de flores y óvulos.

El estudio de los *sistemas de cruzamiento* y *éxito reproductivo* de las especies en sus poblaciones naturales se considera de importancia vital, no sólo por su efecto directo en la estructura genética, dinámica y procesos micro-evolutivos de las especies, sino también por la posibilidad de identificar los posibles fallos reproductivos y diseñar las estrategias de

recuperación y conservación de los taxones amenazados (RICHARDS, 1986 y 1997; BARRETT, HARDER & WORLEY, 1996 y 1997; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BRIGGS & WALTERS, 1997; PÉREZ DE PAZ, 2002; PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007a).

3.1. EVALUACIÓN INDIRECTA DE LOS SISTEMAS DE CRUZAMIENTO. AUTOGAMIA Y XENOGAMIA

La evaluación indirecta de los niveles de *auto-alo* y *xenogamia* se ha realizado según los recursos del androceo y gineceo expresado por el *ratio* Polen/Óvulo por flor y por el índice OCI de *alogamia* que valora asimismo características florales como, talla, dicogamia y hercogamia (CRUDEN, 1977; DAFNI, 1992).

Los resultados obtenidos para estos niveles de *autogamia* y *xenogamia* se confrontan y correlacionan con la evaluación indirecta de *auto-incompatibilidad* a partir de las cicatrices por infrutescencia (consideradas como flores abortadas fecundadas o no), con la evaluación directa de los cruzamientos experimentales de polinización manual y, posteriormente, con datos indirectos obtenidos a partir del marcador molecular de isoenzimas (tasa de alogamia t) obtenida a partir del coeficiente F de *inbreeding* o *autogamia* (WEIR, 1990).

3.1.1. Niveles de alogamia según *ratio* Polen/Óvulo

La estimación de los *niveles de alogamia* se halló a partir de la relación del número de granos de polen y número de óvulos por flor según CRUDEN (1977), que establece que los distintos valores obtenidos en el *ratio* Polen/Óvulo (P/O) por flor reflejan distintas modalidades de los *sistemas de cruzamiento*.

Estas modalidades que expresan las distintas situaciones posibles de: *Cleistogamia*, *Autogamia obligada*, *Autogamia facultativa*, *Xenogamia facultativa* y *Xenogamia obligada*, se reflejan en la Tabla *Niveles de alogamia* (CRUDEN, 1977; DAFNI, 1992).

NIVELES DE ALOGAMIA SEGÚN <i>RATIO</i> POLEN/OVULO POR FLOR (Cruden, 1977; Dafni, 1992)	
SISTEMAS DE CRUZAMIENTO	<i>ratio</i> P/O
Cleistogamia	2.7 - 5.4 - 6.7
Autogamia obligada (AO)	18.1 - 39.0
Autogamia facultativa (AF)	31.9 - 396.0 - 397.0
Xenogamia facultativa (XF)	244.7 - 2558.0
Xenogamia obligada (XO)	2108.0 - 195525.0

Para esta misma relación, se tuvo también en cuenta los rangos de PRESTON (1986) para Brassicaceae con *ratios* P/O > 3500 en crucíferas alógamas (AL) y *ratios* P/O < 1000 para crucíferas autógamias (DAFNI, 1992).

En el presente trabajo, los individuos analizados de cada taxon proceden tanto de las poblaciones naturales como de las cultivadas en el JBCVC, analizándose entre 3 y 6 individuos por población y una flor por individuo (Tabla 2.1).

El material utilizado, botones y flores, se fija previamente en FAA y se almacena en alcohol 70% hasta ser analizado. Se diseccionó en una lupa o estereomicroscopio Olympus SZ-CTV con una cámara digital Olympus DP10 acoplada y las tinciones de los granos de polen (androceo) como de los óvulos (gineceo) se llevan a cabo con una solución hidro-

alcohólica glicerizada de fucsina básica al 0.05% partiendo de una solución stock de 1 litro (solución A: 800 ml de glicerina, 150 ml de H₂O destilada, 50 ml de alcohol 90° y 0.5 gr fucsina básica) que se diluye a su vez al 50% con glicerina o solución B (PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007).

Para la estimación del *ratio* P/O por flor, se contabiliza el número de granos por antera, diferenciando las anteras laterales (cortas) de las medias (largas), realizando las observaciones en un Microscopio Óptico (MO) Olympus BHB conectado a una cámara de video (2.5x y 4x) y a un sistema de análisis de Imagen (MIMAGE 4.0) que permite el recuento automático de los granos de polen directamente en pantalla. Asimismo el recuento del número de óvulos por flor se verifica utilizando la lupa y/o el microscopio óptico.

TAXON	POB	1. <i>ratio</i> P/O	2. OCI					
			1. Corola diámetro		2. Dicogamia		3. Hercogamia	
		Ind	Ind	Fl	Ind	Fl	Ind	Fl
PG	PGB	6	30	145	30	306	139	476
PF	PFA	4	24	116	13	27	59	127
	PFS	4	13	65	—	—	—	—
	PFT	4	32	115	15	30	81	170
POA	POA	4	28	136	26	69	67	156
POVE	POVE	3	9	45	—	—	—	—
PO	POS	6	45	177	35	273	131	470
	POV	4	26	126	15	29	60	142
	POM	4	28	138	10	29	71	140
PFCH	PFCH	3	10	50	—	—	—	—
PP	PPG	6	48	225	47	184	147	376
PI	PIT	3	10	41	12	35	32	61
	PIG	3	13	65	—	—	—	—
	PIA	3	11	44	9	55	31	91
PS	PSA	3	9	39	13	77	34	128
PA	PAC	3	14	53	20	90	72	176

Tabla 2.1.- Muestreo del *ratio* Polen/Óvulo (P/O) e Índice OCI: niveles de allogamia. Número de individuos y flores analizadas en las poblaciones de *Parolinia*. Ind=número de individuos, Fl=número de flores.

3.1.1.1. Recuento del número de granos de polen por flor

Para el recuento del número de granos de polen por antera se partió de flores en estadios tempranos de yemas y botones (E0-E1) con anteras indehiscentes (Fig.2.1a) analizándose tres tecas por flor, dos de los estambres largos y una de los estambres cortos.

Los botones florales se diseccionaron sobre un portaobjetos separando todos los verticilos para aislar los estambres que colocan en un vidrio de reloj y se sumergen en la solución de fucsina básica durante 15-30 minutos. Pasado este tiempo, se colocan ordenados (para facilitar su identificación) en un portaobjetos sobre papel milimetrado y se fotografían para su posterior análisis biométrico (Fig.2.1b) que se realiza según se indica en el capítulo IV de Morfometrías.

A continuación con un bisturí, se separan las dos tecas de cada antera por el tejido conectivo y se colocan independientemente en un portaobjetos debidamente etiquetado.

Se añade una gota de la solución B de fucsina básica y con una aguja enmangada se presiona la teca dando giros suaves para liberar los granos hasta que la teca haya liberado todo su contenido (Fig.2.1c). Posteriormente se coloca un cubreobjetos y las 12 láminas delgadas por flor, se etiquetan y se almacenan para su posterior recuento.

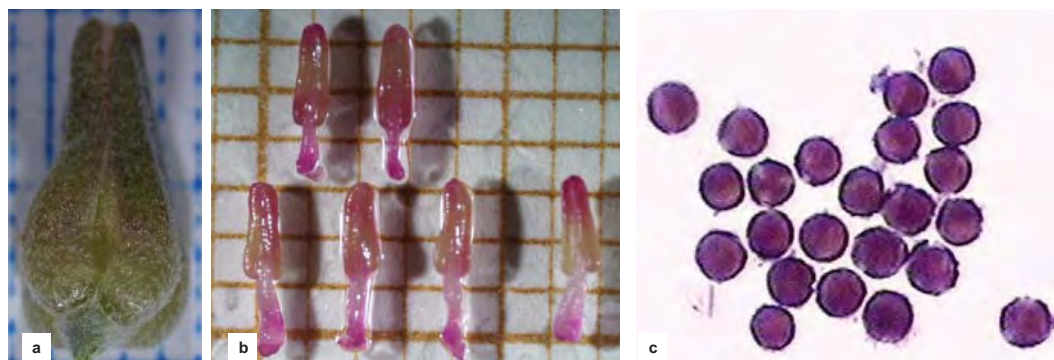


Figura 2.1.- Recuento de polen. Yema con anteras indehiscentes (a). Estambres laterales y medios sobre portaobjetos con papel milimetrado (b). Granos de polen teñidos con fucsina básica (c).

El recuento de los granos de polen se realiza de forma automática, como se mencionó anteriormente con el MIMAGE 4.0. Este programa reconoce los objetos oscuros y teñidos (polen) dentro de unos rangos pre-establecidos. Los rangos y dimensiones de la talla polínica se determinan previamente con un ocular micrométrico (Reichert 12.5x) en micras o micrómetros (μm) previa calibración de los objetivos con un portaobjetos milimetrado (Tabla *Talla del polen* al natural no acetolizado).

TALLAS DEL POLEN. RANGOS DE LONGITUD EN MICRAS (μm)			
TAXON	POBLACIÓN	LONGITUD MÁXIMA	LONGITUD MÍNIMA
<i>P. glabriuscula</i>	PGB	6-38	6-37
<i>P. filifolia</i>	PFS, PFA, PFT	10-46	10-39
POA y POVE	POA y POVE	3-50	3-39
<i>P. ornata</i>	POS, POV, POM	3-50	3-39
PFCH	PFCH	10-46	10-39
<i>P. platypetala</i>	PPG	6-38	6-36
<i>P. intermedia</i>	PIT, PIG, PIA	6-48	6-37
<i>P. schizogynoides</i>	PSA	12-50	10-43
<i>P. aridanae</i>	PAC	10-40	8-37

Los rangos así establecidos limitan las posibilidades de incluir impurezas no deseadas aunque excluyen también asociaciones y conglomerados polínicos fuera de rango que se cuentan manualmente y se suman a las medidas automáticas.

El número de granos de polen obtenido, así como las medidas de los mismos, se envían por el programa a una matriz de Excel donde se verifica posteriormente el cálculo del número total de granos de polen por antera y por flor en los individuos analizados: 1º) Para cada antera media, se obtiene la media aritmética de las dos tecas y se multiplica por 8. 2º) Para cada antera lateral, se multiplica por 4 el valor de la teca. Por último, para el recuento

del número total de granos de polen por flor, se suman los valores de las anteras medias o largas y de las anteras laterales o cortas.

3.1.1.2. Recuento de óvulos por flor

Aunque teóricamente el recuento de óvulos debe realizarse en la misma flor que el recuento del polen (CRUDEN, 1977; PRESTON, 1986), esto no es posible en las especies de *Parolinia* por la protandria de sus flores y consiguiente inmadurez del gineceo y ovario en los primeros estadios florales con anteras indehiscentes. Por ello el recuento de óvulos se ha realizado en los mismos individuos pero partiendo de flores maduras en fase femenina (Estadio 5) donde los óvulos ya pueden ser claramente observados y contabilizados y donde las anteras están casi vacías (Fig.2.2a).

En una lupa o estereomicroscopio se disecciona la flor sobre un portaobjetos separando todos los verticilos florales para aislar el gineceo, retirando con un bisturí los tricomas que cubren el ovario (Fig.2.2b). Con el fin de reblandecer los tejidos, se introduce el gineceo en un vidrio de reloj con NaOH 8M y se calienta en una estufa a 60°C durante 10 minutos. Fuera de la estufa, se hacen tres lavados con agua destilada y se secan con papel para retirar los restos de NaOH. En un vidrio de reloj, se sumergen los gineceos en la solución de fucsina básica y se tiñen durante 15-30 minutos.

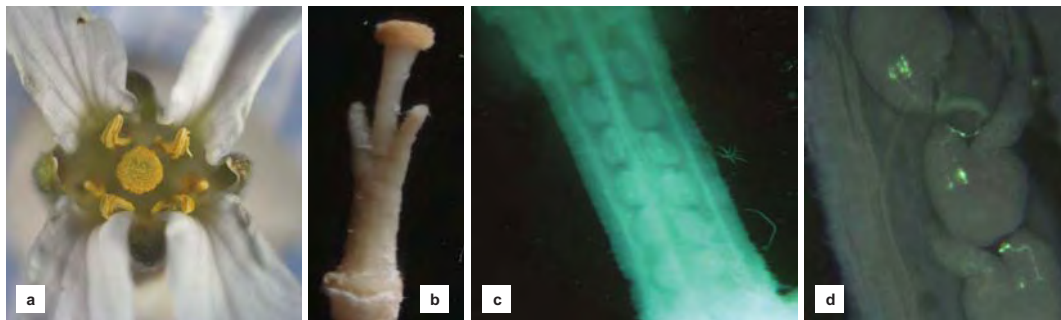


Figura 2.2.- Recuento de óvulos. Flor madura en fase femenina (E5a-E5b) con estigma visible y ovario desarrollado (a). Gineceo bajo estereomicroscopio (b). Ovario con óvulos al MO (c). Óvulos al MO (d).

Los gineceos se fotografían y se evalúan de forma similar a las anteras. Se colocan en un portaobjetos y se observan bajo el MO para proceder al recuento directo de los óvulos (Fig.2.2b y c).

El *ratio* P/O por flor se calcula para cada individuo hallándose los estadísticos descriptivos (media aritmética, error típico y rangos) por población y taxon, así como el *ratio* P/O global (población y taxon). Asimismo, se calculan las biometrías de las anteras indehiscentes (largo y ancho en mm), talla polínica (Eje P: longitud máxima y Eje E: longitud mínima, en μm) y longitud del ovario (en mm).

3.1.2. Índice OCI de alogamia

A nivel de género los valores del OCI deben ser considerados solo como un indicador general del *sistema de cruzamiento* y no como una prueba irrefutable. Es un método especialmente útil cuando están implicadas las distintas especies de una comunidad vegetal.

Los distintos valores del Índice OCI de *alogamia* (CRUDEN, 1977) representan y expresan la suma de los valores adjudicados a tres características de la flor: 1) talla, representada por el diámetro de la corola (Fig.2.3a, b), 2) *dicogamia* o separación temporal entre la dehiscencia de anteras y receptividad estigmática (Fig.2.3c, d) y 3) *hercogamia* o separación espacial de anteras y estigma (Fig.2.3e y Tabla Valores índice OCI).

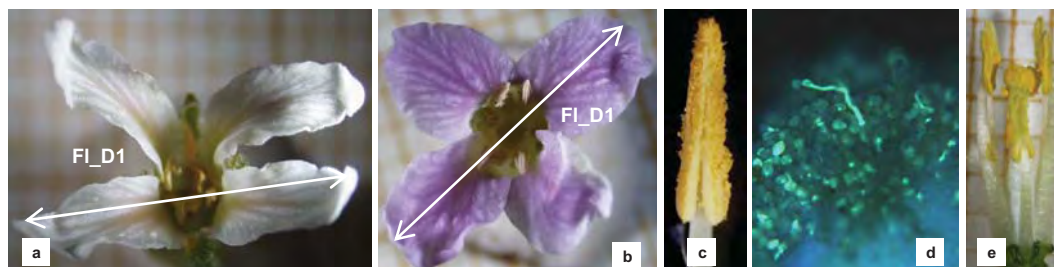


Figura 2.3.- Índice OCI y características de la flor. Diámetro de la corola en *P. filifolia*, con pétalos en aspa (a) y en *P. intermedia*, con pétalos dispuestos en cruz (b). Dicogamia, antera dehiscente (c) y estigma receptivo (d). Hercogamia, contacto entre el estigma y las anteras largas o medias (e).

ÍNDICE OCI DE ALOGAMIA: CODIFICACIONES (Cruden, 1977)			
ÍNDICES OCI DE ALOGAMIA 1+2+3	CARACTERÍSTICAS DE LA FLOR	CODIFICACIÓN	
0= Cleistogamia 1= Autogamia obligada (AO) 2= Autogamia facultativa (AF) 3= Xenogamia facultativa (XF) 4= Xenogamia obligada (XO)	1. Diámetro de la corola	≤1 mm	0
		1-2 mm	1
		2-6 mm	2
		> 6 mm	3
	2. Dicogamia	Homogamia/ Protoginia	0
		Protandria	1
	3. Hercogamia	Con contacto ♂ y ♀	0
Sin contacto ♂ y ♀		1	

Los individuos analizados proceden tanto de poblaciones naturales como cultivadas excepto en las observaciones de dicogamia donde sólo se analizaron individuos cultivados.

El número de individuos evaluados oscila entre 9 y 147 y el número de flores entre 27 y 476 como se observa en la Tabla 2.1. Para evaluar el índice OCI, se tuvo en cuenta el diámetro mayor de las corolas de *Parolinia*.

3.1.3. Cicatrices por infrutescencia

En este trabajo se asume como posible *evidencia indirecta* de *auto-incompatibilidad* el número o porcentaje de cicatrices por infrutescencia.

En las inflorescencias e infrutescencias de algunos individuos de las poblaciones naturales se observan *cicatrices* atribuibles a flores abortadas o no fecundadas



que se consideran como un micro-marcador predictivo del *sistema de auto-incompatibilidad esporofítico homomórfico* (Figs.2.4a, b, c)

Los frutos y las cicatrices se evalúan en unas 35 infrutescencias (una por individuo) contabilizando el número y porcentaje de cicatrices en cada una. Se calculan los estadísticos descriptivos (media, error estándar y rangos, máximo-mínimo) así como un porcentaje global de cada población.

En todos los casos el material se corresponde con el analizado para los estudios biométricos del Capítulo IV de Morfometrías. Los resultados se representan mediante un diagrama de barras.

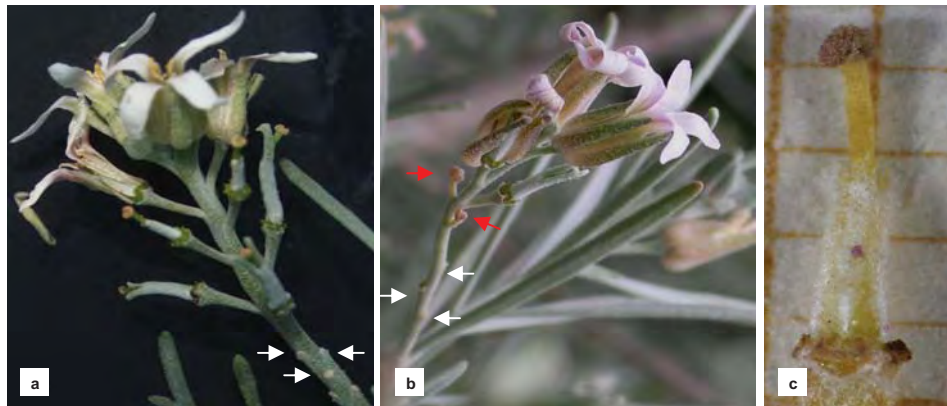


Figura 2.4.- Flores y cicatrices por inflorescencia. Se muestran las cicatrices de una inflorescencia (flecha blanca) atribuibles tanto a flores abortadas (flecha roja) fecundadas o no (a, b). Gineceo no fecundado (c).

Estos resultados se confrontarán con los obtenidos en los cruces artificiales que permitirán comprobar si realmente las cicatrices pueden ser un buen predictor de la presencia de *auto-incompatibilidad* y del grado de parentesco entre los individuos de una población.

3.2. EVALUACIÓN DIRECTA DE LOS SISTEMAS DE CRUZAMIENTO: EXPERIMENTOS DE POLINIZACIÓN.

Se realizaron varios tests con *cruzamientos experimentales* de auto-polinización y polinización cruzada de forma unidireccional con diferentes dadores de polen.

Aunque se recomienda que las polinizaciones se realicen en las dos direcciones, esta información solo es necesaria para la evaluación de la relación dominancia-codominancia paternal y/o maternal que, aunque ya ha sido detectada para la familia, no se ha considerado prioritaria y no constituye uno de los objetivos de este trabajo (TALAVERA, GIBBS & HERRERA, 1993; RICHARDS, 1997; LEACH & MAYO, 2005; AIZEN, 2005).

Para la evaluación del *Sistema de Auto-incompatibilidad Esporofítico Homomórfico* (SSI) típico de esta familia, se ha de confirmar que la reacción de auto-incompatibilidad o interrupción del crecimiento de los tubos polínicos tiene lugar en el estigma.

3.2.1. Cruzamientos experimentales. Polinizaciones dentro y entre individuos

En las poblaciones cultivadas en el JBCVC se llevan a cabo experimentos de auto-polinización entre inflorescencias de un individuo (2003) y se realizan en *P. platypetala* (PPG) polinizaciones cruzadas entre individuos distintos (2004). Para los cruces experimentales se seleccionan y se marcan entre tres y siete individuos por población con un número variable de flores como se pone de manifiesto en el diseño de los distintos tests.



Figura 2.5.- Cruzamientos experimentales en el JBCVC. Bolsas para el aislamiento de las inflorescencias en yema y material necesario para las polinizaciones manuales: pinceles (uno por individuo), sobres para aislar los pinceles, hilos de colores para marcaje de inflorescencias, etc.

Ante la imposibilidad de aislar una única flor, dado su pequeño tamaño y fragilidad, se opta por las inflorescencias que aseguran el éxito de los experimentos. Los aislamientos de las inflorescencias se efectúan mediante embolsamientos con tejido fino y transparente para impedir la interacción de visitantes florales o posibles polinizadores (Fig.2.5).

En cada individuo se marcan, aislan y embolsan 11 inflorescencias en fase de yema, tres como dadoras de polen y las 8 restantes para los cuatro tests o tratamientos (una ó dos por tratamiento), utilizando como control del JBCVC el resto de las inflorescencias de cada individuo.

Para evitar posibles daños en las inflorescencias, las bolsas se diseñan teniendo en cuenta la talla máxima de las mismas y se confeccionan con tela de visillo que se selló por los márgenes. Se colocan cuidadosamente en la inflorescencia y se cierran por la base frunciendo un hilo sobre el pedúnculo, colocando previamente una capa de algodón para evitar daños y la entrada de insectos.

Los tests (6 en total) se controlan marcando las inflorescencias con hilos de diferente color, cada flor polinizada manualmente se señala con el hilo de color correspondiente al test (Fig.2.5). El número de flores utilizadas en cada tratamiento se muestra en la Tabla 2.9 de Resultados. El número de silicuas donde se valora la producción de semillas depende de los frutos formados y varía según tests y taxones.

El diseño de los distintos tests y tratamientos se realiza teniendo en cuenta a diferentes autores (DAFNI, 1992; SCHOEN & LLOYD, 1992) con las modificaciones que se detallan a continuación y se resumen en la Tabla adjunta (*Diseño de cruzamientos experimentales*).

DISEÑO DE LOS TESTS Y CRUZAMIENTOS EXPERIMENTALES (Dafni, 1992 y Schoen & Lloyd, 1992 modificados)				
TESTS y TRATAMIENTOS	PROCEDIMIENTOS (métodos)			OBJETIVOS
1. Control NATURAL: inflorescencia con polinización libre <i>in situ</i>	Sin embolsamiento	Sin tratamiento	Polinización libre natural	Evaluación de la polinización abierta en la población natural
2. Control JBCVC inflorescencia con polinización libre	Sin embolsamiento	Sin tratamiento	Polinización libre	Evaluación de la polinización abierta en cultivo
3. Auto-polinización mecánica (intra-inflorescencia)	Embolsamiento de inflorescencias	Sin tratamiento	Con polen de la misma inflorescencia	Necesidad de polinizadores y posible autogamia mecánica
4. Agamospermia		Emasculación	Sin polinización	Indicación de producción de semillas sin fecundación
5. Auto-polinización (inter-inflorescencias)		Polinización manual	Con polen de la misma planta	Detección de auto-compatibilidad (autogamia)
6. Polinización cruzada (entre individuos)		Polinización manual	Con polen de otro individuo	Evaluación de auto-incompatibilidad (xenogamia)

1. Inflorescencia control con polinización natural *in situ*: polinizaciones naturales y abiertas en las poblaciones naturales, sin embolsamientos ni polinizaciones manuales. El objetivo es la evaluación de la producción de frutos (silicuas) y semillas con polinización libre bajo condiciones naturales *in situ*. El número de flores controladas oscila entre 35 y 106 según taxones y el número de silicuas que depende de los frutos formados oscila entre 24 y 67 frutos (Tabla 2.9).



Figura 2.6.- Auto-polinización. Intra-flor (a), intra-inflorescencia (b) y entre inflorescencias del mismo individuo (c).

2. Inflorescencia control del JBCVC: polinizaciones naturales y abiertas en cultivo (JBCVC), sin embolsamiento ni polinizaciones manuales. El objetivo es la evaluación de la polinización bajo condiciones de cultivo. El número de flores controladas oscila entre 21 y 112 según taxones (Tabla 2.9).

3. Auto-polinización mecánica intra-inflorescencia: en las inflorescencias embolsadas no se emasculan las flores y no se deposita polen manualmente. La posible fuente de polen proviene de la misma flor o inflorescencia (Fig.2.6a y b). El objetivo de este test es evaluar la necesidad de polinizadores y auto-polinización automática.

4. Test de agamospermia: se embolsan las inflorescencias y se emasculan las flores con pinzas volviéndose a embolsar durante casi un mes. El objetivo de este tratamiento es detectar la formación de frutos y semillas sin intervención alguna de polen.

5. Auto-polinización entre inflorescencias de un individuo o planta: se deposita manualmente polen procedente de flores de otra inflorescencia del mismo individuo durante tres días como mínimo (Fig.2.6c). El objetivo de este tratamiento es la detección de posible compatibilidad y niveles de autogamia. Se utilizan dos inflorescencias por planta.

6. Polinización cruzada entre inflorescencias de 5 individuos o plantas: se realiza solamente en *P.platypetala* (PPG) donde las flores sin emasculan se aíslan y polinizan manualmente con polen procedente de los otros individuos. El objetivo de este tratamiento es evaluar los efectos de la polinización cruzada o *xenogamia* en los individuos tratados, utilizando dos inflorescencias en cada uno.

Para los tests de auto-polinización y polinización cruzada (5 y 6), una vez producida la antesis floral, el procedimiento consiste en depositar manualmente polen (auto o xeno) con un pincel sobre los estigmas de las flores en fase femenina, polinizando durante cinco días a partir del Estadio 5a.

Después de las polinizaciones manuales se procede en todo momento al rápido re-embolsamiento de las inflorescencias, para evitar la interacción con posibles visitantes florales. Con el crecimiento de dichas inflorescencias y durante casi un mes, las bolsas se van sustituyendo por otras mayores.

3.2.2. Interpretación de los resultados según los niveles de fecundación observados

Como otros autores, se asume que tanto la presencia de *tubos polínicos* a lo largo del gineceo de las flores marchitas, como los *gineceos fecundados* presuponen la subsiguiente producción de frutos y semillas (SCHOEN & LLOYD, 1992; WEBB, 1994; LADLEY, KELLY & ROBERTSON, 1997; ANDERSON *et al.*, 2001; SAGE *et al.*, 2001; BUIDE & GUITIAN, 2002; LEIMU, 2004; MASSINGA, JOHNSON & HARDER, 2005; KARRON, MITCHELL & BELL, 2006).

Para verificar la *auto-incompatibilidad*, los resultados de las polinizaciones experimentales, se evalúan según tres niveles de fecundación: gineceo joven (E8) fecundado con tubos polínicos o *fruto potencial-1*, fruto verde (E10) o *fruto potencial-2* y frutos maduros (E12) con semillas o *fruto real* (Fig. 2.7). Los datos y resultados de los distintos niveles de fecundación observados se expresan en tablas según los *ratios* Fruto/Flor y Semilla/Óvulo de los frutos maduros.

3.2.2.1. Nivel de tubos polínicos en gineceos fecundados

Si el nivel de *interrupción* de los *tubos polínicos* tiene lugar en el *estigma* los cruces se califican de auto-incompatibles o si por el contrario, lo sobrepasan se califican de compatibles toda vez que en este *Sistema de Auto-incompatibilidad Esporofítico Homomórfico* (SSI) típico de la familia, la reacción de auto-incompatibilidad o interrupción de los tubos polínicos tiene lugar en el estigma.

La presencia de *tubos polínicos* a lo largo del gineceo (en el estilo u ovario) de las flores marchitas a veces ya sin verticilos (E8) en las distintas poblaciones de *Parolinia* (Fig.2.7a), se consideran como *frutos potenciales-1* (FRp1). Se ha considerado conveniente y práctico realizar este procedimiento ya que el fruto de *Parolinia* tarda unos 6 meses en madurar (Capítulo I: Apartado 4.3 de Resultados). En los tratamientos de auto-polinización del año 2003 sólo se realiza este procedimiento para comprobar la auto-polinización (Test 5).

3.2.2.2. Nivel de frutos verdes

Los gineceos fecundados (E10) o frutos verdes (Fig.2.7b) se consideran como *frutos potenciales-2* (FRp2) y son útiles para evaluar la formación temprana de frutos, así como la presencia de abortos (MEDAN, 1991 y 1993; RODRIGUEZ-RIAÑO, ORTEGA-OLIVENCIA & DEVESA, 1999).

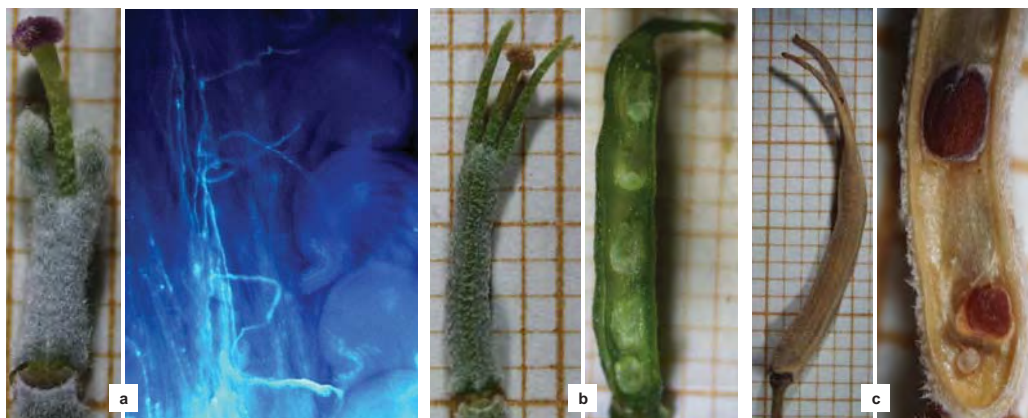


Figura 2.7.- Niveles de fecundación observados. *Fruto potencial-1* o gineceo E8 con *tubos polínicos* (a), frutos verdes o gineceo E10 como *fruto potencial-2* (b), fruto maduro E12 (c) con semilla viable (superior) y semilla vana (inferior).

3.2.2.3. Nivel de frutos maduros

Los *frutos maduros* con semillas desarrolladas (E12) se han considerado como *frutos reales* (FRR). La semilla se considera desarrollada cuando a simple vista es evidente la presencia de embrión junto con una serie de características morfológicas (talla y color) consideradas como normales para la especie, a diferencia de la semilla considerada como *vana* (Fig.2.7c). No se consideró en el análisis de datos los frutos sin semillas ni las semillas vanas.

3.2.3. Resultados de los cruces y recogida de material

Los datos obtenidos referentes al número de gineceos con tubos polínicos y número de frutos formados se expresan en las Tablas de resultados correspondientes junto con los *ratios* Fruto/Flor y Semilla/Óvulo.

3.2.3.1. Recogida de flores marchitas polinizadas y detección de tubos polínicos

Se recogen algunas flores y/o gineceos E8 de las inflorescencias control y de las sometidas a los tratamientos 4 y 5 de polinización para evaluar la germinación del polen por la detección de *tubos polínicos* con tinción fluorescente (Fig.2.7a). Los gineceos E8 retirados se fijan en FAA y se almacenan en alcohol 70°. Para la tinción de los tubos polínicos se utilizó el protocolo de Martin en DAFNI (1992) con ligeras modificaciones ya detalladas en el apartado 3.2.2 de Material y Métodos del Capítulo I de Fenología floral.

El material de gineceos E8 recolectado para la detección de tubos polínicos o *fruto potencial-1* (FRp1) en los individuos analizados en cada población se reflejan en la Tablas de resultados y del Anexo 2.1.

3.2.3.2. Recogida de frutos verdes (E10)

Otra parte de las flores control y de las flores sometidas a tratamiento se dejan en la planta el tiempo suficiente para permitir la formación de los primeros estadios de *frutos* y de

semillas. Como se ha dicho anteriormente, se evalúa en primer lugar, el número de frutos verdes (E10) considerados *frutos potenciales-2* (FRp2, Fig.2.7b). El material analizado en este nivel de fecundación en cada población se refleja en la Tablas de resultados y del Anexo 2.1.

3.2.3.3. *Recogida de frutos maduros (E12)*

El resto de las flores sometidas a tratamiento y flores control se dejan en la planta el tiempo suficiente para permitir la formación de frutos maduros y valoración de frutos y semillas formadas. Los ovarios fecundados fueron mantenidos en la planta sin embolsar durante 6 meses hasta el total desarrollo del fruto, al final de este periodo se recogieron las infrutescencias con los frutos maduros (E12) o *frutos reales* (FRR) de cada tratamiento (Fig.2.7c) y se almacenaron en sobres hasta el momento de la evaluación. Los frutos sin semillas no se consideran en el cómputo de resultados. El material analizado en este nivel de fecundación en cada población se refleja en la Tablas de resultados y del Anexo 2.1.

3.2.4. Cruces experimentales: índice de auto-incompatibilidad y tasa de autogamia S

En *Parolinia* los experimentos del año 2003 calculan los niveles de auto-compatibilidad o autogamia (índice ISI y tasa de autogamia S) considerando los controles de polinización abierta o libre como polinización cruzada, no siendo así para los experimentos del año 2004 (*P.platypetala* PP) donde se realizaron también polinizaciones cruzadas (Tablas de resultados y del Anexo 2.1). En todos ellos se utilizó para el tratamiento 4 de auto-polinización polen de la misma planta.

Los resultados de todos los índices (ISI de *auto-incompatibilidad* y tasas S de *autogamia*) se expresan según datos poblacionales (globales) de frutos o semillas y según los datos por individuos (expresados en % para cada población). Se hace una *evaluación* conjunta de frutos y semillas formadas (Fr/FlxS/O) que informa de los niveles de *xenogamia* en cada población (tendencia poblacional).

3.2.4.1. *Índice ISI de auto-incompatibilidad.*

Para medir el nivel de auto-incompatibilidad, se suele emplear el índice ISI de Zapata y Arroyo que valora el número de *frutos* y *semillas* producidos en las auto-polinizaciones en relación a los producidos por polinización cruzada (ZAPATA & ARROYO, 1978; DAFNI, 1992; LUGHADHA, 1998; AIZEN, 2005; IGIC & KOHN, 2006):

$$\text{índice ISI} = \frac{\text{Nº frutos o semillas por auto-polinización}}{\text{Nº frutos o semillas por polinización cruzada}}$$

Los distintos valores de ISI reflejan distintos niveles y rangos de auto-incompatibilidad expresados en la Tabla adjunta (*Niveles de auto-incompatibilidad ISI y Tasa de Autogamia*) en la que se considera el valor límite superior de auto-incompatibilidad ≤ 0.25 de LUGHADHA (1998), en vez del 0.20 de ZAPATA & ARROYO (1978).

No obstante este índice de auto-incompatibilidad debe ser considerado con precaución ya que puede variar entre individuos de la misma población tanto como entre poblaciones o especies, aunque su verosimilitud radica en suponer distintos grados de auto-incompatibilidad según la presencia o ausencia de distintos alelos S auto-incompatibles (RICHARDS, 1986 y 1997; DAFNI, 1992).

Asimismo, en la *evaluación* conjunta poblacional de frutos y semillas se asume que para un ISI=SI la *tendencia poblacional* sería de *xenogamia obligada* (XO); para un ISI=M-SI la población se consideraría *fundamentalmente xenógama* (FX); para ISI=P-SI *xenógama facultativa* (XF); y para ISI=SC la población se consideraría como *autógama facultativa* (AF).

NIVELES DE AUTO-INCOMPATIBILIDAD Y TASA DE AUTOGAMIA (Zapata & Arroyo, 1978 modificado y Karron, 1987).			
ÍNDICE ISI DE AUTO-INCOMPATIBILIDAD (% frutos o semillas auto / % frutos o semillas xeno)		TASA DE AUTOGAMIA S DE KARRON (% frutos o semillas de auto-polinizaciones)	
Completamente Auto-Incompatible SI	0	Clase 0 Auto-Incompatible SI	0-3% $S \leq 0.03$
Mayoritariamente Auto-Incompatible M-SI	≤ 0.25	Clase 1 Ligeramente Auto-Compatibile L-SC	3-30% $0.03 < S \leq 0.30$
Parcialmente Auto-Incompatible P-SI	$> 0.25 < 1$	Clase 2 Altamente Auto-Compatibile A-SC	$>30\%$ $S > 0.30$
Auto-Compatibile SC	> 1		

3.2.4.2. Tasa de autogamia S

Tradicionalmente se ha definido como tasa de *autogamia S* de una población a la relación $S = 1 - t$, donde t se corresponde con la tasa de *alogamia* (KARRON, 1987; SCHOEN & LLOYD, 1992; BARRETT & HARDER, 1996; KEPHART, BROWN & HALL, 1999; IGIC & KOHN, 2006). Según esto el valor de la tasa S de *autogamia* se encuentra comprendido entre 0-1, asumiendo que los valores más cercanos a 1 son producto de una mayor auto-compatibilidad, pero variando según los autores.

3.2.4.2.1. Tasa S de autogamia de Karron y de auto-incompatibilidad

Considerando los criterios de KARRON (1987) se evalúa la auto-compatibilidad según la producción de frutos y/o semillas después de los experimentos de auto-polinización, teniendo en cuenta que en la polinización libre, el valor de t incluye la posibilidad de *autogamia*, a menos que todas las flores del individuo se hayan emasculado (DAFNI, 1992).

Las tasas o valores de S representan distintos *niveles* y rangos de *auto-compatibilidad* o *autogamia* según KARRON (1987) que también se encuentran reflejados en la Tabla de *Niveles de auto-incompatibilidad ISI y Tasa de Autogamia* donde se considera como situación de *autogamia* (compatibilidad) una producción de frutos o semillas $>30\%$.

En los resultados obtenidos de la *tasa S de autogamia* se asume la calificación de la *tendencia poblacional* ($Fr/FixS/O$) como: *xenógama obligada* (XO) a la clasificación SI (auto-incompatible); como *fundamentalmente xenógama* (FX) a la clasificación L-SC (ligeramente auto-compatibile) y como *autogamia facultativa* (AF) a la clasificación A-SC (altamente auto-compatibile).

3.2.4.2.2. Tasa S de autogamia de Charlesworth & Charlesworth.

Ante la posibilidad de cruzamientos mixtos y según la hipótesis universalmente aceptada de dominancia parcial en los cruzamientos mixtos (auto y xenogamia), algunos autores han sugerido la comparación de la producción de semillas procedentes de la polinización manual autógama frente a la producción de semillas producto de la polinización cruzada (xenógama) como una manera de estimar la tasa S de *autogamia* en las

poblaciones naturales (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987; CHARLESWORTH, 1988): $S=(P_x - P_o)/(P_x - P_s)$ donde P_x =semillas xenógamas, P_s =semillas autógamas y P_o =semillas de polinización libre o natural (control).

Según algunos autores, en los cruces experimentales, la *autogamia* (auto-polinización) se debe estimar comparando las semillas de los cruces xenógamos frente a las de polinización libre en la población natural (control), en relación a las semillas xenógamas frente a las de cruces autógamos (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987; DAFNI, 1992; JOHNSTON & SCHOEN, 1996; KEPHART, BROWN & HALL, 1999; BUIDE & GUITIÁN, 2002). Este método permite diferenciar las tasas de *xenogamia* y *autogamia* en condiciones de polinización libre o natural (cuando hay auto-compatibilidad). Para la obtención de P_s se puede usar indistintamente polen de la misma flor o planta (BUIDE & GUITIÁN, 2002). Los valores obtenidos para esta tasa S de *autogamia* pueden estar minimizados o magnificados ya que dependen de la *polinización libre* (control) de la población natural (P_o).

En este trabajo sólo se calcula esta tasa de *autogamia* para *P.platypetala* (PPG) mediante los cruces artificiales llevados a cabo durante el año 2004, utilizando polen de la misma planta en las auto-polinizaciones y de otras plantas en las polinizaciones cruzadas.

Cuando los valores obtenidos para la *evaluación poblacional conjunta* (Fr/FI x S/O) son negativos (<0) consideran el predominio de la polinización *control natural* y cuando son positivos consideran la calificación según valores: XO (<0.1), FX (0.11-0.50), XF (0.51-0.85) y AF (>0.85).

3.2.5. Medida de la pérdida de vigor por endogamia (nivel de *inbreeding depression*)

En *Parolinia* los experimentos del año 2003 calculan el coeficiente de *inbreeding depression* considerando como polinización cruzada (W_c) los controles de polinización abierta o libre (natural y JBCVC) y el tratamiento de auto-polinización (W_s) con polen de flores de la misma planta; en los experimentos de *P.platypetala* (PP) en el año 2004 donde se realizaron también polinizaciones cruzadas se calcula el coeficiente de *inbreeding depression* también referido a ésta (Tablas de resultados y Anexo 2.1). Los valores superiores a 0.50 y presumiblemente cercanos a "1" indican presencia de *inbreeding depression* en especies alógamas mientras que presumiblemente se encuentra cercano a 0.2 en especies autógamas (HUSBAND & SCHEMSKE, 1996).

Como en los índices anteriores, los resultados para el cálculo de *inbreeding depression* (δ) se expresan según los datos de frutos o semillas poblacionales (globales) y según los datos por individuos (expresados en % para cada población). Asimismo, se hace una *evaluación* conjunta final de frutos y semillas formadas (Fr/FI x S/O) que informará de los *niveles de endogamia (inbreeding depression)* en cada población (tendencia poblacional).

3.2.5.1. Cálculo de la magnitud de *inbreeding depression* (δ)

La pérdida de vigor por endogamia (*inbreeding depression*) afecta a la estructura de las poblaciones naturales e influye en la evolución de los sistemas de cruzamiento, por lo tanto se considera necesario evaluar su presencia mediante la estimación del llamado coeficiente de *inbreeding depression* " δ " (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987; BARRETT & HARDER, 1996).

Se cree conveniente el cálculo de los distintos niveles de *inbreeding depression* (δ) dependiendo de los índices de alogamia obtenidos para cada población. Se asume que las poblaciones naturales de las especies perennes o leñosas (como *Parolinia*), tienden a

mantener en equilibrio su sistema de cruzamiento a lo largo de las generaciones (RITLAND, 1990; BARRETT & KOHN, 1991; BARRETT & HARDER, 1996; KEPHART, BROWN & HALL, 1999; HUSBAND & SCHEMSKE, 1996; BUIDE & GUITIÁN, 2002). Según CHARLESWORTH & CHARLESWORTH (1987) el cálculo del coeficiente δ se puede determinar según la relación entre la producción de frutos o semillas de flores auto-polinizadas (W_s) y la producción de semillas de flores con polinización cruzada (W_c): $\delta = 1 - (W_s/W_c)$, aunque su valoración pudiera estar sobredimensionada si se calcula en poblaciones cultivadas.

En el siguiente capítulo de isoenzimas se calcula el coeficiente de *inbreeding depression* a partir del coeficiente F de *autogamia* para su posterior confrontación (RITLAND, 1990; WEIR, 1990; BARRETT & CHARLESWORTH, 1991; ECKERT & BARRETT, 1994; BARRETT & HARDER, 1996): $\delta = 1 - [2(1-s)F] / s(1-F)$.

3.3. EFICACIA REPRODUCTIVA DE LAS POBLACIONES NATURALES

Se asume como *Eficacia reproductiva* de una población natural al *Éxito Reproductivo Global* que incluye en primer lugar el *Éxito Reproductivo Relativo* (ERR) de Staton & Preston (DAFNI, 1992). Esta expresión se refiere a la relación entre el *esfuerzo reproductivo* (número de flores de una inflorescencia y número de óvulos por flor) y el *éxito reproductivo femenino* (número de frutos por infrutescencia y número de semillas por fruto).

Otros autores contemplan el *éxito reproductivo* en dos fases y hacen equivalente el ERR con el *Éxito Reproductivo Pre-emergente*: PERS (WIENS *et al.*, 1987; MEDAN, 1993; D'AMBROGIO & MEDAN, 1993; GIBBS, 1997; MEDAN & D'AMBROGIO, 1998; LUGHADHA, 1998):

1ª. *Éxito Reproductivo Pre-emergente* (PERS) determinado por el número de frutos producidos y semillas viables (WIENS *et al.*, 1987), está representado por el producto de los *ratios* Fr/FI y S/O (PERS= ERR). Se puede complementar de forma adicional la evaluación de las semillas según su peso o masa.

$$\text{ERR} = \frac{\text{Frutos}}{\text{Flores}} \times \frac{\text{Semillas}}{\text{Óvulos}} = \text{PERS}$$

2ª. *Éxito Reproductivo Post-emergente* (PoERS) determinado por el porcentaje de progenie que sobrevive y se reproduce. Puede representar distintas fases o estadios del ciclo vital, desde la producción de semillas, germinación, supervivencia de plántulas, supervivencia de individuos juveniles, hasta la nueva fase reproductiva que comienza con la floración de la progenie (WIENS *et al.*, 1987). Se puede estimar con efecto acumulativo, representando el producto final de los resultados del éxito de las distintas fases del ciclo vital de la progenie que se han evaluado.

En este trabajo se calcula teniendo en cuenta las dos primeras fases del ciclo vital en la *progenie* obtenida: i) *porcentaje de germinación de semillas* (PoERS1), ii) *porcentaje de supervivencia de plántulas* (PoERS2) y iii) con efecto acumulativo: el producto de ambas (PoERS= PoERS1 x PoERS2).

3ª. Por último el cálculo del *Éxito Reproductivo Global* (ORS) que se asume como *eficacia reproductiva de una población natural*. Se establece como el producto entre el PERS (número de frutos producidos y semillas viables) y el PoERS (porcentaje de progenie que sobrevive), teniendo en cuenta el efecto acumulativo expresando las distintas fases

evaluadas (MEDAN, 1993) del ciclo vital (PoERS1 y PoERS2) de manera que: $ORS = PERS \times PoERS$.

3.3.1. Infrutescencia, frutos y semillas. Pre-selección, muestreos y almacenamiento.

En cada población natural, los muestreos se llevaron a cabo a lo largo de distintos períodos de fructificación recolectando individuos marcados (siempre que fue posible, los mismos que para los anteriores muestreos) incluyendo también infrutescencias al azar de individuos no marcados.

TAXON	POB	FECHA RECOLECCIÓN	Nº INDIVIDUOS	Nº FRUTOS
PG	PGB	Octubre -1998 Junio -1999 Julio -2000	35	50
PF	PFA	Octubre -2000 Mayo -2000 Julio -2002	35	62
	PFS	Julio - 2003	35	50
	PFT	Junio -1999 Junio -2000	35	50
POA	POA	Junio -2000 Julio -2002	35	65
POVE	POVE	Julio - 2003	35	65
PO	POS	Julio -1998 Mayo -1999 Junio -2000 Junio -2002	35	50
	POV	Mayo -2000	35	50
	POM	Junio -1999 Julio -2000	35	50
PFCH	PFCH	Julio -2003 Septiembre -2004	35	79
PP	PPG	Septiembre -1998 Octubre -1998 Julio -2000	35	65
PI	PIT	Junio -1999	35	50
	PIG	Septiembre -2003	35	50
	PIA	Mayo -1997	35	50
PS	PSA	Junio -1999	35	50
PA	PAC	Julio -1999	35	50

Tabla 2.2.- Muestreo de Eficacia Reproductiva. Número de individuos y de frutos analizados por población y fechas de recolección del material.

Las unidades de infrutescencia o *racimos*, que a veces conforman *panículas* (Fig.2.9 a), se recolectaron en sobres de celulosa y posteriormente se almacenaron en el JBCVC a temperatura ambiente. Se eligieron 35 infrutescencias o racimos, una por individuo; representando la variabilidad de las longitudes de los racimos (Tabla 2.2, Anexo 2.2 y Fig.2.8b).

El muestreo de los *frutos* o *silicuas*, se realiza a partir de las 35 infrutescencias o individuos (886 frutos en el total de poblaciones, con un rango de 50-79 por población) representando la heterogeneidad de las valvas, mayor y menor longitud e intermedias (Tabla 2.2, Anexo 2.2 y Fig. 2.8). Asimismo en cada población natural se seleccionan

semillas al azar que se limpian manualmente y se almacenan en el Banco de Germoplasma del JBCVC, separando previamente un parte para su estudio. En todos los casos el material evaluado se corresponde con el analizado en los estudios biométricos del Capítulo IV de Morfometrías.

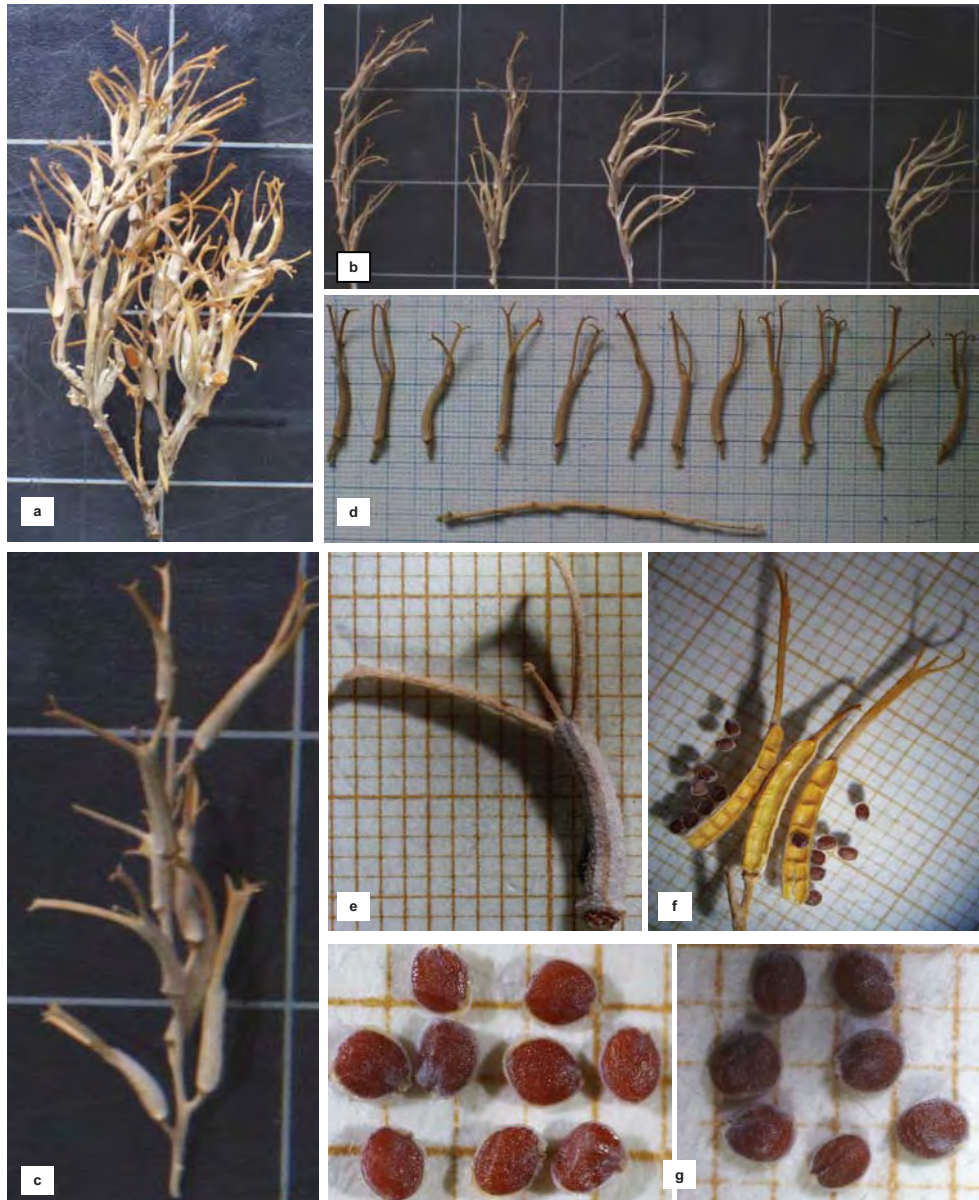


Figura 2.8.- Infrutescencias: panícula y racimo con frutos (silicuas). Panícula formada por la agrupación de varios racimos (a); racimos representando la heterogeneidad de sus tallas (b); racimo o unidad de infrutescencia (c); conjunto de frutos de un racimo ordenados según su posición en el mismo junto a su pedúnculo (d); silicua con valva cerrada (e); silicua con valva abierta mostrando los septos y lóculos (f) y detalle de las semillas de cada valva (g).

3.3.2. Estimación del Éxito Reproductivo Pre-emergente (PERS)

El *Éxito reproductivo pre-emergente* (PERS=ERR) o relación entre el *esfuerzo* y el *éxito femenino* representado por el producto de los *ratios* Fr/FI y S/O se ha valorado con datos de cantidad (número de frutos por infrutescencia o racimo y número de semillas por silicua).

Se pueden complementar mediante las estimaciones de calidad a partir del peso de las semillas.

$$\text{PERS (ERR)} = \frac{\text{Frutos}}{\text{Flores}} \times \frac{\text{Semillas}}{\text{Óvulos}}$$

3.3.2.1. Estimación del esfuerzo y éxito reproductivo femenino: ratios Fr/FI y S/O

El *esfuerzo reproductivo* asumido como la producción de flores de un individuo o planta, se ha estimado a partir del *número de flores* por inflorescencia (racimo) y del *número de óvulos* por flor.

3.3.2.1.1. Ratio Fruto/Flor. N° de frutos y flores por infrutescencia

Esta evaluación se realiza en 16 poblaciones naturales de las 7 especies del género a partir de 35 individuos (Tabla 2.3 y Anexo 2.2).

Como se comentó anteriormente, el número total de flores por racimo se estima en la infrutescencia, mediante la suma del número de frutos o silicuas producidas y el número de *cicatrices* observadas en cada racimo, atribuibles tanto a yemas como a flores o gineceos abortados y no fecundados (Fig. 2.4 y Anexo 2.2).

3.3.2.1.2. Ratio fruto/flor. N° de frutos y flores por individuo.

La evaluación a nivel individuo se realiza en la única población de *P. glabriuscula* (PGB), especie crítica que fue objeto de un estudio demográfico dentro del marco del Atlas de la Flora Vascular Amenazada de España (AFA). El estudio de la eficacia reproductiva de esta población se realizó durante un período de cuatro años (2002-2005) a partir de individuos reproductores cuyo número osciló entre 44 y 58 según año (Tabla de resultados y Anexo 2.2).

En primer lugar se calcula el *ratio Fr/FI* por infrutescencia que se multiplicará por el n° de infrutescencias de un individuo. Debido al gran número de inflorescencias que presenta esta especie y a su distribución heterogénea por todo el individuo, resulta muy laborioso valorar el número exacto de inflorescencias por recuento directo en un individuo o planta, razón por la que en este estudio se realiza un cálculo aproximado, estimado a partir del *número de ramas* de cada individuo adulto.

El *número de ramas* (NR) se calcula evaluando el número de bifurcaciones (NB) de un individuo desde la base hasta el ápice siguiendo una sola rama primaria (Fig. 2.9). Suponiendo que en cada nudo las ramas sólo se dividen en dos, el número de ramas total se estima como: $\text{NR} = 2^{\text{NB}}$ admitiendo incluso que este cálculo puede subestimar el número de ramas por individuo ya que muchas se dividen en tres o más, aunque al mismo tiempo puede quedar compensado por la pérdida de ramas que no prosperan. Dado que no todas las ramas florecen en el mismo período o año, y que generalmente sólo florece la mitad del

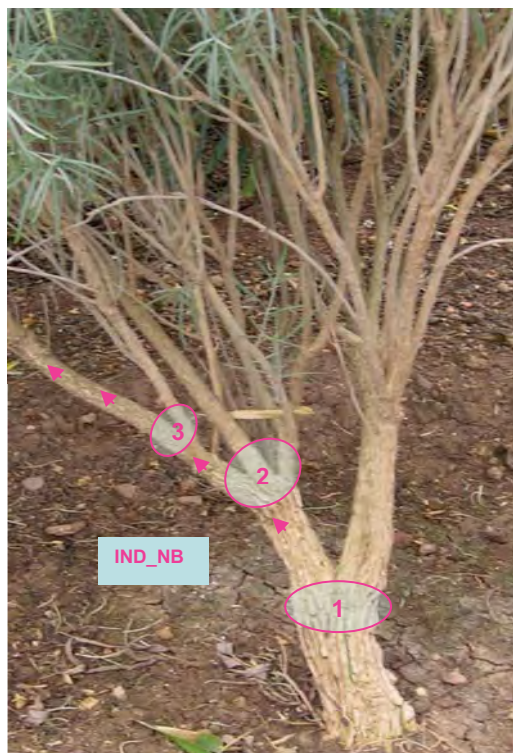


Figura 2.9.- Estimación del número de ramas por individuo en *P.glabriuscula*. N° de ramificaciones (bifurcaciones) desde la base hasta el ápice de individuo siguiendo una rama primaria (IND_NB).

individuo, el número de ramas contabilizado (2^{NB}) se multiplica por un factor de corrección de 0.50.

El número de flores por inflorescencia y frutos por infrutescencia se lleva a cabo en 30 infrutescencias por individuo y año. Para estimar el número de flores y frutos por individuo se multiplican las medias de las 30 infrutescencias por el número de inflorescencias del individuo.

3.3.2.1.3. *Ratio Semilla/Óvulo. Número de óvulos por flor*

El recuento del número de óvulos por flor y semillas por silicua se realizó en un número de frutos que osciló entre 50 y 79 silicuas según poblaciones (Tabla 2.3 y Anexo 2.2).

Asimismo, el número de óvulos se ha estimado a partir del número de lóculos contabilizados en cada valva de las silicuas maduras (Fig.2.8f y 2.10). Esta estimación se fundamenta en la clara correspondencia observada entre el número de lóculos y el número de óvulos (Fig.2.10), confirmada mediante el recuento directo del número de óvulos realizado en la estimación del *ratio* Polen/Óvulo.

La proporción de óvulos que forman semilla (*ratio* S/O) se evalúa mediante el recuento del número de semillas por silicua en relación al número de lóculos (óvulos) en cada valva para lo cual se separan previamente, se realiza el conteo y se procede a la toma de imágenes testigo (Figs.2.8 f, g y 2.10).

- En PGB se calcula el número medio de semillas por fruto como la media de un muestreo de 60 frutos de la población por año, siguiendo las pautas establecidas por el AFA. El número de óvulos por individuo, se estima partiendo del número medio por individuo y por año.

3.3.2.1.4. *Valoración del éxito reproductivo (semillas) según longitud de valvas*

En cada población las silicuas se clasifican en tres clases según la longitud de las valvas (V1, V2 y V3) y se calculan los parámetros descriptivos (media, error estándar y rangos) de tres tallas de valva, número de óvulos, número de semillas y *ratio* Semilla/Óvulo según valvas (Anexo 2.2) para detectar las posibles diferencias del éxito reproductivo (formación de semillas) entre los tres tamaños de valva.

3.3.2.3. *Peso de las semillas o biomasa*

Como medida cualitativa de fecundidad, se puede calcular el peso de semillas que informa de su calidad y que se correlaciona posteriormente con el PoERS o germinación de semillas y supervivencia de plántulas (WIENS, *et al.*, 1987; DAFNI, 1992; MEDAN, 1993; GIBBS, 1997). Para calcular el peso seco y húmedo se utilizaron 100 semillas de la población natural recogidas al azar. La *semilla* se considera *desarrollada* cuando presenta características morfológicas de talla y color consideradas como normales y es evidente, a simple vista, la presencia de embrión; cuando esto no es así la semilla se considera *vana* (Figs.2.8 y 2.10).

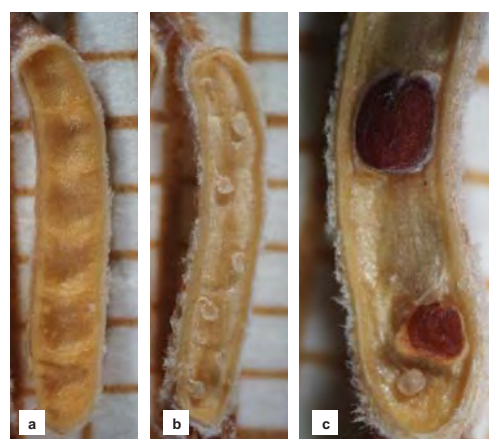


Figura 2.10.- Silicua valvas. Evaluación del número de óvulos según número de lóculos de la valva (a). Replo con semillas no desarrolladas (b). Replo con semilla desarrollada y vana (c).

Para calcular el *peso seco* se pesan en una balanza electrónica 100 semillas que se someten a un proceso de deshidratación progresivo en la estufa a 130° C durante periodos de 15 minutos, después de cada periodo de secado las semillas se pesan y se vuelven a introducir en la estufa, tantas veces como sean necesarias hasta que el peso se mantenga constante lo que indica que las semillas están completamente deshidratadas, estableciendo en este punto el *peso seco* de las mismas (Fig.2.11). El contenido de humedad de la semilla generalmente se calcula sobre una base de peso húmedo, de acuerdo a las prácticas de la Internacional Seed

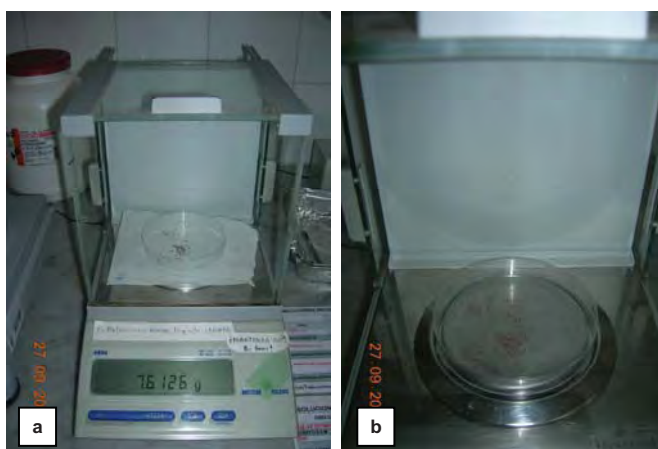


Figura 2.11.- Calidad de semillas, Peso húmedo y seco. Balanza de precisión con placa petri conteniendo 100 semillas (a, b).

Testing Association (ISTA): % *humedad de la semilla* = $(\text{peso fresco} - \text{peso seco}) \times 100 / \text{peso seco}$.

3.3.3. Éxito Reproductivo Post-emergente (PoERS)

El éxito reproductivo post-emergente se identifica con el porcentaje de semillas que *germina* y supervivencia de *plántulas* o *progenie* que sobrevive (PoERS). Se calcula por estimación de la viabilidad de las semillas a partir de las tasas de germinación y porcentaje de supervivencia de *plántulas* (WIENS, *et al.*, 1987; MEDAN, 1993).

En este trabajo se calcula el PoERS teniendo en cuenta las dos fases de progenie del ciclo vital de la población natural: (i) porcentaje de germinación de semillas (PoERS1) y (ii) porcentaje de supervivencia de plántulas (PoERS2), así como su efecto acumulativo (producto de ambos porcentajes).

Los ensayos de *germinación* se efectúan determinando la temperatura y fotoperíodo óptimos, así como los diferentes tratamientos o métodos de escarificación mecánica o química adecuados para cada taxon (MAYA, MONZON & PONCE, 1988; MAYA, 1989; MAYA & PONCE, 1989, etc.). Sus resultados se expresan gráficamente o por medio de diversos índices. Para la metodología de este apartado se han utilizado los protocolos de MAYA, MONZÓN & PONCE (1988) y Banco de Semillas del JBCVC (Proyecto BASEMAC).

3.3.3.1. Muestras y almacenamiento de material

Como se mencionó en el apartado 3.3.1, se utilizan semillas recolectadas al azar en las poblaciones naturales que se limpian manualmente y se almacenan en el Banco de Semillas del JBCVC. La recolección se realiza asegurando una buena representación de la variabilidad de la población y teniendo en cuenta que el grado de madurez así como la viabilidad potencial de los frutos sea óptima para evitar la inviabilidad de las semillas debida a un insuficiente desarrollo del embrión.

3.3.3.2. Germinación de semillas (PoERS1)

Para las distintas poblaciones, se incluyen los porcentajes de *germinación* obtenidos en los ensayos preliminares, utilizando la media aritmética como valor de PoERS1.

Los ensayos de germinación en laboratorio se llevan a cabo en una germinadora ASL G-60 bajo condiciones controladas de luz y temperatura, siendo habitual un fotoperíodo de 16 h. luz/ 8 h. oscuridad y temperatura alternante 22°C / 16°C coincidiendo respectivamente con el fotoperíodo. La fuente luminosa procede de tubos fluorescentes Philips TLD 30 W / 33.

PRUEBAS DE GERMINACIÓN					
TAXON	POB	TRATAMIENTO	SEMILLAS (11-13 días)	SEMILLAS 2 (14-28 días)	% GERMINACIÓN
<i>P. glabriuscula</i>	PGB	H ₂ O destilada	19	0	95
		Escarificación mecánica	18	2	100
		Escarificación química con H ₂ SO ₄ , 5 min	0	0	0
		Escarificación química con NO ₃ K, 5 min	14	2	80
<i>P. ornata</i>	POS	H ₂ O destilada	20	0	100
		Escarificación mecánica	17	0	85
		Escarificación química con H ₂ SO ₄ , 5 min	2	0	1
		Escarificación química con NO ₃ K, 5 min	13	0	65
<i>P. platypetala</i>	PPG	H ₂ O destilada	19	1	100
		Escarificación mecánica	20	0	100
		Escarificación química con H ₂ SO ₄ , 5 min	0	0	0
		Escarificación química con NO ₃ K, 5 min	19	1	100

Se realizan diferentes tratamientos (IBGRP, 1985 a, b; ISTA, 1985) para evaluar la capacidad germinativa de un lote de semillas utilizando como prueba tipo la germinación en agua (H₂O_d) y comparándola con diferentes métodos de escarificación: escarificación mecánica, escarificación química con H₂SO₄ y NO₃K al 2%, 5 min. Las pruebas definitivas se realizan utilizando la prueba tipo (H₂O_d) aconsejados por los resultados preliminares de germinación (Tabla *Pruebas de germinación*).

La unidad experimental estuvo constituida por 25 semillas por población colocadas de forma regular y simétrica en placas Petri (90 mm de diámetro) sobre discos de papel Whatman-42 humedecidos inicialmente con 3 ml de agua destilada, procurando mantener permanentemente una atmósfera saturada de humedad. El control de la *germinación* se realiza diariamente durante los 28 días que dura el ensayo (puede variar en función del tiempo que precisan las semillas para germinar) con el objetivo de determinar la velocidad y evolución de la germinación.

Las *curvas de germinación* se obtienen representando gráficamente el porcentaje de semillas germinadas frente al tiempo transcurrido desde la siembra. Estas curvas que generalmente adoptan una forma sigmoide son la representación gráfica más frecuente de los ensayos de germinación.

En la mayoría de las ocasiones resulta también útil expresar los resultados mediante otros índices que permiten comparar situaciones distintas de un modo simple y directo como

la capacidad germinativa y la velocidad de germinación (DURAN & PÉREZ, 1984; PITA & PÉREZ, 1989; PÉREZ, PITA & GÓMEZ CAMPOS, 1989). *Capacidad germinativa*: la capacidad germinativa de un determinado lote de semillas se refiere al porcentaje de germinación máximo que se obtiene en unas condiciones previamente definidas. Se representa en las curvas de germinación. *Velocidad de germinación*: Para expresar la velocidad de germinación se utilizan dos parámetros: el tiempo medio de germinación o T_m y el coeficiente de velocidad CV que se hallan utilizando las siguientes fórmulas: $T_m = \sum n_i \times t_i / \sum n_i$ y $C_v = \sum n_i / \sum n_i \times t_i \times 100$, donde n_i es el número de semillas germinadas durante el tiempo t_{i-1} y t_i , siendo t_i el tiempo transcurrido desde la siembra de las semillas. Por lo tanto: $T_m = 100 / C_v$ es la suma de los porcentajes obtenidos durante los n primeros días. Debe referirse a un valor de n, seleccionado de acuerdo al tiempo que precisan las semillas para germinar. *Tiempo mínimo de latencia (L)*: tiempo necesario hasta que germine la primera semilla (Proyecto BASEMAC).

3.3.3.3. Supervivencia de plántulas (PoERS 2)

Durante el año 1999 se enviaron al Vivero Central del JBCVC varios lotes de 100 semillas procedentes de las poblaciones naturales estudiadas de *Parolinia* a excepción de PFS, POVE, PFCH y PIG con el objetivo de mantener un stock cultivado en las zonas experimentales del Jardín bajo las mismas condiciones ambientales. Los semilleros en bandejas con mezcla estándar de: tierra, turba y vermiculita (2:1:1) permanecieron en vivero hasta obtener una serie de *plántulas* que habiendo llegado al tamaño adecuado (tres meses aproximadamente) se repican a macetas y se realiza el recuento del número de plántulas expresándolo en porcentajes.

3.3.4. Eficacia reproductiva global (ORS) y pérdida de vigor (*inbreeding depression*)

El cálculo de la eficacia reproductiva y la pérdida de vigor, se puede estimar con efecto acumulativo considerando distintas fases del ciclo vital de las poblaciones naturales. En este trabajo se tiene en cuenta dos fases de la *progenie* obtenida: porcentaje de germinación de semillas y porcentaje de supervivencia de plántulas, así como su efecto acumulativo según el producto de ambos porcentajes.

3.3.4.1. Éxito Reproductivo Global (ORS) o Eficacia Reproductiva

El cálculo del *Éxito Reproductivo Global (Overall Reproductive Success: ORS)* se establece como el producto del *Éxito Reproductivo Pre-emergente (PERS)* y *Éxito Reproductivo Post-emergente (PoERS)* o porcentaje de progenie que sobrevive (MEDAN, 1993).

$$ORS = PERS \times PoERS1 \times PoERS2 = \frac{\text{Frutos}}{\text{Flores}} \times \frac{\text{Semillas}}{\text{Óvulos}} \times \% \text{ germin} \times \% \text{ superv plántulas}$$

En este trabajo se calcula teniendo en cuenta la progenie obtenida PoERS (PoERS1x PoERS2) o producto de los porcentajes de *germinación* de semillas (PoERS1) y de establecimiento o supervivencia de plántulas (PoERS2) de las poblaciones.

3.3.4.2. Éxito reproductivo y pérdida de vigor por endogamia (*inbreeding depression*)

Se calcula la pérdida de vigor de la población o *inbreeding depression* (δ) según la expresión de CHARLESWORTH & CHARLESWORTH (1987). En *Parolinia* el cálculo de *inbreeding depression* se lleva a cabo en cada población natural para varias fases del ciclo vital: i) según la producción de semillas ($\delta_1 = 1 - \text{ratio S/O}$), ii) según germinación de semillas

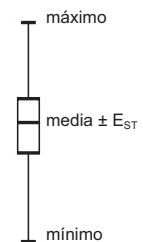
($\delta_2=1-\%$ de germinación), iii) según supervivencia de plántulas ($\delta_3=1-\%$ supervivencia) y (iv) % plántulas que llegan a individuos adultos y florecen.

Como recomiendan algunos autores se considera la presencia de *inbreeding depression* de las fases del ciclo vital de forma acumulativa (JOHNSTON & SCHOEN, 1996; HUSBAND & SCHMESKE, 1996 y KEPHART, BROWN & HALL, 1999): v) acumulativo de producción y germinación de semillas: $\delta_{1,2}=1-(ratio\ S/O \times \%germinación)$ y vi) acumulativo de producción, germinación de semillas y %supervivencia de plántulas: $\delta=1-(ratioS/O \times \%germinación \times \%supervivencia)$.

3.4. ANÁLISIS DE DATOS

A cada grupo de variables se le calcula como parámetros característicos *descriptivos* la *media aritmética* como valor central y el *intervalo de confianza* al 95% [error estándar (E_{ST}) o la desviación típica].

Los descriptivos de los caracteres considerados más importantes se han representado gráficamente mediante *diagramas de cajas* o test gráfico de Simpson & Roe (VAN DER PLUYN & HIDEUX, 1977) donde la línea vertical representa los rangos de la variable observados, el trazo horizontal la media y el rectángulo, la amplitud o los límites del *intervalo de confianza* o *error estándar* (valores positivo y negativo). A menor superposición de los rectángulos, las diferencias entre las medias serán más significativas y viceversa. Los estadísticos descriptivos fueron calculados con el programa XLSTAT 7.0 (ADINSOFT, 2003) y los diagramas de cajas fueron elaborados en el STATISTICA (STATSOFT, 1996).



Asimismo se ha testado el ajuste de las distintas variables a una distribución normal de frecuencias con el test *no paramétrico* de Kolmogorov-Smirnov (K-S) y para detectar las diferencias significativas entre las medias de los respectivos grupos, se realiza un ANOVA (paramétrico) y no paramétrico (Kruskal-Wallis).

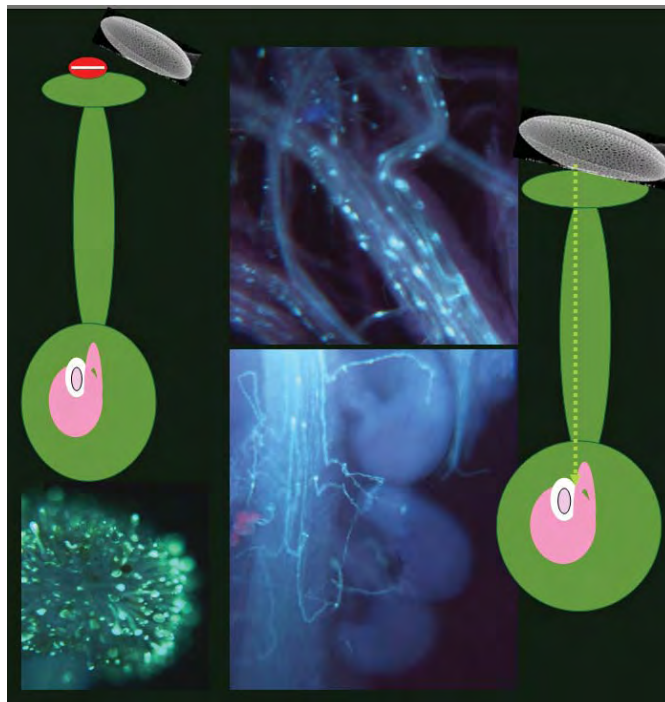
Para realizar las correlaciones correspondientes siguen las directrices de DAFNI (1992), BARRETT, HARDER & WORLEY (1997) y CRUDEN (1977 y 2000) se confecciona una matriz conjunta con todos los datos de sistemas de cruzamiento y eficacia reproductiva.

Se ha realizado un análisis de correlación (coeficiente de Spearman) con las variables implicadas en los sistemas de cruzamiento, caracteres biométricos y con otras variables relacionadas con el *vigor* de los individuos consideradas de algún modo importantes para los *sistemas de cruzamiento* y *éxito reproductivo*. Este análisis de correlación se lleva a cabo entre los niveles de *alogamia* según recursos del androceo y gineceo (*ratios P/O*) y algunas biometrías florales. Se incluyen asimismo los datos de la evaluación directa de los *sistemas de cruzamiento* (experimentos de polinización), de la *eficacia reproductiva* de las poblaciones naturales y talla poblacional. Posteriormente se correlacionan con la tasa de *alogamia t* y otros parámetros genéticos obtenidos a partir de datos moleculares de isoenzimas (Capítulo III).





CAPÍTULO II



Resultados

4. RESULTADOS

En este apartado los resultados de la evaluación de los *sistemas de cruzamiento* del género *Parolinia* se pondrán de manifiesto: 1º) según los métodos indirectos a partir de los recursos del androceo y gineceo (*ratio* Polen/Óvulo por flor e índice OCI) y 2º) según los métodos directos de detección de *auto-incompatibilidad* y *autogamia* con experimentos de polinización manual.

Asimismo se expondrán los resultados de la valoración de la *eficacia reproductiva* en las poblaciones naturales o porcentaje de flores que se transforman en *frutos maduros* con *semillas* viables.

4.1. EVALUACIÓN INDIRECTA DE LOS SISTEMAS DE CRUZAMIENTO. NIVELES DE AUTOGAMIA Y XENOGAMIA

Los resultados obtenidos de los niveles de *alogamia* según *ratio* Polen/Óvulo (P/O) aparecen reflejados en las Tabla 2.3 y diagramas de cajas (Figs.2.12a-f) donde asimismo se muestran los datos para las variables del número de granos de polen por antera y por flor, así como del número de óvulos por flor a nivel poblacional y de especie (media, error estándar y rango: mínimo-máximo). Además se muestran los valores del *ratio* P/O a nivel global poblacional y la calificación y niveles de *alogamia* obtenidos para *Parolinia* aplicando los criterios de CRUDEN (1977) y PRESTON (1986).

Asimismo, en las Tabla 2.4 se muestran los datos de las biometrías de las anteras indehiscentes (largo y ancho, en mm), de la talla polínica (Eje P: longitud máxima y Eje E: longitud mínima, en μm) y longitud del ovario (en mm) y los datos del androceo se representan en diagramas de cajas (Figs.2.12g-j).

4.1.1. Niveles de alogamia según recursos del androceo y gineceo

4.1.1.1. *Ratio* Polen/Óvulo

Todas las poblaciones presentan un *ratio* P/O que se enmarca según CRUDEN (1977) en la categoría de *xenógamas obligadas* y según PRESTON (1986) en *alógamas* (AL) excepto PSA (3154) que apenas alcanza el rango (AL>3500).

A nivel poblacional el menor *ratio* P/O lo presenta PSA (3154) y el máximo PFCH con 5960 (Tabla 2.3 y Fig.2.12a). PSA muestra también el menor *nº de granos de polen* (21620) y de *óvulos* por flor (7) frente a POS con el mayor nº de pólenes (84942) y de óvulos (15.3).

En una misma especie se observan diferencias en el *ratio* P/O de las poblaciones (Tabla 2.3). En PF con *ratios* entre 4557 (PFS) y 5656 (PFT) se incluyen los rangos de PO que oscila entre 4973 (POV) y 5526 (POS). Los *ratios* P/O de PI se encuentran entre 4110 (PIA) más cerca de PP (4079) y 5171 (PIT) más próxima a POM (5305).

Con *ratios* P/O mínimos en orden ascendente se encuentran PSA (3154) de La Gomera, PGB (3700) de Gran Canaria, PAC (3768) de La Palma y PPG (4079) también de Gran Canaria, especies constituidas por una sola población (Fig.2.12a).

En las poblaciones sin adscripción taxonómica, PFCH con el *ratio* P/O máximo (5960) se acerca a PFT (5656), POA (4774) entre PFS (4557) y PFA (4904), y por último POVE (4113) cerca de PIA (4109) y PPG (4079) también está incluida en ellas.

NIVELES DE ALOGAMIA SEGÚN RATIOS POLEN/ÓVULO EN PAROLINIA										
Pobl/Taxon	NºInd	NºGrs/AntL	NºGrs/AntM	NºGrs/FI	NºOvus/FI	ratio P/O	NºGrs global	NºÓvus global	ratio P/O global	Clasificación Cruden / Preston
PGB	6	7096 ± 530 (5644 - 9076)	6898 ± 756 (4667 - 9123)	41781 ± 3494 (29756 - 53176)	11.50 ± 0.43 (10 - 13)	3700 ± 419 (2480 - 4954)	250688	69	3633	XO / AL
PFS	4	9400 ± 1532 (6400 - 12518)	9336 ± 1399 (6531 - 12782)	56143 ± 8601 (38924 - 76164)	12.25 ± 0.25 (12 - 13)	4557 ± 627 (3244 - 5859)	224572	49	4583	XO / AL
PFA	4	11020 ± 563 (9552 - 12182)	9738 ± 539 (8472 - 10973)	60990 ± 2921 (5540 - 66928)	12.50 ± 0.65 (11 - 14)	4904 ± 267 (4341 - 5577)	243960	50	4879	XO / AL
PFT	4	10861 ± 966 (9482 - 13714)	10056 ± 981 (8553 - 12920)	61945 ± 5830 (53176 - 79108)	11.00 ± 0.41 (10 - 12)	5656 ± 570 (4749 - 7192)	247780	44	5631	XO / AL
PF	12	10427 ± 612 (6400 - 13714)	9709 ± 548 (6531 - 12920)	59692 ± 3343 (38924 - 79108)	11.92 ± 0.31 (10 - 14)	5038 ± 302 (3244 - 7791)	716732	143	5009	XO / AL
POA	4	7470 ± 1009 (4478 - 8860)	8583 ± 634 (7030 - 9740)	49270 ± 4357 (37076 - 56680)	10.50 ± 0.65 (9 - 12)	4774 ± 604 (3371 - 6298)	197080	42	4692	XO / AL
POVE	3	7683 ± 442 (7042 - 8530)	9564 ± 1128 (7978 - 11746)	53621 ± 4115 (46864 - 61068)	13.00 ± 0.58 (12 - 14)	4113 ± 133 (3905 - 4362)	160864	39	4125	XO / AL
POS	6	14700 ± 1678 (10980 - 20426)	13886 ± 1306 (10750 - 19456)	84942 ± 8413 (64960 - 118676)	15.33 ± 0.33 (14 - 16)	5526 ± 500 (4331 - 7417)	509652	92	5540	XO / AL
POV	4	12060 ± 1854 (7160 - 16140)	12461 ± 1037 (10071 - 15071)	73965 ± 1091 (71936 - 76756)	15.25 ± 1.38 (12 - 18)	4973 ± 455 (4145 - 5995)	295860	61	4850	XO / AL
POM	4	12773 ± 1091 (10288 - 14984)	12035 ± 1285 (8679 - 14611)	73684 ± 7286 (55292 - 88412)	14.25 ± 0.85 (12 - 16)	5306 ± 821 (3686 - 7368)	294736	57	5171	XO / AL
PO	14	13395 ± 934 (7160 - 20426)	12950 ± 717 (8679 - 19456)	78589 ± 4192 (55292 - 118676)	15.00 ± 0.46 (12 - 18)	5282 ± 300 (3686 - 7417)	1100248	210	5239	XO / AL
PFCH	3	12070 ± 1280 (9610 - 13916)	12215 ± 212 (11862 - 12594)	72999 ± 1734 (69596 - 75280)	12.33 ± 0.88 (11 - 14)	5960 ± 295 (5377 - 6327)	218996	37	5919	XO / AL
PPG	6	9081 ± 1383 (5686 - 15308)	9911 ± 1538 (7040 - 17359)	57807 ± 8625 (45640 - 100052)	14.17 ± 0.60 (12 - 16)	4079 ± 549 (2881 - 6670)	346840	85	4080	XO / AL
PIT	3	8015 ± 249 (7564 - 8422)	7548 ± 198 (7272 - 7932)	46221 ± 512 (45208 - 46856)	9.00 ± 0.58 (8 - 10)	5171 ± 279 (4686 - 5651)	138664	27	5136	XO / AL
PIG	3	8411 ± 1200 (6094 - 10114)	8369 ± 1411 (5799 - 10663)	50297 ± 8023 (35384 - 62880)	11.00 ± 0.58 (10 - 12)	4521 ± 509 (3538 - 5240)	150892	33	4572	XO / AL
PIA	3	8749 ± 1106 (6584 - 10224)	8971 ± 1091 (6951 - 10694)	53380 ± 6550 (40972 - 63224)	13.00 ± 0.58 (12 - 14)	4110 ± 481 (3152 - 4662)	160140	39	4106	XO / AL
PI	9	8392 ± 489 (6094 - 10224)	8296 ± 558 (5799 - 10694)	49966 ± 3168 (35384 - 63224)	11.00 ± 0.65 (8 - 14)	4601 ± 267 (3152 - 5655)	449696	99	4542	XO / AL
PSA	3	4075 ± 785 (2680 - 5398)	3367 ± 157 (3143 - 3669)	21620 ± 1192 (20036-23956)	7.00 ± 0.58 (6 - 8)	3154 ± 425 (2609 - 3993)	64860	21	3089	XO / AL
PAC	3	5474 ± 872 (4106 - 7094)	4758 ± 222 (4316 - 5015)	29979 ± 1036 (27980 - 31452)	8.00 ± 0.58 (7 - 9)	3768 ± 147 (3495 - 3997)	89936	24	3747	XO / AL
Kruskal-Wallis POB		$p = 0.0001$	$p = 0.0001$	$p = 0.0001$	$p < 0.0001$	$p = 0.030$	—	—	—	—
Kruskal-Wallis TAXON		$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	$p = 0.006$	—	—	—	—

Tabla 2.3.- Niveles de alogamia según ratios P/O. Pob= población, Nº Ind= número de individuos analizados, Nº Grs= número de granos de polen, AntL= antera lateral o corta, AntM= antera media o larga, FI= flor, Nº Ovus = número óvulos. Ratio P/O= ratio Polen/Óvulo de Cruden (1977); XO= xenogamia obligada y de Preston (1986); AL = Alogamia. Kruskal-Wallis: p = probabilidad según la hipótesis nula ($p < 0.05$).

A nivel taxon (Tabla 2.3, Figs.2.12b, d, f) PS sigue con los mínimos *ratio* P/O (3154), nº de granos (21620) y óvulos por flor (7), frente a los máximos del *ratio* P/O y nº de pólenes en PFCH (5960 y 72999) y PO (5305 y 78589) y en el nº de óvulos de PO (15) y PP (14.2).

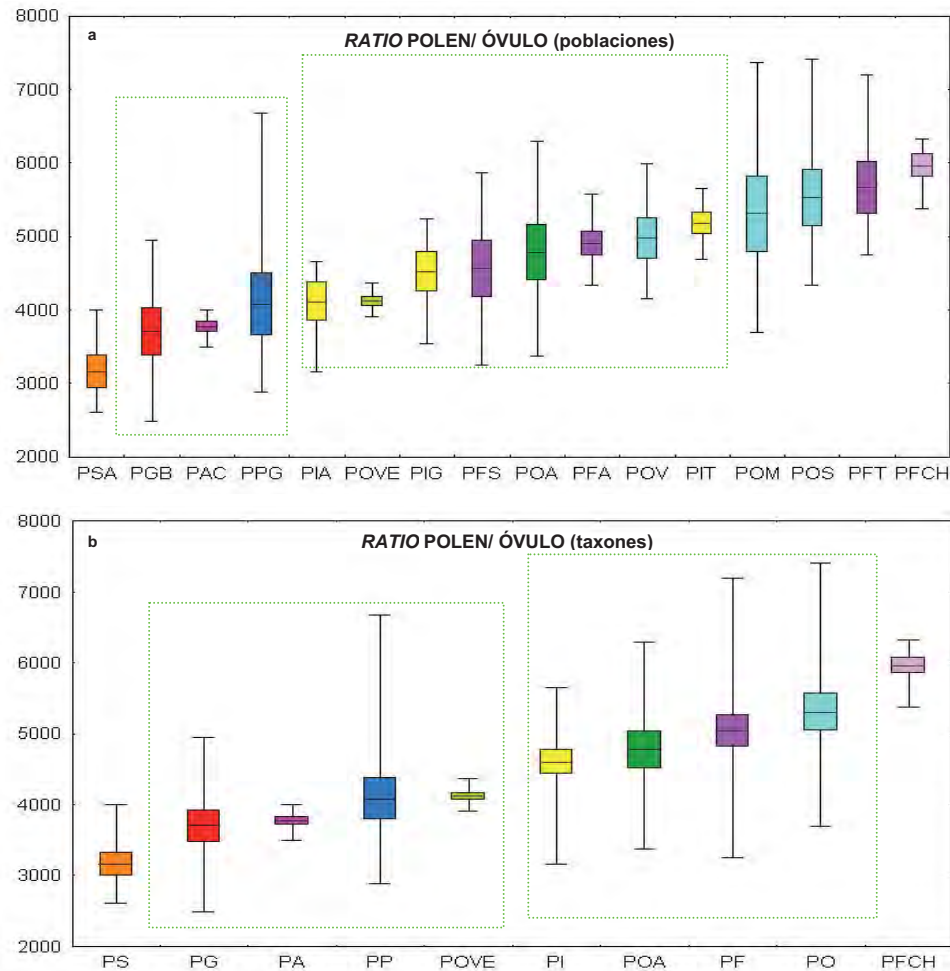


Figura 2.12.- Niveles de alogamia según *ratios* Polen/Óvulo. En las poblaciones (a) aunque con valores correlativos, el *ratio* P/O diferencia mínimos (PSA) y máximos (PFT-PFCH) con intermedios que diferencian al conjunto PGB-PAC-PPG del resto. En los taxones (b) aunque se sigue diferenciando PS con el mínimo y PFCH con el máximo, hay que destacar que *P. filifolia* incluye los rangos de *P. ornata* que muestra una media superior.

Los resultados de Kruskal-Wallis muestran diferencias significativas entre poblaciones y taxones (Tabla 2.3 y Anexo 2.1).

El *ratio* P/O (Figs.2.12a, b) aunque correlativos, en las poblaciones tiende a diferenciar los mínimos (PSA) y los máximos (PFT-PFCH) de las intermedias donde a su vez se tiende a diferenciar el grupo PGB-PAC-PPG. En los taxones sigue diferenciándose PS con el mínimo y PFCH con el máximo. Hay que destacar que PF (PFS, PFA, PFT) incluye los rangos de PO (POS, POV y POM) aunque con una media superior.

Tanto a nivel poblacional como de taxon en el nº de pólenes por flor (Figs.2.12c, d) también refleja mínimos en PS-PA y máximos en PO. En los taxones intermedios se puede diferenciar el grupo PG-POA-PI-POVE del grupo PP-PF-PFCH que da paso a los máximos de PO.

BIOMETRIAS DEL ANDROCEO Y GINECEO DE LAS FLORES DEL RATIO P/O										
Pob	ANTERAS INDEHISCENTES						POLEN			OVARIO
	ANTERAS LATERALES			ANTERAS MEDIAS			N	Eje P	Eje E	Ova_L
	N	AntL_L	AntL_A	N	AntM_L	AntM_A				
PGB	12	1.96 ± 0.09 (1.34 - 2.23)	0.67 ± 0.07 (0.36 - 0.98)	24	1.92 ± 0.06 (1.32 - 2.41)	0.64 ± 0.04 (0.35 - 1.05)	18000	22.87 ± 0.88 (19.74 - 25.99)	19.76 ± 1.10 (15.64 - 23.31)	1.73 ± 0.15 (1.31 - 2.22)
PFS	8	2.00 ± 0.10 (1.68 - 2.36)	0.76 ± 0.08 (0.58 - 1.14)	16	2.03 ± 0.06 (1.80 - 2.45)	0.72 ± 0.05 (0.54 - 1.10)	12000	25.50 ± 0.76 (24.28 - 27.70)	22.65 ± 0.81 (21.36 - 25.03)	1.47 ± 0.16 (1.10 - 1.80)
PFA	8	2.07 ± 0.07 (1.85 - 2.39)	0.68 ± 0.02 (0.58 - 0.75)	16	2.01 ± 0.04 (1.79 - 2.31)	0.71 ± 0.01 (0.66 - 0.76)	12000	28.01 ± 0.85 (25.75 - 29.75)	25.12 ± 0.85 (22.88 - 26.83)	1.79 ± 0.20 (1.33 - 2.25)
PFT	8	2.28 ± 0.06 (2.13 - 2.58)	0.74 ± 0.04 (0.57 - 0.89)	16	2.27 ± 0.04 (2.03 - 2.54)	0.78 ± 0.03 (0.60 - 0.93)	12000	28.77 ± 0.47 (27.80 - 29.76)	25.12 ± 0.57 (24.00 - 26.70)	1.34 ± 0.17 (1.00 - 1.67)
PF	24	2.12 ± 0.05 (1.68 - 2.58)	0.72 ± 0.03 (0.57 - 1.14)		2.10 ± 0.03 (1.79 - 2.54)	0.73 ± 0.02 (0.54 - 1.10)	36000	27.43 ± 0.56 (24.28 - 29.76)	24.30 ± 0.53 (21.36 - 26.83)	1.53 ± 0.11 (1.00 - 2.25)
POA	8	2.08 ± 0.07 (1.79 - 2.31)	0.72 ± 0.03 (0.64 - 0.94)	16	2.00 ± 0.05 (1.70 - 2.38)	0.69 ± 0.03 (0.50 - 0.97)	12000	25.67 ± 0.04 (25.61 - 25.77)	22.71 ± 0.09 (22.50 - 22.91)	1.88 ± 0.23 (1.29 - 2.38)
POVE	6	1.72 ± 0.08 (1.50 - 2.05)	0.59 ± 0.02 (0.51 - 0.64)	12	1.79 ± 0.08 (1.54 - 2.21)	0.60 ± 0.02 (0.53 - 0.71)	9000	24.18 ± 1.69 (22.42 - 27.56)	21.03 ± 1.66 (19.04 - 24.31)	1.42 ± 0.31 (0.92 - 1.99)
POS	12	2.68 ± 0.11 (2.22 - 3.26)	0.71 ± 0.04 (0.49 - 1.02)	24	2.54 ± 0.10 (1.91 - 3.42)	0.66 ± 0.03 (0.40 - 0.97)	18000	24.88 ± 1.05 (21.45 - 27.82)	21.72 ± 1.11 (18.35 - 24.78)	1.68 ± 0.04 (1.59 - 1.83)
POV	8	2.53 ± 0.10 (2.10 - 2.97)	0.76 ± 0.07 (0.47 - 1.07)	16	2.66 ± 0.08 (2.28 - 3.32)	0.79 ± 0.04 (0.62 - 1.07)	12000	26.32 ± 0.99 (23.73 - 27.96)	23.46 ± 1.03 (20.83 - 25.18)	1.80 ± 0.14 (1.52 - 2.13)
POM	8	2.78 ± 0.05 (2.51 - 2.87)	0.73 ± 0.06 (0.59 - 1.02)	16	2.89 ± 0.04 (2.54 - 3.11)	0.75 ± 0.04 (0.63 - 1.03)	12000	29.34 ± 1.16 (26.17 - 31.60)	26.03 ± 0.86 (23.55 - 27.21)	1.72 ± 0.20 (1.36 - 2.13)
PO	28	2.67 ± 0.06 (2.10 - 3.26)	0.73 ± 0.03 (0.47 - 1.07)		2.68 ± 0.05 (1.91 - 3.42)	0.72 ± 0.02 (0.40 - 1.07)	42000	26.57 ± 0.77 (21.45-31.60)	23.45 ± 0.75 (18.35-27.20)	1.73 ± 0.07 (1.36-2.13)
PFCH	6	2.17 ± 0.05 (2.05 - 2.35)	0.74 ± 0.01 (0.69 - 0.76)	12	2.21 ± 0.02 (2.13 - 2.30)	0.76 ± 0.01 (0.68 - 0.84)	9000	24.80 ± 0.92 (23.69 - 26.61)	21.66 ± 0.92 (20.51 - 23.48)	1.86 ± 0.13 (1.62 - 2.03)
PPG	12	2.46 ± 0.10 (1.99 - 3.20)	0.70 ± 0.04 (0.41 - 0.85)	24	2.43 ± 0.07 (1.91 - 3.03)	0.73 ± 0.03 (0.35 - 0.87)	18000	23.49 ± 0.4 (22.66 - 25.18)	20.55 ± 0.54 (18.30 - 22.29)	2.01 ± 0.09 (1.74 - 2.21)
PIT	6	1.28 ± 0.09 (1.08 - 1.57)	0.54 ± 0.08 (0.38 - 0.82)	12	1.28 ± 0.06 (1.00-1.56)	0.57 ± 0.04 (0.38-0.75)	9000	23.26 ± 2.01 (19.26 - 25.58)	20.24 ± 1.97 (16.31 - 22.39)	1.21 ± 0.17 (0.88 - 1.41)
PIG	6	2.08 ± 0.05 (1.93 - 2.22)	0.65 ± 0.02 (0.58 - 0.69)	12	2.00 ± 0.03 (1.88 - 2.21)	0.77 ± 0.01 (0.72 - 0.84)	9000	26.74 ± 2.63 (23.60 - 31.97)	23.38 ± 2.40 (20.48 - 28.15)	1.63 ± 0.05 (1.54 - 1.70)
PIA	6	1.95 ± 0.08 (1.71 - 2.15)	0.76 ± 0.02 (0.70 - 0.84)	12	1.91 ± 0.06 (1.61-2.11)	0.78 ± 0.01 (0.74-0.84)	9000	24.15 ± 0.42 (23.42 - 24.86)	21.40 ± 0.38 (20.70 - 21.97)	1.73 ± 0.28 (1.23 - 2.18)
PI	18	1.77 ± 0.09 (1.08 - 2.22)	0.65 ± 0.03 (0.38 - 0.84)		1.75 ± 0.06 (1.00 - 2.21)	0.71 ± 0.02 (0.38 - 0.84)	27000	24.72 ± 1.10 (19.26 - 31.97)	21.68 ± 1.01 (16.31 - 28.15)	1.52 ± 0.12 (0.88 - 2.18)
PSA	6	1.15 ± 0.07 (0.88 - 1.34)	0.65 ± 0.02 (0.57 - 0.69)	12	1.13 ± 0.03 (0.99 - 1.26)	0.65 ± 0.02 (0.56 - 0.77)	9000	26.53 ± 1.16 (24.91 - 28.78)	23.40 ± 1.25 (21.51 - 25.75)	1.04 ± 0.11 (0.84 - 1.21)
PAC	6	1.66 ± 0.07 (1.44 - 1.80)	0.72 ± 0.06 (0.55 - 0.89)	12	1.54 ± 0.05 (1.23 - 1.76)	0.72 ± 0.03 (0.60 - 0.84)	9000	26.07 ± 0.54 (25.14 - 27.01)	23.18 ± 0.6 (22.17 - 24.24)	1.29 ± 0.10 (1.12 - 1.47)
Kruskal-Wallis POB		p < 0.0001	p = 0.139		p < 0.0001	p < 0.0001		p=0.003	p=0.006	p=0.033
Kruskal-Wallis TAXON		p < 0.0001	p = 0.189		p < 0.0001	p = 0.000		p = 0.004	p = 0.010	p = 0.012

Tabla 2.4.- Biometrías del androceo y gineceo de las flores del ratio P/O. Anteras: N= número de anteras; AntL_L y AntL_A= longitud y ancho de la antera lateral o corta; AntM_L y AntM_A= longitud y ancho de la antera media o larga. Polen: N= n° pólenes correspondientes a las anteras evaluadas en cada población; Eje P= longitud máxima del polen; Eje E= longitud mínima del polen. Gineceo: Ova_L= longitud del ovario. Kruskal-Wallis: p= probabilidad según la hipótesis nula (p < 0.05).

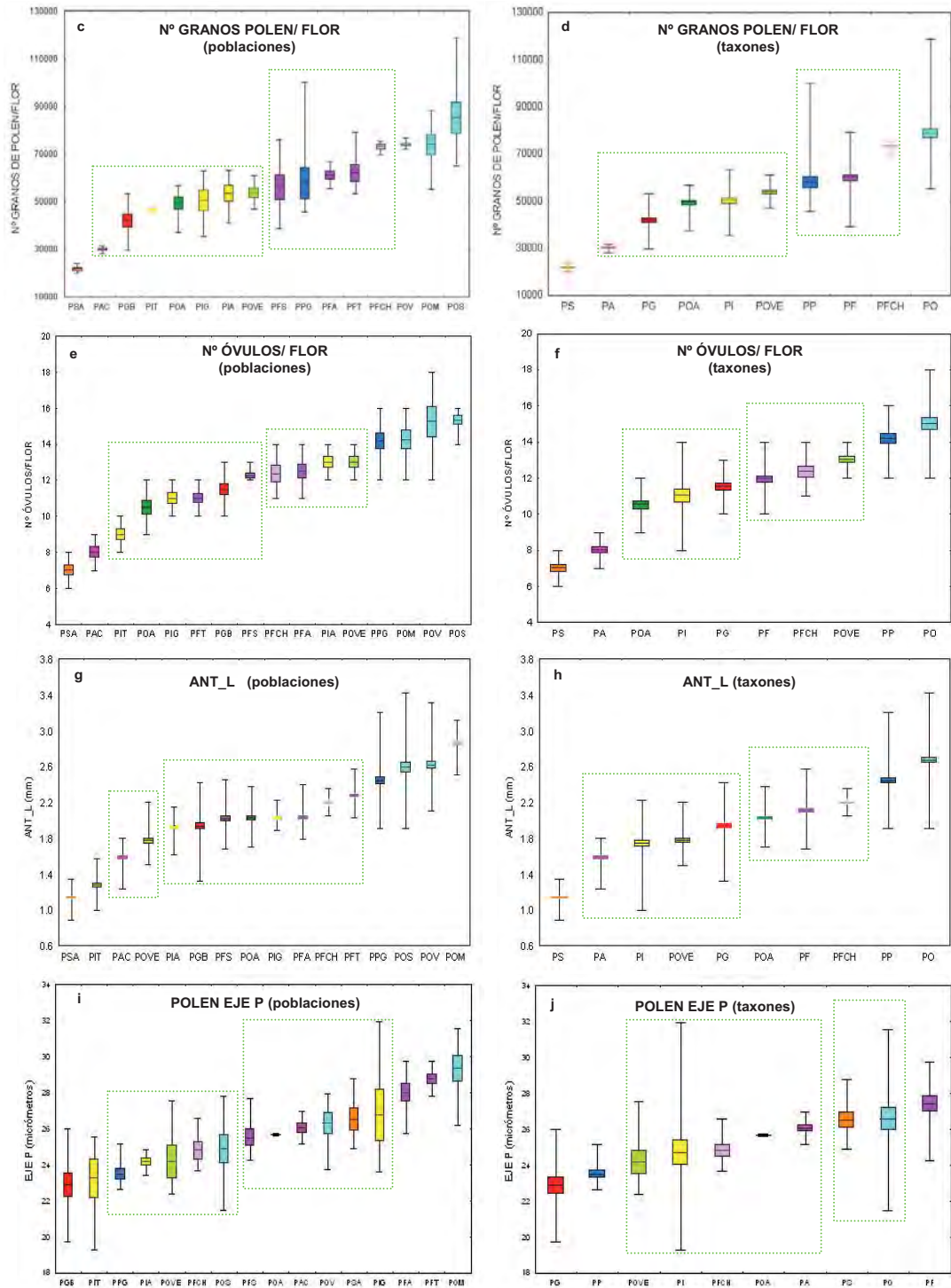


Figura 2.12.- Recursos del androceo-gineceo y biometrías del polen. El n° de pólenes por flor (c,d) tiende a diferenciar el mínimo de PS y máximo de PO (POV-POM-POS) del resto con intermedios. El n° de óvulos (e,f) también diferencia los mínimos de PS y PA y máximos de PP y PO (POM-POV-POS) de los intermedios. La longitud de la antera en las poblaciones (g) diferencia los mínimos en PS y PIT y máximos en PP y PO (POS-POV-POM), pero en los taxones PI se incluye en un grupo intermedio (h). La talla del polen (i,j) también diferencia mínimos (PG-PP) y máximos (PF) del resto con tallas intermedias.

El *nº de óvulos* (Figs.2.12e, f) también diferencia los mínimos en las poblaciones (PSA-PAC) y los máximos (PPG-PO) de las intermedias donde a su vez se diferencia el grupo PIT-POA-PIG-PFT-PGB-PFS del grupo PFCH-PFA-PIA-POVE. En los taxones se diferencia más claramente los mínimos (PS-PA) y los máximos (PP-PO) de los intermedios que diferencian a POA-PI-PG de PF-PFCH- POVE.

4.1.1.2. Biometrías del androceo y gineceo

La *longitud* de las *anteras indehiscentes* y del *ovario* muestran que tanto a nivel poblacional como de taxon, PS tiene los valores más bajos (Tabla 2.4 y Figs.2.12g,h), mientras que los más altos para las anteras se encuentran en POM y para el ovario en PP que a su vez muestran los máximos para ambos caracteres a nivel taxon. El ancho de las anteras presenta en POVE los mínimos, mientras que los máximos se observan en PIA y PFCH.

Los resultados del Kruskal-Wallis muestran diferencias significativas entre poblaciones y taxones (Tabla 2.4 y Anexo 2.1). En las poblaciones según las anteras indehiscentes se diferencian los siguientes grupos que se solapan de forma ascendente: 1º) PSA y PIT con las anteras más cortas del grupo 2º) PAC-POVE-PIA-PGB, 3º) PIG-PFA-PFS-POA-PFCH-PFT con anteras intermedias y 4º) PPG-POS-POV-POM con anteras largas, destacando POM con las anteras más largas del grupo y que no se superpone con las demás.

ÍNDICE OCI DE ALOGAMIA Y CARACTERÍSTICAS DE LA FLOR					
POBLACION	FI_D1	1. Diámetro corola > 6 mm= 3	2. Dicogamia Protandria= 1	3. Hercogamia contacto= 0	OCI XO= 4
PGB	11.68	3	1	0	4 (XO)
PFS	7.15	3	1	0	4 (XO)
PFA	9.61	3	1	0	4 (XO)
PFT	9.71	3	1	0	4 (XO)
POA	10.53	3	1	0	4 (XO)
POVE	8.75	3	1	0	4 (XO)
POS	9.47	3	1	0	4 (XO)
POV	8.74	3	1	0	4 (XO)
POM	7.63	3	1	0	4 (XO)
PFCH	10.14	3	1	0	4 (XO)
PPG	9.40	3	1	0	4 (XO)
PIT	8.96	3	1	0	4 (XO)
PIG	9.38	3	1	0	4 (XO)
PIA	10.93	3	1	0	4 (XO)
PSA	9.98	3	1	0	4 (XO)
PAC	10.05	3	1	0	4 (XO)

Tabla 2.5.- Índice OCI de alogamia y características de la flor de *Parolinia*. Clases asignadas según valores del diámetro de la corola (>6mm=clase 3), dicogamia (protandria=clase 1) y hercogamia (contacto entre gineceo y androceo=clase 0). FI_D1=diámetro mayor de la flor en mm. XO=xenogamia obligada.

En los taxones se sigue diferenciando: 1º) PS con anteras más cortas, 2º) PA-POVE-PI-PG, 3º) POA-PF-PFCH con intermedias, y por último 4º) PP y PO con las anteras más largas. Asimismo según la longitud del gineceo (ovario) se diferencia PS con ovarios mínimos y PP con ovarios máximos del resto de los taxones con ovarios intermedios que se solapan.

En las biometrías del *polen* (Tabla 2.4 y Figs.2.13i, j) PGB ostenta los mínimos para los ejes P y E y los máximos POM, aunque a nivel taxon es *PF* la que presenta los máximos. Los resultados del Kruskal-Wallis diferencian los mínimos para PGB y PIT seguidas por dos grupos intermedios que da paso a los máximos de PFA-PFT-POM. En los taxones se diferencian las tallas mínimas en PG-PP y las máximas en PF con tallas intermedias en el resto donde se puede diferenciar a PS-PO (Anexo 2.1).

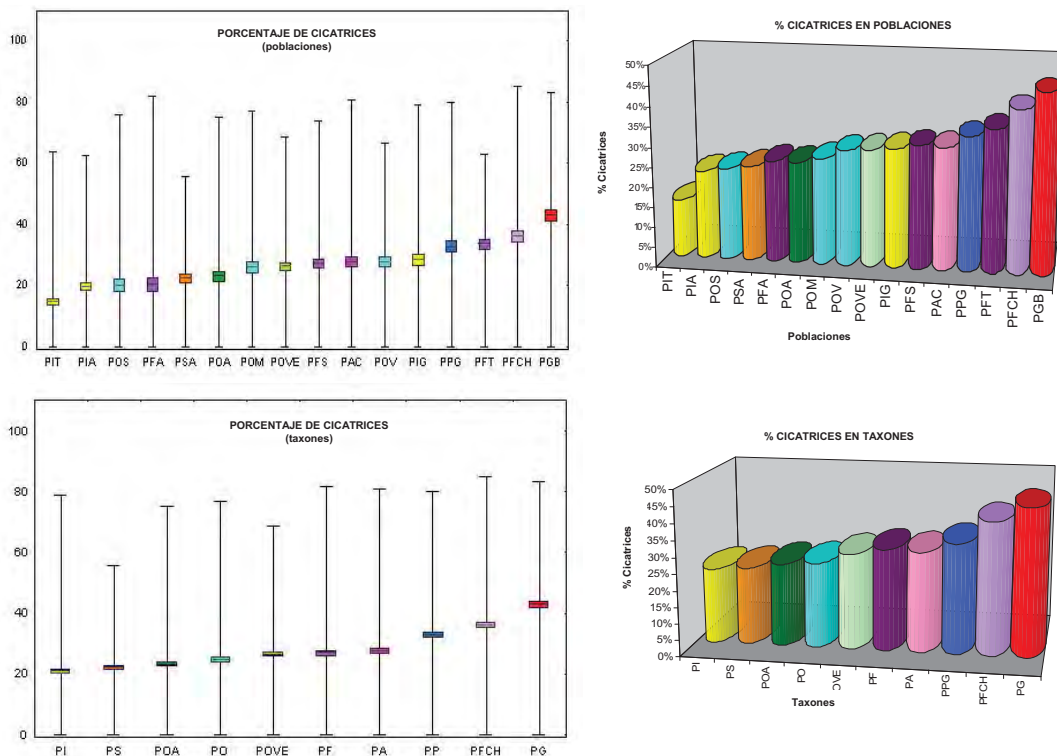
4.1.2. Índice OCI de alogamia

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 2.5, con los distintos caracteres florales e índice OCI de cada población.

Como era de esperar, todas las poblaciones resultan xenógamas obligadas con OCI=4 ya que presentan las mismas características florales: Diámetro de corola >6mm=3; Dicogamia, protandria=1; Hercogamia-mismo nivel=0, características comunes a todos los taxones del género.

4.1.3. Cicatrices por infrutescencia y auto-incompatibilidad

Entre las poblaciones con mayores porcentajes de cicatrices destacan PGB y PFCH con los máximos frente a los mínimos de PIT, PIA, POS, PFA, PSA y POA.



Figuras 2.13.- Porcentaje de cicatrices por infrutescencia en las poblaciones y taxones de *Parolinia*. Aunque con valores correlativos hay una tendencia a diferenciar los valores máximos (PGB y PFCH) y mínimos (PIT, PIA, POS, PFA, PSA y POA) de los intermedios. En los taxones se siguen diferenciando los máximos de cicatrices en PG y PFCH frente a los mínimos en PI, PS, POA y PO.

Mientras que el resto de las poblaciones: POM, POVE, PFS, POV, PIG, PAC, PPG y PFT se encuentran con valores intermedios. A nivel taxon se diferencian PG y PFCH con un máximo de cicatrices frente a los mínimos de PI, PS y POA y PO (Tabla 2.6 y Fig.2.13).

Los resultados del Kruskal-Wallis muestran diferencias significativas tanto a nivel de población como de taxon, aunque no se observan grupos claramente diferenciados (Anexo 2.1).

POB	N° Ind	N° FI / Infl	N° Fr/ Infr	CICATRICES		
				N°/ Infr	% / Infr	% poblacional
PGB	35	24.17 ± 1.50 (9-41)	13.29 ± 0.98 (4-22)	10.89 ± 1.20 (0-27)	42.66 ± 3.82 (0-83)	45%
PFS	35	13.51 ± 0.78 (6-24)	9.34 ± 0.49 (6-20)	4.17 ± 0.72 (0-17)	26.93 ± 3.09 (0-74)	31%
PFA	35	9.00 ± 0.71 (2-24)	6.71 ± 0.51 (2-14)	2.29 ± 0.59 (0-18)	20.14 ± 3.87 (0-82)	25%
PFT	35	9.31 ± 0.45 (5-19)	6.00 ± 0.31 (3-10)	3.31 ± 0.40 (0-12)	33.4 ± 3.16 (0-63)	36%
PF	105	10.57 ± 0.43 (2 - 24)	7.31 ± 0.29 (2 - 20)	3.26 ± 0.34 (0-18)	26.83 ± 2.01 (0 - 82)	31%
POA	35	16.43 ± 1.54 (4-37)	12.26 ± 1.21 (3-31)	4.17 ± 0.80 (0-21)	22.93 ± 3.28 (0-75)	25%
POVE	35	12.11 ± 0.95 (5-30)	8.57 ± 0.59 (4-20)	3.54 ± 0.56 (0-16)	26.23 ± 2.6 (0-69)	29%
POS	35	16.18 ± 1.15 (5-33)	12.35 ± 0.92 (5-22)	3.82 ± 0.90 (0-25)	19.86 ± 3.69 (0-76)	23%
POV	35	7.31 ± 0.46 (4-15)	5.20 ± 0.35 (2-9)	2.11 ± 0.33 (0-7)	27.62 ± 3.29 (0-67)	29%
POM	35	11.66 ± 0.69 (5-23)	8.57 ± 0.66 (3-17)	3.09 ± 0.47 (0-10)	25.85 ± 3.67 (0-77)	27%
PO	105	11.67 ± 0.58 (4-33)	8.67 ± 0.48 (2-22)	3.00 ± 0.35 (0-25)	24.49 ± 2.06 (0 - 77)	26%
PFCH	35	12.17 ± 0.75 (4-22)	7.23 ± 0.40 (3 - 12)	4.94 ± 0.68 (0-17)	35.91 ± 3.46 (0-85)	41%
PPG	35	9.20 ± 0.49 (4-16)	6.11 ± 0.48 (2 - 14)	3.09 ± 0.39 (0-8)	32.54 ± 3.75 (0-80)	34%
PIT	35	14.83 ± 0.63 (10-25)	12.69 ± 0.63 (4-22)	2.14 ± 0.29 (0-7)	14.68 ± 2.2 (0-64)	14%
PIG	35	17.49 ± 0.99 (4-31)	12.29 ± 0.89 (4-27)	5.20 ± 0.69 (0-15)	28.28 ± 3.38 (0-79)	30%
PIA	35	27.35 ± 3.06 (4-65)	21.24 ± 2.25 (2-58)	6.12 ± 1.10 (0-23)	19.55 ± 2.67 (0-63)	22%
PI	105	19.82 ± 1.19 (4-65)	15.35 ± 0.91 (2-58)	4.47 ± 0.47 (0-23)	20.85 ± 1.69 (0 - 79)	23%
PSA	35	16.00 ± 0.83 (8-26)	12.20 ± 0.63 (4-21)	3.80 ± 0.56 (0-12)	21.98 ± 2.8 (0-56)	24%
PAC	35	29.34 ± 2.27 (10-59)	20.37 ± 1.68 (7-53)	8.97 ± 1.70 (0-46)	27.43 ± 3.46 (0-81)	31%

Tabla 2.6.- Cicatrices en las poblaciones y taxones de *Parolinia*. N°Ind=n° de individuos analizados; N° FI/Infl=n° de flores por inflorescencia; N°Fr/Infr=n° de frutos por infrutescencia; N°/Infr=n° de cicatrices por infrutescencia; %/Infr=porcentaje de cicatrices por infrutescencia; % poblacional=porcentaje global de cicatrices por población.

A nivel poblacional PGB con más cicatrices y PIT con menos se diferencian del resto. A nivel taxon con máximos de cicatrices sigue destacando 1°) PG frente al mínimo que pasa a PO e intermedios correlativos de PF, PP, POA, POVE, PS, PI, PFCH y PA.

4.2. EVALUACIÓN DIRECTA DE LOS SISTEMAS DE CRUZAMIENTO. CRUCES EXPERIMENTALES. AUTO-INCOMPATIBILIDAD, AUTOGAMIA Y AGAMOSPERMIA

4.2.1. Polinizaciones experimentales y niveles de fecundación

4.2.1.1. Autopolinización, frutos y niveles de fecundación

Los resultados obtenidos en los cruzamientos experimentales (2003) se expresan según tres niveles de fecundación: *tubos polínicos* o *frutos potenciales-1* (FRp1), *frutos verdes* o *frutos potenciales-2* (FRp2) y *frutos maduros* (FRR) y se muestran en las Tablas 2.7 y Anexo 2.1.

Se observa que salvo excepciones, existe una disminución notable (*ratio* Fr/FI) desde los *frutos potenciales-1* hasta los *frutos maduros*. Los *tubos polínicos* detectados en los gineceos, pueden en ocasiones llegar a formar *frutos verdes*, pero no suelen alcanzar la madurez. Hay que señalar que PGB es la única población en la que prácticamente no se observan tubos polínicos (Figs.2.14 y 2.15 y Tabla 2.7).

NIVELES DE FECUNDACIÓN EN AUTO-POLINIZACIÓN (2003)				
POBLACIÓN	Nº FLORES TOTALES (FRp1-TP / FRp2-FRR)	Nº FRp1 (Fr/FI)	Nº FRp2 (Fr/FI)	Nº FRR (Fr/FI)
PGB	80 (28 / 52)	2 (0.07)	2 (0.04)	1 (0.02)
PFT	78 (28 / 54)	10 (0.36)	14 (0.26)	6 (0.11)
POA	92 (31 / 61)	12 (0.39)	27 (0.44)	13 (0.21)
POS	69 (24 / 45)	14 (0.58)	8 (0.18)	7 (0.16)
PPG	89 (34 / 55)	16 (0.47)	21 (0.38)	13 (0.24)
PIT	76 (24 / 52)	14 (0.58)	7 (0.13)	3 (0.06)
PSA	68 (24 / 44)	9 (0.38)	1 (0.02)	1 (0.02)
PAC	66 (18 / 48)	5 (0.28)	1 (0.02)	1 (0.02)

Tabla 2.7.- Niveles de fecundación en autopolinización. *Ratios* Fr/FI en los distintos niveles de fecundación: tubos polínicos en gineceos (FRp1), frutos verdes (FRp2) y frutos maduros (FRR).

4.2.1.2. Auto-polinización y polinización cruzada. Frutos y niveles de fecundación

En todos los tests y tratamientos (*control* JBCVC, *auto-polinización* y *polinización cruzada*) en *P.platypetala* (PPG), los resultados obtenidos (2004) de los tres niveles de fecundación (FRp1, FRp2 y FRR) muestran también la tendencia a disminuir desde los frutos potenciales hasta los frutos maduros o FRR (Fig.2.16, Tabla 2.8 y Anexo 2.1).

En *auto-polinización mecánica* aunque se observa la formación de tubos polínicos en el estigma con acúmulos de calosa, no se observan ni en el estilo ni en el ovario ni tampoco hay formación de frutos verdes ni maduros.

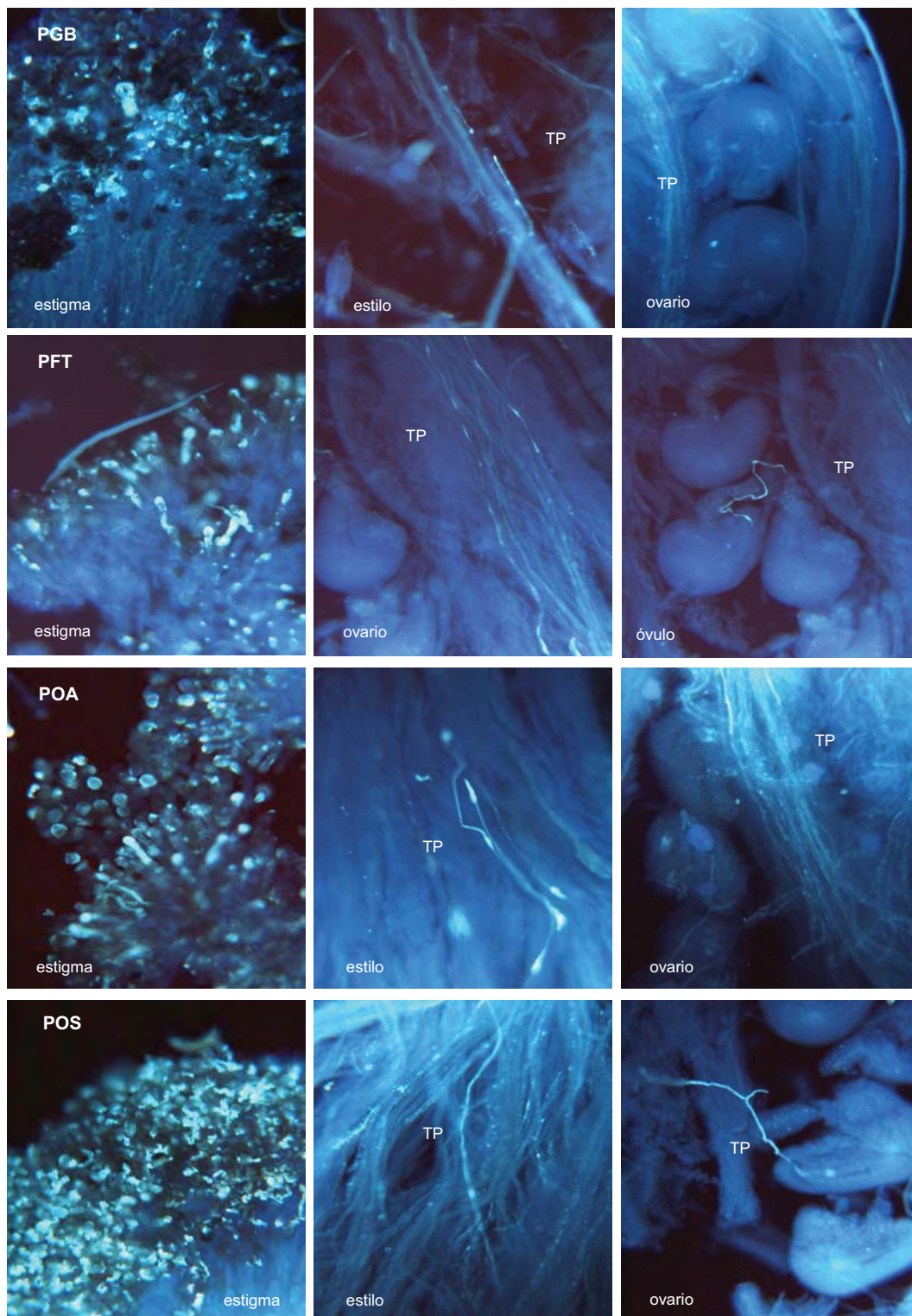


Figura 2.14.- Sistemas de cruzamiento y niveles de fecundación en los experimentos de auto-polinización (2003). Tubos polínicos (TP) en gineceos E8 o frutos potenciales-1 en *P. glabriuscula* (PGB), *P. filifolia* (PFT), POA y *P. ornata* (POS). Estigma con granos de polen emitiendo TP y papilas con calosa. Estilo, ovarios y óvulos con TP.

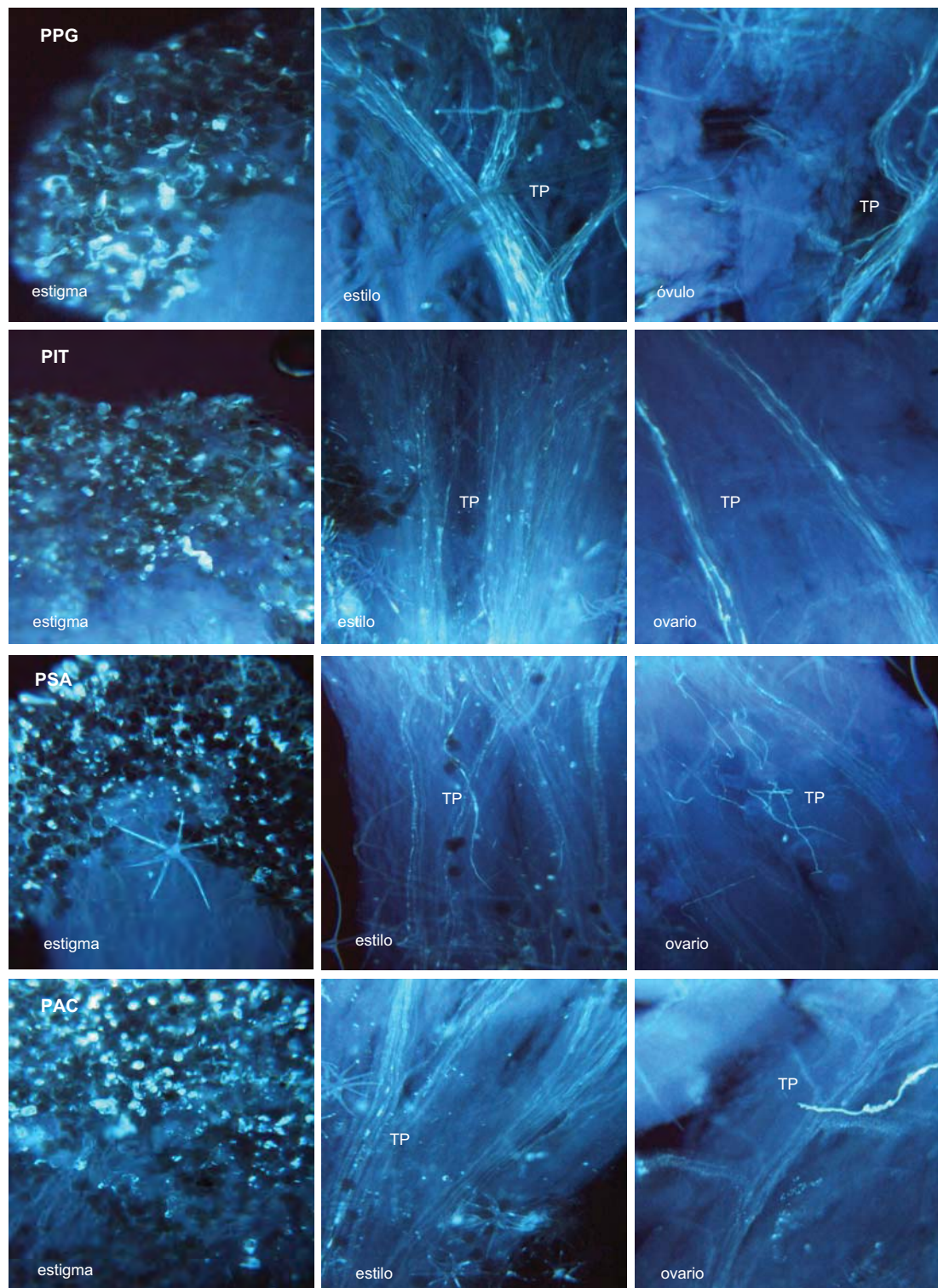
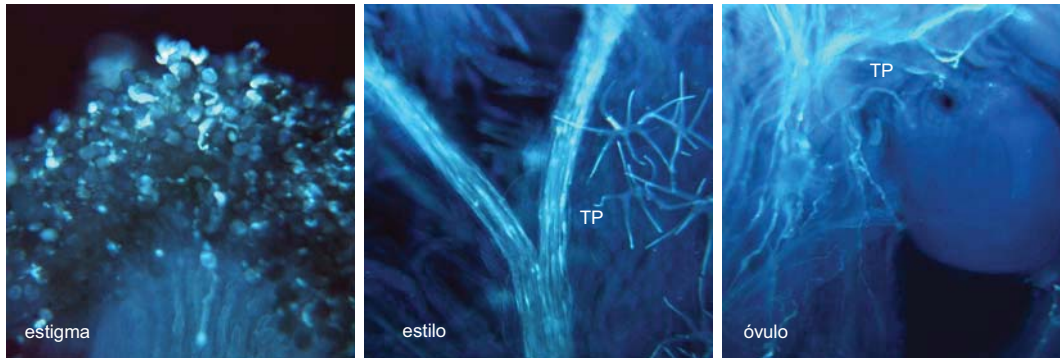
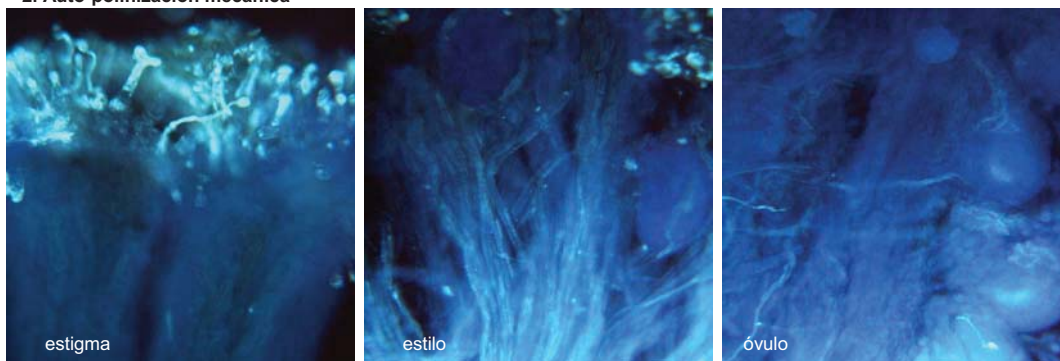


Figura 2.15.- Sistemas de cruzamiento y niveles de fecundación en los experimentos de auto-polinización (2003). Presencia de *tubos polínicos* (TP) a lo largo de gineceos E8 o *frutos potenciales-1* en *P.platypetala* (PPG), *P.intermedia* (PIT), *P.schizogynoides* (PSA) y *P.aridanae* (PAC). Estigma con granos de polen emitiendo TP y papilas con calosa. Estilo, ovarios y óvulos con TP.

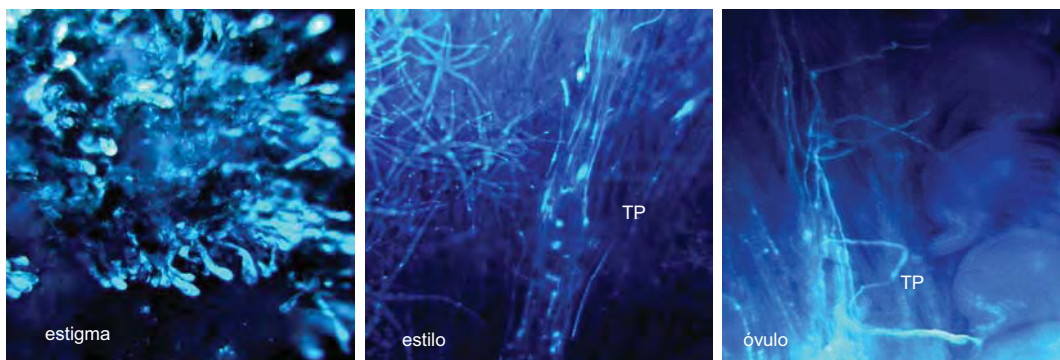
1. Control



2. Auto-polinización mecánica



3. Auto-polinización



4. Polinización cruzada (entre individuos)

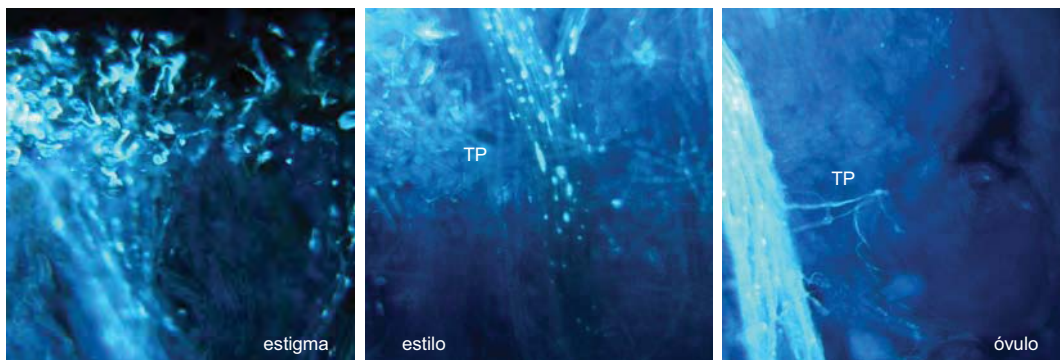


Figura 2.16.- Sistemas de cruzamiento y niveles de fecundación en los experimentos de auto-polinización y polinización cruzada en *P. platypetala* (PPG). Presencia de *tubos polínicos* (TP) a lo largo de gineceos E8 o *frutos potenciales-1*: 1.Control JBCVC; 2. Auto-polinización mecánica: estigma con TP y papilas con calosa, estilo y ovario sin TP; 3. Auto-polinización; 4. Polinización cruzada. Tubos polínicos en el estigma, estilo y alcanzando los óvulos.

En la *polinización cruzada* (Tabla 2.8 y Fig.2.16) se detectan los mayores niveles de fecundación y formación de frutos superiores a los del *control del JBCVC*.

NIVELES DE FECUNDACIÓN EN AUTO-POLINIZACIÓN Y POLINIZACIÓN CRUZADA (PPG 2004)				
EXPERIMENTOS DE POLINIZACIÓN	Nº FLORES TOTALES (FRp1-TP / FRp2-FRR)	Nº FRp1 (Fr / Fl)	Nº FRp2 (Fr / Fl)	Nº FRR (Fr / Fl)
2. CONTROL JBVC	114 (39 / 75)	35 (0.90)	49 (0.65)	40 (0.53)
3. AUTO-POLINIZACIÓN MECÁNICA	87 (33 / 54)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
4. AUTO-POLINIZACIÓN MANUAL	101 (37 / 64)	19 (0.51)	22 (0.34)	15 (0.23)
5. POLINIZACIÓN CRUZADA	100 (38 / 62)	34 (0.89)	45 (0.73)	43 (0.69)

Tabla 2.8- Niveles de fecundación en PPG. Auto-polinización y polinización cruzada (2004). Ratios Fr/Fl en los distintos niveles de fecundación: tubos polínicos en gineceos (FRp1), frutos verdes (FRp2) y frutos maduros (FRR).

4.2.2. Cruces experimentales. Producción de frutos y semillas

Los resultados de los cruces de *auto-polinización* y *polinización cruzada* (2003 y 2004) se muestran en la Tabla 2.9 y Anexo 2.1. En general se observa una mayor producción de frutos que de semillas a excepción del *control natural* de PGB con mayor producción de semillas.

4.2.2.1. Producción de frutos y semillas. Auto-polinización

En las inflorescencias del *control natural*, la producción de *frutos* oscila entre 0.57 en *P.glabriuscula* (PGB) y 0.85 en *P.intermedia* (PIT). La producción de *semillas* es inferior, con el mínimo en PFT (0.47) y máximo en PIT (0.72). La *evaluación conjunta* de frutos y semillas (Fr/FlxS/O) oscila entre 0.31 (PFT) y 0.61 (PIT).

En todos los taxones la producción de *frutos* en el *control del JBCVC* disminuye respecto al *control natural* excepto en PFT. Asimismo la producción de *semillas* del *JBCVC* es muy baja con mínimo en PAC (0.10) y máximo en PFT (0.58). La *evaluación conjunta* (frutos y semillas) oscila entre 0.03 (PAC) y 0.20 (PPG) excepto POA (0.33) y PFT (0.47).

En el tratamiento de *auto-polinización* la producción de *frutos* tiene mínimos cercanos a "0" (PGB, PSA, PAC y PIT) y máximos que no superan el 0.24 (PPG). Asimismo la producción de *semillas* es prácticamente "0" en todas las poblaciones con el máximo en POS (0.07). La *evaluación conjunta* de frutos y semillas es prácticamente nula, se observan valores cercanos a 0.01 en POA, POS y PPG (Tabla 2.9).

No se observa formación de frutos maduros en los tests de *auto-polinización mecánica* (en ausencia de polinizadores) ni *agamospermia*, aunque en este último un 20% de las flores de PFT, POA y PIT formaron frutos que no se contabilizan ya que no contienen semillas (Tabla 2.9 y Anexo 2.1). Se considera por tanto que la *agamospermia* no está presente en las poblaciones estudiadas de *Parolinia*, lo que indica que la polinización y fecundación es esencial para la producción de frutos y semillas. La ausencia de resultados en los experimentos de *autopolinización mecánica* implica la necesidad de vectores.

TESTS Y EXPERIMENTOS DE AUTO-POLINIZACIÓN Y POLINIZACIÓN CRUZADA FRUTOS Y SEMILLAS								
POB	TESTS	FRUTOS			SEMILLAS			Fr/ FI x S/O
		NºFLs	NºFRs	ratio Fr/FI	NºÓVUs	NºSEM	ratio S/O	
PGB	1. CONTROL NATURAL (Cn)	51	30	0.57	568	329	0.58	0.33
	2. CONTROL JBVC (Cj)	43	24	0.56	514	84	0.16	0.09
	3. AUTO-POLINIZACIÓN MECÁNICA	31	0	0.00	-	-	-	-
	4. AGAMOSPERMIA	20	0	0.00	-	-	-	-
	5. AUTO-POLINIZACIÓN (AP)	52	1	0.02	621	3	0.005	0.00009
PFT	1. CONTROL NATURAL (Cn)	35	23	0.67	366	172	0.47	0.31
	2. CONTROL JBVC (Cj)	33	27	0.82	360	208	0.58	0.47
	3. AUTO-POLINIZACIÓN MECÁNICA	22	0	0.00	-	-	-	-
	4. AGAMOSPERMIA	20	0	0.00	-	-	-	-
	5. AUTO-POLINIZACIÓN (AP)	54	6	0.11	587	13	0.02	0.0025
POA	1. CONTROL NATURAL (Cn)	55	41	0.75	524	288	0.55	0.41
	2. CONTROL JBVC (Cj)	44	29	0.66	492	246	0.50	0.33
	3. AUTO-POLINIZACIÓN MECÁNICA	43	0	0.00	-	-	-	-
	4. AGAMOSPERMIA	25	0	0.00	-	-	-	-
	5. AUTO-POLINIZACIÓN (AP)	61	13	0.21	675	27	0.04	0.0085
POS	1. CONTROL NATURAL (Cn)	57	46	0.81	757	447	0.59	0.48
	2. CONTROL JBVC (Cj)	55	25	0.45	803	222	0.28	0.13
	3. AUTO-POLINIZACIÓN MECÁNICA	41	0	0.00	-	-	-	-
	4. AGAMOSPERMIA	20	0	0.00	-	-	-	-
	5. AUTO-POLINIZACIÓN (AP)	54	7	0.13	669	47	0.07	0.009
PPG 2003	1. CONTROL NATURAL (Cn)	62	42	0.68	846	558	0.66	0.45
	2. CONTROL JBVC (Cj)	37	20	0.54	532	194	0.36	0.20
	3. AUTO-POLINIZACIÓN MECÁNICA	56	0	0.00	-	-	-	-
	4. AGAMOSPERMIA	27	0	0.00	-	-	-	-
	5. AUTO-POLINIZACIÓN (AP)	55	13	0.24	892	18	0.02	0.005
PPG 2004	1. CONTROL NATURAL (Cn)	62	42	0.68	846	558	0.66	0.45
	2. CONTROL JBVC (Cj)	75	40	0.53	1050	438	0.42	0.22
	3. AUTO-POLINIZACIÓN MECÁNICA	54	0	0.00	-	-	-	-
	5. AUTO-POLINIZACIÓN (AP)	64	15	0.23	1052	45	0.04	0.01
	6. POLINIZACIÓN CRUZADA (PC)	62	43	0.69	1051	443	0.42	0.29
PIT	1. CONTROL NATURAL (Cn)	52	44	0.85	491	354	0.72	0.61
	2. CONTROL JBVC (Cj)	39	15	0.38	352	56	0.16	0.06
	3. AUTO-POLINIZACIÓN MECÁNICA	37	0	0.00	-	-	-	-
	4. AGAMOSPERMIA	20	0	0.00	-	-	-	-
	5. AUTO-POLINIZACIÓN (AP)	52	3	0.06	476	14	0.03	0.0017
PSA	1. CONTROL NATURAL (Cn)	44	34	0.77	327	222	0.68	0.52
	2. CONTROL JBVC (Cj)	33	12	0.36	231	41	0.18	0.06
	3. AUTO-POLINIZACIÓN MECÁNICA	19	0	0.00	-	-	-	-
	4. AGAMOSPERMIA	20	0	0.00	-	-	-	-
	5. AUTO-POLINIZACIÓN (AP)	44	1	0.02	318	2	0.006	0.00014
PAC	1. CONTROL NATURAL (Cn)	38	28	0.74	298	173	0.58	0.43
	2. CONTROL JBVC (Cj)	21	7	0.33	166	17	0.10	0.03
	3. AUTO-POLINIZACIÓN MECÁNICA	16	0	0.00	-	-	-	-
	4. AGAMOSPERMIA	30	0	0.00	-	-	-	-
	5. AUTO-POLINIZACIÓN (AP)	48	1	0.02	430	1	0.002	0.00005

Tabla 2.9- Experimentos de Auto-polinización y Polinización cruzada. Producción de frutos y semillas: ratios Fr/FI (Fruto/Flor) y S/O (Semilla/Óvulo). NºFLs= número de flores; NºFRs= número de frutos; NºÓVUs= número de óvulos; NºSEM=número de semillas.

4.2.2.2. Producción de frutos y semillas. Polinización cruzada. *P. platypetala* (PPG)

La máxima producción de frutos y semillas se alcanza en el *control natural* (0.68 y 0.66) seguido por el *JBCVC* (0.53 y 0.42), disminuyendo notablemente los frutos en la *auto-polinización* (0.23) y resultando prácticamente nula la producción de semillas (S/O=0.04). En la *polinización cruzada* la producción de *frutos* (0.69) es superior a la producción de *semillas* (S/O=0.42), siendo superior siempre a la *auto-polinización* y al *control JBCVC*.

En la *evaluación conjunta* los máximos se alcanzan en el *control natural* (0.45) y los mínimos en *auto-polinización* (0.01).

4.2.3. Índice ISI de auto-incompatibilidad

Siguiendo el criterio de ZAPATA & ARROYO (1978), como medida de *xenogamia* se asignan las distintas categorías según los valores del índice de auto-incompatibilidad ISI: SI=0 (completamente auto-incompatible), M-SI≤0.25 (Mayoritariamente auto-incompatible), P-SI=0.26-1 (Parcialmente auto-incompatible) y SC>1 (auto-compatible).

4.2.3.1. Índice ISI. Experimentos de auto-polinización

- Los individuos testados presentan distintos niveles de auto-incompatibilidad según la producción de *frutos*. Todas las poblaciones presentan individuos SI con máximos en PGB y PSA (75%) y mínimos en POA (20%), individuos M-SI con máximos en PFT (75%) y mínimos en PPG (17%), solo se observan individuos P-SI en POA, POS y PPG. Según la producción de *semillas*, los porcentajes de individuos SI coinciden con los de frutos. Los porcentajes de individuos M-SI son similares (PGB, PFT, PIT, PSA y PAC) o aumentan con respecto a los frutos. Solo se observan individuos P-SI en POS (Tablas 2.10 y 2.11).

La *evaluación conjunta* de frutos y semillas, muestra que todos los taxones tienen individuos SI con máximos del 100% (PGB y PAC) y mínimos del 20% (POA). El resto de los individuos se califican como M-SI.

- El ISI poblacional respecto a los *frutos*, califica a la mayoría de las poblaciones como M-SI, con los mínimos en PGB (0.003) y máximos en PFT (0.169), solamente POA y PPG se califican como P-SI (0.286-0.349). Respecto a las *semillas* formadas, todos los taxones se califican M-SI (Tablas 2.10 y 2.11).

La *evaluación conjunta* de frutos y semillas muestra que las poblaciones PGB, PSA y PAC con PIT (*control natural*) son *completamente auto-incompatibles* (SI) o *xenógamas obligadas* (XO), mientras que el resto de poblaciones (PFT, POA, POS, PPG) se califican *mayoritariamente auto-incompatibles* (M-SI) o *fundamentalmente xenógamas* (FX) admitiendo en principio alguna posibilidad de *autogamia*.

4.2.3.2. Índice ISI. Auto-polinización y polinización cruzada en *P. platypetala* (PPG)

- En los experimentos de *auto-polinización* (2004) según *frutos* formados, el 29% de los individuos testados son M-SI (*control natural*) ó el 100% P-SI (*JBCVC*). En relación a las *semillas*, el 100% de los individuos puede ser M-SI ó el 14% P-SI (*JBCVC*). La *evaluación conjunta* califica a PPG, con el 100% de los individuos, como M-SI representando una tendencia poblacional FX que admite alguna posibilidad de *autogamia* (Tabla 2.11).

- En los experimentos de *auto-polinización*, el ISI poblacional según *frutos* califica a PPG como P-SI (0.35 y 0.44), sin embargo, según *semillas* la población es M-SI (0.07 y 0.10). La *evaluación conjunta* de frutos y semillas muestra que son M-SI (0.02 y 0.05) al igual que el año 2003 (0.01 y 0.02).

**EXPERIMENTOS DE AUTO-POLINIZACIÓN
NIVELES DE AUTO-INCOMPATIBILIDAD, AUTOGAMIA E *INBREEDING DEPRESSION***

POB	ratios	ÍNDICE ISI AUTOINCOMPATIBILIDAD				TASA S KARRON AUTOGAMIA			<i>INBREEDING DEPRESSION</i> δ		
		% individuos		poblacional		% individuos	poblacional		% individuos		poblacional
		Cn	Cj	Cn	Cj	S	S	t	Cn	Cj	Cn - Cj
PGB	Fr/FI	75%-SI 25%-M-SI		0.003-0.03 M-SI		75%-SI 25%-L-SC	0.02 SI	0.981	0.859-1 / 0.857-1		0.997-0.97
	S/O	75%-SI 25%-M-SI		0.008-0.03 M-SI		100%-SI	0.005 SI	0.995	0.965-1 / 0.875-1		0.992-0.97
	Fr/ FI x S/O	100%-SI (XO)	75%-SI (XO) 25%-M-SI (FX)	0.0003 SI (XO)		100% -SI (XO)	0.0001 SI (XO)	0.999	0.995-1 / 0.982-1		0.9997
PFT	Fr/FI	25% SI 75% M-SI		0.169-0.14 M-SI		25%-SI 75%-L-SC	0.11 L-SC	0.889	0.780-1 / 0.817-1		0.831-0.86
	S/O	25%-SI 75%-M-SI		0.047-0.04 M-SI		75%-SI 25%-L-SC	0.02 SI	0.978	0.851-1 / 0.879-1		0.953-0.96
	Fr/ FI x S/O	25%-SI (XO) 75%-M-SI (FX)		0.008 M-SI (FX)		100%-SI (XO)	0.002 SI (XO)	0.998	0.969-1 / 0.977-1		0.992
POA	Fr/FI	20%-SI 40%-M-SI 40%-P-SI	20% SI 20% M-SI 60% P-SI	0.286 M-SI	0.32 P-SI	20%-SI 60%-L-SC 20%-A-SC	0.21 L-SC	0.787	0.733-1 0.147	0.696-1 0.030	0.714-0.68
	S/O	20% SI 80% M-SI		0.073-0.08 M-SI		60%-SI 40%-L-SC	0.04 L-SC	0.960	0.800-1 / 0.780-1		0.927-0.92
	Fr/ FI x S/O	20%-SI (XO) 80%-M-SI (FX)		0.021 M-SI (FX)		80%-SI (XO) 20%-L-SC (XF)	0.009 SI (XO)	0.991	0.829-1 / 0.787-1		0.979-0.97
POS	Fr/FI	25%-SI 25%-M-SI 50%-P-SI		0.161 M-SI	0.29 P-SI	25%-SI 75%-L-SC	0.13 L-SC	0.870	0.667-1	0.800-1 0.40-0.44	0.839-0.71
	S/O	25%-SI 50%-M-SI 25%-P-SI		0.119-0.25 M-SI		25%-SI 75%-L-SC	0.07 L-SC	0.930	0.694-1	0.785-1 0.357	0.881-0.75
	Fr/ FI x S/O	25%-SI (XO) 75%-M-SI (FX)	25%-SI (XO) 50%-M-SI (FX) 25%-P-SI (XF)	0.019-0.07 M-SI (FX)		75%-SI (XO) 25%-L-SC (XF)	0.009 SI (XO)	0.991	0.898-1 / 0.614-1		0.981-0.93

EXPERIMENTOS DE AUTO-POLINIZACIÓN NIVELES DE AUTO-INCOMPATIBILIDAD, AUTOGAMIA E <i>INBREEDING DEPRESSION</i>											
POB	ratios	ÍNDICE ISI AUTOINCOMPATIBILIDAD				TASA S KARRON AUTOGAMIA			<i>INBREEDING DEPRESSION</i> δ		
		% individuos		poblacional		% individuos		poblacional	% individuos		poblacional
		Cn	Cj	Cn	Cj	S	S	t	Cn	Cj	Cn- Cj
PIT	Fr/FI	50%-SI 50%-M-SI	50%-SI 25%-M-SI 25%-P-SI	0.068-0.15 M-SI		50%-SI 50%-L-SC	0.06 L-SC	0.942	0.823-1 / 0.605-1		0.932-0.85
	S/O	50%-SI 50%-M-SI	50%-SI 25%-M-SI 25%-P-SI	0.041-0.18 M-SI		75%-SI 25%-L-SC	0.03 SI	0.971	0.847-1	0.937-1 0.312	0.959-0.82
	Fr/ FI x S/O	75%-SI (XO) 25%-M-SI (FX)	50% SI (XO) 25% M-SI (FX) 25% P-SI (XF)	0.003 SI (XO)	0.03 M-SI (FX)	100%-SI (XO)	0.002 SI (XO)	0.998	0.973-1 / 0.729-1		0.997-0.97
PSA	Fr/FI	75%-SI 25%-M-SI		0.029-0.06 M-SI		75%-SI 25%-L-SC	0.02 SI	0.977	0.883-1 / 0.75-1		0.971-0.94
	S/O	75%-SI 25%-M-SI		0.009-0.04 M-SI		100%-SI	0.01 SI	0.994	0.956-1 / 0.833-1		0.991-0.96
	Fr/ FI x S/O	75%-SI (XO) 25%-M-SI (FX)		0.0003 -0.002 SI (XO)		100%-SI (XO)	0.0001 SI= XO	1.000	0.995-1 / 0.958-1		0.9997-0.998
PAC	Fr/FI	67%-SI 33%-M-SI	67%-SI 33%-P-SI	0.028-0.06 M-SI		67%-SI 33%-L-SC	0.02 SI	0.979	0.905-1 / 0.788-1		0.972-0.94
	S/O	67%-SI 33%-M-SI	67%-SI 33%-P-SI	0.004-0.02 M-SI		100%-SI	0.002 SI	0.998	0.983-1 / 0.900-1		0.996-0.98
	Fr/ FI x S/O	100%-SI (XO)	67%-SI (XO) 33%-M-SI (FX)	0.0001-0.001 SI (XO)		100%-SI (XO)	0.00005 SI (XO)	1.000	0.998-1 / 0.978-1		0.9999-0.999

Tabla 2.10- Experimentos de Auto-polinización. Niveles de auto-incompatibilidad, autogamia e *inbreeding depression*. Índice ISI (Zapata & Arroyo, 1978): SI (auto-incompatible: 0), M-SI (mayoritariamente auto-incompatible: ≤ 0.25), P-SI (parcialmente auto-incompatible: 0.26-1), SC (auto-compatible: >1). Tasa S de autogamia (Karron, 1987): SI (auto-incompatible ≤ 0.03), L-SC (ligeramente auto-compatible 0.03-0.30), A-SC (altamente compatible: >0.30). Nivel de *inbreeding depression* según producción de semillas (Charlesworth & Charlesworth, 1987): $\delta = 1 - (W_s/W_c)$. Tendencia Poblacional: XO=xenogamia obligada, FX=fundamentalmente xenógama, XF=xenogamia facultativa, AF=autogamia facultativa. Cn=control población natural de polinización libre; Cj=control JBCVC de polinización libre.

- El índice ISI por individuos en relación a los experimentos de *polinización cruzada* según *frutos* muestra el 43% de individuos-SI y 57% P-SI, según *semillas* el 86% M-SI y el 14% P-SI. La *evaluación conjunta*, muestra el 100% de los individuos como M-SI o FX (Tabla 2.11 y Anexo 2.1).

El ISI poblacional según *frutos*, califica a PPG como P-SI (0.34) y según *semillas* como M-SI (0.10). La valoración poblacional conjunta califica a PPG como M-SI (0.03), al igual que el ISI de los experimentos de auto-polinización, representando una tendencia poblacional *fundamentalmente xenógama* (FX) que admite alguna posibilidad de autogamia.

4.2.4. Tasa S de autogamia

Siguiendo el criterio de KARRON (1987) se asignan las distintas categorías según los valores: $SI \leq 0.03$ (auto-incompatible), $L-SC = 0.03-0.30$ (ligeramente auto-compatible) y $A-SC > 0.30$ (altamente auto-compatible).

En los experimentos de polinización cruzada, se calcula también la tasa de *autogamia* según CHARLESWORTH & CHARLESWORTH (1987) donde los valores negativos (<0) consideran el predominio de la polinización *natural* y los positivos califican: $XO < 0.1$, $FX (0.11-0.50)$, $XF (0.51-0.85)$ y $AF > 0.85$.

4.2.4.1. Tasa S de autogamia de Karron. Auto-polinización

- En la evaluación de los individuos testados se observan diferentes niveles y distintos porcentajes. Los porcentajes de individuos SI según los *frutos* coinciden con el ISI, el resto de los individuos en todas las poblaciones se califican como L-SC, excepto en POA y PPG donde también hay individuos A-SC (20 y 33%). Según *semillas* se observa un mayor % de SI, 100% en PGB, PSA y PAC y solo un 25% en POS.

La *evaluación conjunta* (frutos y semillas) muestra que el 100% de los individuos se comportan como SI en todas las poblaciones, excepto en POA y POS (80% y 75%).

En *P. platypetala* (2004) se observa menor % de individuos autoincompatibles que en 2003 en la producción de *frutos*, *semillas* y en la *evaluación conjunta* con un 71% SI (XO) y un 29% L-SC (FX).

- La evaluación de la tasa S de *autogamia* poblacional a partir de los experimentos de auto-polinización (Tabla 2.10) muestra que en relación a la producción de *frutos* PGB, PSA y PAC (0.02) son SI y el resto L-SC, mientras que según la producción de *semillas* todas las poblaciones son SI a excepción de POA y POS que son L-SC (0.04 y 0.07). En PPG los resultados del año 2004 son similares al 2003, aunque según la producción de *semillas* se califica en diferente clase ($L-SC=0.04$).

En la *evaluación poblacional* conjunta (frutos y semillas) de la tasa S de *autogamia* (Karron), todas las poblaciones se califican como auto-incompatibles (SI) ó *xenógamas obligadas* (XO). En *P. platypetala* (2004) la *evaluación poblacional conjunta* (frutos y semillas) también la califica como SI (0.01) considerando por tanto que la tendencia de la especie es de XO.

4.2.4.2. Tasas de autogamia S de Charlesworth & Charlesworth en PPG

La tasa de *autogamia* S de Charlesworth & Charlesworth sólo se calcula para *P. platypetala* (PPG) a partir de experimentos de auto-polinización y *polinización cruzada* en el año 2004 (Tabla 2.11).

**EXPERIMENTOS DE AUTO-POLINIZACIÓN Y POLINIZACIÓN CRUZADA
NIVELES DE AUTO-INCOMPATIBILIDAD, AUTOGAMIA E INBREEDING DEPRESSION**

POB	ratios	ÍNDICE ISI AUTOINCOMPATIBILIDAD						TASA S KARRON AUTOGAMIA			TASA S CH & CH AUTOGAMIA				INBREEDING DEPRESSION δ					
		% individuos			poblacional			% inds		poblacional	% individuos		poblacional		% individuos			poblacional		
		Cn	Cj	PC	Cn	Cj	PC	S	S	t	Cn	Cj	Cn	Cj	Cn	Cj	PC	Cn	Cj	PC
PPG 2003	Fr/FI	33%-SI 17%-M-SI 50%-P-SI	33%-SI 17%-M-SI 33%-P-SI 17%-SC	—	0.349-0.44 P-SI	—	33%-SI 33%-L-SC 33%-A-SC	0.24 L-SC	0.764	—	—	—	—	0.701-1 0.179-0.403	0.629-1 0.019-0.259	—	0.651-0.56	—	—	
	S/O	33%-SI 67%-M-SI			—	0.031-0.06 M-SI	—	67%-SI 33%-L-SC	0.02 SI	0.98	—	—	—	0.939-1 / 0.889-1			—	0.979-0.94	—	
	Fr/ FI x S/O	67%-SI (XO) 33%-M-SI (FX)	33%-SI (XO) 67%-M-SI (FX)	—	0.011-0.02 M-SI (FX)	—	100% SI (XO)	0.005 SI (XO)	0.995	—	—	—	—	0.950-1 / 0.886-1			—	0.999-0.98	—	
PPG 2004	Fr/FI	29% M-SI 71%-P-SI	100%-P-SI	43%-M-SI 57%-P-SI	0.346-0.44-0.34 P-SI	—	71%-L-SC 29%-A-SC	0.23 L-SC	0.766	43%-FX (0.19-0.44) 14%-XF (0.84) 43%-PN (-2.13 / -0.71)	14% FX (0.12) 43%-XF (0.60-0.71) 43%-PN (-1.25 a -0.4)	0.03 XO	0.34 FX	0.507-0.701 0.433	0.528-0.717 0.283-0.377	0.602-0.800 0.309-0.485	0.654-0.56-0.66	—	—	
	S/O	100%-M-SI	86%-M-SI 14%-P-SI		0.065-0.10-0.10 M-SI	—	43%-SI 57%-L-SC	0.04 L-SC	0.957	29%-FX (0.15-0.22) 71%-PN (-3.06 a -0.26)	57%-FX (0.02-0.45) 14%-XF (0.56) 29%-PN (-1.56 a -0.65)	-0.63 PN	0.23 FX	0.82-0.98 / 0.71-0.98 / 0.74-0.98			0.945-0.90-0.90	—	—	
	Fr/ FI x S/O	100% M-SI (FX)			0.022-0.05- 0.03 M-SI (FX)	—	71% SI (XO) 29% L-SC (XF)	0.01 SI (XO)	0.990	29%-FX (0.43-0.47) 71%-PN (-7.10 a-0.01)	29%-FX (0.15-0.22) 43%-XF (0.51-0.75) 29%-PN (-3.06 a -0.12)	-0.57 PN	0.40 FX	0.90-1 / 0.80-0.99 / 0.82-0.99			0.988-0.95-0.97	—	—	

Tabla 2.11- Experimentos de Auto-polinización y Polinización cruzada en *P. platypetala* (PPG). Niveles de auto-incompatibilidad, autogamia e inbreeding depression. Índice ISI (Zapata & Arroyo, 1978): SI (auto-incompatible: 0), M-SI (mayoritariamente auto-incompatible ≤ 0.25), P-SI (parcialmente auto-incompatible: 0.26-1), SC (auto-compatible: >1). Tasa S de autogamia (Karron, 1987): SI (auto-incompatible ≤ 0.03), L-SC (ligeramente auto-compatible 0.03-0.30), A-SC (altamente compatible: >0.30). Tasa S de autogamia (Charlesworth & Charlesworth, 1987) donde: XO<0.1, FX (0.11-0.50), XF (0.51-0.85) y AF>0.85. Nivel de *inbreeding depression* según producción de semillas (Charlesworth & Charlesworth, 1987: $\delta=1-(W_s/W_c)$). Tendencia Poblacional: XO=xenogamia obligada, FX=fundamentalmente xenógama, XF=xenogamia facultativa, AF=autogamia facultativa, PN=preponderancia de polinización natural). Cn=control población natural; Cj=control JBCVC; PC=polinización cruzada.

- La tasa de autogamia respecto a los individuos testados es diferente según se refiera al *control* de la población natural o al del JBCVC con rangos que se muestran en la Tabla 2.11. En el *control natural* para los *frutos* el 43% de los individuos son FX, el 14% XF y el 43% son PN (representan más frutos en la polinización natural). Respecto a las *semillas* el 29% de los individuos son FX, mientras que en el 71% restante prima la polinización natural (PN). En relación al JBCVC para los *frutos*, el 14% de los individuos son FX, el 43% son XF y 43% PN. Respecto a las *semillas* un 57% son FX, un 14% XF y en un 29% prima la PN.

En la evaluación conjunta, respecto el *control natural*, un 29% son FX y en un 71% prima la polinización natural (PN). Respecto al *control* del JBCVC un 29% son FX, un 43% son XF y en un 29% prima la polinización natural (PN).

- La autogamia según *frutos* varía entre XO (0.03) y FX (0.34). Según *semillas* varía desde (-0.63) a favor de la polinización natural (PN) hasta (0.23) que califican a *P.platypetala* como FX.

En la *evaluación conjunta* (frutos y semillas) la tasa S de Charlesworth & Charlesworth también depende de los controles. Mientras el control natural (-0.57) señala en PPG una mayor *polinización natural*, el JBCVC (0.40) la califican de FX.

4.2.5. Sistemas de Cruzamiento y niveles de *inbreeding depression* (δ)

La evaluación del coeficiente de *inbreeding depression* según Charlesworth & Charlesworth a partir de los experimentos de auto-polinización, muestra un porcentaje de individuos con *inbreeding depression* que se corresponde con los del índice ISI de auto-incompatibilidad (Tablas 2.10 y 2.11).

- La evaluación de los individuos testados en el control *natural* muestra los mayores rangos según *frutos* en POA (0.15-1.00), según *semillas* en POS (0.69-1) y según la *evaluación conjunta* de frutos y semillas también en POA (0.83-1). En relación al JBCVC se observan rangos de 0.02-1 en PPG (según *frutos*), 0.31-1 en PIT (según *semillas*) y 0.61-1 en POS (*evaluación conjunta* de frutos y semillas).

- La evaluación del coeficiente de *inbreeding depression* muestra en relación al control *natural* rangos de 0.65-0.99 (según *frutos*) y 0.88-0.99 (según *semillas*), mostrando en la *evaluación conjunta* (frutos y semillas) una tendencia desde 0.98 (POA y POS) a ≈ 1.00 en el resto de las poblaciones. En relación al control del JBCVC se observan rangos de 0.56 en PPG a ≈ 1.00 en PGB (según *frutos*), 0.88 en POS y ≈ 1.00 en PAC (según *semillas*) y la *evaluación conjunta* (*frutos* y *semillas*) muestra una tendencia desde 0.98 en POA y POS hasta ≈ 1.00 en el resto de las poblaciones.

- En PPG (2004) los niveles de coeficiente de *inbreeding depression* de los individuos testados en relación a los controles *natural* y JBCVC según *frutos* (0.43-0.70 y 0.28-0.71), *semillas* (0.82-0.98 y 0.71-0.98) y la *evaluación conjunta* frutos y semillas (0.90-1.00 y 0.80-0.99), indican más evidencia de presencia de *inbreeding depression* en relación a la población natural. Se observa la misma tendencia a nivel poblacional.

En relación a los experimentos de *polinización cruzada* los individuos testados en *P.platypetala* muestran rangos de 0.31-0.80 (*frutos*), 0.74-0.98 (*semillas*) y 0.82-0.99 (*evaluación conjunta* frutos y semillas). A nivel poblacional manifiesta la presencia de ID según producción de *frutos* (0.66), *semillas* (0.90) y en la *evaluación conjunta de frutos y semillas* (0.97).

4.3 EFICACIA REPRODUCTIVA EN LAS POBLACIONES NATURALES

En primer lugar se aportan los resultados del *Éxito Reproductivo Pre-emergente* (WIENS, *et al.*, 1986), en segundo lugar los del *Éxito Reproductivo Post-emergente* expresado de forma acumulativa según distintas fases del ciclo vital (MEDAN, 1993) en este trabajo según las dos primeras representadas por la *progenie* que sobrevive (% *germinación* de semillas y % supervivencia de *plántulas*).

Por último los resultados de la Eficacia Reproductiva Global o *Éxito Reproductivo Global* (ORS) se establecen mediante el producto del PERS y PoERS (MEDAN, 1993) que asimismo se expresará de forma acumulativa.

4.3.1. *Éxito Reproductivo Pre-emergente (PERS). Inflorescencia*

4.3.1.1. *Éxito y esfuerzo reproductivo. Ratio Fruto/Flor*

Los *ratios* Fr/FI oscilan entre los máximos en PIT y mínimos en PGB. El máximo de flores por inflorescencia lo presenta PAC y el mínimo POV, mientras que el máximo de frutos por infrutescencia en PIA y el mínimo de nuevo en POV (Tabla 2.12 y Fig.2.17).

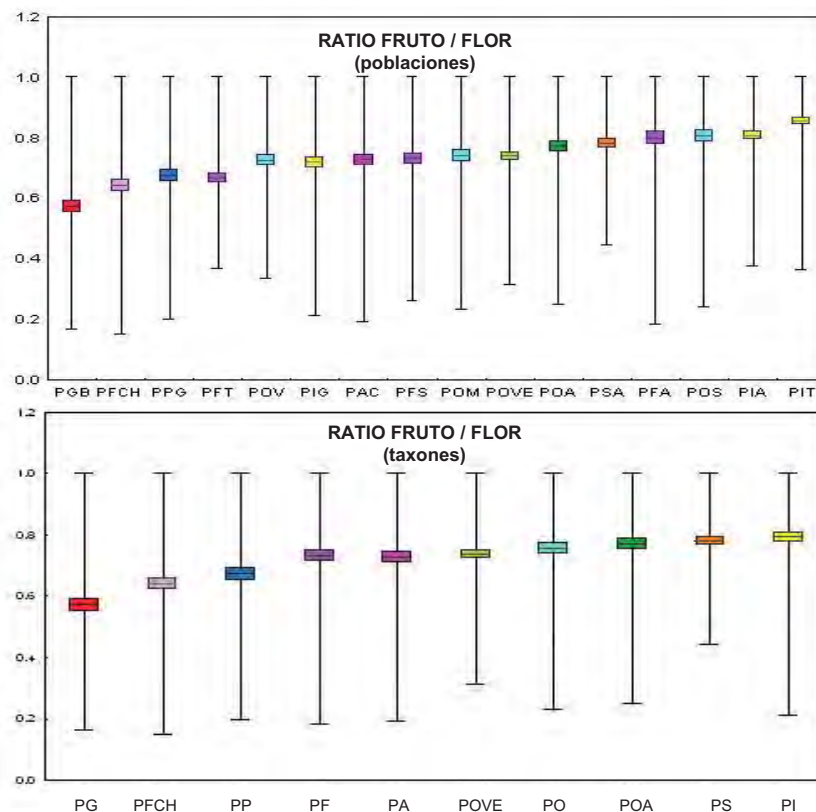


Figura 2.17.- *Ratio Fruto/Flor.* El *ratio* Fr/FI aunque con valores correlativos, diferencia los mínimos (PG) y los máximos (PO-POA-PS-PI) de los intermedios (PFCH, PP, PF, PA y POVE).

A nivel taxon, se observa la misma tendencia que a nivel de población, presentando PI el máximo *ratio* Fr/FI y PG el mínimo. En relación a las flores y silicuas por racimo los máximos se observan en PA, mientras que los mínimos los presenta PP (Tabla 2.12 y Fig.2.17). Los resultados del Kruskal-Wallis muestran diferencias significativas entre poblaciones y taxones (Tabla 2.12 y Anexo 2.2).

Tanto a nivel poblacional como de taxon en el *número de flores por inflorescencia* hay una tendencia a diferenciar 6 grupos correlativos ascendentes que se corresponden 1º) PP (mínimo de flores), 2º) PF-PO, 3º) POVE, 4º) PFCH-POA, 5º) PS-PI y 6º) PG-PA (máximo).

ÉXITO REPRODUCTIVO PRE-EMERGENTE (PERS)										
POB/ TAX	ESFUERZO Y ÉXITO REPRODUCTIVO								PERS Fr/FI x S/O	
	N	FIs/ Infl	Frs/ Infr	ratio Fr/FI	Frs	Óvus/ FI	Ss/Fr	ratio S/O	m	pob
PGB	35	24.17±1.50 (9-41)	13.29±0.98 (4-22)	0.57±0.04 (0.17-1.0)	50	11.58±0.38 (4-18)	6.74±0.52 (1-13)	0.58±0.04 (0.06-1.0)	0.33	0.32
PFS	35	13.51±0.78 (6-24)	9.34±0.49 (6-20)	0.73±0.03 (0.26-1.0)	50	12.08±0.44 (2-18)	8.72±0.69 (1-17)	0.69±0.04 (0.08-1.0)	0.51	0.50
PFA	35	9.00±0.71 (2-24)	6.71±0.51 (2-14)	0.80±0.04 (0.18-1.0)	62	13.15±0.32 (8-18)	9.06±0.58 (1-17)	0.68±0.04 (0.08-1.0)	0.54	0.51
PFT	35	9.31±0.45 (5-19)	6.00±0.31 (3-10)	0.67±0.04 (0.37-1.0)	50	10.36±0.39 (4-20)	5.08±0.46 (1-12)	0.47±0.04 (0.05-0.92)	0.32	0.32
PF	105	10.51±0.43 (2-24)	7.35±0.29 (2-20)	0.73±0.02 (0.18-1.0)	162	11.96±0.24 (2-20)	7.73±0.37 (1-17)	0.62±0.02 (0.05-1.0)	0.45	0.45
POA	35	16.43±1.54 (4-37)	12.26±1.21 (3-31)	0.77±0.03 (0.25-1.0)	65	10.46±0.28 (2-15)	5.82±0.41 (0-14)	0.55±0.03 (0.00-1.0)	0.42	0.41
POVE	35	12.11±0.95 (5-30)	8.57±0.59 (4-20)	0.74±0.03 (0.31-1.0)	65	13.77±0.28 (8-18)	7.34±0.57 (0-16)	0.52±0.04 (0.00-1.0)	0.38	0.38
POS	35	16.18±1.15 (5-33)	12.35±0.92 (5-22)	0.81±0.04 (0.24-1.0)	50	13.84±0.51 (6-20)	8.68±0.80 (1-19)	0.59±0.04 (0.10-1.0)	0.48	0.49
POV	35	7.31±0.46 (4-15)	5.20±0.35 (2-9)	0.72±0.03 (0.33-1.0)	50	15.04±0.50 (5-22)	9.72±0.86 (1-20)	0.62±0.05 (0.05-1.0)	0.45	0.46
POM	35	11.66±0.69 (5-23)	8.57±0.66 (3-17)	0.74±0.03 (0.23-1.0)	50	15.74±0.59 (4-26)	10.28±0.78 (1-20)	0.63±0.04 (0.07-1.0)	0.47	0.48
PO	104	11.67±0.58 (4-33)	8.67±0.48 (2-22)	0.76±0.02 (0.23-1.0)	150	14.88±0.31 (4-26)	9.56±0.47 (1-20)	0.61±0.03 (0.05-1.0)	0.46	0.48
PFCH	35	12.17±0.75 (4-22)	7.23±0.40 (3-12)	0.64±0.03 (0.15-1.0)	79	12.18±0.34 (5-18)	5.78±0.48 (1-17)	0.46±0.03 (0.06-1.0)	0.30	0.28
PPG	35	9.20±0.49 (4-16)	6.11±0.48 (2-14)	0.67±0.04 (0.20-1.0)	65	13.95±0.36 (8-20)	9.48±0.57 (0-20)	0.66±0.03 (0.00-1.0)	0.44	0.45
PIT	35	14.83±0.63 (10-25)	12.69±0.63 (4-22)	0.85±0.02 (0.36-1.0)	50	9.46±0.25 (6-15)	7.04±0.45 (1-14)	0.72±0.03 (0.13-1.0)	0.61	0.64
PIG	35	17.49±0.99 (4-31)	12.29±0.89 (4-27)	0.72±0.03 (0.21-1.0)	50	10.32±0.23 (6-14)	5.56±0.50 (0-12)	0.52±0.05 (0.00-1.0)	0.38	0.38
PIA	35	27.35±3.06 (4-65)	21.24±2.25 (2-58)	0.81±0.03 (0.38-1.0)	50	12.80±0.36 (6-18)	7.84±0.64 (1-15)	0.59±0.04 (0.06-1.0)	0.48	0.48
PI	104	19.82±1.19 (4-65)	15.35±0.91 (2-58)	0.79±0.02 (0.21-1.0)	150	10.86±0.20 (6-18)	6.81±0.32 (0-15)	0.61±0.02 (0.00-1.0)	0.48	0.49
PSA	35	16.00±0.83 (8-26)	12.20±0.63 (4-21)	0.78±0.03 (0.44-1.0)	50	7.20±0.25 (2-12)	5.00±0.34 (0-10)	0.68±0.04 (0.00-1.0)	0.53	0.53
PAC	35	29.34±2.27 (10-59)	20.37±1.68 (7-53)	0.73±0.03 (0.19-1.0)	50	7.44±0.20 (3-10)	4.44±0.34 (0-9)	0.58±0.04 (0.00-1.0)	0.42	0.41
K-Wallis POB		$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	—	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	—	—
K-Wallis TAX		$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	—	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	$p = 0.000$	—	—

Tabla 2.12.- Éxito reproductivo pre-emergente (PERS). POB=población. TAX=taxon. N=nº de individuos analizados. Esfuerzo y éxito reproductivo: NºFIs/Infl=nº de flores por inflorescencia, NºFrs/Infr=nº de frutos por infrutescencia, *ratio* Fr/FI=*ratio* Fruto/Flor, NºFrs=nº de frutos analizados, NºÓvus/FI=nº de óvulos por flor, Nº Ss/Fr=nº de semillas por fruto, *ratio* S/O=*ratio* Semilla/Óvulo. PERS=Fr/FI x S/O: m=media aritmética, pob=poblacional. Kruskal-Wallis: p =probabilidad según la hipótesis nula ($p < 0.5$).

En el *número de frutos por infrutescencia* se diferencian también 6 grupos casi correlativos integrados por 1º) PP (mínimo de frutos), 2º) PF-PFCH, 3º) PO-POVE, 4º) POA, 5º) PG-PS y 6º) PI-PA (máximos). El *ratio* Fr/FI diferencia tres grupos: 1º) PG (mínimos), 2º) PFCH, PP, POVE, PA y PF con intermedios y 3º) PO-PS-POA-PI (máximos).

4.3.1 2. *Éxito y esfuerzo reproductivo. Ratio Semilla/Óvulo*

También PIT presenta el máximo *ratio* S/O mientras que el mínimo se observa en PFCH. El máximo de óvulos por flor lo presenta POM y el mínimo PSA. El máximo de semillas por fruto también POM, mientras que el mínimo PAC (Tabla 2.12 y Fig.2.18).

A nivel taxon el *ratio* S/O mínimo sigue en PFCH, mientras que el máximo se observa en PS. Los máximos de óvulos por flor y semillas por fruto se detectan en PO mientras que los mínimos en PS y PA respectivamente (Tabla 2.12 y Fig.2.18).

Los resultados del Kruskal-Wallis muestran diferencias significativas entre poblaciones y taxones (Tabla 2.12 y Anexo 2.2). En el *nº de semillas por fruto*, tanto a nivel poblacional como de taxon puede diferenciar cuatro grupos casi correlativos que se corresponden con 1º) PA (mínimo de semillas), 2º) PS-PFCH-POA, PG-PI-POVE, 3º) PF y 4º) PO-PP (máximo).

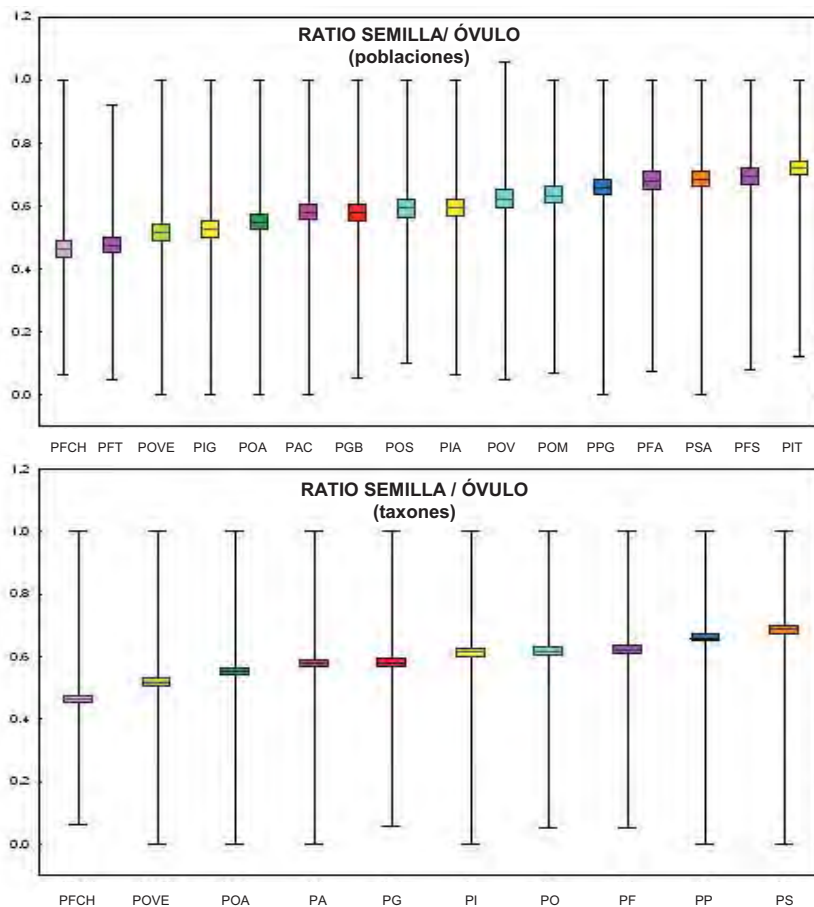


Figura 2.18.- Ratio Semilla/Óvulo. El *ratio* S/O, aunque con valores correlativos diferencia los mínimos (PFCH) y máximos (PP-PS) del resto con valores intermedios.

En el *número de óvulos por flor* se diferencian tres grupos también de valores correlativos integrados por 1º) PS-PA (con el mínimo de óvulos), 2º) POA-PI y PF-PFCH con intermedios y PG solapada entre ambos y 3º) POVE-PP-PO (máximos). El *ratio* S/O también diferencia tres grupos de taxones: 1º) PFCH (mínimo de óvulos), 2º) PP-PS (máximos) y 3º) el resto para los intermedios solapados.

4.3.1.3. Éxito Reproductivo Pre-emergente (PERS)

En el PERS (Fr/FIxS/O), los mínimos se observan en PFCH tanto a nivel de población como de taxon, mientras que PIT presenta los máximos a nivel población, a nivel taxon están en PS. Hay que señalar que prácticamente no se observan diferencias en los valores intermedios ni a nivel de población ni de taxon (Tabla 2.12).

4.3.2. Producción de semillas según la longitud de las valvas: *ratio* S/O

La producción de semillas (*ratio* S/O) según la longitud de los valvas se expresa en la Tabla 2.14 y Anexo 2.2 donde se muestran los estadísticos descriptivos (media, error estándar y rangos) de las tres longitudes de valvas (V1=mayor, V2=intermedia y V3=menor), así como sus respectivos nº de *semillas*, *óvulos* (lóculos) y *ratio* S/O.

Las longitudes (mm) mayores de valva las presenta PGB y las menores PSA, sin embargo, no presentan el mayor nº de óvulos ni de semillas en las valvas mayores. El nº mayor de *óvulos* se observa en POM (V1 y V2) y POV (V3) y el menor en PSA (V1, V2, V3). La producción más alta de *semillas* la presenta también POM (V1 y V2), PFS (V2) y PPG (V3) y la menor PAC (V1 y V2) y PFT (V3).

En líneas generales se observa en cada población, una disminución progresiva del *ratio* S/O desde las valvas mayores (V1) a las menores (V3).

El Kruskal Wallis para la longitud de las valvas, nº de óvulos, nº de semillas y *ratios* S/O en relación a las tres clases de longitud establecidas en cada población, se muestran en la Tabla 2.13 y Anexo 2.2.

PRODUCCIÓN DE SEMILLAS SEGÚN TALLAS DE VALVA					
VARIABLE	CLASE V1 ≠ V2 ≠ V3	CLASE V1 y V2 ≠ V3	CLASE V1 ≠ V2 y V3	CLASE V1 ≠ V3	NS
VALVA_L	todas ***	—	—	—	—
Nº SEMILLAS	PFT*** POVE*** POM*** PFCH*** PIT*** PIG*** PIA***	PFS*** PFA** POA*** POV*** PPG** PSA*** PAC***	POS***	PGB**	—
Nº ÓVULOS	POA*** PFCH*** PIT***	PFS** PFA*** POVE*** POM*** PIG* PIA**	PFT*** POS*** PAC***	PSA**	PGB POV PPG
RATIO S/O	POVE*** PIT***PIG***	PFS*** PFT*** POA*** POV*** POM*** PFCH*** PPG** PIA*** PSA*** PAC***	PGB* POS***	—	PFA

Tabla 2.13.- Producción de semillas según las tres longitudes de valvas (V1, V2 y V3) y *ratio* Semilla/Óvulo. Valoración de los resultados significativos y grupos según Kruskal-Wallis.

1º) En todas las poblaciones las tres *longitudes de valva* difieren significativamente.

2º) En el *nº de semillas* se observan diferencias significativas entre las tres clases en PFT, POVE, POM, PFCH, PIT, PIG y PIA. El *nº de semillas* de V1 y V2 se diferencia del de V3 en PFS, PFA, POA, POV, PPG, PSA y PAC. En POS, V1 se diferencia de V2 y V3, y por último, en PGB se diferencian únicamente el nº de semillas de V1 y V3.

3º) En el *nº de óvulos* se observan diferencias significativas entre V1, V2 y V3 en POA, PFCH y PIT. La V1 y V2 se diferencian de V3 en PFS, PFA, POVE, POM, PIG y PIA. La V1 se diferencia de V2 y V3 en PFT, POS y PAC. En PSA se diferencia únicamente V1 de V3 y, por último, no se observan diferencias significativas entre ellas en PGB, POV y PPG.

Tabla 2.14. PRODUCCIÓN DE SEMILLAS SEGÚN TALLAS DE VALVA

POB	cod	N	Valva_L	Nº ÓVULOS	Nº SEMILLAS	S / O
PGB	V1	17	15.89 ± 0.32 (13.91-18.31) *	12.12 ± 0.51 (8-16)	8.71 ± 0.79 (1-13)	0.73 ± 0.07 (0.11-1.00)
	V2	17	12.40 ± 0.20 (10.73-13.51) *	11.94 ± 0.68 (5-16)	6.41 ± 0.82 (1-12)	0.53 ± 0.07 (0.13-1.00)
	V3	17	7.50 ± 0.49 (3.81-10.21) *	10.65 ± 0.70 (4-18)	4.88 ± 0.86 (1-11)	0.45 ± 0.07 (0.06-1.00)
PFS	V1	17	14.81 ± 0.39 (12.71-17.72) *	13.24 ± 0.56 (10-18)	11.47 ± 0.69 (6-17)	0.87 ± 0.04 (0.40-1.00)
	V2	17	11.68 ± 0.18 (10.35-12.51) *	13.06 ± 0.57 (8-18)	10.94 ± 0.88 (4-17)	0.83 ± 0.05 (0.31-1.00)
	V3	18	7.16 ± 0.38 (3.96-9.39) *	10.00 ± 0.81 (2-14) ↓	3.44 ± 0.76 (1-12) ↓	0.36 ± 0.06 (0.08-1.00)
PFA	V1	21	13.94 ± 0.32 (11.51-17.22) *	14.57 ± 0.46 (11-18)	10.52 ± 1.05 (1-17)	0.71 ± 0.06 (0.08-1.00)
	V2	21	10.42 ± 0.14 (9.45-11.41) *	13.67 ± 0.46 (10-17)	10.76 ± 0.59 (6-16)	0.80 ± 0.04 (0.04-1.00)
	V3	20	6.96 ± 0.38 (3.42-9.30) *	11.15 ± 0.45 (8-14) ↓	6.45 ± 1.00 (1-13) ↓	0.58 ± 0.08 (0.08-1.00)
PFT	V1	17	9.23 ± 0.20 (8.19-10.68) *	12.06 ± 0.31 (10-14) *	8.18 ± 0.54 (4-12) *	0.68 ± 0.04 (0.33-0.92) *
	V2	17	7.20 ± 0.17 (6.15-8.14) *	10.12 ± 0.31 (8-12) *	5.18 ± 0.50 (2-9) *	0.51 ± 0.05 (0.22-0.90) *
	V3	17	4.95 ± 0.19 (3.39-6.11) *	8.06 ± 0.64 (4-12) *	1.65 ± 0.24 (1-4) *	0.21 ± 0.03 (0.05-0.50) *
POA	V1	22	12.15 ± 0.38 (10.37-16.90) *	12.09 ± 0.25 (10-14) *	8.36 ± 0.55 (2-14) *	0.70 ± 0.05 (0.17-1.00)
	V2	22	9.47 ± 0.13 (8.27-10.30) *	10.32 ± 0.37 (5-12) *	6.50 ± 0.48 (3-11) *	0.64 ± 0.04 (0.30-1.00)
	V3	22	6.03 ± 0.30 (3.63-8.27) *	8.82 ± 0.54 (2-15) *	2.41 ± 0.31 (0-6) *	0.30 ± 0.05 (0.00-1.00)
POVE	V1	22	13.14 ± 0.26 (1.44-17.12) *	14.95 ± 0.45 (8-18)	11.77 ± 0.60 (7-16) *	0.79 ± 0.04 (0.47-1.00) *
	V2	22	10.67 ± 0.13 (9.15-11.41) *	14.09 ± 0.35 (12-18)	7.50 ± 0.68 (2-14) *	0.54 ± 0.05 (0.13-0.93) *
	V3	22	6.98 ± 0.31 (3.90-9.02) *	12.09 ± 0.42 (8-16)	2.45 ± 0.41 (0-16) *	0.20 ± 0.03 (0.00-0.50) *
POS	V1	17	11.00 ± 0.48 (9.12-17.63) *	16.65 ± 0.46 (13-20) ↑	14.71 ± 0.74 (8-19) *	0.88 ± 0.03 (0.50-1.00) *
	V2	17	7.93 ± 0.14 (6.96-8.86) *	13.71 ± 0.55 (9-17)	7.47 ± 0.73 (4-14) *	0.56 ± 0.06 (0.25-1.00) *
	V3	17	5.19 ± 0.29 (3.39-6.84) *	11.29 ± 0.99 (6-20)	4.41 ± 1.07 (1-14) *	0.37 ± 0.07 (0.10-0.88) *
POV	V1	17	11.76 ± 0.29 (10.05-14.39) *	16.29 ± 0.65 (10-20)	14.29 ± 0.83 (8-20) *	0.88 ± 0.03 (0.50-1.00) *
	V2	17	8.69 ± 0.20 (7.75-9.96) *	14.65 ± 0.85 (8-22)	10.65 ± 1.31 (3-20) *	0.69 ± 0.06 (0.29-1.06) *
	V3	17	5.85 ± 0.29 (3.21-7.50) *	14.41 ± 1.03 (5-20)	3.71 ± 0.98 (1-15) *	0.26 ± 0.06 (0.05-0.83) *
POM	V1	17	12.41 ± 0.45 (10.94-18.78) *	18.00 ± 0.95 (12-26)	14.94 ± 0.97 (5-20) *	0.83 ± 0.04 (0.42-1.00)
	V2	17	9.52 ± 0.21 (8.02-10.94) *	16.76 ± 0.82 (12-23)	10.94 ± 0.52 (7-15) *	0.67 ± 0.04 (0.39-1.00)
	V3	17	6.11 ± 0.35 (3.37-7.95) *	12.29 ± 0.66 (4-16) ↓	4.41 ± 1.03 (1-13) *	0.36 ± 0.08 (0.07-1.00)
PFCH	V1	27	11.71 ± 0.40 (9.42-17.77) *	14.00 ± 0.39 (11-18) *	9.33 ± 0.84 (2-17) *	0.67 ± 0.06 (0.11-1.00)
	V2	27	8.10 ± 0.12 (6.90-9.23) *	12.26 ± 0.47 (6-17) *	5.67 ± 0.55 (1-12) *	0.47 ± 0.04 (0.08-1.00)
	V3	27	5.78 ± 0.15 (4.09-6.85) *	10.30 ± 0.63 (5-18) *	2.19 ± 0.27 (1-6) *	0.22 ± 0.02 (0.06-0.55) ↓
PPG	V1	22	14.99 ± 0.31 (13.12-18.69) *	14.41 ± 0.56 (8-20)	11.14 ± 0.92 (1-20)	0.75 ± 0.05 (0.08-1.00)
	V2	23	11.08 ± 0.26 (9.40-13.08) *	14.26 ± 0.59 (8-20)	9.96 ± 0.89 (1-17)	0.69 ± 0.05 (0.08-1.00)
	V3	21	7.03 ± 0.30 (4.08-9.35) *	13.05 ± 0.69 (8-18)	6.90 ± 0.98 (0-16)	0.50 ± 0.06 (0.00-0.94)
PIT	V1	17	10.34 ± 0.27 (9.00-13.58) *	11.00 ± 0.37 (9-15) *	10.06 ± 0.42 (7-14) *	0.91 ± 0.02 (0.78-1.00) *
	V2	17	7.79 ± 0.17 (6.46-8.94) *	9.41 ± 0.31 (7-12) *	6.82 ± 0.54 (1-10) *	0.71 ± 0.05 (0.13-1.00) *
	V3	17	5.15 ± 0.22 (2.89-6.43) *	7.88 ± 0.17 (6-9) *	4.00 ± 0.47 (1-8) *	0.51 ± 0.06 (0.13-1.00) *
PIG	V1	17	10.65 ± 0.23 (9.30-12.95) *	10.94 ± 0.33 (8-13)	8.88 ± 0.44 (6-12)	0.81 ± 0.03 (0.54-1.00) *
	V2	17	8.73 ± 0.16 (7.36-9.52) *	10.53 ± 0.30 (8-12)	5.71 ± 0.51 (2-9)	0.54 ± 0.05 (0.22-0.82) *
	V3	17	5.07 ± 0.30 (3.07-7.28) *	9.41 ± 0.48 (6-14)	1.82 ± 0.53 (0-8)	0.19 ± 0.06 (0.00-0.89) *
PIA	V1	17	14.22 ± 0.62 (11.59-21.11) *	14.35 ± 0.47 (11-18)	11.71 ± 0.55 (8-15) *	0.82 ± 0.03 (0.53-0.94)
	V2	17	9.94 ± 0.20 (8.55-11.22) *	12.94 ± 0.43 (8-15)	8.47 ± 0.86 (3-13) *	0.66 ± 0.06 (0.27-1.00)
	V3	17	6.13 ± 0.31 (4.25-8.41) *	11.06 ± 0.67 (6-16) ↓	3.00 ± 0.59 (1-9) *	0.28 ± 0.05 (0.06-0.75)
PSA	V1	17	7.69 ± 0.14 (6.85-8.73) *	8.35 ± 0.38 (6-12)	6.82 ± 0.33 (4-10)	0.83 ± 0.04 (0.55-1.00)
	V2	17	6.02 ± 0.12 (5.44-7.00) *	7.18 ± 0.30 (4-9)	5.41 ± 0.50 (1-8)	0.75 ± 0.06 (0.17-1.00)
	V3	17	4.22 ± 0.18 (2.68-5.25) *	6.12 ± 0.40 (2-8)	2.47 ± 0.41 (0-6) ↓	0.43 ± 0.08 (0.00-1.00) ↓
PAC	V1	17	8.83 ± 0.20 (8.07-11.43) *	8.41 ± 0.17 (7-10)	6.29 ± 0.49 (2-9) *	0.75 ± 0.06 (0.25-1.00)
	V2	17	7.43 ± 0.09 (6.80-8.03) *	7.53 ± 0.19 (6-9)	4.59 ± 0.42 (2-8) *	0.61 ± 0.05 (0.25-1.00)
	V3	17	5.20 ± 0.24 (3.56-6.71) *	6.35 ± 0.39 (3-9) ↓	2.35 ± 0.38 (0-6) *	0.36 ± 0.05 (0.00-0.86)

4º) En relación al *ratio* S/O en la mayoría de las poblaciones (PFS, PFT, POA, POV, POM, PFCH, PPG, PIA, PSA y PAC) la talla mayor e intermedia se diferencian de la talla menor. En POVE, PIT y PIG se observan diferencias significativas entre los *ratio* S/O de las tres longitudes de valvas. En PGB y POS la longitud mayor de valva se diferencia de las otras dos y, por último, en PFA no se encuentran diferencias significativas.

4.3.3. Éxito reproductivo pre-emergente (PERS) de *P. glabriuscula*. Nivel individuo

Los datos del seguimiento de éxito reproductivo por individuo de PGB a lo largo de los cuatro años de observación (2002-2005) se muestran en los diagramas de cajas (Fig.2.19) y Anexo 2.2, donde los resultados por año se expresan según los parámetros estadísticos de media aritmética, error estándar y rangos (máximos y mínimos).

4.3.3.1. Esfuerzo reproductivo: número de inflorescencias, flores y óvulos por individuo

En PGB el máximo de inflorescencias por individuo se observa en el año 2005 (229.7) y el mínimo en el 2003 (186.5). Sin embargo el máximo de flores se produce en el 2003 (2520), mientras que el mínimo el año 2004 (2168). Asimismo el nº mayor de óvulos también se observa en el 2003 y el mínimo en el año 2004 (Anexo 2.2).

4.3.3.2. Éxito reproductivo: número de frutos y semillas por individuo.

El máximo de frutos se presenta en el 2002 (1395), mientras que el mínimo se produce en el 2005 (919). El máximo de semillas por individuo se observa en el 2003 (12223) y el mínimo en el 2004 (3779).

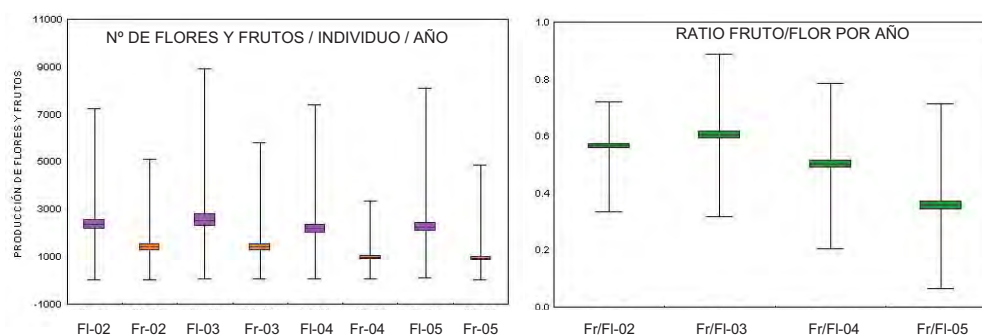


Figura 2.19.- Esfuerzo reproductivo a nivel individuo de *Parolinia grabiusscula* durante los años 2002-2005. Se observan las fluctuaciones en la producción de flores y frutos (a) y *ratio* Fruto/Flor (b) según los distintos años. FI= flores, Fr= frutos, Fr/FI= *ratio* Fruto/Flor.

En cuanto al *ratio* Fr/FI destacar que el año 2005 presenta el mínimo (0.36) y el 2003 el máximo (0.60), mientras que el *ratio* S/O, presenta el mínimo en el 2004 (0.17) y el máximo en el 2003 (0.46). El PERS de PG cambia según el año, observándose el mínimo en el 2004 (0.09) y máximo en el 2003 (0.29). Los valores máximos de estos parámetros corresponden al año 2003.

4.3.4. Medidas cualitativas de fecundidad. Peso de las semillas

Los resultados de la estimación del peso húmedo, peso seco y porcentaje de humedad de las semillas de las distintas poblaciones de *Parolinia* se detallan en la Tabla 2.15 donde se observa que POA presenta los valores más altos tanto de peso húmedo (34.1 mg) como

de peso seco (29.9 mg), mientras que los pesos húmedos más bajos de se observan en POM (19.2 mg) y los de peso seco en PIT (14.8 mg).

Ninguna población, con la excepción de PIT (72.97%), supera el 22% de humedad, observándose el máximo porcentaje de humedad de las semillas en PFS (21.86) y el mínimo en PSA (6.03%).

4.3.5. Éxito Reproductivo Post-emergente (PoERS)

Los resultados del *éxito reproductivo post-emergente* (PoERS) se expresan según las dos primeras fases del ciclo vital: i) % de *germinación de semillas* (PoERS1) y ii) % de supervivencia de *plántulas* (PoERS2). La expresión global acumulativa se calcula como el producto de ambas: PoERS= PoERS1 x PoERS2.

Los resultados de los ensayos de *germinación* utilizando la prueba tipo con agua destilada (2005 y 2006) se expresan según distintos índices en la Tabla 2.16, representando también las *curvas de germinación* (Figs.2.20-2.22). Según los índices obtenidos en los ensayos de germinación habría que resaltar lo siguiente:

El *tiempo de latencia* (L) mínimo oscila entre 2 días (PGB, PFS, POVE, PFCH, PPG, FIG, PIA y PSA) y 6 días en POA, POS, PIT y PAC.

PESO DE SEMILLAS. MEDIDA CUALITATIVA DE FECUNDIDAD				
TAXON	POB	Peso húmedo (mg)	Peso seco (mg)	% Contenido humedad
<i>P. glabriuscula</i>	PGB	27.6	24.2	14.05
<i>P. filifolia</i>	PFS	22.3	18.3	21.86
	PFA	21.7	19.1	13.61
	PFT	22.9	20.6	11.17
POA	POA	34.1	29.9	14.05
POVE	POVE	24.2	21.7	11.52
<i>P. ornata</i>	POS	23.3	20.5	13.66
	POV	24.5	22.6	8.41
	POM	19.2	17.0	12.94
PFCH	PFCH	30.4	27.6	10.14
<i>P. platypetala</i>	PPG	24.0	20.4	17.65
<i>P. intermedia</i>	PIT	25.6	14.8	72.97
	PIG	22.3	19.4	14.29
	PIA	24.8	22.7	9.25
<i>P. schizogynoides</i>	PSA	24.6	23.2	6.03
<i>P. aridanae</i>	PAC	26.3	21.6	13.89

Tabla 2.15.- Peso de las semillas y humedad. Medida cualitativa de fecundidad en las poblaciones de Parolinia según el peso húmedo, peso seco y contenido de humedad.

Los mayores % de germinación en el 2006 los presentaron PFCH (100%) y PFS, PPG y FIG (92%) y los mínimos POS (12%) y PAC (24%). En PSA donde no germinó ninguna semilla en 2006, en los resultados del 2005 se obtuvo un 20% de germinación, con un coeficiente de velocidad de 15.4 y un tiempo medio de germinación de 6.5 días (Tabla 2.16 y Figs.2.20-2.22).

El máximo *coeficiente de velocidad* (C_v) y mínimo *tiempo medio de germinación* (T_m) se observan en FIG ($C_v=32.4$, $T_m=3.1$) y el mínimo C_v y máximo T_m en POA ($C_v=8.1$, $T_m=12.4$). Las *curvas de germinación* (PoERS 1a) en las que se representa el porcentaje de semillas

germinadas de las poblaciones durante los 28 días del ensayo (2006) ó 35 en el caso de PSA (ensayos 2005), se muestran más o menos escaleriformes con zonas más o menos estabilizadas o rectas según las poblaciones (Figs.2.20-2.22).

El número de *plántulas defectuosas* con cotiledones bien desarrollados pero sin raíz, se contabilizan con un máximo de 10 en PFCH y una en POVE, POV, PIA y PSA (Tabla 2.16).

En la estimación del PoERS1 se ha tenido en cuenta también los datos de anteriores ensayos de germinación (Tabla 2.16), utilizándose la media aritmética como valor de PoERS1 (Tabla 2.17), con los máximos en PFCH (100%), PPG (97%), PFS, y PIG (92%) y mínimos en PSA (20%) y PIT (29%).

ENSAYOS DE GERMINACIÓN (PoERS1)							
POB	FECHA DE RECOLECCIÓN	Nº TOTAL SEMILLAS GERMINADAS	% SEMILLAS GERMINADAS	PLÁNTULAS DEFECTUOSAS	L	CV	Tm
PGB	21-10-98 4-6-99/02-07-02	21	77 95-84	3	2	13.2	7.6
PFS	14-10-02	23	92	3	2	16.0	6.3
PFA	04-07-02	10	40	2	4	13.3	7.5
PFT	04-06-00	15	35-60	6	4	8.6	11.7
POA	15-05-97 15-06-00	14	95-60-56	6	6	8.1	12.4
POVE	14-07-03	15	60	1	2	13.8	7.3
POS	12-06-97 31-05-99	3	88 100- 80-12	3	6	10.0	10.0
POV	29-05-00	9	100-36	1	3	8.8	11.3
POM	18-04-97 06-07-02	10	94 80-40	2	4	12.2	8.2
PFCH	13-07-03	25	100	10	2	26.6	3.8
PPG	6-10-98 30-06-02	23	99 100- 92	2	2	19.7	5.1
PIT	27-06-99	8	25-32	7	6	9.0	11.1
PIG	27-09-03	23	92	2	2	32.4	3.1
PIA	27-09-03	20	62-35-80	1	2	28.6	3.5
PSA	26-06-99	5	20	1	2	15.38	6.50
PAC	13-07-99	6	67-25-24	6	6	10.2	9.8

Tabla 2.16.- Resultados de germinación según varios años. POB=población, Nº total de semillas germinadas durante 28 días de tratamiento, % de semillas germinadas (PoERS1), nº de plántulas defectuosas, tiempo de latencia (L), coeficiente de velocidad (CV) y tiempo medio de germinación (Tm). Se detallan los % de germinación obtenidos en varios ensayos para algunas poblaciones.

Los porcentajes de *supervivencia de plántulas* (PoERS2) más altos se encuentran en PGB (0.44), POA (0.41), PIT (0.40) y PPG (0.39) mientras que los más bajos se observan en PSA (0.17) y PFA (0.20), aunque hay que señalar que en algunas poblaciones (PFS, POVE, PFCH y PIG) este parámetro no se pudo estimar y para asignar los valores perdidos se tuvo en cuenta los porcentajes de *plántulas* anómalas, asignando el máximo valor (0.44) obtenido en las demás poblaciones (Tabla 2.17).

Hay que destacar que en el PoERS2 quedan incluidos los % de plántulas que llegan a individuos adultos y florecen, toda vez que no se contabilizan pérdidas en las fases sucesivas de individuos juveniles (x1) y adultos que florecen (x1).

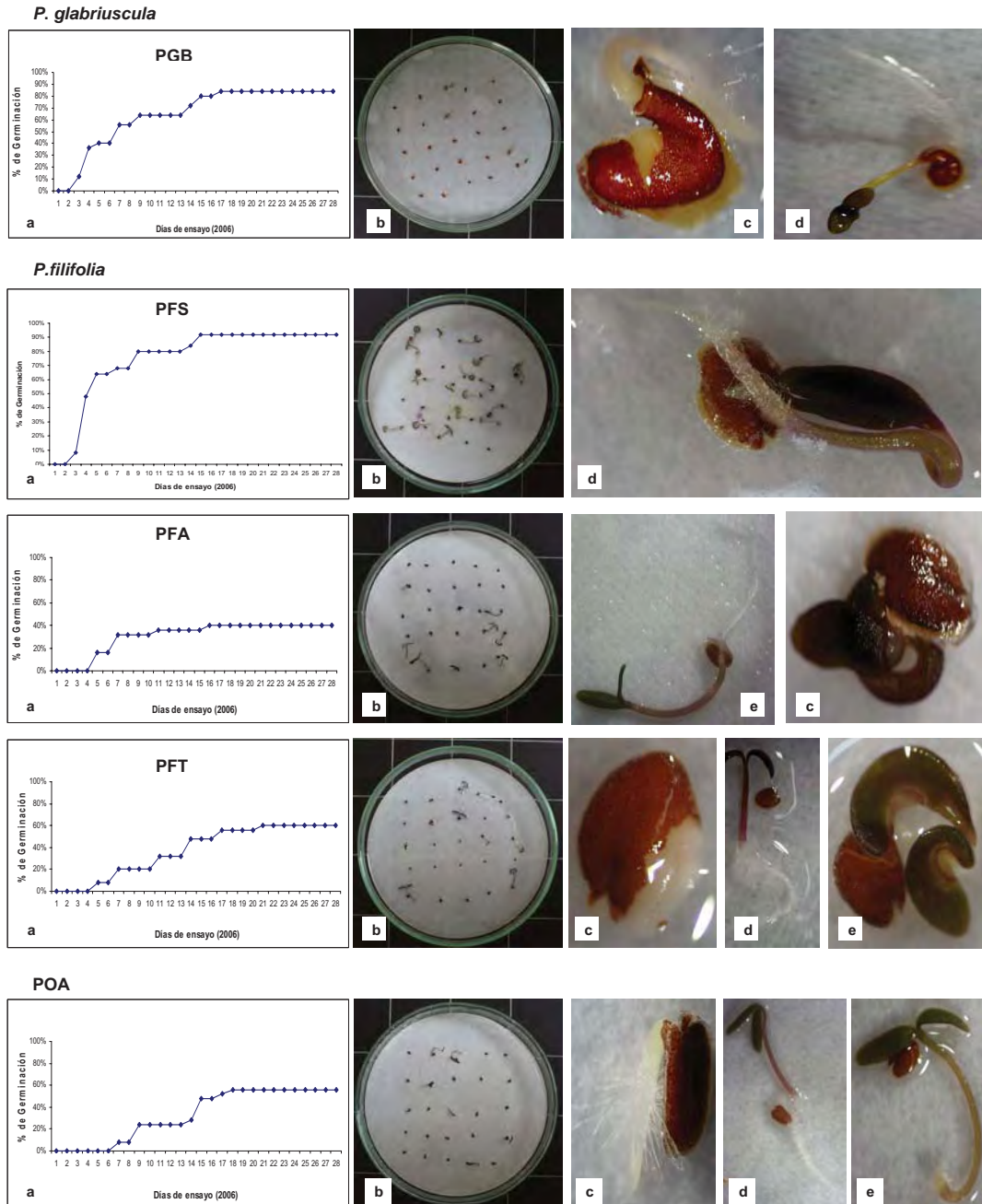


Figura 2.20.- Germinación de semillas en *P.glabriuscula* (PGB), *P.filifolia* (PFS, PFA y PFT) y POA. Gráfica de evolución según la prueba tipo con agua destilada (a). Placa petri con semillas germinadas (b). Semilla germinada con 2 mm de raíz (c). Plántula con cotiledones y raíz (d). Plántula con defecto de desarrollo (e).

Los resultados del *Éxito Reproductivo Post-emergente acumulativo* PoERS o producto de los porcentajes de *germinación de semillas* (PoERS1) y de *supervivencia de plántulas* (PoERS2), se detallan en la Tabla 2.17, donde se observa que los valores máximos los presenta PGB y PPG (0.38) y los mínimos PSA (0.03) y PFA (0.08).

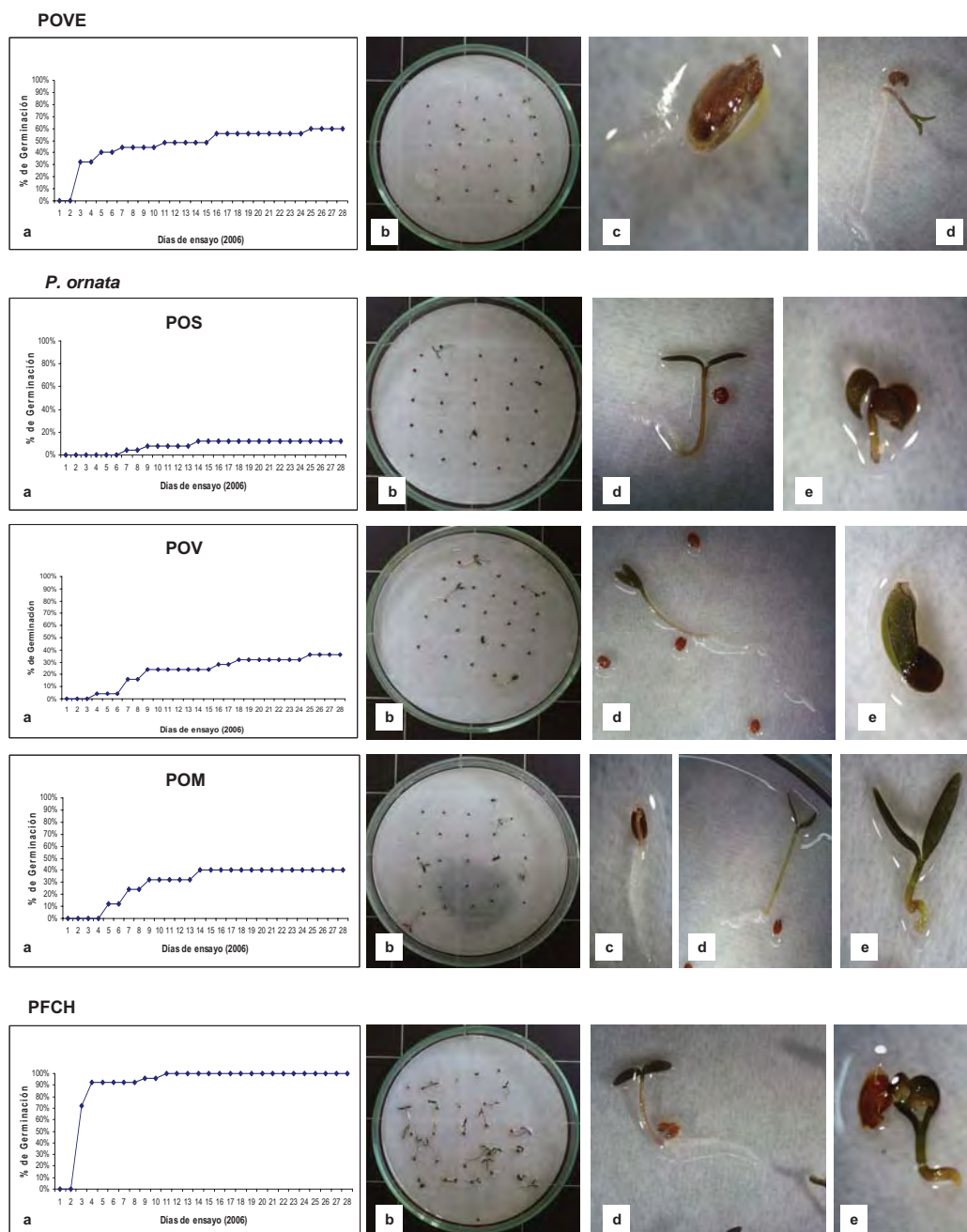


Figura 2.21.- Germinación de semillas en POVE, *P.ornata* (POS, POV y POM) y PFCH. Gráfica de evolución según la prueba tipo con agua destilada (a). Placa petri con semillas germinadas (b). Semilla germinada con 2 mm de raíz (c). Plántula con cotiledones y raíz (d). Plántula con defecto de desarrollo (e).

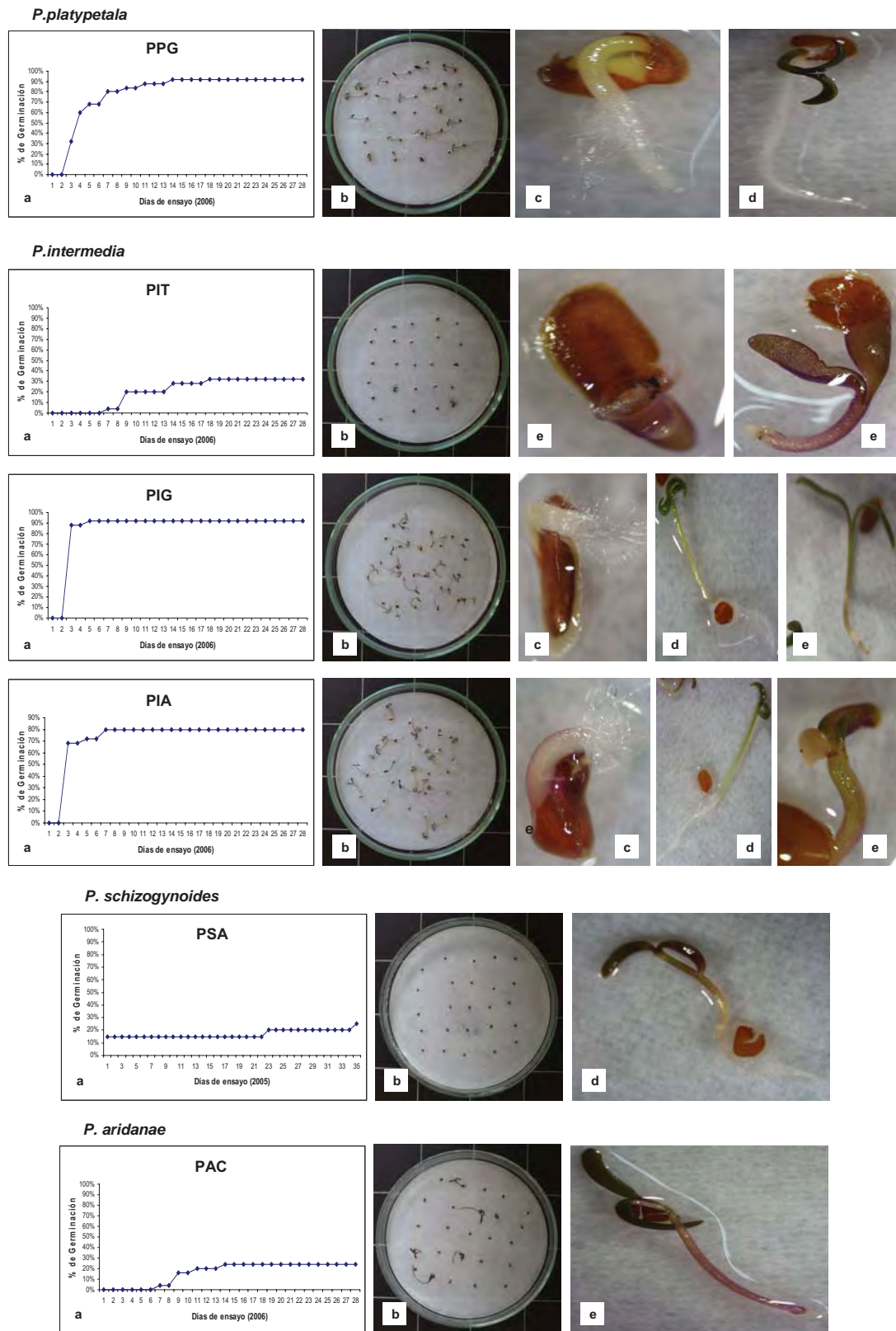


Figura 2.22.- Germinación de semillas en *P. platypetala* (PPG), *P. intermedia* (PIT, PIG, PIA), *P. schizogynoides* (PSA) y *P. aridanae* (PAC). Gráfica de evolución según la prueba tipo con agua destilada (a). Placa petri con semillas germinadas (b). Semilla germinada con 2 mm de raíz (c). Plántula con cotiledones y raíz (d). Plántula con defecto de desarrollo (e)

4.3.6. Eficacia reproductiva global (ORS) y pérdida de vigor (*inbreeding depression*)

El *Éxito Reproductivo Global* o *Eficacia reproductiva* (ORS) se estima según el producto del PERS y PoERS (PoERS1xPoERS2): % de producción de semillas (PERS) x % germinación (PoERS1) x % supervivencia de plántulas (PoERS2).

EFICACIA REPRODUCTIVA GLOBAL (ORS) y PÉRDIDA DE VIGOR (δ) (Medan, 1993; Johnston & Schoen, 1996; Kephart, Brown & Hall, 1999)										
POB	PERS Fr/FIxS/O	PoERS1 germinación	PoERS2 plántulas	PoERS PoERS1x 2	ORS PERS x PoERS	INBREEDING DEPRESSION δ				
						δ_1	δ_2	δ_3	δ_{1-2}	δ_T
PGB	0.33	0.85	0.44	0.38	0.13	0.42	0.15	0.56	0.51	0.78
PFS	0.51	0.92	0.44	0.41	0.21	0.31	0.08	0.56	0.37	0.72
PFA	0.54	0.40	0.20	0.08	0.04	0.32	0.60	0.80	0.73	0.95
PFT	0.32	0.48	0.35	0.17	0.06	0.53	0.52	0.65	0.77	0.92
POA	0.42	0.70	0.41	0.29	0.12	0.45	0.30	0.59	0.62	0.84
POVE	0.38	0.60	0.44	0.27	0.10	0.48	0.40	0.56	0.69	0.86
POS	0.48	0.70	0.30	0.21	0.10	0.41	0.30	0.70	0.59	0.88
POV	0.45	0.68	0.28	0.19	0.09	0.38	0.32	0.72	0.58	0.88
POM	0.47	0.71	0.29	0.21	0.10	0.37	0.29	0.71	0.55	0.87
PFCH	0.30	1.00	0.44	0.44	0.13	0.54	0.00	0.56	0.54	0.80
PPG	0.44	0.97	0.39	0.38	0.17	0.34	0.03	0.61	0.36	0.75
PIT	0.61	0.29	0.40	0.12	0.07	0.28	0.71	0.60	0.79	0.91
PIG	0.38	0.92	0.44	0.41	0.16	0.48	0.08	0.56	0.52	0.79
PIA	0.48	0.59	0.28	0.17	0.08	0.41	0.41	0.72	0.65	0.90
PSA	0.53	0.20	0.17	0.04	0.02	0.32	0.80	0.83	0.86	0.97
PAC	0.42	0.39	0.26	0.10	0.04	0.42	0.61	0.74	0.77	0.94

Tabla 2.17.- Eficacia Reproductiva Global (ORS) y pérdida de vigor o *inbreeding depression* (δ). PERS=Éxito Reproductivo Pre-emergente Fr/FIxS/O. PoERS=Éxito Reproductivo Post-emergente: PoERS1=% germinación de semillas, PoERS2=% supervivencia de plántulas. ORS=Eficacia Reproductiva Global (PERSxPoERS). *Inbreeding depression* δ : δ_1 =% supervivencia de semillas (S/O); δ_2 =% germinación; δ_3 =% supervivencia de plántulas; δ_{1-2} = acumulativo 1 y 2; δ_T =acumulativo 1-2-3. En las fases del ciclo vital hasta individuos adultos que florecen, no se ha observado pérdida de vigor.

Los resultados del ORS teniendo en cuenta las dos fases de la progenie obtenida presentan el mayor *éxito reproductivo global* en PPG (0.17) con mínimos en PSA y PAC con PFA (Tabla 2.17).

Los resultados de la estimación de pérdida de *vigor por consanguinidad* o presencia de *inbreeding depression* (δ) en cada fase del ciclo vital y los coeficientes acumulativos de las distintas fases de la progenie se muestran en la Tabla 2.17. En general, se observa mayor *inbreeding depression* en la fase de supervivencia de plántulas, seguida por la producción de semillas, detectándose el menor δ en la fase de germinación. En las poblaciones naturales estudiadas, los resultados del coeficiente acumulativo total exhiben los mínimos en las poblaciones de mayor *éxito reproductivo* PPG y PGB (0.75-0.78) y los máximos en PSA, PFA y PAC con el mínimo ORS. Hay que señalar que este coeficiente acumulativo no solo incluye las fases de producción, germinación de semillas y supervivencia de plántulas sino que también quedan incluidos los % de plántulas que llegan a individuos adultos, dado que no se observan pérdidas en las fases sucesivas de individuos juveniles hasta adultos que florecen.

4.4. SISTEMAS DE CRUZAMIENTO Y EFICACIA REPRODUCTIVA ANÁLISIS DE CORRELACIÓN

El *análisis de correlación* incluye las variables implicadas en los *sistemas de cruzamiento* evaluados por métodos *indirectos* (12) y referidas a algunos *caracteres florales* según recursos del androceo (número de granos de polen), gineceo (número de óvulos) y *ratio P/O*, teniendo en cuenta además algunos atributos florales como los sépalos, pétalos, anteras, ovario y estigma (Tabla 2.4 y 2.18). Además se incluyen los caracteres de los *sistemas de cruzamiento* obtenidos por métodos *directos* (6) como los *experimentos de polinización* que se refieren a los índices ISI de *auto-incompatibilidad* y *tasa de autogamia* de Karron, así como las *cicatrices de las infrutescencias* (%) como evaluación indirecta de la auto-incompatibilidad (Tablas 2.6, 2.10 y 2.11).

Se incluyen también las variables implicadas en la evaluación de la *eficacia reproductiva* (15) de las poblaciones naturales (Tablas 2.12 y 2.17), datos referidos al *porcentaje de flores* que se transforman en *frutos* maduros, porcentaje de *óvulos* que se transforman en *semillas* viables y que constituyen la nueva progenie mediante el cálculo del PERS (*ratio Fr/Flxratio S/O*) y del PoERS (*%germinación x %plántulas*) que configuran el ORS (Éxito Reproductivo Global); se tienen en cuenta también algunos de los atributos del fruto y de la semilla (longitudes de valvas y semillas), peso húmedo, peso seco y % humedad. Asimismo se incluyen, la talla *poblacional* y cinco caracteres referidos a la presencia de *inbreeding depression* o *pérdida de vigor* en los cruzamientos experimentales y en las distintas fases del ciclo vital (Tablas 2.19 y 2.20 y Figs. del texto y Anexo).

Los resultados del análisis de correlación (Spearman) para las 16 poblaciones analizadas se muestran en la Tabla 2.20 destacando en color rojo los valores de $\alpha=0.05$, en azul $\alpha=0.1$ y en verde $\alpha=0.3$. Se representan gráficamente las correlaciones más importantes, en las que la línea de tendencia muestra los colores asignados al valor de significación (α).

4.4.1. Correlación entre los recursos del androceo y gineceo y caracteres florales

1º) El *ratio P/O* se encuentra positivamente correlacionado con el número de *granos de polen* por flor ($r=0.753$) y con menos intensidad con la *longitud* de las *anteras* ($r=0.609$) con una significación de $\alpha=0.05$.

2º) El *nº de pólenes por flor* además de con el *ratio P/O*, se encuentra positivamente correlacionado con todos los atributos florales, principalmente con la *longitud de las anteras* ($r=0.885$), *longitud de los sépalos* ($r=0.818$) más que con los *pétalos* ($r=0.635$), *número de óvulos por flor* ($r=0.823$) y *ancho del estigma* ($r=0.709$). Con menor significación ($\alpha=0.1$) con la longitud del ovario ($r=0.435$).

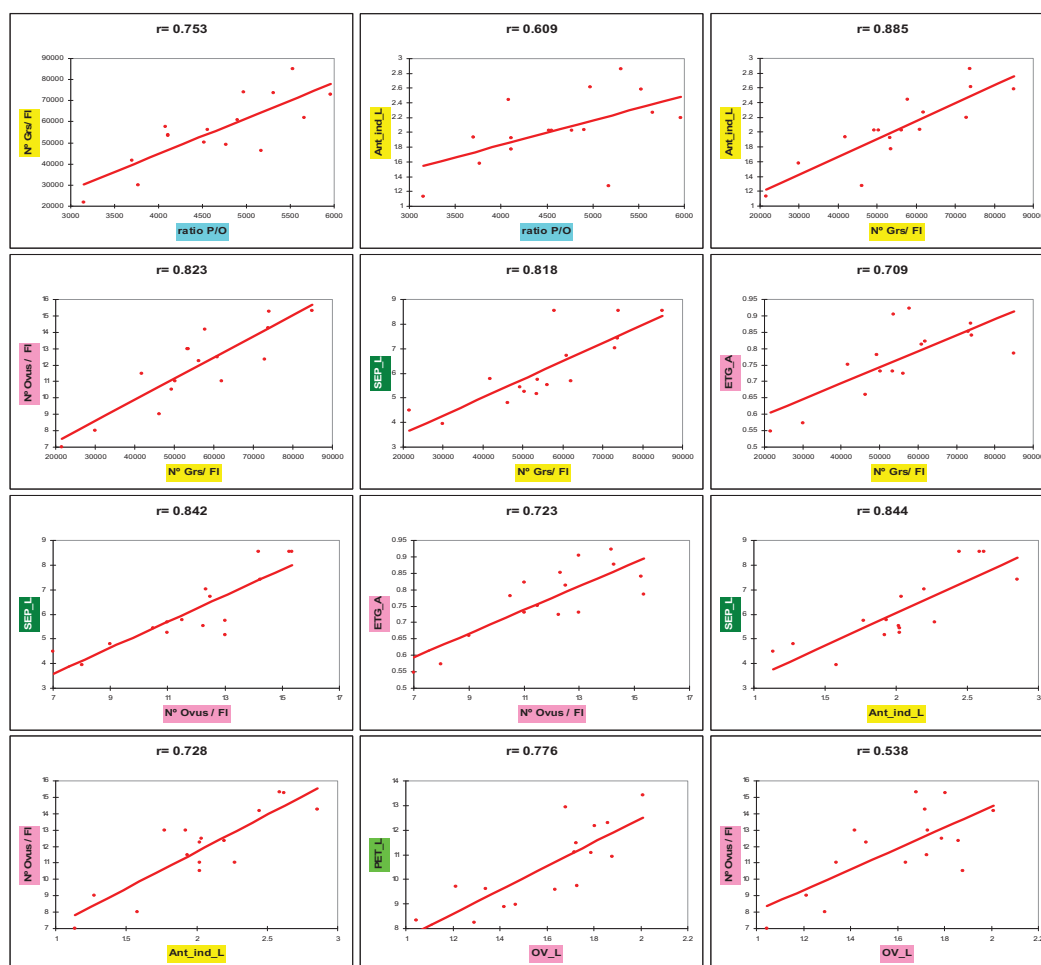
3º) La *longitud de las anteras indehiscentes* además de con el *ratio P/O*, *nº granos por flor* y *nº de óvulos* ($r=0.728$), está fuertemente correlacionada con la *longitud de los sépalos* ($r=0.844$) y menos con los *pétalos* ($r=0.726$), *ancho del estigma* ($r=0.703$) y longitud del ovario ($r=0.585$) a una significación de $\alpha=0.05$.

4º) El *nº de óvulos* por flor, además de con el *nº de pólenes* ($r=0.823$) está fuertemente correlacionado con los *sépalos* ($r=0.842$) y *longitud de anteras indehiscentes* ($r=0.728$) y con el *ancho del estigma* ($r=0.723$). Con menos intensidad con los *pétalos* ($r=0.680$) y *longitud del ovario* ($r=0.538$).

5º) La *longitud del ovario* está fuertemente correlacionada con los *pétalos* ($r=0.776$) y con menos intensidad con los *sépalos* ($r=0.641$), *ancho del estigma* ($r=0.597$), *nº de óvulos* ($r=0.538$) y *longitud de las anteras* ($r=0.585$).

6º) El **ancho del estigma** se encuentra altamente correlacionado con la **longitud de los sépalos** ($r=0.829$), **nº de pólenes por flor** ($r=0.709$) y **nº de óvulos** ($r=0.723$). Con menos intensidad con la **longitud de las anteras** ($r=0.703$), **pétalos** ($r=0.612$), **ovario** ($r=0.597$) y **alto del estigma** ($r=0.597$). También, aunque con $\alpha=0.3$ con el **ratio P/O** ($r=0.403$).

7º) La **longitud de los sépalos** se correlacionan fuertemente con los **pétalos** ($r=0.847$), **longitud de anteras** ($r=0.844$), **ancho del estigma**, **nº de óvulos** ($r=0.842$) y **nº de pólenes por flor** ($r=0.818$). Con menor intensidad con la **longitud del estigma** ($r=0.729$) y del **ovario** ($r=0.641$). Asimismo con menor significación ($\alpha=0.3$) los **sépalos** se correlacionan con el **ratio P/O** ($r=0.421$).



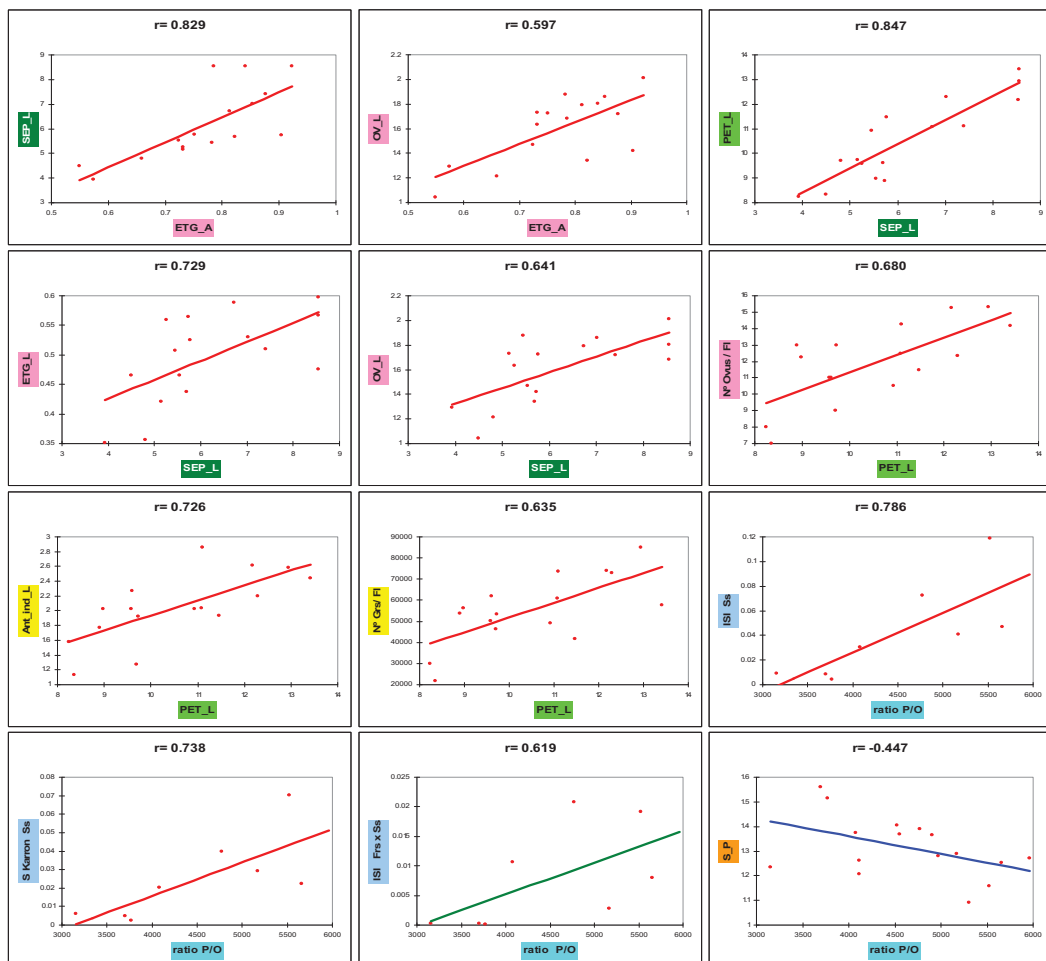
8º) Los **pétalos** prefieren las correlaciones con los **sépalos** (ya mencionados), **longitud del ovario** ($r=0.776$) y la **longitud de las anteras** ($r=0.726$). Con menor intensidad se correlacionan positivamente con **nº de óvulos** ($r=0.680$), **nº de granos de polen** ($r=0.635$), **ancho y alto del estigma** ($r=0.612$ y 0.559) y aunque con menor significación ($\alpha=0.3$) con el **ratio P/O** ($r=0.403$).

Las correlaciones entre los atributos florales han puesto en evidencia dos tendencias. Por un lado, una mayor relación entre los caracteres de las anteras, nº de granos de polen, sépalos, nº de óvulos, y estigma, y por el otro, los pétalos con la longitud del ovario.

4.4.2. Correlación de las variables implicadas en los sistemas de cruzamiento y eficacia reproductiva

Se muestran los resultados del *análisis de correlación* entre los recursos del androceo y gineceo, algunos atributos florales, con los índices *ISI de auto-incompatibilidad* y *tasa S de autogamia* (sistemas de cruzamiento) y algunos de los atributos del fruto y de la semilla, *eficacia reproductiva* y *talla poblacional* (Tabla 2.20).

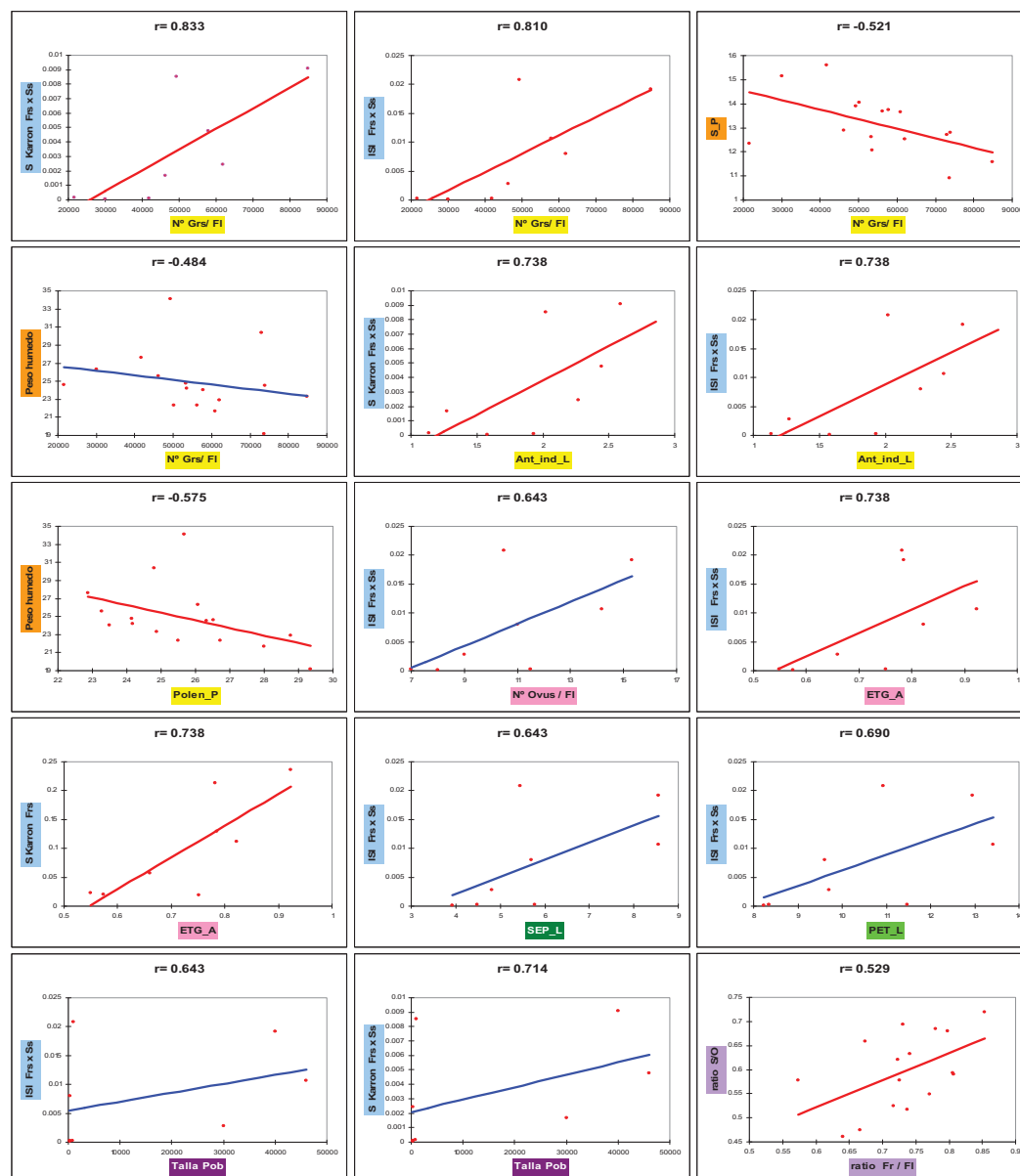
1º) El **ratio P/O**, además de correlacionarse con el *nº de pólenes por flor* ($r=0.753$) y *las anteras* ($r=0.609$), está positivamente correlacionado con los *ISI* y *tasas S*. Con $\alpha=0.05$ el *índice ISI* ($r=0.786$) y la *tasa S de autogamia* para semillas ($r=0.738$); con $\alpha=0.1$ y 0.3 con el resto de *ISI* y *tasa S* poblacional ($r=0.619$ y 0.643). Se correlaciona negativamente con la *longitud de las semillas* ($r=-0.447$) y con la *pérdida de vigor* (δc) detectada en los cruzamientos experimentales según semillas ($r=-0.786$).



2º) El **nº de granos de polen por flor**, además de correlacionarse fuertemente con casi todos los caracteres florales como *anteras* ($r=0.885$), *nº de óvulos*, *ratio P/O*, *ancho del estigma*, *sépalos* y *pétalos* ya mostrados, se encuentra fuertemente correlacionado con todas las variables de los *sistemas de cruzamiento*: *índice ISI* ($r=0.810$, $r=0.762$) y *tasa de autogamia S* ($r=0.738$, $r=0.833$). También en relación a las variables implicadas en la *eficacia reproductiva* se encuentra negativamente correlacionado con la *longitud de las semillas* ($r=-0.521$) y con $\alpha=0.1$ con el *peso húmedo* ($r=-0.484$) y *ORS1* ($r=0.468$). Está negativa-

mente correlacionado con la *pérdida de vigor* detectada en los cruzamientos experimentales δc ($r=-0.810$).

3º) La **longitud de anteras** como el número de pólenes por flor está fuertemente correlacionada con casi todos los atributos florales: *número de pólenes* y *óvulos por flor*, *ratio PIO*, *longitud del ovario*, *ancho del estigma*, *pétalos* y *sépalos* como ya se mostró.



Las anteras se encuentran asimismo positivamente correlacionadas con todas las variables de los *sistemas de cruzamiento* principalmente con el *índice ISI* y *tasa S de autogamia poblacional* ($r=0.738$). También se correlacionan con las variables implicadas en la *eficacia reproductiva* como *PoERS1* ó *% germinación* de semillas ($r=0.521$) y negativamente y con $\alpha=0.1$ con el *peso húmedo* ($r=-0.462$).

4º) La **talla del polen** (P y E) no se encuentra correlacionada con los *sistemas de cruzamiento*. Sin embargo, se correlaciona negativamente con algunas variables de *eficacia*

reproductiva: peso húmedo de semillas ($r=-0.575$ y $r=-0.543$), longitud de valvas (V1 y V) con $r=-0.559$ y -0.512 y con el % de supervivencia de plántulas ($r=-0.538$ y $r=-0.435$).

BIOMETRIAS DE LAS FLORES DEL <i>RATIO P/O</i> SEGÚN POBLACIONES							
POB / TAXON	Nº Ind	SÉPALOS	PÉTALOS	ANTERAS INDEHISCENTES		ESTIGMA	
		Sep_L	Pet_L	Ant_L	Ant_A	ETG_L	ETG_A
PGB	6	5.77±0.11 (4.57-6.48)	11.47±0.13 (10.17-12.29)	1.93±0.05 (1.32-2.41)	0.65±0.04 (0.35-1.05)	0.53±0.04 (0.35-0.65)	0.75±0.05 (0.56-0.97)
PFS	4	5.54±0.26 (3.84-6.65)	8.99±0.61 (6.13-12.85)	2.02±0.05 (1.68-2.45)	0.73±0.04 (0.54-1.14)	0.47±0.02 (0.42-0.49)	0.72±0.02 (0.66-0.76)
PFA	4	6.73±0.19 (5.77-7.89)	11.09±0.13 (10.48-12.01)	2.03±0.04 (1.79-2.39)	0.7±0.01 (0.58-0.76)	0.59±0.04 (0.48-0.66)	0.81±0.07 (0.67-0.97)
PFT	4	5.69±0.1 (4.93-6.26)	9.61±0.26 (8.05-11.09)	2.27±0.03 (2.03-2.58)	0.76±0.02 (0.57-0.93)	0.44±0.05 (0.3-0.53)	0.82±0.09 (0.59-0.98)
PF	12	5.99±0.14 (3.84-7.89)	9.89±0.25 (6.13-12.85)	2.11±0.03 (1.68-2.58)	0.73±0.02 (0.54-1.14)	0.50±0.03 (0.3-0.66)	0.79±0.04 (0.59-0.98)
POA	4	5.45±0.13 (4.8-6.25)	10.93±0.21 (9.98-12.52)	2.02±0.04 (1.7-2.38)	0.7±0.02 (0.5-0.97)	0.51±0.05 (0.36-0.6)	0.78±0.08 (0.56-0.94)
POVE	3	5.74±0.26 (4.2-6.62)	8.9±0.41 (6.86-10.07)	1.77±0.06 (1.5-2.21)	0.6±0.01 (0.51-0.71)	0.56±0.09 (0.39-0.72)	0.9±0.01 (0.89-0.92)
POS	6	8.55±0.17 (7.59-9.99)	12.94±0.38 (10.13-16.3)	2.59±0.07 (1.91-3.42)	0.67±0.03 (0.4-1.02)	0.6±0.04 (0.42-0.7)	0.79±0.03 (0.68-0.92)
POV	4	8.54±0.08 (7.89-9.04)	12.17±0.13 (11.45-12.96)	2.62±0.07 (2.99-3.32)	0.78±0.03 (0.47-1.07)	0.48±0.05 (0.4-0.59)	0.84±0.12 (0.53-1.03)
POM	4	7.40±0.17 (6.64-8.57)	11.1±0.17 (9.89-12.17)	2.85±0.03 (2.51-3.11)	0.75±0.03 (0.59-1.03)	0.51±0.03 (0.48-0.59)	0.88±0.07 (0.76-1.04)
PO	14	8.22±0.11 (6.64-9.99)	12.19±0.2 (9.89-16.3)	2.67±0.04 (1.91-3.42)	0.72±0.02 (0.4-1.07)	0.54±0.03 (0.4-0.7)	0.83±0.04 (0.53-1.04)
PFCH	3	7.02±0.12 (6.6-7.75)	12.29±0.16 (11.36-12.97)	2.19±0.02 (2.05-2.35)	0.75±0.01 (0.68-0.84)	0.53±0.03 (0.48-0.59)	0.85±0.05 (0.76-0.95)
PPG	6	8.55±0.18 (7.58-9.97)	13.41±0.27 (11.69-15.85)	2.44±0.06 (1.91-3.2)	0.72±0.02 (0.35-0.87)	0.57±0.03 (0.49-0.67)	0.92±0.06 (0.77-1.16)
PIT	3	4.81±0.13 (4.19-5.45)	9.7±0.26 (8.28-11.04)	1.28±0.05 (1-1.57)	0.56±0.04 (0.38-0.82)	0.36±0.05 (0.27-0.42)	0.66±0.08 (0.56-0.81)
PIG	3	5.26±0.06 (4.93-5.54)	9.59±0.06 (9.3-9.88)	2.02±0.02 (1.88-2.22)	0.73±0.02 (0.58-0.84)	0.56±0.04 (0.51-0.63)	0.73±0.11 (0.55-0.92)
PIA	3	5.15±0.08 (4.67-5.63)	9.72±0.09 (9.17-10.23)	1.92±0.04 (1.61-2.15)	0.77±0.01 (0.7-0.84)	0.42±0.06 (0.36-0.53)	0.73±0.07 (0.6-0.85)
PI	9	5.07±0.06 (4.19-5.63)	9.67±0.09 (8.28-11.04)	1.74±0.05 (1.0-2.22)	0.69±0.02 (0.38-0.84)	0.45±0.04 (0.27-0.63)	0.71±0.05 (0.55-0.92)
PSA	3	4.49±0.14 (3.7-4.94)	8.35±0.22 (7.25-9.26)	1.14±0.03 (0.88-1.34)	0.65±0.01 (0.56-0.77)	0.47±0.04 (0.4-0.51)	0.55±0.09 (0.38-0.69)
PAC	3	3.93±0.08 (3.51-4.29)	8.24±0.2 (6.38-8.82)	1.58±0.04 (1.23-1.8)	0.72±0.03 (0.55-0.89)	0.35±0.05 (0.28-0.45)	0.57±0.03 (0.52-0.63)
Kruskal-Wallis POB		$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	$p = 0.023$	$p = 0.063$
Kruskal-Wallis TAXON		$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	$p = 0.179$	$p = 0.015$

Tabla 2.18.- Biometrías de los atributos florales implicados en el *ratio P/O*. POB=Poblaciones; NºInd=nº de individuos (nº de flores). Sep_L y Pet_L=media de la longitud de los sépalos y pétalos por flor. Ant_L y Ant_A=media de la longitud y ancho de las tres anteras por flor. ETG_L y ETG_A=media de la longitud y ancho de los estigmas.

5º) El **nº de óvulos** por flor, además de con el **nº de pólenes**, **anteras**, **sépalos**, **pétalos**, **ovario** y **ancho del estigma** como ya se ha comentado, está correlacionado fundamentalmente ($\alpha=0.1$) con el **índice ISI poblacional** ($r=0.643$) y con $\alpha=0.3$ con la **tasa S de autogamia** ($r=0.619$).

En relación a las variables de la *eficacia reproductiva* se correlaciona con el ORS1 ($r=0.573$) y está positivamente correlacionado con $\alpha=0.1$ y $\alpha=0.3$ con la *longitud de valvas* V1 y V ($r=0.490$ y $r=0.398$), con el % *germinación* ($r=0.405$) y negativamente con el *peso húmedo* de las semillas ($r=-0.406$) y con la *longitud* de las mismas ($r=-0.442$).

6°) El **ancho del estigma** es más importante que su altura en sus correlaciones con los atributos florales y *sistemas de cruzamiento*, y además está correlacionado con el *éxito reproductivo*.

Además de correlacionarse con el *n° de pólenes* y *óvulos*, *sépalos*, *pétalos*, *anteras* y *ovario* como ya se ha mostrado, se encuentra positivamente correlacionado con los *sistemas de cruzamiento* principalmente con el *índice ISI* de frutos y *poblacional* ($r=0.881$ y $r=0.738$) y *tasa S* de frutos ($r=0.738$). Con $\alpha=0.1$ se correlaciona con la *tasa S poblacional* ($r=0.690$). En relación a las variables del *éxito reproductivo* aunque con $\alpha=0.1$, está correlacionado con el % *germinación* ($r=0.464$) y *longitud de la valva* ($r=0.429$).

7°) La **longitud del ovario**, no presenta grandes correlaciones con los atributos florales (*n° de óvulo*, *anteras*, *ancho del estigma*, *sépalos*) a excepción de los *pétalos* ($r=0.776$) como se ha visto. Con los *sistemas de cruzamiento* destaca el *ISI* de frutos ($r=0.738$), con $\alpha=0.1$ con el *ISI poblacional* ($r=0.667$) y con $\alpha=0.3$ con la *tasa S* ($r=0.571$, $r=0.500$). En relación a las variables del *éxito reproductivo*, el *ovario* se correlaciona con el % de *germinación* ($r=0.623$), *valvas* ($r=0.609$ y 0.612) y con $\alpha=0.1$ con el ORS1 ($r=0.535$).

8°) La **longitud de los sépalos** además de estar muy fuertemente correlacionada con los *pétalos*, *n° de óvulos*, *pólenes*, *ancho del estigma*, *anteras* y otros atributos florales, está correlacionada, aunque con $\alpha=0.1$, con el *índice ISI* de frutos y *poblacional* ($r=0.714$ y 0.643) y con $\alpha=0.3$, con la *tasa S de autogamia* ($r=0.619$). En relación a las variables del *éxito reproductivo* está fundamentalmente correlacionada con ORS1 ($r=0.568$) y el % *germinación* ($r=0.559$). Con $\alpha=0.1$ con la longitud de las valvas ($r=0.474$).

9°) La **longitud de los pétalos** tiene una correlación más alta que los sépalos con el *ISI poblacional* ($r=0.690$) y *tasa S de autogamia poblacional* ($r=0.643$). En relación al *éxito reproductivo* lo está con el % *germinación* ($r=0.534$) y con $\alpha=0.1$ con el ORS1 ($r=0.500$) y *longitud de valvas* ($r=0.465$ y 0.438).

10°) La **talla poblacional** se encuentra especialmente correlacionada con los *sistemas de cruzamiento*, con el *índice ISI poblacional* ($r=0.643$) y *tasa de autogamia de frutos y poblacional* ($r=0.714$).

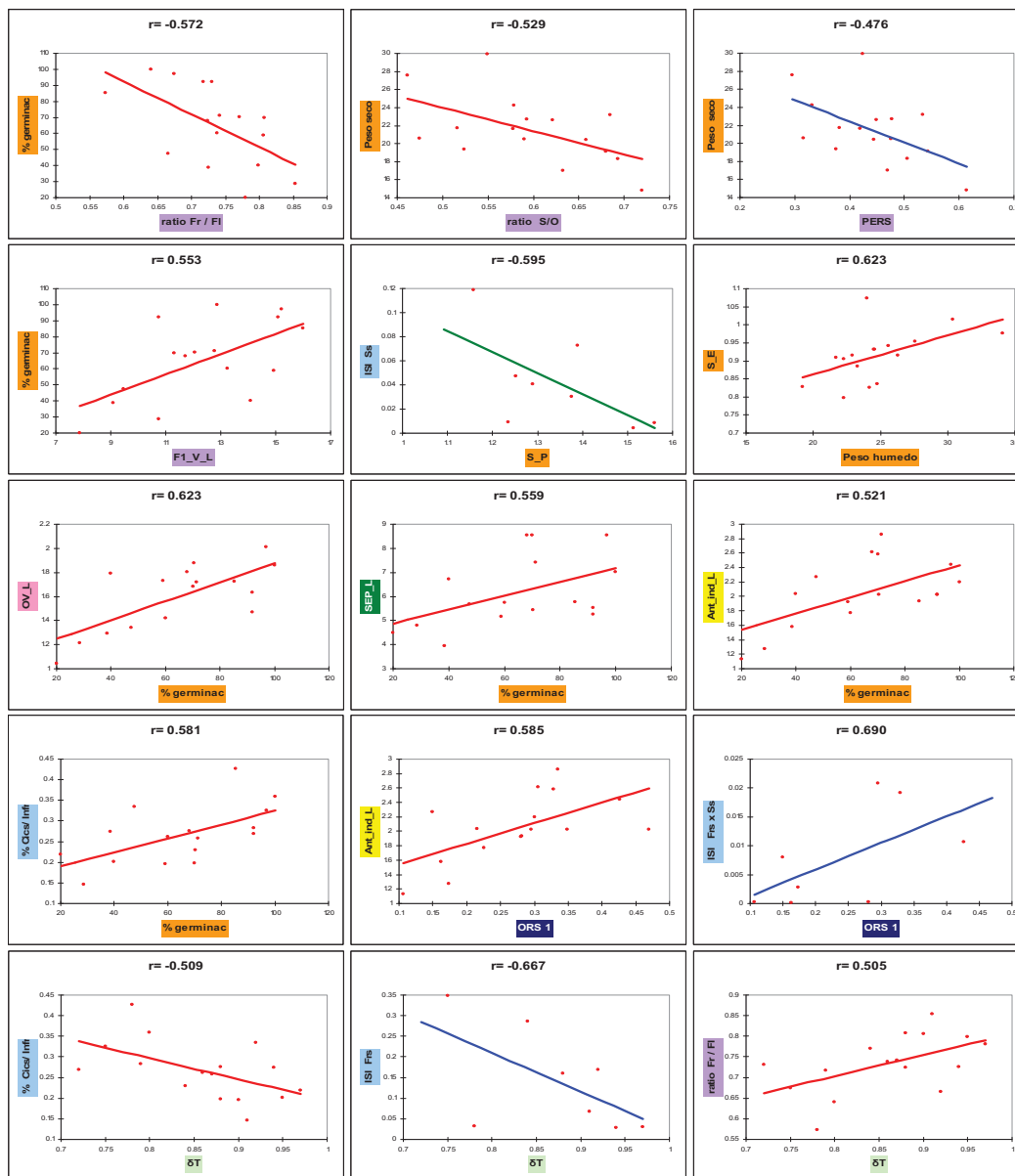
4.4.3. Correlaciones de la eficacia reproductiva

11°) El **porcentaje de cicatrices** por infrutescencia, está correlacionado con el % de *germinación* ($r=0.581$) y negativamente con el *ratio S/O* ($r=-0.532$). Con $\alpha=0.3$ se correlaciona negativamente con la *tasa S de semillas* ($r=-0.548$). Se encuentra especialmente relacionado con el coeficiente δ de *inbreeding depression* acumulativo δ_T ($r=-0.509$) y según fases del ciclo vital, δ_1 y δ_2 de producción y germinación de semillas ($r=0.549$ y $r=-0.577$) y menos con δ_3 (% de supervivencia de plántulas).

12°) El **ratio Fr/FI** se correlaciona poco con el *ratio S/O* ($r=0.529$). Negativamente se correlaciona con el % de *germinación* ($r=-0.572$). Con $\alpha=0.3$ se correlaciona con la *tasa S de semillas* ($r=0.548$) y negativamente con la *talla de las semillas* ($r=-0.400$) y % de supervivencia de plántulas ($r=-0.451$). Además está correlacionado con el coeficiente δ de *inbreeding depression* según fases del ciclo vital ($r=0.567$, $r=-0.549$) y acumulativos ($r=0.530$, $r=0.505$).

13º) El **ratio S/O**, como la variable anterior se encuentra correlacionado solo con las variables implicadas en el *éxito reproductivo*. Se encuentra negativamente correlacionado con el % cicatrices ($r=-0.532$) y peso seco o biomasa de las semillas ($r=-0.529$).

El **PERS** está lógicamente correlacionado con el % cicatrices ($r=-0.829$), con el % de supervivencia ($r=-0.518$) y asimismo, con $\alpha=0.1$, se correlaciona negativamente con el % de germinación ($r=-0.478$) y peso seco o biomasa de las semillas ($r=-0.476$).



14º) La **longitud de las valvas** se observa positivamente correlacionada con la *longitud del ovario* ($r=0.612, 0.609$), *talla del polen* (datos ya mostrados), % de germinación ($r=0.553$) y con $\alpha=0.1$ con **ORS1** ($r=0.485$). Aunque con poca significación ($\alpha=0.3$) también se correlaciona positivamente con el *ISI de frutos y poblacional* ($r=0.548, r=0.524$).

15º) La **talla de las semillas (P)** muestra correlaciones con los atributos florales del androceo y variables implicadas en la *eficacia reproductiva*. Se encuentra negativamente correlacionada con el *nº de pólenes por flor* ($r=-0.521$), *ratio P/O* ($r=-0.447$) y *nº de óvulos*

por flor ($r=-0.442$). Asimismo se encuentra positivamente correlacionada con el % *humedad* ($r=0.594$) y negativamente con el *índice ISI* y *tasa S* ($r=-0.595$, $r=-0.524$) con $\alpha=0.3$

16°) El **peso húmedo** de las *semillas* muestra correlaciones con el androceo y ligeramente con las variables implicadas en la *eficacia reproductiva*. Está positivamente correlacionado con el diámetro de las *semillas* ($r=0.623$) y negativamente con la *talla del polen* ($r=-0.575$ y $r=-0.543$, datos ya mostrados). Con $\alpha=0.1$ se correlaciona con el *n° de pólenes* por flor ($r=-0.484$) y *anteras* ($r=-0.462$).

POB	ANT Ind L	SISTEMAS DE CRUZAMIENTO					Talla POB	EFICACIA REPRODUCTIVA			INBREEDING DEPRESSION			
		N° Grs/ FI	N° Ov/ FI	ratio P/O	ISI	S		ratio S/O	Po ERS	ORS	δ_1	δ_3	δ_{1-2}	δ_T
PGB	1.93	41781	12	3700	0.0003-0.0001 SI		300 (2)	0.58	0.38	0.13	0.42	0.56	0.51	0.78
PFS	2.02	56143	12	4557	-	-	800 (3)	0.69	0.41	0.21	0.31	0.56	0.37	0.72
PFA	2.03	60990	13	4904	-	-	616 (3)	0.68	0.08	0.04	0.32	0.80	0.73	0.95
PFT	2.27	61945	11	5656	0.008 M-SI	0.002 SI	280 (2)	0.47	0.17	0.06	0.53	0.65	0.77	0.92
POA	2.02	49270	11	4774	0.02 M-SI	0.009 SI	1000 (3)	0.55	0.29	0.12	0.45	0.59	0.62	0.84
POVE	1.77	53621	13	4113	-	-	8236 (4)	0.52	0.27	0.10	0.48	0.56	0.69	0.86
POS	2.59	84942	15	5526	0.019 M-SI	0.009 SI	40000 (5)	0.59	0.21	0.10	0.41	0.70	0.59	0.88
POV	2.62	73965	15	4973	-	-	4000 (4)	0.62	0.19	0.09	0.38	0.72	0.58	0.88
POM	2.85	73684	14	5306	-	-	200 (2)	0.63	0.21	0.10	0.37	0.71	0.55	0.87
PFCH	2.19	72999	12	5960	-	-	100 (2)	0.46	0.44	0.13	0.54	0.56	0.54	0.80
PPG	2.44	57807	14	4079	0.011 M-SI	0.005 SI	46000 (5)	0.66	0.38	0.17	0.34	0.61	0.36	0.75
PIT	1.28	46221	9	5171	0.003 SI	0.002 SI	30000 (5)	0.72	0.12	0.07	0.28	0.60	0.79	0.91
PIG	2.02	50297	11	4521	-	-	5000 (4)	0.52	0.41	0.16	0.48	0.56	0.52	0.79
PIA	1.92	53380	13	4110	-	-	150 (2)	0.59	0.17	0.08	0.41	0.72	0.65	0.90
PSA	1.14	21620	7	3154	0.0003-0.0001 SI		800 (3)	0.68	0.04	0.02	0.32	0.83	0.86	0.97
PAC	1.58	29979	8	3768	0.0001- 0.0001 SI		250 (2)	0.58	0.10	0.04	0.42	0.74	0.77	0.94

Tabla 2.19.- Sistemas de cruzamiento, talla poblacional y eficacia reproductiva. POB=población; ANT_ind_L=longitud de anteras indehiscentes; N° Grs/ FI=n° de granos de polen por flor; N° Ov/FI=n° de óvulos por flor; *ratio* P/O. ISI=índice de auto-incompatibilidad y tasa de S de autogamia. *Ratio* S/O=*ratio* Semilla/Óvulo; PoERS=éxito reproductivo post-emergente; ORS (PERSxPoERS)=eficacia reproductiva global. *Inbreeding depression*: δ_1 = producción de semillas, δ_3 = % plántulas, δ_{1-2} = acumulativo producción y germinación de semillas y δ_T = acumulativo total: producción de semillas, germinación y supervivencia de plántulas. En las fases avanzadas del ciclo vital hasta individuos adultos que florecen, no se ha observado pérdida de vigor.

17°) El **peso seco** de las semillas o *biomasa* está negativamente correlacionado con el *ratio S/O* ($r=-0.529$) y el % de *humedad* ($r=-0.506$). Con $\alpha=0.1$ se correlaciona con el *PERS* ($r=-0.476$) y con $\alpha=0.3$ con el *ancho de la semilla* ($r=0.412$).

18°) El % **de humedad** de las semillas, solo se correlaciona con el *éxito reproductivo*. Se correlaciona con la *longitud de las semillas* ($r=0.594$) y negativamente con el *peso seco* ($r=-0.506$) y con $\alpha=0.1$ con el % de *supervivencia* ($r=0.494$).

19°) El % de **germinación** de las semillas (PoERS1) se muestra correlacionado con los tres grupos de variables. Está positivamente correlacionado con la *longitud del ovario* ($r=0.623$), *sépalos* ($r=0.559$), *pétalos* ($r=0.534$), *anteras* ($r=0.521$), *longitud y ancho estigma* ($r=0.509$, $r=0.464$) aunque la última con $\alpha=0.1$. Se correlaciona con el % de *cicatrices* ($r=0.581$) y con $\alpha=0.1$ y $\alpha=0.3$ con el *índice ISI de frutos y poblacional* ($r=0.643$, $r=0.548$). Con el *éxito reproductivo* se correlaciona negativamente con el *ratio Fr/FI* ($r=-0.572$) y positivamente con el % de *supervivencia de plántulas* ($r=0.679$) y con las *valvas* ($r=0.553$, $r=0.478$). Con $\alpha=0.1$, se correlaciona negativamente con el PERS ($r=-0.478$)

20°) El % de **supervivencia de plántulas** no se muestra especialmente correlacionada con ninguno de los grupos de variables. No obstante se observa correlacionado positivamente con el % de *germinación* (ya mencionado) y negativamente la *talla del polen* ($r=-0.538$, $r=-0.435$) y *PERS* ($r=-0.518$). Con $\alpha=0.1$ se correlaciona con el % de *cicatrices* ($r=0.459$) y % *humedad* ($r=0.494$), y con $\alpha=0.3$ con el *ratio Fr/FI* ($r=-0.451$).

21°) El **ORS** (PERSxPoERS) se encuentra especialmente correlacionado con atributos florales como la *longitud de las anteras* ($r=0.585$), *nº de óvulos* ($r=0.573$) y *sépalos* ($r=0.568$). Con $\alpha=0.1$ con la *longitud del ovario* ($r=0.535$), los *pétalos* ($r=0.500$) y *nº de pólenes* ($r=0.468$). Respecto a los *sistemas de cruzamiento* se correlaciona con $\alpha=0.1$ con los *índices ISI de frutos y poblacional* ($r=0.643$, $r=0.690$) y con $\alpha=0.3$, con las tasas de *autogamia S de frutos y poblacional* ($r=0.619$). Asimismo se correlaciona con las *longitudes de valva* ($r=0.485$ y 0.412).

A continuación los cinco últimos caracteres se refieren a la presencia de *pérdida de vigor* (δ) en las distintas fases del *ciclo vital* de *Parolinia* y de forma acumulativa.

22°) La presencia de *pérdida de vigor* (δ) en la fase de *producción de semillas* (δ_1) está correlacionada positivamente con el % de *cicatrices* ($r=0.549$), *ratio Fr/FI* ($r=-0.549$) y *peso seco* de las semillas ($r=0.522$).

23°) La presencia de *inbreeding depression* en la fase de % de *germinación de semillas* (δ_2) está correlacionada negativamente con la *longitud de las anteras* ($r=-0.530$), *ovario* ($r=-0.613$), *longitud del estigma* ($r=-0.521$), *sépalos* ($r=-0.573$), *pétalos* ($r=-0.543$), % *cicatrices* ($r=-0.577$), *ratio Fr/FI* ($r=0.567$), *longitud de valvas* ($r=-0.551$) y % *supervivencia de plántulas* ($r=-0.673$). Con menos significación ($\alpha=0.1$), está correlacionado con el *índice de ISI* ($r=-0.623$), *PERS* ($r=0.473$) y con el *ancho del estigma* ($r=-0.465$).

24°) La presencia de *inbreeding depression* en la fase de % de *supervivencia de plántulas* (δ_3) está correlacionado con el *eje E del polen* ($r=0.538$), *PERS* ($r=0.518$), % *germinación* ($r=-0.679$). Con menos significación ($\alpha=0.1$), está correlacionado con el *eje P del polen* ($r=0.435$), con el % de *cicatrices* ($r=-0.459$) y con el % de *humedad* de las semillas ($r=-0.494$).

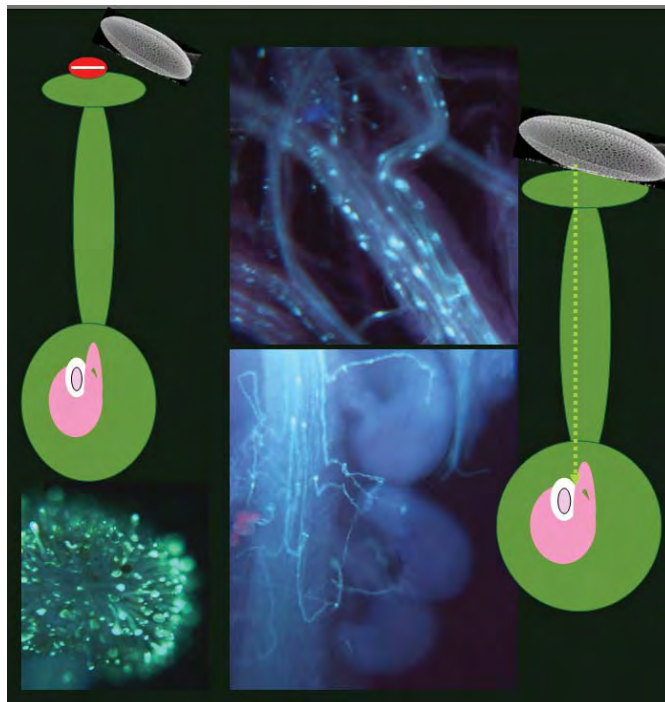
25°) La presencia de *inbreeding depression acumulativo* $\delta_{1,2}$ está correlacionado positivamente con el *ratio Fr/FI* ($r=0.530$) y negativamente con la *longitud de las anteras* ($r=-0.508$), *ovario* ($r=-0.608$), *sépalos* ($r=-0.578$), *pétalos* ($r=-0.540$), % *cicatrices* ($r=-0.536$), *longitud de valvas* ($r=-0.655$, $r=-0.564$) y % *supervivencia* ($r=-0.571$). Con menor significación ($\alpha=0.3$) con el *ISI de frutos y poblacional* ($r=-0.539$ y -0.479).

26°) La *pérdida de vigor acumulado* (δ_T) incluida *supervivencia de plántulas*, está correlacionada con el % *cicatrices* ($r=-0.509$), *ratio Fr/FI* ($r=0.505$), *valvas* ($r=-0.623$, $r=-0.565$). Con menos significación ($\alpha=0.1$) está correlacionado negativamente con el *ISI* ($r=-0.667$).





CAPÍTULO II



Discusión y Conclusiones

5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

1. SISTEMAS DE CRUZAMIENTO. AUTOGAMIA Y XENOGAMIA

Todo parece indicar que *Parolinia* constituye otra excepción a la ley de Baker y que los taxones de este género endémico han podido derivar de ancestros *alógamos* con diversidad genética suficiente para diversificar varias veces después de su llegada a las islas. La especie colonizadora, vendría provista con la capacidad de desarrollar situaciones con *cruzamientos mixtos* y ligera incidencia de *autogamia*, similares a las situaciones con mecanismos de *pseudo-auto-compatibilidad* descritos por algunos autores (CARR, POWELL & KHYOS, 1986; BYERS & MEAGHER, 1992; BARRETT, 2003; LEIMU, 2004; CRAWFORD *et al.*, 2008) y observados ya en Canarias para el género *Tolpis* (CRAWFORD *et al.*, 2008) y en otras floras oceánicas como Hawái para géneros como *Dubautia* (CARR, POWELL & KHYOS, 1986).

***Parolinia*. Niveles de xenogamia y ratio Polen/Óvulo. Tendencias evolutivas**

Según la estimación indirecta de los sistemas de cruzamiento por los *ratios* Polen/Óvulo, todas las poblaciones de *Parolinia* se muestran *xenógamas obligadas* según la clasificación de CRUDEN (1977) con ligeras diferencias que oscilan entre los mínimos de *P.schizogynoides* (PSA: 3154) como menos *xenógama* y la población de Gran Canaria sin adscripción PFCH como más *xenógama* (5960).

En el estudio de 86 especies de Brassicaceae de Israel (BOAZ, PLITMANN & HEYN, 1990) se observa que la *longitud* de los *pétalos* puede ser considerado como un indicador adicional del *sistema de cruzamiento* porque está correlacionado significativamente con el *ratio* P/O. También en el estudio de varias especies de *Erysimum* (NIETO FELINER, 1991) se detecta una relación entre los *ratio* P/O, *longitud de los pétalos* y de las *anteras*.

En *Parolinia* el *ratio* Polen/Óvulo muestra una correlación bastante significativa con el número de granos y talla de las anteras, pero menos significativa con los *sépalos* y *pétalos*. Sin embargo se pone de manifiesto una fuerte correlación entre el *número de pólenes* y *óvulos* independientemente con los *sépalos* y *pétalos*, de manera que las especies con cálices más largos, poseen anteras mayores y más pólenes. La correlación entre el *número de pólenes* y *largo de anteras* con el *ratio* P/O puede asociar indirectamente a los *pétalos* y *sépalos* con la tasa de *xenogamia*, de manera que, las especies con más granos de polen y anteras más largas tendrían, en principio, más *xenogamia*.

Correlaciones del ratio P/O (tasas de xenogamia) con otros atributos florales

Las correlaciones entre los *atributos florales* de *Parolinia*, han puesto en evidencia dos *tendencias evolutivas* caracterizadas por la fuerte correlación (positiva y negativa) de determinados caracteres florales indicando que la coevolución de caracteres asociados puede seguir direcciones opuestas (*anteras*, *número de granos de polen*, *sépalos*, *pétalos*, *número de óvulos*, *estigma* y *ovario*).

La fuerte correlación de los *recursos del androceo* y *gineceo* con el resto de atributos y biometrías florales en *Parolinia*, que ha evidenciado dos *tendencias evolutivas opuestas*, que relacionan por un lado, a los taxones con recursos y atributos florales más pequeños con cálices cortos y flores más abiertas (*P.schizogynoides*, *P.glabriuscula*, *P.aridanae* y

P.intermedia en las islas de La Gomera, Gran Canaria, La Palma y Tenerife) y por otro, a los taxones de atributos florales mayores con cálices más largos y flores más cerradas (*P.ornata* y *P.platypetala* concentradas en la isla de Gran Canaria). Con situación intermedia se encuentra el complejo de *P.filifolia* (incluida PFCH), junto con POA y POVE, poblaciones de Gran Canaria sin clara adscripción taxonómica.

Como excepción hay que poner de manifiesto que *P.platypetala*, a pesar de sus flores cerradas, grandes anteras, cálices y óvulos más cercanos a *P.ornata*, baja el número de pólenes y en este aspecto, se sitúa junto al otro grupo de especies con menor ratio P/O flores más abiertas y atributos florales más pequeños.

En *Parolinia* se pone de manifiesto la correlación observada en otros grupos vegetales por CRUDEN (2000) entre el número de pólenes y óvulos por flor destacando asimismo la fuerte correlación del número de granos con el ancho del estigma (área) pero de forma positiva, de tal manera que, las especies con más granos de polen, poseen grandes anteras y tienen el estigma más ancho, que además está funcionando como órgano de exposición secundaria de polen y reclamo a polinizadores. CRUDEN (2000) también menciona la correlación negativa entre el número de granos y talla del polen, que en *Parolinia* no se pone de manifiesto, seguramente por el polimorfismo polínico observado en todas las especies que afecta no solo al número de aperturas sino también a las tallas polínicas (PÉREZ DE PAZ & FERNÁNDEZ-PALACIOS, 2008; PÉREZ DE PAZ & FERNÁNDEZ-PALACIOS & FEBLES, en prensa).

Asimismo, la fuerte correlación entre el nº de granos por flor y longitud de las anteras, puede reflejar que la mayor producción de polen de las especies con anteras más grandes, pueden estar actuando también como reclamo floral a polinizadores, como ya se ha mencionado para otras Brassicaceae continentales del género *Erysimum* (NIETO FELINER, 1991).

Parolinia. Ratio Polen/Óvulo y otras Brassicaceae

Aunque con distintos ratios P/O que suponen algunas diferencias en los niveles de alogamia, las especies de *Parolinia* se califican como xenógamas obligadas (CRUDEN, 1977) manteniéndose en la misma categoría y no manifestando rangos tan amplios como otros géneros de Brassicaceae cuyos niveles de alogamia comprenden desde la autogamia facultativa a la xenogamia obligada, como ocurre en algunos géneros de la familia con especies en Canarias (PRESTON, 1986; BOAZ, PLITMANN & HEYN, 1990).

En la tribu Matthioleae, mientras *Notoceras bicornis* se presenta como autógama o xenógama facultativa (332), en el género *Matthiola* se encuentran prácticamente todos los niveles y categorías. Como autógama facultativa está *M.parviflora* (P/O=121) frente a *M.aspera* (P/O=1190), *M.livida* (P/O=1293) y *M.longipetala* (P/O=1051) que son xenógamas facultativas, y solo *M.tricuspidata* se considera xenógama obligada (P/O=3838) al igual que el género *Crambe* representado por *C.hispanica* con P/O=10882 (CRUDEN, 1977; PRESTON, 1986; BOAZ, PLITMANN & HEYN, 1990).

Fuera de Matthioleae, el género *Brassica* con ratios P/O desde 4540 a 17947 se considera xenógama obligada. En el género *Descurainia*, *D.sophia* con P/O=200-318 coincide con *D.richardsonii* como autógamas facultativas con ratio P/O=275, frente a *D.richardsonii* var. *viscosa* con P/O=499 que se calificaría como xenógama facultativa. También en el género *Erysimum*, los ratios P/O observados según varios autores oscilan entre 120 y 6800 con especies desde autógamas facultativas a xenógamas obligadas. En *Lobularia*, *L.arabica* (P/O=741) y *L.libyca* (P/O=899) son xenógamas facultativas mientras que *L.maritima* con ratio P/O=5400 a diferencia de sus congéneres, queda como xenógama

obligada (CRUDEN, 1977; PRESTON, 1986; BOAZ, PLITMANN & HEYN, 1990; NIETO FELINER, 1991).

Parolinia. Auto-incompatibilidad y tasas de xenogamia

La interrupción de *tubos polínicos* en el estigma confirma la naturaleza *esporofítica* del *Sistema de Auto-incompatibilidad Homomórfico* típico de la familia Brassicaceae, junto con la ausencia de tubos polínicos en el gineceo. La presencia de calosa en las papilas estigmáticas producto de la reacción de rechazo del polen no compatible, es propia del *Sistema de Auto-incompatibilidad Esporofítico Homomórfico* (SSI).

La coincidencia de los resultados de los *índices ISI de auto-incompatibilidad* en los experimentos de *auto-polinización* y *polinización cruzada* (PPG) como *mayoritariamente auto-incompatible* (M-SI) justifican y refuerzan la misma calificación del resto de las poblaciones en los experimentos de *auto-polinización*.

Los *experimentos de auto-polinización* califican *completamente SI* o *xenógamas obligadas* (según el índice ISI) a las especies de *Parolinia* PG, PS y PA junto con PIT, mientras que el resto de los taxones se muestran *mayoritariamente auto-incompatibles* (M-SI) o *fundamentalmente xenógamos* (FX). En la evaluación de la *tasa S de autogamia* de Karron (menos exigente que el *índice ISI*), todas las poblaciones se manifiestan *completamente auto-incompatibles* (SI) o *xenógamas obligadas* (XO) como los niveles de *xenogamia* según el *ratio Polen/Óvulo* de CRUDEN (1977).

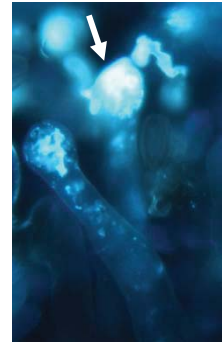
Al contrario que los *ratios Polen/Óvulo*, el *índice ISI* muestra a las especies PA, PS y PG con PIT como las más *xenógamas* (SI o XO), mientras que el resto (PF, PP, PO y POA) se muestran M-SI (FX) destacando que PPG cambia ligeramente según el año.

De todas formas la calificación de *Parolinia* como grupo de especies *fundamentalmente xenógamas* con capacidad de *apareamiento mixto*, está de acuerdo con la idea que muy pocas especies se pueden considerar *completamente autógamas* o *xenógamas*, considerando la incidencia de *autogamia* como una estrategia o mecanismo que garantiza la reproducción (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987; BARRETT & HARDER, 1996; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BARRETT, 2003; LEIMU, 2004; WRIGHT *et al.*, 2008). Estas especies y poblaciones *alógamas* favorecen la *auto-fecundación*, cuando factores ecológicos o ambientales (limitación de polen o escasez de polinizadores) reducen o ponen en peligro los *apareamientos* entre individuos, situaciones habituales después de un evento colonizador con poblaciones pequeñas recientemente establecidas y aisladas, típicas en las floras isleñas (LARSON & BARRETT, 1998; LEIMU, 2004).

Índices de auto-incompatibilidad y niveles de xenogamia (ratio Polen/Óvulo)

Convendría destacar que, en *Parolinia*, la correlación positiva entre el *ratio P/O* y el *índice ISI de auto-incompatibilidad* y/o tasas de *autogamia*, supone en principio una incoherencia ya que en contra de lo esperado supone más *xenogamia* (según *ratio P/O*) en los taxones calificados mas compatibles.

El *ratio P/O* está en consonancia con las tasas mayores de *auto-incompatibilidad* (*xenogamia*) pero “en sentido negativo”, resultando más incompatibles las poblaciones supuestamente menos *alógamas* (PSA, PGB y PAC).



Este tipo de discordancia entre la auto-incompatibilidad y *ratios* Polen/Óvulo también se ha observado en taxones de otras familias que según autores pueden ser favorecida por factores de distinta naturaleza, de manera que hacer conjeturas generalizadas fundamentadas exclusivamente en el *ratio* Polen/Óvulo podría conducir a conclusiones erróneas (TALAVERA, GIBBS & HERRERA, 1993; AFRE & THOMPSON, 1997). Se han observado *ratios* P/O bajos para especies alógamas con *auto-incompatibilidad gametofítica* en el género *Cistus* o también *ratios* altos para especies con *autogamia* de reciente adquisición, en géneros como *Cyclamen*, *Retanilla*, etc., como también en algunos endemismos de islas oceánicas como Juan Fernández (TALAVERA, GIBBS & HERRERA, 1993; AFFRE & THOMPSON, 1997; MEDAN & ARCE, 1999; ANDERSON *et al.*, 2001).

Las *discrepancias* entre las tasas de alogamia según *ratios* P/O y sistemas de auto-incompatibilidad se suelen fundamentar en la distinta *tasa de mutación* entre los caracteres de los recursos y atributos florales y el polimorfismo del *locus* S o variabilidad de alelos de auto-incompatibilidad de la población, donde además de las *mutaciones* pueden intervenir otros factores de carácter estocástico y ambiental como los *cuellos de botella*.

Xenogamia, auto-incompatibilidad y caracteres reproductivos y vegetativos

Las correlaciones entre los distintos *atributos florales*, los *índices ISI* de *auto-incompatibilidad* y *tasas de autogamia* señalan que las *flores más cerradas* de anteras grandes con más pólenes, estigmas más anchos y pétalos más largos, no son propias de los taxones más auto-incompatibles, de manera que, son las *flores abiertas* de anteras cortas con menos pólenes y estigmas más pequeños las que se manifiestan más asociadas a la *auto-incompatibilidad*.

Estas correlaciones también reflejarían dos tendencias evolutivas para los *atributos florales* y *recursos del androceo y gineceo*, que supuestamente, desde situaciones intermedias han derivado por un lado: hacia anteras grandes con mayor número de granos y grandes cálices (en principio más compatibles), y por otro hacia anteras más pequeñas con menor nº de pólenes y cálices más cortos (PG, PS y PA) en principio más auto-incompatibles.

Algunos autores (BECK, AL-SHEHBAZ & SCHAAL, 2006) también encuentran diferencias entre las flores de las especies *auto-compatibles* del género *Leavenworthia* (flores sin olor, estigmas y estilos más cortos) y las *auto-incompatibles*. A diferencia de *Parolinia* (XO), *Leavenworthia* (género con 8 especies anuales) posee sistemas de cruzamiento que varían desde la *xenogamia* (auto-incompatibles) hacia la *autogamia* (auto-compatibles), destacando también la presencia de *poblaciones con cruzamientos mixtos* con individuos auto-incompatibles y auto-compatibles (LYONS & ANTONOVICS, 1991; CHARLESWORTH & YANG, 1998; BUSCH, 2005; BECK, AL-SHEHBAZ & SCHAAL, 2006).

En un estudio de 52 taxones de Brassicaceae de Israel se ha observado la *longitud* de los *pétalos* junto con otros atributos florales como indicadores adicionales del *sistema de cruzamiento* (KUNIN & SHMIDA, 1997) donde la *longitud del pétalo* y *profundidad floral* (longitud del sépalo) están correlacionados con el *sistema de cruzamiento* mostrando *flores grandes y profundas* (más cerradas) en las *especies incompatibles* y flores pequeñas y poco profundas (abiertas) en las auto-compatibles, justamente en sentido inverso a *Parolinia*.

En relación a la fuerte correlación encontrada en algunas Brassicaceae (*Biscutella*, *Capsella* y *Erysimum*) entre el grado de auto-incompatibilidad y *caracteres vegetativos* como el *hábito*, las especies herbáceas anuales se relacionan íntimamente con la auto-compatibilidad y las perennes con la *auto-incompatibilidad* (OLOWOKUDEJO &

HEYWOOD, 1984; NIETO FELINER, 1991; HURKA & NEUFFER, 1997). Se podría afirmar que *Parolinia* cumple esta asociación, toda vez que todas sus especies constituidas por un grupo de arbustos leñosos, muestran un alto grado de auto-incompatibilidad.

Xenogamia, auto-incompatibilidad y talla poblacional

En taxones y poblaciones de una misma especie, para justificar los distintos grados de auto-incompatibilidad (cruzamientos mixtos) relacionados a la diversidad de alelos *S*, se han señalado tres posibles causas (RICHARDS, 1986 y 1997; BYERS & MEAGHER, 1992; LEWIS, 1994; VEKEMANS, SCHIERUP & CHRISTIANSEN, 1998; De NETTANCOURT, 2001; IGIC, BOHS & KOHN, 2003; LEACH & MAYO, 2005; IGIC & KOHN, 2006; ORTIZ *et al.*, 2006; IGIC, LANDE & KOHN, 2008): 1º) *Cuello de botella* con o sin efecto fundador donde la pérdida de individuos (talla poblacional) y de alelos *S* trae como consecuencia reducción de los apareamientos xenógamos, 2º) *Mutación del locus S* con un nuevo alelo compatible dominante, y 3º) *Aumento del vigor* de los *individuos auto-compatibles* con progenie *autógama* frente a los *auto-incompatibles* con progenie *xenógama*. Se señala además como posibles agentes responsables, la limitación de *polinizadores* que favorecería la selección a favor del alelo compatible-mutado, permitiendo *autogamia* y homocigosis, situaciones que explicarían el declive de *auto-incompatibilidad* en las poblaciones mayores de *Parolinia* (POA, POS, PPG).

Por otro lado, en contra de lo esperado, el menor *ratio* Polen/Óvulo sinónimo de *menor nivel de xenogamia* se observa en PSA, PGB y PAC (especies de *Parolinia* presuntamente monotípicas) con las tasas mayores de *auto-incompatibilidad* según los *experimentos de polinización*. Se da el caso que en estas especies, constituidas por una población, la talla poblacional corresponde a la mínima observada en el género. Según las correlaciones de la *talla poblacional e índices de auto-incompatibilidad*, los *niveles de xenogamia* parecen estar supeditados a la variabilidad de alelos *S* en las poblaciones de *Parolinia*, asociados al *sistema SSI* que de alguna manera dependen de la *talla poblacional* (menos alelos *S* en poblaciones pequeñas, más auto-incompatibilidad) lo cual estaría en consonancia con la idea que un mayor número de individuos implicaría una mayor variabilidad de alelos *S* y más posibilidad de cruces fértiles (BYERS & MEAGHER, 1992; VEKEMANS, SCHIERUP & CHRISTIANSEN, 1998; ORTIZ *et al.*, 2006; BUSCH & SCHOEN, 2008).

Parolinia también estaría reforzando la hipótesis que la reducción del número de alelos *S* de *auto-incompatibilidad* (SSI) ante una situación de *cuello de botella* (que puede permanecer millones de años) es responsable de la restricción de apareamientos entre individuos allegados, aunque podría estar neutralizada por la implicación de las relaciones de dominancia de dichos alelos (típica del SSI) o también por la selección de *mutaciones* de compatibilidad (IGIC, BOHS & KOHN, 2003; IGIC & KOHN, 2006; IGIC, LANDE & KOHN, 2008). En este mismo sentido se justificaría la menor producción de frutos y semillas en la inflorescencia control del JBCVC (así como en de la polinización cruzada de *P.platypetala*) en relación al control de las poblaciones naturales, por situaciones de *cuello de botella* en el material cultivado donde las posibilidades de cruces se ven restringidas por la reducción de alelos *S*. Haciendo uso de la precaución que aconsejan los estudios tradicionales en la valoración de estos *índices de auto-incompatibilidad* se debe tener en cuenta que su verosimilitud radica en la comparación con especies congéneres (RICHARDS, 1986 y 1997; DAFNI, 1992; LLOYD, 1992; SCHOEN & LLOYD, 1992; LLOYD & SCHOEN, 1992) que permitan el conocimiento de cuestiones primordiales como:

El carácter generalizado de la presencia de *cruces mixtos* en especies *alógamas* con incidencia variable de las tasas de *auto-xenogamia* y por tanto distintos niveles de *auto-incompatibilidad* según generaciones y situaciones. Las posibles relaciones de dominancia entre los alelos S que compensarían los efectos negativos del declive de la talla poblacional o situaciones de *cuello de botella* que alteran el número de alelos S restringiendo los apareamientos entre individuos allegados. La pérdida irreversible del *sistema de auto-incompatibilidad* (SI) ocurriría como consecuencia de situaciones de auto-compatibilidad (SC) acompañadas por un colapso del *locus* S o por acumulación de mutaciones en los múltiples *loci* implicados con pérdida de la función de auto-incompatibilidad (IGIC, LANDE & KOHN, 2008).

En resumen:

- Las *discrepancias* entre las tasas de alogamia según *ratios* P/O y sistemas de auto-incompatibilidad observadas en *Parolinia*, se fundamentan en la distinta *tasa de mutación* entre los caracteres de los recursos y atributos florales y el polimorfismo del *locus* S o variabilidad de alelos S en la población, donde además de posibles *mutaciones* pueden intervenir otros factores de *carácter ambiental* como los *cuellos de botella* que alteran la *talla poblacional* (nº de alelos S).

- Los distintos niveles de *auto-incompatibilidad* observados están en consonancia con la posibilidad y frecuencia de cruzamientos mixtos (*pseudocompatibilidad*), que según la mayoría de los autores, justifican los distintos niveles de *auto-incompatibilidad* dentro de un mismo género, asociado unas veces al polimorfismo del *locus* S (cuello de botella) o a fenómenos de *dominancia* entre alelos, como se ha revelado en otras Brassicaceae sin omitir la posibilidad de *mutación*.

Parolinia podría constituir un ejemplo que confirmaría la generalización de los cruces mixtos y una de las excepciones a la ley de Baker (*leaky self-incompatibility* o *pseudo-auto-compatibilidad*) donde un evento colonizador, al menos en situaciones isleñas se puede justificar por la llegada de un taxon auto-incompatible con posibilidad de *autogamia* (*pseudo-auto-compatibile*) derivado de ancestros *alógamos* con diversidad genética suficiente que le permite diversificar después de su llegada a las islas (BAKER & COX, 1984; CARR, POWELL & KHYOS, 1986; CRAWFORD *et al.*, 2008).

- Se evidencia una vez más la necesidad de investigación futura en *biología reproductiva* y *diversidad genética* en especies isleñas, como oportunidad única para la *biología evolutiva* y bases genéticas de los procesos de diversificación y especiación que permite el conocimiento de la evolución de los sistemas de cruzamiento (*autogamia* y *alogamia*) y su incidencia en la biodiversidad y estructura poblacional. Desafortunadamente las poblaciones isleñas son más vulnerables a la extinción que las continentales, y muchas de las especies endémicas son raras y se encuentran en peligro. Esto hace más acuciante la necesidad de investigación en las floras isleñas, toda vez que la pérdida de biodiversidad puede suponer asimismo, una pérdida de oportunidad para acceder al conocimiento de los sistemas de cruzamiento y su evolución en ecosistemas isleños.

A la vista de estas consideraciones, habría que considerar la posibilidad de: 1º) extender los experimentos de auto-polinización y polinización cruzada a un mayor número de individuos y de poblaciones de *Parolinia*, 2º) llevar a cabo además experimentos con cruces recíprocos para verificar la relación de dominancia y/o recesividad de los alelos S del polen o del estigma y 3) verificar los experimentos de polinización en individuos no relacionados.

***Parolinia*. Apomixia y agamospermia**

La *pseudogamia* (agamospermia) en la familia Brassicaceae está fuertemente asociada con la poliploidía pero a veces puede ser común en especies diploides, incluso con reproducción asexual, condición extremadamente rara (ROY, 1995; SHARBEL & MITCHELL-OLDS, 2001; DOBES, MITCHELL-OLDS & KOCH, 2004) como también la *diplosporia* o apomixia donde la megaspora aunque entra en meiosis falla en la fase de reducción cromosómica formando núcleos no reducidos (SCHRANZ *et al.*, 2006). En otros géneros la presencia de agamospermia se ha asociado a meiosis anómalas (*Erysimum hieraciifolium* y *Parrya arcaica*) y producción de semillas viables en triploides (GREENE, 1978).

En los tests de *agamospermia* realizados en las poblaciones del género *Parolinia* no se observa formación de semilla alguna y por tanto se considera que la *agamospermia* no está presente, lo que indica también que la *polinización* y *fecundación* es esencial para la producción de frutos y semillas. En este género presumiblemente diploide con $x=11$, no se ha observado ningún síndrome de *agamospermia*, ni presencia de propagación clonal (apomixia).

2. EFICACIA REPRODUCTIVA DE LAS POBLACIONES NATURALES

La capacidad o *eficacia reproductiva* es una cuestión esencial para la valoración de la *eficacia evolutiva* y supervivencia a largo plazo de las especies. Se considera especialmente importante el conocimiento de los factores que determinan el éxito reproductivo, principalmente en especies raras o endémicas donde la baja fecundidad afecta directamente a la dinámica y persistencia de las poblaciones en peligro (WIENS, 1984; WIENS *et al.*, 1987 y 2002; PÉREZ DE PAZ, 2002).

***Parolinia*. Éxito Reproductivo Pre-emergente y sistemas de cruzamiento**

Se ha señalado a la distribución de *recursos* vegetales como uno de los factores determinantes de las tasas de aborto y *ratio S/O*, sin embargo se ha observado que la falta de recursos no afecta a la producción de semillas, siendo más determinante en la producción de flores. La escasa producción de semillas se relaciona más con el *sistema de auto-incompatibilidad* y presencia de *inbreeding depression* y por tanto se considera que está determinada genéticamente (WIENS, 1984; WIENS *et al.*, 1987 y 2002; ALLPHIN, WIENS & HARPERT, 2002).

Según WIENS (1984) la *producción de semillas (ratio S/O)* está relacionada por tanto con los *sistemas de cruzamiento*, observando un mayor éxito reproductivo en especies *autógamas* generalmente herbáceas anuales que en las especies *alógamas* generalmente *perennes* (con *ratios S/O* 0.57 en perennes herbáceas y 0.33 en leñosas).

En *Parolinia* la producción de frutos (*ratio Fr/FI*) generalmente es superior a la producción de semillas (*ratio S/O*) a excepción de algunas poblaciones donde puede ser similar (PPG) e incluso menor (PGB). Los *ratio Fr/FI* varían con situaciones similares a las especies auto-incompatibles y alógamas de los géneros *Cistus*, *Anagallis* y *Hypochoeris* y contraria a la de *Nerium oleander*, que es auto-compatible con una producción de frutos por

debajo del 5% (SUTHERLAND & DELPH, 1984; TALAVERA, GIBBS & HERRERA, 1993; GIBBS & TALAVERA, 2001; ORTÍZ *et al.*, 2006).

En *Parolinia* la producción de semillas (*ratio* S/O) es ligeramente superior a la observada en especies alógamas (WIENS *et al.*, 1987; GIBBS & TALAVERA, 2001). Los valores del PERS también son ligeramente superiores a los encontrados por WIENS *et al.* (1987) y GIBBS & HERRERA (1993) para especies *alógamas* aunque inferiores a las *autógamas*, situación que refuerza a WIENS (1984). El PERS se encuentra más correlacionado con el *ratio* S/O que con el *ratio* Fr/FI que además se correlaciona negativamente con el *peso seco* o *biomasa* de las semillas y *supervivencia de plántulas.*, lo cual indica que el *Éxito Reproductivo Pre-emergente* de *Parolinia* depende más de la formación de semillas que de los frutos, y que a mayor número de semillas, menos *biomasa* y *establecimiento de plántulas*.

Parolinia. Éxito reproductivo (PERS) y sistemas de cruzamiento según *ratio* P/O

En *Parolinia* la correlación entre las variables del *Éxito Reproductivo* (PERS y PoERS) y *ratio* P/O no son muy significativas incluidos *índices de auto-incompatibilidad*. Sin embargo la *talla* de las *semillas* está más relacionada (negativamente) con el *número de pólenes* que con el *número de óvulos* y *ratio* P/O y con el *% humedad*. También aunque menos con el *índice ISI* y *tasa S*.

Según Charnov (PRESTON, 1986) el *ratio* P/O es un reflejo de los recursos masculinos y femeninos, y la *talla* y *cantidad de semillas* sería un componente de esfuerzo. Por otro lado PRESTON (1986) y otros autores (LÓPEZ *et al.*, 2000) encuentran una correlación positiva entre el *peso* y *talla de las semillas* con el *ratio* P/O.

Si los recursos masculinos y femeninos no son independientes, el *establecimiento de plántulas*, podría estar influenciado por el *ratio* P/O pudiendo constituir también un buen indicador de los recursos masculinos y femeninos junto con el *ratio polen-ovulo* (BARRETT, HARDER & WORLEY (1997). No obstante según otros autores hacer conjeturas generalizadas sobre los sistemas de cruzamiento, fundamentadas exclusivamente en la producción de frutos o incluso en el *ratio* P/O puede conducir a *conclusiones erróneas* (TALAVERA, GIBBS & HERRERA, 1993; AFRE & THOMPSON, 1997).

***Parolinia*. Éxito Reproductivo Post-emergente y sistemas de cruzamiento**

- En la *longitud de las valvas* de *Parolinia*, no se pueden establecer relaciones claras y definitivas con el éxito reproductivo (PERS y PoERS) para el conjunto de especies y poblaciones del género, toda vez que por un lado, la *longitud de las mismas* no constituye un carácter taxonómico inherente a la especie, y por otro lado puede estar influenciado por la falta de vigor de los individuos o por factores ambientales.

La *longitud de las valvas* se correlaciona con la del *ovario* pero no se ha encontrado ninguna relación significativa con la producción de semillas a pesar que el *ratio* S/O de las valvas más pequeñas (V3) es significativamente menor al de las mayores (V1 y V2) en la mayoría de las poblaciones. Sin embargo la correlación positiva entre las valvas y la *germinación de semillas* y negativa con el *coeficiente* δ (δ_T) en las fases más tempranas de la progenie, podría revelar que, la abundancia de silicuas pequeñas (en poblaciones donde coexisten con valvas grandes), podría ser una manifestación de pérdida de *vigor*.

La capacidad *germinativa* de *Parolinia* es relativamente alta, no mostrando síntomas de dormancia observados en otros géneros de Brassicaceae como *Arabidopsis*, *Cardamine*,

Morettia, *Lesquerella* y *Degenia* (STORK & WÜEST, 1980; BASKIN & BASKIN, 1990 y 1995; MUNIR *et al.*, 2001; NAUMOVSKI, 2005) aunque los resultados de MAYA, MONZÓN & PONCE (1988) muestran para *P. filifolia* (PFS) que la capacidad germinativa de las semillas disminuye (50%) después de la deshidratación y almacenamiento posterior en los Bancos de Semillas (a una temperatura de -5°C en la cámara frigorífica).

- El % de *germinación* de las semillas (PoERS1) se muestra positivamente correlacionado con casi todos los atributos florales (*sépalos*, *pétalos*, *anteras*, *estigma*, *longitud del ovario*) y con las *valvas*. Asimismo con la formación de frutos (negativamente) y % de *cicatrices en la inflorescencia*. También con el *índice ISI de auto-incompatibilidad* aunque menos significativamente.

- Los resultados del análisis de correlación muestran que el *porcentaje de cicatrices* se encuentra negativamente correlacionadas con el *ratio S/O* y coeficiente δ_T y positivamente con el porcentaje de *germinación*. Esto revelaría que cuantas más cicatrices menos producción de semillas, pero no estarían afectando a la germinación de semillas que en este sentido no presentan pérdida de vigor. Por otro lado aunque con menos significación la correlación negativa con la *tasa S* de semillas señalaría que cuanto más compatibles menos cicatrices. Como conclusión se podría decir que las cicatrices se podrían considerar como una evidencia indirecta de auto-incompatibilidad.

- El % de *supervivencia de plántulas* (PoERS2) se correlaciona negativamente con el PERS y pone en evidencia que la mayor producción de frutos y semillas se corresponde con un bajo rendimiento en el *establecimiento de plántulas* en las especies y poblaciones de *Parolinia*.

Sistemas de Cruzamiento y eficacia reproductiva. *Inbreeding depression*

Parolinia. Xenogamia e Inbreeding depression (δ)

La presencia de *inbreeding depression* en la progenie de las poblaciones naturales de *Parolinia*, en fases tempranas del ciclo vital (mayor en la producción de semillas y establecimiento de plántulas que en la germinación) se encuentra correlacionada negativamente con el *índice ISI de auto-incompatibilidad*, % de *cicatrices por infrutescencia*, % de *frutos* y *longitud de las valvas*, lo cual evidencia que a mayor *inbreeding depression* mayor índice de alogamia, menor % frutos y silicuas con valvas más pequeñas.

La presencia de *inbreeding depression acumulativo* (δ_T) incluida *supervivencia de plántulas*, está correlacionada positivamente con el *ratio Fr/FI* y negativamente con la *longitud de las valvas* y %*humedad*. Con menos significación con el *ISI de auto-incompatibilidad*.

Esto concuerda con que las especies o poblaciones *alógamas* pueden expresar *inbreeding depression* generalmente de forma temprana en el ciclo vital (BARRETT & HARDER, 1996; HUSBAND & SCHEMSKE, 1995 y 1996; GIBBS, 1997).

Actualmente se tiene la idea de que la *pérdida de vigor por endogamia* o presencia de *inbreeding depression*, es la principal fuerza selectiva en la evolución y mantenimiento de los *sistemas de cruzamiento* (*autogamia* y *alogamia*) de las poblaciones naturales. Todo parece indicar que *Parolinia*, *fundamentalmente xenógama*, posee la capacidad de desarrollar situaciones con *cruzamientos mixtos* y ligera incidencia de *autogamia*, similares a las situaciones con mecanismos de *pseudo-auto-compatibilidad* descritos por algunos autores y observados ya en Canarias para el género *Tolpis* y en otras floras oceánicas

como Hawaii para géneros como *Dubautia* (CARR, POWELL & KHYOS, 1986; BYERS & MEAGHER, 1992; BARRETT, 2003; LEIMU, 2004; CRAWFORD *et al.*, 2008).

Inbreeding depression y eficacia reproductiva en poblaciones naturales

Todas las poblaciones naturales de *Parolinia* presentan niveles de *inbreeding depression* en fases tempranas de la *progenie* (producción y germinación de semillas y establecimiento de plántulas) que además se encuentran en los rangos establecidos ($\delta \geq 0.53$) por varios autores para especies predominantemente *xenógamas* (HUSBAND & SCHEMSKE, 1996; KEPHART, BROWN & HALL, 1999).

Auto-incompatibilidad, cuello de botella y reducción del éxito reproductivo

Aunque las especies alógamas auto-incompatibles tienen *ratios* bajos de fecundidad, los cuellos de botella en poblaciones especialmente pequeñas pueden agravar más esta situación, disminuyendo la variabilidad de alelos S y con ello mermando la posibilidad de cruces fértiles y producción de semillas lo que aumenta el riesgo de extinción de estas especies (BYERS & MEAGHER, 1992; VEKEMANS, SCHIERUP & CHRISTIANSEN, 1998; CASTRIC & VEKEMANS, 2004; BUSCH & SCHOEN, 2008).

Las poblaciones con *ratios* $S/O \leq 5\%$ se deben considerar en la "zona roja" de extinción porque supone que la *eficacia reproductiva* está afectada por la baja producción de semillas y *supervivencia de plántulas* (WIENS *et al.*, 2002). Para un $PERS \leq 5\%$ se recomienda la inclusión en *listas rojas de especies amenazadas* que prevean planes de actuación y recuperación urgentes (WIENS *et al.*, 2002).

Según este criterio, *Parolinia* no estaría en la "zona roja de extinción", pero eso no significa que se deba excluir de las listas rojas y planes y estrategias de recuperación, dada la fragilidad de sus hábitats y fragmentación de algunas de sus poblaciones, a las que afectarían *cuellos de botella* severos provocados por factores ambientales pudiendo causar una pérdida irreversible de la diversidad del *locus* S y por tanto limitación severa de los cruces fértiles y consecuente pérdida de su éxito reproductivo.



PAROLINIA. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN ENTRE SISTEMAS DE CRUZAMIENTO Y EFICACIA REPRODUCTIVA																																					
Variables	SISTEMAS DE CRUZAMIENTO															EFICACIA REPRODUCTIVA													Talla Pob	δ _T							
	CARACTERES FLORALES Y RECURSOS DEL ANDROCEO Y GINECEO										INDICES DE AUTO-INCOMPATIBILIDAD					ÉXITO REPRODUCTIVO PRE-EMERGENTE								PoERS			ORS										
	Nº Grs/ Fl	Nº Ovu/ Fl	ratio P/O	Polen P	Polen E	Ant L	Ant A	Ova L	Etg L	Etg A	Sep L	Pet L	%Cic/ Infr	ISI Frs	ISI Ss	ISI Fr x Ss	S Karr Frs	SKarr Ss	S Karr Frx Ss	ratio Fr/Fl	ratio S/O	PERS	V1_L	V_L	S_P	S_E	Peso hum	Peso seco			% hum	% germ	% super	ORS1			
NºGrs / Fl	1																																				
NºOvus / Fl	0.823	1																																			
ratio P/O	0.753	0.340	1																																		
Polen P	0.274	-0.057	0.288	1																																	
Polen E	0.321	0.012	0.294	0.982	1																																
Ant_L	0.885	0.728	0.609	0.368	0.400	1																															
Ant_A	0.500	0.330	0.335	0.400	0.447	0.550	1																														
Ova_L	0.435	0.538	0.162	-0.159	-0.082	0.585	0.365	1																													
Etg_L	0.479	0.580	0.156	-0.024	-0.050	0.503	-0.185	0.494	1																												
Etg_A	0.709	0.723	0.403	0.021	0.032	0.703	0.250	0.597	0.597	1																											
Sep_L	0.818	0.842	0.421	-0.026	0.021	0.844	0.203	0.641	0.729	0.829	1																										
Pet_L	0.635	0.680	0.403	-0.250	-0.176	0.726	0.200	0.776	0.559	0.612	0.847	1																									
% Cics/Infr	0.088	-0.021	-0.038	0.003	-0.050	0.291	0.341	0.244	0.141	0.335	0.294	0.176	1																								
ISI Frs	0.762	0.619	0.548	-0.095	-0.095	0.714	0.310	0.738	0.524	0.881	0.714	0.690	0.119	1																							
ISI Ss	0.810	0.476	0.786	0.095	0.095	0.595	0.024	0.262	0.429	0.548	0.429	0.429	-0.405	0.667	1																						
ISI Fr x Ss	0.810	0.643	0.619	-0.119	-0.119	0.738	0.143	0.667	0.619	0.738	0.643	0.690	-0.143	0.881	0.881	1																					
S Karron Frs	0.714	0.476	0.524	0.071	0.071	0.667	0.286	0.571	0.476	0.738	0.548	0.571	-0.190	0.905	0.714	0.857	1																				
S Karron Ss	0.738	0.429	0.738	-0.048	-0.048	0.500	-0.143	0.214	0.405	0.452	0.381	0.452	-0.548	0.619	0.976	0.857	0.690	1																			
S Karr Fr x Ss	0.833	0.619	0.643	0.000	0.000	0.738	0.095	0.500	0.643	0.690	0.619	0.643	-0.310	0.810	0.929	0.952	0.881	0.905	1																		
ratio Fr/Fl	-0.062	0.034	0.065	0.006	0.056	-0.265	-0.371	-0.253	-0.103	-0.326	-0.262	-0.156	-0.997	-0.119	0.405	0.143	0.190	0.548	0.310	1																	
ratio S/O	-0.124	0.015	-0.215	-0.074	0.012	-0.156	-0.268	-0.153	-0.162	-0.326	-0.059	-0.003	-0.532	-0.190	-0.143	-0.214	-0.048	0.024	-0.071	0.529	1																
PERS	-0.071	0.040	-0.088	0.015	0.103	-0.215	-0.285	-0.203	-0.147	-0.371	-0.165	-0.094	-0.829	-0.071	0.190	0.048	0.190	0.357	0.214	0.826	0.900	1															
V1_L	0.179	0.490	-0.150	-0.512	-0.462	0.171	0.026	0.609	0.403	0.429	0.474	0.465	0.174	0.548	0.167	0.524	0.286	0.190	0.333	-0.194	0.138	-0.006	1														
V_L	0.076	0.398	-0.168	-0.559	-0.512	0.079	-0.041	0.612	0.347	0.318	0.353	0.438	0.032	0.548	0.167	0.524	0.286	0.190	0.333	-0.056	0.124	0.044	0.965	1													
S_P	-0.521	-0.442	-0.447	-0.256	-0.268	-0.256	-0.062	0.206	-0.106	-0.347	-0.262	-0.074	0.388	-0.143	-0.595	-0.262	-0.357	-0.571	-0.524	-0.400	-0.021	-0.218	0.194	0.229	1												
S_E	-0.165	-0.262	-0.029	-0.382	-0.329	-0.026	-0.144	0.362	-0.100	0.059	0.129	0.397	0.312	0.524	-0.095	0.286	0.333	-0.048	0.095	-0.309	0.071	-0.129	0.121	0.135	0.356	1											
Peso hum	-0.484	-0.406	-0.225	-0.575	-0.543	-0.462	-0.205	0.128	-0.353	-0.243	-0.324	0.019	0.099	-0.262	-0.357	-0.143	-0.333	-0.262	-0.357	-0.113	-0.278	-0.272	-0.035	0.069	0.340	0.623	1										
Peso seco	-0.229	-0.158	-0.247	-0.226	-0.197	-0.182	0.059	0.306	-0.059	0.015	-0.085	0.074	0.288	-0.214	-0.190	-0.071	-0.310	-0.262	-0.214	-0.303	-0.529	-0.476	0.026	0.091	0.112	0.412	0.745	1									
% h ^o um	-0.253	-0.196	-0.100	-0.353	-0.418	-0.112	-0.388	-0.021	0.097	-0.200	-0.059	0.018	0.029	0.286	-0.095	0.167	0.143	0.048	0.000	-0.012	0.265	0.097	0.247	0.288	0.594	0.103	-0.068	-0.506	1								
% germ	0.369	0.405	0.160	-0.196	-0.234	0.521	0.302	0.623	0.509	0.464	0.559	0.534	0.581	0.643	0.143	0.548	0.429	0.095	0.381	-0.572	-0.281	-0.478	0.553	0.478	0.228	0.125	-0.069	0.068	0.306	1							
% superv	-0.015	-0.014	0.128	-0.435	-0.538	-0.009	-0.136	0.134	0.260	0.194	0.122	0.082	0.459	0.429	0.143	0.405	0.095	0.190	0.143	-0.451	-0.393	-0.518	0.382	0.362	0.272	0.051	0.149	0.055	0.494	0.679	1						
ORS 1	0.468	0.573	0.159	-0.091	-0.097	0.585	0.294	0.535	0.482	0.356	0.568	0.500	0.235	0.643	0.381	0.690	0.619	0.429	0.619	-0.221	0.076	-0.074	0.485	0.412	0.121	-0.121	-0.336	-0.256	0.394	0.857	0.457	1					
Talla Pob	0.024	0.155	-0.090	-0.271	-0.303	0.029	-0.519	-0.034	0.390	0.084	0.219	0.132	-0.197	0.619	0.524	0.643	0.714	0.619	0.714	0.235	0.272	0.249	-0.043	-0.044	0.052	0.034	-0.151	-0.297	0.450	0.027	0.182	0.263	1				
δ _T	-0.137	-0.280	0.040	0.400	0.450	-0.269	-0.075	-0.467	-0.387	-0.325	-0.393	-0.350	-0.509	-0.667	-0.214	-0.595	-0.452	-0.238	-0.429	0.505	0.162	0.391	-0.623	-0.565	-0.344	-0.110	-0.009	-0.026	-0.502	-0.916	-0.817	-0.817	-0.208	1			

Los valores en negrita rojos son significativamente diferentes de 0 con un nivel de significación alfa=0.05, los valores en negrita azules indican un nivel de significación alfa=0.1 y los valores en negrita verdes indican nivel de significación alfa=0.3

Tabla 2.20.- Parolinia. Análisis de correlación entre los Sistemas de cruzamiento y Eficacia reproductiva. Sistemas de cruzamiento, caracteres florales y recursos del androceo y gineceo: Nº Grs/ Fl=nº granos por flor; Nº Ovus/Fl=nº óvulos por flor; ratio P/O=ratío polen/óvulo; Polen_P=ej e P; Polen_E=ej e E; Ant_L=longitud antera; Ant_A=ancho antera; Ova_L=longitud ovario; Etg_L=longitud estigma; Etg_A=ancho estigma; Sep_L=longitud sépalo; Pet_L=longitud pétalo. Sistemas de cruzamiento, tasas de auto-incompatibilidad: %Cics/Infr=porcentaje de cicatrices por infrutescencia; ISI Frs=Índice ISI frutos; ISI Ss=Índice ISI semillas; ISI FrxSs=Índice ISI conjunto frutos y semillas; S Karron Frs=Tasa autogamia frutos; S Karron Ss=Tasa autogamia semillas; S Karron Fr x Ss=Tasa autogamia conjunta frutos y semillas. Eficacia Reproductiva: ratio Fr/Fl=ratío Fruto/Flor; ratio S/O=Semilla/Óvulo; PERS=Éxito reproductivo Pre-emergente; V1_L, V_L=longitud valvas; S_P=longitud semillas; S_E= diámetro semillas; Peso hum=peso húmedo semillas; %hum=% humedad semillas; %germ=% germinación; %superv=% supervivencia plántulas; ORS1=eficacia reproductiva según % germinación semillas. Talla Pob=talla poblacional. δ_T=inbreeding depression acumulativo (producción de semillas, germinación y supervivencia de plántulas).

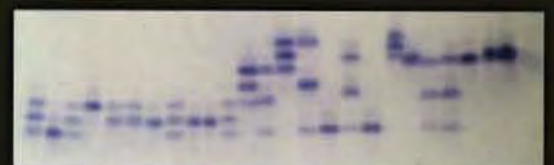
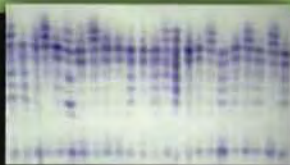
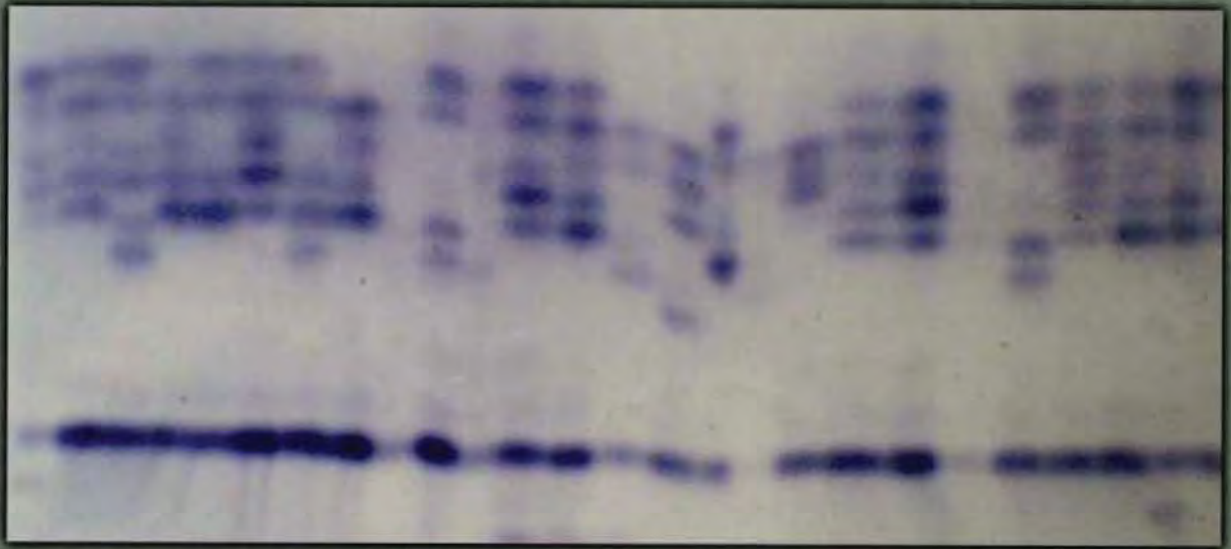
PAROLINIA. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN ENTRE DIVERSIDAD GENÉTICA Y SISTEMAS DE CRUZAMIENTO																																						
Variables	INDICADORES BÁSICOS DE VARIABILIDAD GENÉTICA								CARACTERES FLORALES Y RECURSOS DEL ANDROCEO Y GINECEO								INDICES DE AUTO-INCOMPATIBILIDAD						TALLA POB		EFICACIA REPRODUCTIVA						INBREEDING DEPRESSION							
	P	A _T	A _I	A _{ex}	H _o	H _e	GML	t	N° Grs/ FI	N°Ovu/ FI	ratio P/O	Polen P	ANT_L	OVA_L	ETG_A	SEP_L	PET_L	%Cics/ Infr	ISI Frs	ISI Ss	ISI Frs x Ss	S Karron Frs	S Karron Ss	S Karr Fr x Ss	Censo	N _e	ratio Fr/FI	ratio S/O	F_V_L	S_P	Peso seco	% germin	ORS 1	δ ₁₃	δ ₁₋₂			
P	1																																					
A _T	0.596	1																																				
A _I	0.622	0.991	1																																			
A _{ex}	0.089	-0.088	-0.076	1																																		
H _o	0.580	0.468	0.455	0.402	1																																	
H _e	0.690	0.718	0.743	0.163	0.735	1																																
GML	0.534	0.970	0.975	-0.126	0.374	0.686	1																															
t	-0.257	-0.328	-0.381	0.201	0.083	-0.456	-0.364	1																														
N° Grs/ FI	0.216	0.388	0.383	-0.503	-0.120	0.177	0.422	-0.196	1																													
N° Ovu/ FI	0.146	0.466	0.463	-0.603	0.142	0.356	0.515	-0.230	0.708	1																												
ratio P/O	0.204	0.278	0.281	-0.352	-0.208	0.159	0.246	-0.370	0.757	0.262	1																											
Polen_P	0.030	0.061	0.030	0.000	-0.152	0.056	0.118	-0.194	0.331	-0.083	0.321	1																										
ANT_L	0.107	0.515	0.480	-0.327	0.022	0.189	0.524	-0.096	0.885	0.652	0.600	0.402	1																									
OVA_L	-0.212	0.278	0.253	-0.402	-0.108	-0.103	0.289	0.135	0.414	0.625	0.120	-0.162	0.547	1																								
ETG_A	0.199	0.296	0.291	-0.402	0.074	0.244	0.342	-0.145	0.703	0.748	0.402	0.083	0.699	0.564	1																							
SEP_L	0.231	0.475	0.469	-0.377	0.135	0.240	0.489	0.037	0.821	0.789	0.431	0.037	0.850	0.632	0.816	1																						
PET_L	-0.071	0.396	0.392	-0.327	-0.015	0.059	0.379	0.049	0.625	0.659	0.390	-0.206	0.716	0.794	0.598	0.853	1																					
% Cics/ Infr	-0.254	-0.145	-0.207	-0.025	0.108	-0.307	-0.157	0.694	0.086	0.002	-0.044	-0.002	0.277	0.225	0.316	0.262	0.172	1																				
ISI Frs	0.606	0.838	0.822	-0.327	-0.095	0.524	0.786	-0.214	0.762	0.714	0.548	-0.095	0.714	0.738	0.881	0.714	0.690	0.119	1																			
ISI Ss	0.679	0.659	0.761	-0.546	-0.524	0.548	0.667	-0.714	0.810	0.405	0.786	0.095	0.595	0.262	0.548	0.429	0.429	-0.405	0.667	1																		
ISI Frs x Ss	0.606	0.838	0.872	-0.546	-0.310	0.524	0.786	-0.452	0.810	0.690	0.619	-0.119	0.738	0.667	0.738	0.643	0.690	-0.143	0.881	0.881	1																	
S Karron Frs	0.691	0.874	0.908	-0.109	-0.119	0.690	0.929	-0.357	0.714	0.571	0.524	0.071	0.667	0.571	0.738	0.548	0.571	-0.190	0.905	0.714	0.857	1																
S Karron Ss	0.764	0.683	0.786	-0.436	-0.381	0.667	0.690	-0.786	0.738	0.381	0.738	-0.048	0.500	0.214	0.452	0.381	0.452	-0.548	0.619	0.976	0.857	0.690	1															
S Karr Fr x Ss	0.691	0.826	0.908	-0.436	-0.333	0.619	0.833	-0.500	0.833	0.619	0.643	0.000	0.738	0.500	0.690	0.619	0.643	-0.310	0.810	0.929	0.952	0.881	0.905	1														
Talla Pob	0.592	0.647	0.708	0.239	0.547	0.696	0.648	-0.160	-0.040	0.163	-0.137	-0.314	-0.001	-0.026	0.038	0.163	0.103	-0.173	0.619	0.524	0.643	0.714	0.619	0.714	1													
N _e	0.592	0.657	0.715	0.226	0.554	0.698	0.658	-0.152	-0.042	0.172	-0.140	-0.324	-0.005	-0.025	0.032	0.157	0.096	-0.164	0.619	0.524	0.643	0.714	0.619	0.714	0.999	1												
ratio Fr/FI	0.287	0.200	0.262	0.000	-0.086	0.346	0.212	-0.684	-0.066	0.020	0.059	-0.005	-0.265	-0.235	-0.324	-0.243	-0.164	-0.995	-0.119	0.405	0.143	0.190	0.548	0.310	0.220	0.213	1											
ratio S/O	0.378	0.328	0.346	0.276	0.466	0.392	0.303	-0.088	-0.100	0.044	-0.184	-0.029	-0.108	-0.147	-0.284	-0.015	0.005	-0.495	-0.190	-0.143	-0.214	-0.048	0.024	-0.071	0.252	0.248	0.507	1										
F_V_L	0.075	0.113	0.072	-0.452	0.098	-0.083	0.026	0.169	0.049	0.468	-0.181	-0.510	0.051	0.610	0.309	0.328	0.429	0.029	0.548	0.167	0.524	0.286	0.190	0.333	-0.060	-0.051	-0.037	0.098	1									
S_P	-0.106	-0.004	-0.056	0.327	0.275	-0.218	-0.074	0.574	-0.510	-0.375	-0.456	-0.228	-0.252	0.201	-0.341	-0.250	-0.064	0.402	-0.143	-0.595	-0.262	-0.357	-0.571	-0.524	0.064	0.081	-0.407	-0.020	0.228	1								
Peso seco	-0.649	-0.452	-0.423	-0.276	-0.627	-0.657	-0.354	0.223	-0.233	-0.091	-0.284	-0.287	-0.206	0.306	0.000	-0.108	0.083	0.282	-0.214	-0.190	-0.071	-0.310	-0.262	-0.214	-0.206	-0.213	-0.299	-0.556	0.086	0.083	1							
% germin	-0.006	0.302	0.238	-0.264	0.254	0.065	0.205	0.424	0.337	0.464	0.131	-0.219	0.478	0.625	0.443	0.542	0.533	0.568	0.643	0.143	0.548	0.429	0.095	0.381	0.061	0.072	-0.540	-0.275	0.481	0.219	0.097	1						
ORS 1	0.177	0.543	0.489	-0.201	0.407	0.297	0.451	0.213	0.417	0.581	0.123	-0.135	0.547	0.569	0.319	0.544	0.512	0.248	0.643	0.381	0.690	0.619	0.429	0.619	0.236	0.250	-0.211	0.064	0.424	0.135	-0.186	0.873	1					
δ ₁₃	0.314	0.119	0.173	0.152	-0.021	0.283	0.191	-0.265	-0.225	-0.183	-0.218	0.115	-0.401	-0.438	-0.430	-0.343	-0.480	-0.615	-0.323	0.180	-0.036	0.084	0.228	0.180	0.346	0.350	0.654	0.236	-0.333	-0.182	-0.116	-0.415	-0.188	1				
δ ₁₋₂	-0.056	-0.341	-0.263	0.205	-0.365	-0.072	-0.249	-0.500	-0.333	-0.487	0.003	0.237	-0.508	-0.608	-0.390	-0.578	-0.540	-0.536	-0.539	-0.108	-0.479	-0.371	-0.072	-0.359	-0.096	-0.116	0.530	0.071	-0.564	-0.312	0.037	-0.946	-0.905	0.439	1			

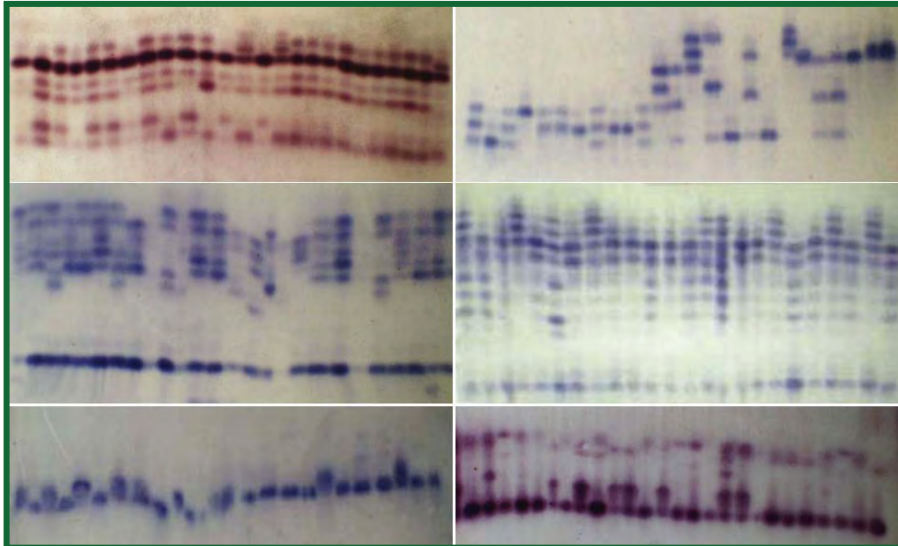
Los valores en negrita rojos son significativamente diferentes de 0 con un nivel de significación alfa=0.05, los valores en negrita azules indican un nivel de significación alfa=0.1 y los valores en negrita verdes indican nivel de significación alfa=0.3

Tabla 3.18.- Parolinia (17 UTOs). Análisis de correlación entre Diversidad genética y Sistemas de cruzamiento. Indicadores básicos de variabilidad genética: P=porcentaje de loci polimórficos; A_T=n° de alelos totales; A_I=n° de alelos por locus; A_{ex}=n° de alelos exclusivos; H_o=heterocigosidad esperada; H_e=heterocigosidad esperada; GML=genotipos multilocus; t=tasa de allogamia. Caracteres florales y recursos del androceo y gineceo: N°Grs/FI=n° granos por flor; N°Ovu/FI=n° óvulos por flor; ratio P/O=ratio Polen/Óvulo; Polen_P=eje P; Ant_L=longitud antera; Ova_L=longitud ovario; Etg_A=ancho estigma; Sep_L=longitud sépalo; Pet_L=longitud pétalo. Índices de auto-incompatibilidad: % Cics/Infr=porcentaje de cicatrices por infertescencia; ISI Frs=Índice ISI frutos; ISI Ss=Índice ISI semillas; ISI FrsxSs=Índice ISI conjunto frutos y semillas; S Karron Frs=Tasa de autogamia frutos; S Karron Ss=Tasa de autogamia semillas; S Karr FrxSs=Tasa de autogamia conjunta frutos y semillas. Talla poblacional: Censo y tamaño efectivo de población (N_e). Eficacia reproductiva: ratio Fr/FI=ratio Fruto/Flor; ratio S/O=Semilla/Óvulo; F_V_L=longitud valvas; S_P=longitud semillas; Peso seco; %germin=% germinación; ORS1=eficacia reproductiva según % germinación semillas Inbreeding depression: δ₁₃=inbreeding depression para 13 loci; δ₁₋₂=inbreeding depression acumulativo producción de semillas y germinación.

CAPITULO III

Diversidad Genética y Estructura de las Poblaciones Naturales





CAPÍTULO III



Introducción y Objetivos

1. BIOLOGÍA Y GENÉTICA DE POBLACIONES

Actualmente se tiene la convicción que los sistemas de reproducción de las especies vegetales son los responsables últimos de la transmisión y *configuración genética* de su descendencia, siendo la diversidad poblacional la materia prima de evolución biológica y la que realmente da oportunidad a los taxones para desenvolverse bajo diferentes condiciones ambientales (LYNCH, 1986 y 1996; LYNCH & HILL, 1986; RICHARDS, 1986 y 1997; HAMRICK & GODT, 1989, 1996 y 1997; FALK & HOLSINGER, 1991; SCHEMSKE *et al.*, 1994; BARRETT, 1995, 1998a,b y 2003; FRANKEL, BROWN & BURDON, 1995; HUSBAND & SCHEMSKE, 1995, 1996 y 2000; BARRETT, HARDER & WORLEY, 1996 y 1997; PROCTOR, YEO & LACK, 1996; BRIGGS & WALTERS, 1997; GIVNISH, 1997 y 1998; GRANT, 1998; HOLSINGER, 2000; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

Se denomina *estructuración genética* de las poblaciones, a la *distribución* espacial y temporal de los genotipos y alelos (individuos), siendo fundamental precisar las causas reales o potenciales que la han originado. La *estructura genética* determinada por la estructura espacial de los individuos de la población y por su *biología reproductiva*, está determinada también por la incidencia de procesos genéticos como la *deriva*, *selección*, *mutación* y *flujo génico*, siendo necesario para comprender el patrón de variación genética de la especie, determinar los *genotipos* de los diferentes individuos de la población así como sus *frecuencias alélicas* (RICHARDS, 1987 y 1997; LANDE, 1988; FALK & HOLSINGER, 1991; STLAKIN, 1994; FRANKEL, BROWN & HALL, 1995; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

Existen diversas razones biológicas para considerar la variabilidad genética de una especie como uno de los aspectos básicos y fundamentales en el área de la conservación biológica. La importancia reside básicamente en cuantificar y conocer la variabilidad genética de los individuos (genotipos) en las poblaciones naturales así como su distribución espacial y temporal. En cualquier plan de conservación y recuperación de una especie especialmente a largo plazo, no debiera faltar el conocimiento de su estructura genética, sin embargo es importante destacar que no se debe tomar decisiones considerando exclusivamente los criterios genéticos. Como se acaba de comentar los sistemas de cruzamiento de una población, se consideran como los últimos responsables de la transmisión y *configuración genética* de las especies, debiendo considerarse también parámetros como, la diversidad floral y ciclo vital así como las adaptaciones locales (RICHARDS, 1986 y 1997; LANDE, 1988; BARRETT, 1995, 1998b y 2003; BARRETT, HARDER & WORLEY, 1996 y 1997; HAMRICK & GODT, 1996; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001; SOSA, 2001; PÉREZ DE PAZ, 2002; PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007b).

Aunque la información obtenida por cualquiera de las técnicas y procedimientos genéticos en la caracterización de una especie, constituye siempre una medida sesgada y un análisis parcial del genoma de un organismo, las técnicas moleculares constituyen una herramienta informativa muy valiosa que permite evaluar directamente los recursos genéticos de una especie (HAMRICK & GODT, 1996; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001; SOSA, 2001). Por tanto el fin último de un estudio de diversidad genética es averiguar el grado, cantidad o nivel de la *variabilidad* de las especies, al mismo tiempo que determinar su distribución y estructura en el espacio y en el tiempo.

La *genética de poblaciones* es la descripción algebraica de la constitución genética (genotipos y alelos) de una población natural y del cambio y *estructura* de las *frecuencias*

alélicas a lo largo del tiempo, fundamentándose en la elaboración de modelos matemáticos. Uno de los principales objetivos de la genética de poblaciones es cuantificar la variabilidad genética (genotipos y alelos) en las poblaciones y conocer los mecanismos de su mantenimiento y su posible incidencia en la talla poblacional (SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

Mientras uno de los modelos más sencillos como el principio de Hardy-Weinberg se refiere a los *apareamientos* de individuos al *azar* dentro de las poblaciones, otros hacen referencia a los cambios poblacionales entre generaciones por problemas de consanguinidad, dinámica de poblaciones pequeñas, correlación espacial entre vecinos, apareamiento preferencial, procesos estocásticos y cambios de frecuencias génicas y distribución.

1.1. GENÉTICA Y TALLA EFECTIVA DE LAS POBLACIONES

La importancia de la *talla poblacional* en la estructura reproductiva, genética y dinámica evolutiva fue reconocida ya por WRIGHT (1931) y en la actualidad es el tema central de la biología de la conservación.

La talla poblacional de las especies vegetales puede oscilar desde muchos miles a pocos individuos, siendo el resultado de la historia ecológica de una especie y de las interacciones entre los caracteres del ciclo vital (causas intrínsecas a la población) y condiciones ambientales locales (causas extrínsecas a la población) variando por tanto en el espacio y en el tiempo (NEI, 1987; FRANKEL, BROWN & BURDON, 1995; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

Aunque algunas especies raras mantienen tallas poblacionales grandes, la mayoría posee poblaciones pequeñas. La variación genética total de una *especie* se puede encontrar dividida o distribuida entre sus distintas *poblaciones* de forma diferente, siendo responsables de esta distribución los *sistemas reproductivos* que interactúan a su vez con las cuatro fuerzas evolutivas: *mutación*, *selección natural*, *migración* y *deriva genética*, cuya importancia será diferente según las especies y ecosistemas. Cuando las poblaciones son *pequeñas* y aisladas, la *deriva genética* podría tener una influencia dominante en la estructura genética de las poblaciones, perdiendo variabilidad y siendo por tanto más susceptibles de extinción local.

Otra consecuencia de las tallas *poblacionales pequeñas* podrían ser los problemas de *endogamia* producidos por apareamientos entre individuos estrechamente relacionados. La pérdida de vigor por problemas de endogamia (*inbreeding depression*) puede producir alteraciones genéticas importantes aunque en algunos casos la disminución de vigor puede ser también producto de apareamientos entre individuos lejanos (*outbreeding depression*) sobretodo si se encuentran implicados individuos de diferentes poblaciones, cuestión que hay que tener en cuenta a efectos de la conservación *ex situ* o *in situ* con reintroducciones (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987; BARRETT & KOHN, 1991; FRANKEL, BROWN & BURDON, 1995; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

1.1.1. Talla efectiva de las poblaciones naturales (N_e)

Desde una perspectiva genética, las poblaciones naturales se comportan a menudo como si fueran más pequeñas de lo que indica el censo directo de individuos. Las tallas

poblacionales pues pueden no ser equivalentes al número de individuos de una población ya que rara vez el número de individuos reproductores es igual al tamaño total de la población (N). Entre los factores que causan esta disparidad se incluyen los ratios de sexos o de heteromorfismos de incompatibilidad desiguales, cruces no al azar, fecundidad diferencial, flujo genético entre poblaciones y fluctuaciones, ya que violan la hipótesis de que todos los individuos (N) tienen la misma probabilidad de contribuir a la siguiente generación con el mismo *número de gametos*.

Un parámetro muy útil en genética de poblaciones introducido por Wright, se refiere al *tamaño efectivo* de población (N_e) que representa la talla de una población ideal (con las mismas frecuencias alélicas y niveles de *endogamia*) en la que todos los individuos contribuyen por igual al *pool* de gametos de la población (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987; BARRETT & KOHN, 1991; HUSBAND & BARRETT, 1992; FRANKEL, BROWN & BURDON, 1995; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001). Este parámetro se puede estimar directamente cuando se conoce el número de individuos reproductores, *ratio* de sexos o de heteromorfismos de incompatibilidad (*mating system*) así como las variaciones del éxito reproductivo o fecundidad poblacional. De forma alternativa, se puede deducir el *tamaño efectivo de la población* (N_e) o número de individuos en flor, a partir de la variación de las *frecuencias alélicas* de *loci* neutrales.

Se considera necesario para evaluar los mecanismos de diferenciación genética en las poblaciones naturales pudiendo determinar posibles errores de muestreo que pueden causar *deriva genética* (fluctuaciones al azar en las frecuencias alélicas).

1.1.2. Fluctuaciones de las poblaciones naturales. Causas intrínsecas

La genética de poblaciones ha desarrollado una serie de modelos estadísticos para interpretar la estructura genética de las poblaciones naturales siendo el principio o *equilibrio Hardy-Weinberg* (H-W) el que ha dado lugar al modelo por excelencia.

1.1.2.1. Equilibrio y ley de Hardy-Weinberg

Es una ley que relaciona las frecuencias *genotípicas* y *alélicas* en una población ideal de talla infinita, diploide con reproducción sexual y apareamiento al azar sin que exista ni mutación, ni migración, ni selección. Esta ley está fundamentada en que: 1º) el equilibrio de las *frecuencias alélicas* no cambia con las generaciones y el tiempo, 2º) se puede predecir el equilibrio de *frecuencias genotípicas* a través de las frecuencias génicas o alélicas y 3º) el equilibrio se mantiene a pesar de cualquier perturbación en una sola generación.

1.1.2.2. Desviaciones de Hardy-Weinberg: factores intrínsecos y extrínsecos

Las alteraciones y/o fluctuaciones en la estructura genética de las poblaciones naturales o desviaciones de las frecuencias génicas según la ley de Hardy-Weinberg, pueden ser debidas a causas *intrínsecas* a la población como los sistemas de cruzamientos, endogamia o consanguinidad, apareamientos preferenciales (*assortative mating*) y/o al efecto Wahlund. Las alteraciones o cambios de las frecuencias génicas pueden ser debidas también a causas *extrínsecas* a la población, como las *mutaciones*, *deriva genética*, *selección natural* y *flujo génico*, pudiendo producir consecuencias como el *defecto* o *exceso* de *homocigotos* (NEI, 1987; BARRETT & KOHN, 1991; FRANKEL, BROWN, BURDON, 1995; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

1.1.2.2.1. Sistemas de Cruzamiento

Como ya se dijo anteriormente, son responsables de la transmisión genética entre generaciones, y a su vez, de su configuración genético-morfológica. Existe pues una considerable evidencia de los apareamientos entre individuos en la determinación de los patrones espaciales y temporales de la diversidad genética dentro y entre poblaciones, niveles de heterocigosidad, flujo génico y en consecuencia de su dinámica evolutiva, de manera que las poblaciones naturales se constituyen como *unidades evolutivamente independientes* conectadas por el flujo génico (BARRETT, 2003).

Muchos de los marcadores moleculares, que evalúan los sistemas de cruzamiento en las poblaciones, entre los que se encuentran las *aloenzimas*, se han dirigido hacia la determinación de la *tasa de autogamia* (s) o de su complemento la *tasa de alogamia* ($t = 1 - s$), por su relación con la *homocigosidad esperada* (H_0), asumiendo que durante muchas generaciones la población alcanza el equilibrio, manteniendo la misma tasa de autogamia. En los casos donde la tasa s de autogamia es moderada, la frecuencia de heterocigotos no llega a "0" pudiendo expresar las frecuencias genotípicas esperadas usando una de las modificaciones de las expresiones de Hardy-Weinberg conocida como *coeficiente de inbreeding* F (SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

Recientemente, el conocimiento de la diversidad en las secuencias de ADN en especies *alógamas* y *autógamas* ha proporcionado evidencias moleculares diferentes en la evolución del genoma y mecanismos de selección de la *alogamia* y *autogamia*. Estos avances, que se han considerado como el paradigma de los sistemas de cruzamiento, han hecho que la investigación sobre la alogamia-autogamia en especies vegetales sea una de las áreas más dinámicas de la biología evolutiva (SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001; BARRETT, 2003).

1.1.2.2.2. Endogamia o consanguinidad

La *endogamia* (*inbreeding*) constituye una forma importante de apareamiento no al azar que incluye tanto la *autogamia* como los cruces entre individuos relacionados consecuencia de una dispersión restringida de polen o semillas (*biparental inbreeding*), admitiendo la probabilidad de que los gametos porten los mismos alelos. Tiene dos posibles causas: i) apareamiento sistemático entre individuos relacionados genéticamente y ii) subdivisión de una población en subunidades pequeñas en las que los individuos no tienen más opción que aparearse con sus parientes (PEDROLA, 1998). El efecto de la endogamia sobre el equilibrio H-W es que no cambia las frecuencias alélicas aunque si las *genotípicas*, lo que provoca un aumento de *homocigosis*.

Sin embargo, el principal efecto de la consanguinidad en las especies alógamas no solo radica en el aumento de homocigosis sino que implica una *perdida* gradual del *vigor* de los individuos (*inbreeding depression*) y una disminución de la fertilidad.

Por otro lado, hay que tener en cuenta que cuando se cruzan dos individuos homocigotos de una especie predominantemente *alógama*, se puede recuperar no solamente el vigor perdido a lo largo de sucesivas generaciones *autógamas*, sino lo que es aun más importante, es que se supera en vigor a los individuos con los que se inició el proceso de auto-fecundación. A este fenómeno se le conoce y denomina como *heterosis* o *vigor híbrido*.

1.1.2.2.3. Apareamiento preferencial y efecto Wahlund

Otro tipo importante de cruzamiento no al azar es el *apareamiento preferencial* (*assortative mating*) que ocurre selectivamente cuando se aparean individuos con características fenotípicas similares. Tiene el mismo efecto final que la endogamia pero a

diferencia de esta su efecto se limita solamente a los *loci* relacionados a dichas características fenotípicas.

Otro caso en que la *homocigosis* supera las proporciones de H-W, se produce por el llamado *efecto Wahlund* según el cual, el exceso de homocigotos es consecuencia de la subdivisión de la población en distintas unidades reproductivas donde se favorece el apareamiento entre parientes (NEI, 1987; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

Esta subdivisión de la población puede ser producto de una fragmentación física o subdivisión (sub-poblaciones, unidades reproductivas) causada por ausencia local de un hábitat adecuado o por la posibilidad de una extinción local de plantas.

Cuando se muestrean las *sub-poblaciones* o *unidades reproductivas* como una sola unidad poblacional, las frecuencias genotípicas totales pueden mostrar un *exceso de homocigotos* o desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg, incluso cuando el apareamiento es al azar dentro de cada unidad reproductiva.

1.1.3. Fluctuaciones de las poblaciones naturales. Causas extrínsecas

Como causas *extrínsecas* de los cambios de frecuencias génicas en las poblaciones naturales, consecuencia de fuerzas ambientales o estocásticas se encuentran la: *mutación*, *deriva genética*, *selección natural*, y *flujo génico*, reconocidas asimismo como fuerzas *micro-evolutivas*.

1.1.3.1. Mutación

La mutación y flujo génico se consideran una de las causas más importantes de los cambios de las frecuencias génicas, sin embargo, la tasa de mutación en alelos neutrales oscila entre unos 10^{-7} a 10^{-5} por año y por *locus* y por lo tanto es difícil que podamos observar un cambio de frecuencias alélicas dentro de una población en el tiempo de un muestreo (NEI, 1987; BARRETT & KOHN, 1991; WESTERBERGH & SAURA, 1994; PEDROLA, 1998).

La principal consecuencia de la mutación de un *alelo* es que su frecuencia disminuya con las generaciones hasta desaparecer, mientras que la frecuencia del nuevo alelo mutante aumenta pudiendo convertirse en el único de la población de manera que, la rapidez con la que esto ocurra dependerá de la frecuencia inicial del alelo mutante y del *ratio* de mutación μ . (FRANCISCO-ORTEGA, 1996; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001):

1º) En poblaciones grandes donde los *nuevos alelos* que se producen por mutación son *raros* inicialmente, la supervivencia es una cuestión de oportunidad, ya que las *mutaciones* fallan a menudo cuando se transmiten a la siguiente generación, incluso cuando se trata de una mutación ventajosa. El destino más probable de una nueva mutación es que se *extinga* después de pocas generaciones.

2º) También es posible que la frecuencia de una *nueva mutación* se incremente en el tiempo, aunque se trate de una variante neutral pudiendo alcanzar ocasionalmente una frecuencia lo suficientemente alta para mantenerse, haciendo que su pérdida en la población sea improbable.

Tal *deriva* de variantes neutrales en poblaciones pequeñas puede tener dos consecuencias. Una es que las poblaciones pequeñas con el tiempo tienden a ser uniformes genéticamente, y la otra que manifiesta un aumento de variabilidad, porque después de suficientes generaciones la mutación permite que cada uno de los alelos sea descendiente

del alelo presente en la población ancestral. De hecho, algunos trabajos sugieren que si las poblaciones se expanden rápidamente después de un *cuello de botella*, la alta mutabilidad de los *caracteres poligénicos* puede generar suficiente variabilidad para una evolución rápida en el nuevo ecosistema (BARRETT & KOHN, 1991).

Las tasas de *recuperación* de la variabilidad genética que siguen a un cuello de botella son más rápidas para los *caracteres cuantitativos* que para los caracteres genéticos según *loci* iso-enzimáticos. Se estima que la mutación espontánea en *caracteres métricos o cuantitativos* produce una variación genética aditiva del orden de 10^{-3} a 10^{-4} veces la *varianza ambiental* por generación, mientras que la tasa usual de un único *locus* para los mayores mutantes es de unos 10^{-6} a 10^{-7} por generación. La alta tasa de *mutación* de los caracteres métricos se justifica porque pueden contribuir a su expresión muchos genes (caracteres poligénicos). Esta alta *mutabilidad* puede generar suficiente variabilidad para que tenga lugar un *cambio evolutivo*, incluso en *poblaciones pequeñas aisladas* que han perdido la mayoría de su variabilidad genética por un cuello de botella.

1.1.3.2. Deriva genética

Los cambios al azar en las *frecuencias génicas* que ocurren debido a una perturbación importante, incluyendo la pérdida de alelos, se llaman *deriva genética* (FRANKEL, BROWN & BURDON, 1995). En ausencia de selección, la deriva genética puede conducir a la pérdida de diversidad dentro de las poblaciones, mostrando pérdida de *heterocigosidad* y una fijación eventual de alelos (SOSA & LINDSTROM, 1999).

El cambio de *talla poblacional* es el factor más importante de la deriva genética, viéndose más afectadas las poblaciones pequeñas con posible pérdida de alelos raros, ya que las fluctuaciones pueden ser insignificantes para los alelos de frecuencia alta presentes en muchos individuos. En estas poblaciones, se espera que cada generación tenga una frecuencia alélica muy similar a la de sus parentales. La reducción de la diversidad genética pues suele desembocar en problemas de consaguinidad (SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001). La magnitud de la *deriva genética* se puede estimar a partir de la talla efectiva de población (N_e) ya que la declinación puede afectar a los procesos de apareamiento toda vez que existe un menor número de individuos disponibles que posiblemente estarán más estrechamente relacionados.

La *deriva genética* se puede manifestar y se conoce también como *efecto fundador* y/o *cuello de botella*, si la reducción de la talla poblacional es la única causa del desequilibrio de frecuencias H-W, haciendo a la población en cuestión genéticamente poco representativa de su acervo genético original.

1.1.3.2.1. Cuello de botella

El *cuello de botella* o reducción brusca del número de individuos en un lugar y tiempo determinado suele ir acompañada de una pérdida significativa de diversidad genética. Los cuellos de botella poblacionales se refieren generalmente a un colapso en el número de individuos de una población como resultado de una catástrofe ambiental, pudiendo o no estar asociados a cuellos de botella genéticos que dependen a su vez, de una serie de factores *demográficos* y *genéticos*. Están asociados con *eventos colonizadores*, cuando uno o unos pocos individuos se establecen en territorios previamente desocupados y generalmente implican un *error de muestreo* que no es representativo de la población de origen.

En la genética de poblaciones el análisis teórico del *cuello de botella* es importante para el desarrollo de modelos en desequilibrio así como para estudios de especiación. Asimismo

el estudio del cuello de botella puede tener aplicaciones prácticas para la *conservación* de recursos genéticos en especies cultivadas y/o en peligro (BARRETT & KOHN, 1991).

Después de un *cuello de botella*, cuando las poblaciones permanecen pequeñas durante un periodo de tiempo prolongado, el efecto del llamado *error de muestreo* llega a ser acumulativo y producir deriva o cambios al azar de las frecuencias génicas a lo largo de las generaciones. Este proceso es denominado como *deriva genética al azar*. Cuando las tallas poblacionales son pequeñas (<100), las frecuencias génicas pueden sufrir fluctuaciones grandes que producen pérdida de alelos en las distintas generaciones. Por tanto, en principio, las poblaciones grandes debieran mantener mayores niveles de variabilidad genética que las pequeñas, aunque la escasez de datos en las especies vegetales está limitando esta predicción si bien la información disponible parece estar de acuerdo.

Actualmente el aumento de datos conjuntos de diversidad genética y de síndromes reproductivos incluyendo Canarias, parecen indicar que desde una misma *adscripción filogenética* (familias y géneros) los *sistemas de reproducción* son los principales responsables de la variabilidad detectada, de manera que taxones del mismo género con el mismo sistema de cruzamiento (sistema sexual, auto-incompatibilidad, apomixia) pueden variar, según su talla poblacional (HAMRICK & GODT, 1996; GITZENDANNER & SOLTIS, 2000), pero también según su número cromosómico (PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007b), reforzando la hipótesis que desde una misma *adscripción filogenética* (familias y géneros) los *Sistemas de Reproducción* son los principales responsables de la variabilidad detectada y que taxones del mismo género con el mismo sistema de cruzamiento pueden variar según su talla poblacional y número cromosómico.

1.1.3.2.2. Efecto fundador

El término fue acuñado por Mayr en 1963 (BARRETT & KOHN, 1991) para referirse al establecimiento de una nueva población por unos pocos fundadores con solo una pequeña fracción de la diversidad genética total de la población origen, considerando que procesos al azar de este tipo, son fundamentales para la *especiación* como mecanismos que provocan cambios genéticos por *aislamiento reproductivo*.

La pérdida de variabilidad genética que acompaña a un cuello de botella tiene aspectos tanto cualitativos como cuantitativos pero está ampliamente aceptado que la reducción en el *número de alelos* (especialmente los raros) tiene mayor incidencia que la pérdida de *heterocigosidad* y variabilidad genética (BARRETT & KOHN, 1991) ya que la heterocigosidad media por *locus* no solo depende del cuello de botella sino también de la tasa de recuperación posterior del crecimiento poblacional. En general, se confirma que después de sufrir un cuello de botella prolongado la *pérdida de alelos* es superior a la reducción de *heterocigosidad*, aunque con una tasa de crecimiento grande, el *número de alelos por locus* puede aumentar más rápidamente que la *heterocigosidad* media.

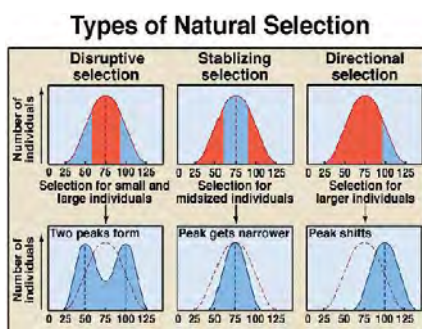
Por tanto al interpretar las comparaciones entre taxones relacionados con posibles evidencias indirectas de *cuello de botella histórico*, se deben extremar las precauciones ya que se puede confundir las historias evolutivas de las especies relacionadas con determinados factores ecológicos o fuerzas ambientales específicas que afectan directamente a la *talla poblacional* pero que también pueden afectar a las tasas de *mutación* de la progenie en pocas generaciones y por tanto a la estructura genética de las mismas (BARRETT & KOHN, 1991).

1.1.3.3. Selección Natural. Neutralidad de los marcadores moleculares

La selección natural fue propuesta por Darwin como una explicación a las *adaptaciones* locales o mecanismo de cambio evolutivo. Puede alterar las frecuencias genotípicas y consecuentemente las frecuencias alélicas, esperándose por tanto que las poblaciones sujetas a *selección* muestren patrones espaciales diferentes, relacionados a las variables ambientales provocados por fuerzas o presiones selectivas locales (SOSA & LINDSTROM, 1999; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

Frecuentemente se discute si los caracteres moleculares no son neutrales y si la selección influye en el análisis de la variación intra-específica. La mayor preocupación de los que se dedican a la genética de poblaciones desde la teoría neutral de Kimura es relacionar el significado evolutivo de la variación molecular según la *controversia neutral-seleccionista* por la que, aunque se admite que muchas proteínas, cromosomas y ADN pueden estar sometidos a *selección natural*, se puede estar de acuerdo con la teoría neutral y por tanto, el debate se reduce a si la mayoría de las variantes moleculares son selectivamente neutrales y si tanto la *neutralidad* como la *selección* deben considerarse hipótesis posibles. La corriente actual de evolución molecular basada en la *selección*, admite la teoría de la neutralidad, pero ante el poco soporte de los datos moleculares, debe comprobar su existencia (MORITZ & HILLIS, 1996).

Se debe considerar pues que el impacto de la *selección natural* depende de la proporción de marcadores (*loci*) afectados, extensión y señales de correlaciones entre los *loci* y de la robustez de los métodos de análisis de la desviación a la neutralidad. Además se debe considerar a la *selección natural* como un simple episodio más que un efecto constante que afecta a la variación inter-específica *versus* intra-específica, pero que no afecta a la dinámica de los alelos a corto plazo.



Como la mayoría de las *desviaciones a la neutralidad* son específicas de un solo *locus*, está asumido ampliamente que en el análisis global de numerosos *loci* la *selección* tendrá un efecto relativamente menor.

1.1.3.3.1. Tipos de selección natural

Tradicionalmente se conocen tres tipos de *selección natural*: i) *direcciona*l donde se favorece uno de los dos genotipos extremos de la población, ii) *estabilizadora*, favorece la selección de formas intermedias y iii) *disruptiva* que favorece la selección de los extremos.

Además de estos hay un tipo particularmente interesante, *selección balanceadora o equilibrante* que tiene el efecto de preservar la variación genética, de forma que un alelo perturbado a frecuencia más baja tenderá a incrementarla y cuando se haya elevado su frecuencia, tenderá a disminuirla. Bajo esta forma de selección se tiende a un equilibrio estable de frecuencia alélica. Pudiendo citar como ejemplo típico la llamada *ventaja del heterocigoto* (superdominancia), que tiene lugar cuando los heterocigotos tienen un vigor superior a los homocigotos (SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

Otro tipo de selección *equilibrante* es la de *frecuencia-dependencia* donde la frecuencia alta de un alelo incrementa la oportunidad de alogamia y fertilidad manteniendo también las poblaciones uniformes. Puede ocurrir en poblaciones vegetales con *polimorfismo cromático* en la flor donde las plantas con color más común de flor serán más visitadas por los

polinizadores, que las de color más raro (*selección frecuencia-dependencia positiva*) que están en desventaja (SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

La selección frecuencia-dependiente que actúa en dirección opuesta para beneficiar los genotipos raros (*frecuencia-dependiente negativa*) es la *selección de los alelos de auto-incompatibilidad* donde la fecundidad depende de la frecuencia de los morfos compatibles. Cuando un morfo es raro tiene muchas posibilidades de producir progenie alógama, pero cuando es común comparte alelos de incompatibilidad y tiene una fertilidad más baja. La ventaja de los morfos raros explica el gran número de alelos de auto-incompatibilidad en las poblaciones naturales de las especies auto-incompatibles (SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

1.1.3.4. Flujo génico y barreras geográficas

Aunque el *flujo genético* se define como el cambio de frecuencias génicas debido al movimiento de gametos de un lugar a otro (SLATKIN, 1987), su medida más común es la tasa de migración (μ) entendiendo por migración la dispersión de gametos (polen) o individuos (semillas) y su aparición en una población diferente a la de origen, pudiendo cambiar las frecuencias alélicas de las poblaciones receptoras (FRANKEL, BROWN & BURDON, 1995). Aunque la cantidad de flujo génico depende también del grado de divergencia genética entre los migrantes y las poblaciones receptoras.

El *movimiento de genes* entre poblaciones o poblaciones subdivididas tiene dos efectos distintos pero interrelacionados con la estructura genética de las poblaciones (HAMRICK, 1987; BARRETT, 2003): tasas altas de flujo génico aumentan los tamaños efectivos de población (N_e) y reducen la diferenciación genética por la introducción de alelos y genotipos, mientras que niveles bajos de flujo génico afectan a la variación genética dentro de las poblaciones por deriva o selección natural, reflejando a menudo diferencias en sus sistemas de polinización y apareamiento. Por tanto, aunque el flujo génico sea bajo sin mucho efecto sobre la diferenciación entre las poblaciones, puede jugar en cambio un papel importante en la evolución de las mismas, introduciendo y manteniendo variación genética. En las poblaciones aisladas geográficamente, el flujo génico juega un papel pequeño, y por el contrario en poblaciones no aisladas, el flujo génico juega un papel importante en la distribución de la variación genética (HAMRICK, 1987).

El *flujo génico* (N_m) tiene relación con el índice de fijación (F) o coeficiente de de consanguinidad (*inbreeding*) y lógicamente con F_{ST} .

Como implicaciones para la conservación y para predecir fenómenos como el flujo génico ($N_m = (1 - G_{ST}) / 4G_{ST}$) se usan frecuentemente los estadísticos de estructura poblacional de NEI (1973) como G_{ST} y de WRIGHT (1951) como el F_{ST} como una forma de estimar el número de poblaciones necesario para muestrear ($P = 1 - G_{ST}^n$) un nivel de variación genética representativa de la especie (HAMRICK *et al.*, 1991).

Aunque la aplicabilidad en las estimaciones relacionadas al flujo génico es objeto de debate, los parámetros G_{ST} o F_{ST} pueden representar aplicaciones importantes y relativamente comunes para el muestreo y preservación de germoplasma en especies amenazadas (CAUJAPÉ-CASTELLS & PEDROLA, 2004; CAUJAPÉ-CASTELLS, 2006).

1.2. LA DIVERSIDAD GENÉTICA Y ELECTROFORESIS DE ISOENZIMAS

Se denomina *isoenzima* a cada una de las múltiples formas moleculares de las enzimas, que comparten un sustrato catalítico común pero que difieren en la movilidad electroforética por tener diferente carga eléctrica (WENDEL & WEEDEN, 1989).

Estas formas se hacen patentes cuando los extractos de tejidos vegetales son sometidos a electroforesis en varios tipos de geles y posteriormente sumergidos en soluciones de tinción específicas para las enzimas que se pretenden visualizar.

Las interpretaciones genéticas de los geles ya teñidos ponen en evidencia los electromorfos detectados que en un mismo *locus* se codifican según diferentes alelos. En tal caso los productos alélicos son denominados *aloenzimas* (WENDEL & WEEDEN, 1989).

TÉCNICAS MOLECULARES COMUNES USADAS EN LA EVALUACIÓN DE LOS PATRONES DE VARIACIÓN GENÉTICA VEGETAL (COATES & BYRNES, 2005).					
TÉCNICA	METODOLOGÍA	DIFICULTAD DE LA TÉCNICA	NIVEL DE POLIMORFISMO	RESOLUCIÓN	EXACTITUD
Marcadores codominantes de un <i>locus</i>					
ALOENZIMAS/ ISOENZIMAS	Electroforesis de gel y visualización de enzimas y proteínas celulares	Fácil	Bajo- moderado	Moderada	Muy alta
RFLP (Restriction fragment length polymorphism)	Digestión del ADN genómico total con endonucleasas de restricción seguido por <i>blotting Southern</i> e hibridación con fragmentos específico de ADN	Moderada- difícil	Moderado- alto	Alta	Muy alta
SSRs (Microsatélites or simple sequence repeats)	La PCR específicamente desarrolla <i>primers</i> usados para amplificar unidades hipervariables repetidas en <i>tandem</i> . La variación de estos <i>loci</i> puede ser investigada tanto en genoma nuclear como de cloroplasto	Difícil	Muy alto	Alta	Alta
Marcadores dominantes multi-<i>locus</i>					
RAPDs (Random amplified polymorphic DNA)	Amplificación de segmentos de ADN al azar usando <i>primers</i> arbitrarios de secuencia corta	Fácil	Moderado-alto	Moderada	Media
AFLP (Amplified fragment length polymorphism)	Amplificación total del genoma, el ADN digerido con endonucleasas de restricción, donde el sitio de restricción posterior es usado entonces como sitio de unión del <i>primer</i> para una amplificación selectiva usando <i>primers</i> PCR que templan perfectamente a las secuencias objetivo	Moderada	Alto	Alto	Media a alta

La capacidad para hacer predicciones en base a la interpretación de los patrones de bandas o electromorfos, según un modelo diploide, permite a los investigadores, además, identificar las causas de las desviaciones de los resultados esperados en taxones diploides.

Estas desviaciones se pueden producir por duplicaciones genéticas, cambios en el nivel de ploidía, pérdida de la expresión génica o modificaciones traduccionales, pudiendo ser por tanto indicadores útiles de la fisiología celular o de las agrupaciones taxonómicas (PEDROLA, 1998). Aunque todavía se debate el papel de la *selección* y de la *mutación* en el mantenimiento del polimorfismo aloenzimático, los desacuerdos no invalidan las

aplicaciones de los *aloenzimas* en el estudio de la biología de poblaciones, reproducción de especies vegetales, sistemas de cruzamiento, sistemática, etc.

La electroforesis de *isoenzimas* se ha aplicado mayoritariamente en los niveles taxonómicos más bajos, de población, dirigidos especialmente a los estudios de especiación primaria divergente y origen de especies por evolución reticulada como la poliploidía. Los resultados de los estudios de los procesos de *duplicación genética* y *silenciación* durante la evolución han modificado los puntos de vistas sobre el papel evolutivo de la poliploidía.

Mientras que los datos electroforéticos *per se*, no proporcionan indicios de los procesos de especiación, cuando convergen con características como los sistemas de cruzamiento, número de cromosomas, relaciones de cruces, distribución geográfica, morfología, etc., permiten definir hipótesis para construir posibles modelos de especiación. Durante varias décadas los *fenotipos isoenzimáticos* o el uso de la información genética contenida en los *isoenzimas* ha aumentado el conocimiento de la variación heredable dentro y entre las poblaciones de especies vegetales en concordancia con características como la morfología, citología y adaptación ecológica (KEPHART, 1990; CRAWFORD, 2000).

Asimismo los datos isoenzimáticos *per se* no pueden ser usados como caracteres *taxonómicos* ni como única aplicación directa a la filogenia. Solo si dos especies dudosamente distintas son divergentes en los *loci* aloenzimáticos, la divergencia aloenzimática se podría usar para el reconocimiento de especies. Del mismo modo, especies con aislamiento reproductivo distinguibles morfológicamente, pueden no ser divergentes en los *loci* aloenzimáticos, revelando aislamiento y divergencia morfológica rápida respecto a la divergencia aloenzimática, suministrando información útil para la especiación sin ser particularmente útil para la delimitación de especies (CRAWFORD, 2000; FERGUSON, 2002).

Aunque la tecnología de los estudios poblacionales de ADN está en expansión, las proteínas se mantienen como productos importantes post-traduccionales y traduccionales del ADN de un organismo y como un componente estructural y enzimático importante de las células. Desde los primeros estudios, los *isoenzimas* siguen experimentando un desarrollo continuo encontrándose numerosos trabajos en las última décadas que muestran su eficacia para estimar y entender la variabilidad genética de las poblaciones naturales y flujo génico, reconocimiento de especies, hibridación, e incluso como aportaciones indirectas a las relaciones filogenéticas (CRAWFORD & SMITH, 1982; GOTLIEB, 1982 y 1984; SYTSMA & SCHAAL, 1985; NICKRENT & WIENS, 1989; CRAWFORD, 1989 y 2000; WERTH *et al.*, 1993; SHAPCOTT, 1994; WENDEL, ROWLEY & McD. STEWART, 1994; KRUTOVSKII & BERGMANN, 1995; BARRETT & HARDER, 1996; CRONBERG, 1996; EHRENDORFER, SAMUEL & PINSKER, 1996; MURPHY *et al.*, 1996; WELLER, SAKAI & STRAUB, 1996; BERGMANN & GILLET, 1997; FORD *et al.*, 1998a,b; TAYLOR, TRIMBLE & McCAULEY, 1999; EVANS *et al.*, 2000; FRANCESCHINELLI & BAWA, 2000; BACHMANN, 2001; GIBSON, 2001; MEMBRIVES, PEDROLA & CAUJAPÉ, 2001; BARRETT, 2003; ERICKSON & HAMRICK, 2003; SILVA-MONTELLANO & EGUIARTE, 2003; CASIVA *et al.*, 2004; KLIPS & CULLEY, 2004; CARROMERO & HAMRICK, 2005; CHUNG, NASON & CHUNG, 2005; COATES & BYRNE, 2005; DURAN *et al.*, 2005; HENRY, 2005; JAASKA, 2005; JUSAITIS & ADAMS, 2005; MATEU-ANDRÉS & DE PACO, 2005; OJA, 2005; SÁNCHEZ *et al.*, 2005; YAMASHIRO & MAKI, 2005; TRAPNELL & HAMRICK, 2006; AZEVEDO *et al.*, 2007; CAMPBELL & HUSBAND, 2007; CHUNG *et al.*, 2007; LÓPEZ-PUJOL *et al.*, 2007; PÉREZ-COLLAZOS *et al.*, 2007; CABRERA, GONZÁLEZ & VOVIDES, 2008; DERIEG, SANGAUMPHAI & BRUEDERLE, 2008; GIBSON, RICE & STUCKE, 2008; LEVSEN *et al.*,

2008; MALAVIYA *et al.*, 2008; MANDÁKOVÁ & MÜNZBERGOVÁ, 2008; NORDSTRÖM & HEDRÉN, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2008; ŠINGLIAROVÁ, CHRTEK & MRÁZ, 2008; BORATYNSKI *et al.*, 2009; JESUS *et al.*, 2009, etc.).

Asimismo, aunque todavía existe un gran vacío, en los últimos años se han incrementado los estudios de *isoenzimas* en Canarias (FRANCISCO-ORTEGA *et al.*, 1992, 1996 y 2000; PEDROLA-MONFORT & CAUJAPÉ-CASTELLS, 1994 y 1996; BORGÉN, 1997; FERNÁNDEZ & MARRERO, 2000; BATISTA, *et al.*, 2001 y 2004; BATISTA & SOSA, 2002; BOUZA *et al.*, 2002; FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 2002, 2004 y 2007; SOSA *et al.*, 2002; SUÁREZ *et al.*, 2002 y 2009; VILCHES, 2002 y 2004; LORENZO *et al.*, 2003; GONZÁLEZ PÉREZ *et al.*, 2004a,b,c y 2008a,b; SÁNCHEZ *et al.*, 2004 y 2006; OLIVA TEJERA *et al.*, 2004, 2005 y 2006; CRAWFORD *et al.*, 2006; CAUJAPÉ-CASTELLS & PÉREZ DE PAZ, 2007; PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007b; SOTO *et al.* 2007; MORA *et al.* 2007 y 2009; CAUJAPÉ-CASTELLS *et al.*, 2008a,b; OLANGUA *et al.* en preparación).

En la actualidad el conocimiento complementario de los sistemas de cruzamiento y constitución genética de las poblaciones naturales, consideradas como unidades básicas para la conservación, se considera imprescindible para el diseño de estrategias eficaces de conservación y gestión de los endemismos en peligro (HAMRICK & GODT, 1989, 1996 y 1997; GITZENDANNER & SOLTIS, 2000).

1.2.1. Antecedentes en Brassicaceae

En el momento en que se inician los estudios del género *Parolinia*, no existe información alguna acerca de la biodiversidad genética y su estructura en ninguna de sus especies, como en la mayoría de los endemismos canarios y macaronésicos en general.

Teniendo en cuenta que *Parolinia* es un género endémico, para la correcta evaluación de sus niveles diversidad genética es imprescindible la comparación con otros taxones de la familia (GITZENDANNER & SOLTIS, 2000; KARRON, 1989, 1991, ELGAR & CLODE, 2001). Entre los trabajos que abordan los niveles de diversidad genética en la familia merece destacar los que estudian endemismos canarios como *Matthiola bolleana*, el complejo *Lobularia canariensis*, *Erysimum albescens*, *Brassica bourgeauii*, *Crambe tamadabensis* y *C. pritzelii* (BORGÉN, 1997; LÁZARO & AGUINALDE, 1998; VILCHES *et al.*, 2002 y 2004; SÁNCHEZ *et al.*, 2004 y 2006; SOTO *et al.*, 2007 y en preparación), sin olvidar taxones fuera de Canarias de géneros como *Arabis*, el complejo *Brassica oleraceae*, *Coincya*, *Diploaxis*, *Iberis*, *Leavenworthia*, *Moricandia*, *Raphanus*, *Sibara*, *Streptanthus*, *Vella* y *Warea*, algunos con taxones endémicos de distribución restringida (ARÚS & SHIELDS, 1983; LYONS & ANTONOVICS, 1991; MAYER, SOLTIS & SOLTIS, 1994; ROY, 1995; KERCHER & CONNER, 1996; OYAMA, 1998; CHARLESWORTH & YANG, 1998; MASELLI, PÉREZ-GARCÍA & AGUINALDE, 1999; EVANS *et al.*, 2000; HUH & OHNISHI, 2001; PERSSON, FÄLT & VON BOTHMER, 2001; ESCHMANN-GRUPE, HURKA & NEUFFER, 2003; HELENURM, 2003).

La familia Brassicaceae enmarcada en el orden Brassicales, Eurosidae II y eu-dicotiledoneas centrales (STEVENS, 2001) se caracteriza por su gran variabilidad en el número de cromosomas y frecuentes procesos de *poliploidización* y *diploidización* como fuerzas evolutivas importantes y modelos de especiación *alopoliploide* y *homoploide* (ANDERSON & WARWICK, 1999; MITCHELL-OLDS *et al.*, 2005; WARWICK & AL-SHEHBAZ, 2006; WARWICK, FRANCIS & AL-SHEHBAZ, 2006; MARHOLD & LIHOVÁ, 2006; SOLTIS *et al.*, 2009). Estudios recientes en el genoma de algunas angiospermas

consolidan el carácter generalizado de la *poliploidía* como uno de los principales mecanismos de evolución, ratificando episodios de *duplicación genómica* y *poliploidización* en los procesos de *diversificación ancestral* y especiación de las familias Poaceae, Solanaceae, Fabaceae y Brassicaceae.

La *diploidización* o *silenciación genética* es un fenómeno que consiste en la disminución gradual del número de genes en los *poliploides antiguos* hasta alcanzar un nivel similar al de sus ancestros diploides. La *diploidización* afecta tanto al *comportamiento cromosómico* como a la constitución *genética* de los poliploides. Después de una *duplicación*, los mecanismos *genéticos y/o epigenéticos* pueden alterar la expresión genética. Los *cambios genéticos* dan lugar a cambios permanentes en el ADN o pérdida de genes y los *epigenéticos* alteran la expresión génica aunque sin cambiar la secuencia de ADN (SOLTIS, SOLTIS & TATE, 2003).

Estos mecanismos se pueden favorecer especialmente en ecosistemas oceánicos con acontecimientos posiblemente similares a los de la gran diversificación de las angiospermas durante el Cretáceo (PIRES & HERTWECK, 2008; SOLTIS *et al.*, 2009).

En el análisis de diversidad genética de *Parolinia*, se ha tenido en cuenta los antecedentes de *duplicaciones* presentes en la familia tanto en taxones diploides como poliploides (ARÚS & ORTON, 1983; BROCHMANN, SOLTIS & SOLTIS, 1992; HURKA & DURING, 1994; HURKA & NEUFFER, 1997; ANDERSON & WARWICK, 1999; NEUFFER & HOFFROGE, 2000; SIMILLION *et al.*, 2002; MITCHELL-OLDS *et al.*, 2005, etc.) ya que como señala GOTLIEB (1984), el uso de duplicación genética como utilidad para realizar agrupaciones taxonómicas depende de la improbabilidad de que una duplicación del mismo gen estructural se origine y establezca más de una vez en un único linaje taxonómico.

2. OBJETIVOS

El objetivo general de este capítulo es determinar los niveles de diversidad y estructuración genética de las poblaciones y especies del género *Parolinia* con el fin de:

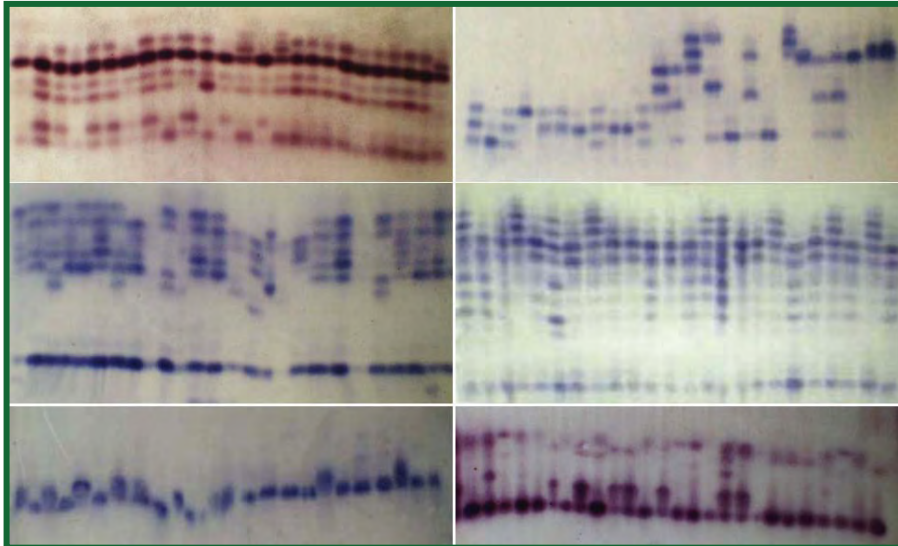
1) Comparar la variabilidad y estructura genética de las especies ampliamente distribuidas respecto a las restringidas, considerando la talla poblacional y rangos de distribución en las islas: Gran Canaria con cuatro especies y 12 poblaciones, Tenerife con una especie y tres poblaciones, La Palma y La Gomera, con una sola especie y población.

2) Comparar los niveles de diversidad de este género endémico canario con otros géneros de Brassicaceae y con taxones de otras familias presentes en Canarias y otros archipiélagos oceánicos.

3) Se pretende confirmar que los *sistemas de cruzamiento* según adscripción filogenética determinan los niveles de *diversidad genética* pudiendo variar según su número cromosómico y talla poblacional.

Este conocimiento *poblacional* redundaría en *estrategias de conservación* verdaderamente eficaces para las especies *amenazadas*.





CAPÍTULO III



Material y Métodos

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. MUESTREO Y ALMACENAMIENTO DE MATERIAL

Para los análisis de variabilidad isoenzimática, se llevan a cabo muestreos no destructivos de primordios foliares representando a todos los taxones conocidos del género *Parolinia* con un total de 17 poblaciones naturales de las cuales, 12 corresponden a los cuatro taxones de Gran Canaria y las cinco restantes a los tres taxones de las islas de Tenerife, La Gomera y La Palma (Tabla 3.1). Solamente el material de *P. intermedia* de la población de Armeñine-Adeje (Tenerife) procede de los efectivos cultivados en el JBCVC a partir de semillas recolectadas en la población natural (PIAJ).

TAXON- CÓDIGO	ISLA	POBLACIÓN	POB CÓD	Nº NÚCLEOS/ POB	Nº INDS / NÚCLEO	Nº INDS TOTAL
<i>P. glabriuscula</i> (PG)	GC	Caldera de Bandama	PGB	2	35 / 41	76
<i>P. filifolia</i> (PF)	GC	Barranco de Siberio	PFS	1	57	57
	GC	Barranco de La Aldea	PFA	2	70 / 38	108
	GC	Degollada de Tasartico	PFT	1	70	70
	GC	Montaña de Inagua	PFI	1	30	30
POA	GC	Barranco de Agaete	POA	2	75 / 46	121
POVE	GC	Barranco de Veneguera	POVE	2	21/ 13	34
<i>P. ornata</i> (PO)	GC	Barranco de Tirajana	POS	6	37 / 20/ 20/ 32 /15 /13	137
	GC	Barranco Los Vicentillos	POV	2	18 / 126	144
	GC	Barranco de Mogán	POM	2	49/ 53	102
PFCH	GC	Riscos de Chapín	PFCH	1	20	20
<i>P. platypetala</i> (PP)	GC	Barranco Guayadeque	PPG	5	12/ 29/ 30/ 30/ 27	128
<i>P. intermedia</i> (PI)	T	Punta de Teno	PIT	2	50 / 50	100
	T	Montaña de Guaza	PIG	2	5 / 20	25
	T	Adeje- cultivado JBCVC	PIAJ	1	25	25
<i>P. schizogynoides</i> (PS)	G	Barranco de Argaga	PSA	1	100	100
<i>P. aridanae</i> (PA)	P	Charco Verde	PAC	1	100	100

Tabla 3.1. Muestreo de Isoenzimas. Especies y poblaciones analizadas, isla (GC= Gran Canaria, T= Tenerife, G= La Gomera, P= La Palma). Código de las poblaciones. Número de núcleos por población, nº de individuos por núcleo y nº de individuos muestreados por población.

En aquellos taxones de más amplia distribución (*P. filifolia*, *P. ornata* y *P. intermedia*) el muestreo de las poblaciones se realiza teniendo en cuenta la corología del taxon, seleccionando tres o cuatro poblaciones, procurando muestrear los extremos de la distribución y eligiendo al menos una población intermedia (Capítulo de Introducción).

Se muestrean los taxones de distribución restringida a una única población (PGB, PPG, PSA, PAC), así como las tres poblaciones sin clara adscripción taxonómica (POA, POVE y PFCH) que se consideran de forma independiente en todos los análisis.

El muestreo de cada población se realiza tratando de obtener siempre una buena representación de los individuos según áreas o núcleos de distribución (Tabla 3.1), con la

excepción de aquellos casos en los que debido a las dificultades del terreno, sólo es posible recoger material de los individuos más accesibles. Asimismo se tiene en cuenta las diferentes orientaciones y laderas de barranco, densidad, distribución y número de individuos para poder representar los núcleos o posibles sub-poblaciones y obtener una buena aproximación de los niveles de variabilidad genética, de manera que siempre que fue posible se procura:

i) en las poblaciones con un número de individuos ≤ 150 , muestrear casi todos los individuos de la misma

ii) en las poblaciones con un número de individuos > 150 , el muestreo se efectúa según la distribución de individuos y densidad. En aquellas poblaciones homogéneas, se realizan varios transectos longitudinales a partir de los cuales se muestran individuos adultos al azar. En los casos de distribución heterogénea, se verifica un muestreo estratificado y/o probabilístico identificando las áreas o núcleos más representativos, (GALINDO VILLARDON, 1984; SIEGEL, 1988; FERNÁNDEZ-PALACIOS & DE LOS SANTOS, 1996).

La recolección de hojas jóvenes para la electroforesis de isoenzimas, se realiza en el periodo de crecimiento vegetativo cuando se forman nuevos primordios foliares (Capítulo I: 4.1) que según las pruebas preliminares son los que manifiestan la mayor actividad enzimática.

Los individuos muestreados se etiquetan para facilitar eventuales re-muestreos y se les asigna un par coordenadas cartesianas en un mapa (Capítulo de Introducción, Apartado 3.1 y Anexo). El material recogido se guarda en bolsas etiquetadas y se transporta hasta el laboratorio del Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo" en neveras de campo con bloques refrigerantes para evitar la desnaturalización de las enzimas.

3.2. DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DE ELECTROFORESIS DE ISOENZIMAS

Para la puesta a punto de la técnica en este género, en primer lugar se lleva a cabo la recopilación bibliográfica general sobre la técnica de electroforesis de isoenzimas y su aplicación en particular a la familia Brassicaceae con el objetivo de que esta sea lo más rápida y económica posible (CLAYTON & TRETIAK, 1972; ARÚS, 1983; ARÚS & ORTON, 1983; ARÚS & SHIELDS, 1983; SHIELDS, ORTON & STUBER, 1983; SOLTIS & SOLTIS, 1989; WENDEL & WEEDEN, 1989; KEPHART, 1990; ROY, 1990; HILLIS, MORITZ & MABLE, 1996; MURPHY *et al.*, 1996; BORGAN, 1997; CAUJAPÉ-CASTELLS *et al.*, sin publicar, etc.).

3.2.1. Fundamento y desarrollo de la técnica

La metodología de la técnica de electroforesis de isoenzimas en gel de almidón se desarrolla en CAUJAPÉ-CASTELLS *et al.* (sin publicar) y se resume a continuación. La técnica de electroforesis horizontal de proteínas en gel de almidón implica dos procesos:

1º) La separación electroforética del enzima y de sus productos en un gel de almidón, para lo cual se necesita que el gel tenga un tamaño de poro determinado que permita que el enzima se desplace a través de un campo eléctrico. El pH de cada sistema específico de gel y tampón de electrodo determina la velocidad de migración de las proteínas en el campo eléctrico.

2º) El proceso de tinción enzimática, por el que se facilita que el enzima actúe sobre su sustrato específico y se genere un producto resultante. Para la acción catalítica del enzima se necesita además la actuación de un coenzima (NAD o NADP) que recoge los electrones desde el sustrato reducido. Mediante estas reacciones acopladas, la zona del gel donde está actuando el enzima se vuelve visible en forma de banda coloreada. En la mayoría de tinciones, el PMS (fenacina metosulfato) acepta electrones desde el coenzima NAD (P)H y reduce las sales de tetrazolium (MTT). Cuando el MTT se reduce forma un formazán inestable, que precipita y produce la banda coloreada que se observa en el zimograma.

La electroforesis de aloenzimas permite estimar la variabilidad genética en los *loci* analizados ya que cada enzima está codificada por un *locus* determinado del ADN y tiene distintas formas o electromorfos (alelos) que migran diferencialmente según su carga eléctrica (KEPHART, 1990; PEDROLA, 1998).

En el Anexo 3.1 se detallan los protocolos para elaboración del tampón de extracción y de las distintas disoluciones utilizadas en la electroforesis, así como la composición química y rangos de pH de los sistemas de tampón gel/electrodo, tiempo y condiciones de voltaje-amperaje de la electroforesis y protocolos de tinción de los enzimas.

3.2.1.1 Homogeinización y extracción de las muestras

Los extractos proteicos se obtienen machacando las hojas en morteros de cristal fríos (4°C) utilizando un tampón de extracción adecuado para preservar la actividad enzimática y prevenir la oxidación de las enzimas (SHIELDS, ORTON & STUBER, 1983).

La maceración de las hojas produce la ruptura de la pared celular y facilita la liberación de los enzimas. Los extractos se absorben en papel Whatman nº 3, procurando retirar el exceso de extracto, y se almacenan en el ultra-congelador a -80° C hasta el momento de la electroforesis.

3.2.1.2. Preparación de los geles de almidón y tampones de gel y electrodo

Se utilizan geles de almidón ya que constituyen un soporte no tóxico y su tamaño de poro es similar al tamaño de las proteínas, produciendo por tanto una especie de tamiz que incrementa la resolución de separación entre las proteínas según cargas eléctricas, cuando al gel se le aplica un voltaje y amperaje adecuado. En esta separación intervienen también otros elementos como el pH del gel y del tampón de electrodo, que determinan la velocidad de migración del enzima según su carga eléctrica neta.

La buena resolución que presenten las proteínas va a depender, entre otras cosas, del tipo y concentración del almidón y de la composición y pH del tampón gel/electrodo. Se realizan pruebas con diferentes marcas y lotes de almidón a distintas concentraciones (10%, 11% y 12%) y se prueban distintos sistemas de gel/electrodo que difieren en composición y pH. Finalmente la electroforesis se lleva a cabo con almidón Aldrich 23.402-8 al 12% (p/v) usando tres sistemas de tampón gel/electrodo: 1) Histidina 7.0 o sistema E de SHIELDS, ORTON & STUBER (1983), 2) Borato-litio 8.3 o sistema C de SHIELDS, ORTON & STUBER (1983) y 3) Morfolina-citrato 6.1 (CLAYTON & TRETIAK, 1972). (Anexo 3.1).

3.2.1.3. Ensayo y tinción de los enzimas

Se ensayaron los siguientes enzimas usando tres sistemas de tampón gel/ electrodo:

1) Histidina 7.0: *Isocítrico deshidrogenasa* (IDH, E.C.1.1.1.42), *Malato deshidrogenasa* (MDH, E.C.1.1.1.37), *Fosfoglucoisomerasa* (PGI, E.C.5.3.1.9) y *Fosfoglucomutasa* (PGM, E.C.5.4.2.2).

2) Borato de Litio 8.3: *Acido fosfatasa* (ACP, E.C.4.2.1.3), *Esterasa* (EST, E.C.3.1.1.), *Glutamato deshidrogenasa* (GDH, E.C.1.4.1.2), *Glutamato-oxalacetato transaminasa* (GOT, E.C.2.6.1.1) y *Leucil-aminopeptidasa* (LAP, E.C.3.4.11.1).

3) Morfolina-Citrato 6.1: *Enzima málica* (ME, E.C.1.1.1.40), *Fosfogluconato deshidrogenasa* (6PGD, E.C.1.1.1.44), *Sikimico deshidrogenasa* (SKD, E.C.1.1.1.25).

Los protocolos de tinción seguidos se fundamentan en ARÚS (1983), WENDEL & WEEDEN (1989) y MURPHY *et al.* (1996) con ligeras modificaciones que afectan principalmente a las cantidades de sustrato y a los pH finales y que resultan en una mejor resolución de las bandas de actividad enzimática (Anexo 3.1).

Una vez obtenidas las capas con las enzimas específicas ya teñidas, se realizan fotografías de los geles con una cámara digital Olympus DP10 acoplada a un trípode.

3.3. INTERPRETACIÓN DE LAS ISOENZIMAS

Cuando un enzima muestra actividad para más de un *locus* genético, los diferentes *loci* se codifican siguiendo la secuencia numérica desde la región de actividad más cercana al ánodo. Asimismo en cada *locus*, los electromorfos o alelos se denominan siguiendo el alfabeto, asignando la letra “a” para la banda de migración más anodal.

La verificación y homologación de las movilidades enzimáticas intra-poblacionales, inter-poblacionales e inter-específicas se determinan por comparaciones de los diferentes electromorfos e individuos en el mismo gel.

Las interpretaciones de los patrones aloenzimáticos y formateo de los datos genotípicos individuales para su implementación en los distintos programas de variabilidad genética, se lleva a cabo con el programa TRANSFORMER-2 (CAUJAPÉ-CASTELLS & BACCARANI-ROSAS, 2004).

Ante la observación en los ensayos preliminares de patrones complejos de bandas en una serie de enzimas estudiadas, resultado atribuible a posibles duplicaciones genéticas putativas, su interpretación se presenta con detalle en el apartado de Resultados.

3.4. PARÁMETROS DE VARIABILIDAD GENÉTICA

Existen varias medidas estándar para la estimación de la diversidad genética según marcadores de un solo gen (aloenzimas) reconocidos como parámetros de diversidad genética. Estos parámetros estiman la diversidad genética dentro de las especies, dentro de las poblaciones y entre las poblaciones.

Es importante pues analizar la *cantidad* de variación genética de una especie como también es importante su *estructuración genética* o como se *distribuye* dicha variabilidad entre las distintas poblaciones naturales o núcleos poblacionales.

Para los siguientes apartados se ha tenido en cuenta la metodología propuesta por diferentes autores (MORAN, 1948; WRIGTH, 1931,1951; COCKERHAM, 1969; NEI, 1972, 1973; 1978, 1987; MANLY, 1985; SLATKIN, 1985; KESSELI & JAIN, 1985; BARBUJANI, 1987; KARRON, 1987; HAMRICK & GODT, 1989, 1996; HART & CLARK, 1989; SLATKIN &

BARTON, 1989; PARKS & WENDEL, 1990; WEIR, 1990; RITLAND, 1990; FALK & HOLSINGER, 1991; BARRETT & KOHN, 1991; HUSBAND & BARRETT, 1992; AGREN & SCHMESKE, 1993; FRANKEL BROWN & BURDON, 1995; BENGTSSON, WEIBULL & GHATNEKAR, 1995; BARRETT & HARDER, 1996; CORNUET & LUIKART 1996; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001; RUIZ *et al.* 2004; CAUJAPÉ-CASTELLS, 2006).

Los parámetros para analizar la *variabilidad genética* de las poblaciones pueden ser *cualitativos y/o cuantitativos*.

Los parámetros *cualitativos* más utilizados para analizar la *variación* de las poblaciones naturales, están referidos a los *alelos* o *electromorfos* de cada *locus* aloenzimático como: i) número de *alelos* compartidos entre poblaciones que permite establecer vínculos cualitativos entre ellas y ii) alelos exclusivos presentes exclusivamente en sus poblaciones, no compartidos y con valor diagnóstico (sean o no monomórficos).

Los parámetros cuantitativos más utilizados para cuantificar la *variación* dentro de las poblaciones o núcleos son:

A_T = Número total de alelos: calculado sumando los alelos de todos los *loci*.

A_l = Número de alelos por *locus*: n° medio de alelos por *locus*, incluyendo tanto los *loci* monomórficos como los polimórficos. Esta medida es altamente dependiente del tamaño de muestra.

A_e = Número medio de alelos efectivos por *locus*: es el n° de alelos observados, cuando todos los alelos están presentes en igual frecuencia y suministra una medida de uniformidad alélica ($A_e = 1/\sum p_i^2$, donde p_i es la frecuencia de los i alelos). Es una estimación del n° necesario de alelos de un *locus* para mantener los niveles detectados de heterocigosidad (HARTL & CLARK, 1989; HALL, ORRELL & BAWA, 1994).

P = Porcentaje de *loci* polimórficos: calculado con el criterio del 95% (cuando la frecuencia del alelo más común es ≤ 0.95). Este parámetro depende, claramente, del n° de individuos estudiados, porque es probable que un muestreo pequeño sólo incluya unos pocos genotipos diferentes, mientras que un estudio más extenso revelaría más fielmente la variabilidad de la población.

H_o = Heterocigosidad observada: proporción observada de individuos heterocigotos.

H_e = Heterocigosidad esperada: proporción esperada de individuos heterocigotos en una población con apareamiento al azar: $H_e = 1 - \sum p_i^2$ donde p_i es la frecuencia de los i alelos (SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001; CAUJAPÉ-CASTELLS, 2006). Se considera también como medida de diversidad génica que está en función de la proporción de *loci* polimórficos, número de alelos por *locus* y frecuencias alélicas. Su valor es igual a 0 si la frecuencia de un alelo en el *locus* es igual a 1 (si no hay variabilidad en el *locus* en cuestión, el alelo está fijado en dicho *locus*). H_e es una medida de la variabilidad de un *locus* que sólo depende de las frecuencias alélicas.

GML = Genotipos Multilocus: se calculan sumando los genotipos de todos los *loci*, considerando tanto los monomórficos como los polimórficos (TYLER, 2004).

Para el cálculo de los parámetros básicos de diversidad genética (P , A_l , H_e , H_o) se utiliza el programa BIOSYS1 1.7 (SWOFORD & SELANDER, 1989) y para el cálculo del número de alelos efectivos (A_e) el POPGENE32 (YEH *et al.*, 1997).

3.5. MANTENIMIENTO Y DESVIACIÓN DE PARÁMETROS GENÉTICOS EN LAS POBLACIONES NATURALES

3.5.1. Test de cuello de botella o exceso de heterocigotos

Este test se puede utilizar como indicador de cuello de botella reciente a partir de los valores de la heterocigocidad esperada por *locus*. Se fundamenta en que los alelos de frecuencia baja (que apenas contribuyen a la heterocigosidad total) se pierden mucho más rápidamente que los heterocigotos y por tanto poblaciones que han sufrido cuellos de botella, manifestarán un exceso de heterocigotos en número significativo de *loci*.

El test se realiza con el programa BOTTLENECK (CORNUET & LUIKART, 1996; PIRY, LUIKART y CORNUET 1998) basado en las frecuencias alélicas y en el cálculo de un valor de probabilidad (*P*) según dos modelos de mutación, el modelo del alelo independiente *Infinite Allele Model* y de mutación por pasos *Stepwise Mutation Model*. Para determinar si una población exhibe un número significativos de *loci* con exceso de heterocigotos se elige el test de Wilcoxon porque puede ser utilizado con pocos *loci* polimórficos y con cualquier número de individuos. El test es significativo cuando los *loci* polimórficos tienen exceso de heterocigotos y cuando existe una probabilidad de significación $p < 0.05$.

3.5.2. Test de Neutralidad de Ewens-Watterson

El test de Neutralidad de Ewens-Watterson (MANLY, 1985) calcula la posible intervención de *la selección natural* detectando *presión selectiva* en los *loci* cuando los resultados son significativos. Se fundamenta en la comparación entre la homocigosidad esperada y la homocigosidad observada.

Los valores del test se obtienen por el programa POPGENE 32 (YEH *et al.*, 1997) que calcula un intervalo de confianza (95%) del valor medio de homocigosidad esperada bajo la hipótesis de neutralidad. Si el valor medio de la homocigosidad esperada según las proporciones de Hardy-Weinberg está fuera del intervalo (L95-U95), el test es significativo y se puede pensar que la selección podría estar actuando en el *locus* implicado. Si el valor "medio" está dentro del intervalo de confianza, el test no es significativo y el *locus* en cuestión puede considerarse neutral (CAUJAPÉ-CASTELLS, 2006).

3.5.3. Probabilidad de pérdida de alelos

Se estima la probabilidad de pérdida (*L*) de los alelos de baja frecuencia en una población o probabilidad de que una muestra de tamaño *N* no contenga un alelo con frecuencia poblacional *p*, utilizando la expresión: $L = (1-p)^{2N}$ (BENGTSSON *et al.*, 1995) para los alelos con frecuencia < 0.5 y presentes sólo en el 50% o menos de las poblaciones muestreadas (CAUJAPÉ-CASTELLS & PEDROLA-MONFORT, 2004; CAUJAPÉ-CASTELLS, 2006). Se calculan y representan las probabilidades de pérdida esperada L_e y observada L_o . Para el cálculo de la probabilidad de pérdida esperada (L_e) se asume que los alelos presentan la misma frecuencia en las todas las poblaciones y que no hay ninguna variación geográfica de las frecuencias alélicas.

Estos valores se utilizan para dos análisis de regresión lineal, donde la frecuencia de cada alelo se representa en el eje X, y el $-\log(L_o)$ y $-\log(L_e)$ se representan en el eje Y. Siguiendo a BENGTSSON *et al.* (1995), se obtiene un valor de representatividad muestral

(R) por la relación entre la pendiente de la línea de regresión observada (basada L_o) y la pendiente de la línea de regresión esperada (basada L_e). R se interpreta como la probabilidad de que el muestreo de una sola población al azar represente todos los alelos raros incluidos en el análisis.

Los valores de R altos (cerca de 1) indicarían que el ángulo o pendiente entre las dos rectas de regresión (L_o y L_e) son prácticamente los mismos, las dos rectas estarían muy cercanas y R representaría que no es probable la pérdida de alelos y que el muestreo genético de una sola población representaría la mayor parte de la variabilidad del conjunto analizado.

El cálculo de la probabilidad de pérdida se realiza con el programa TRANSFORMER 2.0 (CAUJAPÉ-CASTELLS & BACCARANI-ROSAS, 2004).

3.5.4. Análisis de autocorrelación espacial

La distribución espacial de la variabilidad genética dentro de las poblaciones se evalúa mediante un análisis de autocorrelación espacial (SOKAL 1979; GRIFFITH 1987). Este análisis puede definirse como la relación entre los valores de una variable (genotipos o alelos) en función de su distribución en el espacio donde adquiere un valor determinado (GRIFFITH, 1987). Las variables se refieren a los genotipos de los individuos y representan a los alelos detectados y las unidades espaciales son las coordenadas cartesianas de los mismos (apartado 3.1 y Anexo del Capítulo de Introducción) que definen la posición relativa de los individuos en las 12 poblaciones de Gran Canaria estudiadas.

Se construyen matrices de conexión (distancia) de los individuos muestreados a partir de las coordenadas cartesianas asociadas a cada uno de ellos. Sólo se incluyen en el análisis los alelos con frecuencia ≥ 0.05 . En el caso de *loci* di-alélicos, sólo se considera uno de los alelos para el análisis ya que el otro suministra información redundante. Los genotipos se codifican de forma que a los individuos homocigotos para un alelo se les da el valor de 1.0, a los heterocigotos se les asigna la frecuencia 0.5, y a los individuos que carecen del alelo les corresponde una frecuencia de 0.0 (HEYWOOD, 1991).

Se utiliza el Índice de Moran o IM (MORAN, 1948) como coeficiente de autocorrelación espacial, este parámetro oscila entre -1 y +1. Cuando $IM > 0$, la autocorrelación espacial es positiva lo que significa que los puntos que presentan valores similares para la variable tienden a estar cercanos en el espacio. Cuando $IM < 0$, los puntos con valores similares tienden a estar separados en el espacio.

En los correlogramas (construidos a partir de los cambios de IM según cinco clases de distancias) se calculan por extrapolación directa las intersecciones de los puntos con el valor "0" del eje X para estimar el tamaño de las áreas genéticamente homogéneas (SOKAL, 1979). Las matrices de distancia geográfica, los correlogramas (representación gráfica de los valores de IM en el espacio, dibujados considerando 5 clases de distancia) y su nivel de significación se calculan con el programa SAAP (Wartenberg, 1983).

Esta metodología es adecuada para detectar individuos emparentados genéticamente por dos razones: i) el coeficiente de auto-correlación espacial (IM) puede equipararse al coeficiente de relación genética ρ de Wright (1922) según COCKERHAM (1969) y BARBUJANI (1987), proporcionando una estimación del grado de parentesco entre los individuos muestreados y, ii) cuando se detecta autocorrelación espacial positiva puede estimarse el diámetro de las áreas genéticamente homogéneas (CAUJAPÉ-CASTELLS, 2006).

3.6. ESTRUCTURA DE LAS POBLACIONES

Las medidas de diversidad genética dentro de las especies estiman la diversidad total disponible en las mismas y no deben ser confundidas con la manera en que se distribuye la diversidad entre las poblaciones ya que especies con la misma variación genética, pueden tener niveles diferentes de diversidad dentro y entre sus respectivas poblaciones (WRIGHT, 1931, 1951; COCKERHAM, 1969; NEI, 1972, 1973; 1978, 1987; HAMRICK & GODT, 1989, 1996 y 1997).

3.6.1. Índice de Fijación (F_{IS}) o coeficiente de *inbreeding* y tasa de alogamia (t)

El índice de Fijación F (F_{IS}) definido por WRIGHT (1931) se conoce también como coeficiente de *inbreeding* o de consanguinidad. Se calcula para cada *locus* polimórfico utilizando la fórmula de HARTL & CLARK (1989): $F=1-(H_o/H_e)$ donde H_o es la heterocigosidad observada y H_e la heterocigosidad esperada. Posteriormente se obtiene la media de todos los *loci* (F).

Este índice mide las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg en las poblaciones pudiendo indicar del incremento de la homocigosidad debida a la incidencia de apareamientos entre parientes cercanos de una población.

Los valores de F (F_{IS}) oscilan entre -1 y +1, de manera que, en una población que se reproduce por autogamia obligada, el valor de $F=1$ lo que significa que no hay heterocigotos. Valores de F es a cercanos a cero, indican que la población está en equilibrio de Hardy-Weinberg, se produce panmixia o apareamiento al azar y no existe ni exceso ni defecto de homocigotos. Por el contrario, los valores de F negativos indican un exceso de heterocigotos. Para el cálculo del coeficiente de *inbreeding* F se utiliza el programa BIOSYS-1.

La tasa de alogamia (t) de una población se puede expresar como $t=1-s$ donde s es la tasa de autogamia (KESSELI & JAIN, 1985; KARRON, 1987; BARRETT & HARDER, 1996; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001). La *tasa de alogamia* t se calcula también en función de la expresión de Hardy-Weinberg a partir del coeficiente de endogamia F por la fórmula: $t=(1-F)/(1+F)$ donde F es el *índice de fijación* o *coeficiente de inbreeding* (WEIR, 1990; AGREN & SCHEMSKE, 1993). Los valores de t oscilan entre 0 y 1.

3.6.2. *Inbreeding depression* (δ) o pérdida de vigor por endogamia

La *pérdida de vigor por endogamia* (*inbreeding depression*) afecta a la estructura de las poblaciones naturales de las especies parcialmente xenógamas e influye en la evolución de los sistemas de cruzamiento, por lo tanto se considera necesario conocer su presencia mediante la estimación del llamado coeficiente de *inbreeding depression* " δ " (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987; RITLAND, 1990; BARRETT & KOHN, 1991; LANDE, SCHEMSKE & SCHULTZ, 1994; BARRETT & HARDER, 1996).

Estos autores, especialmente RITLAND (1990) ha desarrollado un método para estimar la cantidad de *pérdida de vigor por endogamia* a partir de datos moleculares de isoenzimas fundamentado en la *heterocigosidad* o coeficiente de *inbreeding* F ($1-H_o/H_e$) por el cual se obtiene la *tasa autogamia* (s) y *alogamia* (t), asumiendo que en las poblaciones de especies perennes el coeficiente F tiende a mantenerse constante en cada generación. Se asume como vigor de la población $W=2Ft/s-sF$ y como *coeficiente de inbreeding depression* $\delta=1-W=1-2Ft/s(1-F)$. Según FOX (2005) se esperan coeficientes negativos (δ) cuando hay

niveles altos de *heterocigotos* (H_o) o *tasa de alogamia* (t) y revelarían los problemas de la población causados por los *alelos perjudiciales recesivos* en heterocigosis (LANDE, SCHEMSKE & SCHULTZ, 1994; HUSBAND & SCHEMSKE (1996).

Como se ha descrito en el Capítulo II de Sistemas de Cruzamiento, ante la posibilidad de cruzamientos mixtos en todas las poblaciones alógamas, algunos autores creen conveniente el cálculo de *inbreeding depression* (δ) dependiendo de los índices de autoalogamia de cada población (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987), este valor (aunque sobredimensionado) puede determinar también el vigor, según la relación de frutos o semillas producidas entre flores auto-polinizadas (W_s) y flores con polinización cruzada (W_c): $\delta=1-(W_s/W_c)$. Como la para tasa de alogamia, se confrontan los valores de *inbreeding depression* obtenidos a partir de los dos tipos de datos (producción de semillas y de heterocigotos (H) según valores de F , s y t).

3.6.3. Tamaño efectivo de la población (N_e)

El tamaño efectivo de las poblaciones naturales (N_e) se refiere al número de individuos reproductores o individuos en flor y se considera necesario para evaluar los mecanismos de diferenciación genética en las poblaciones naturales (HUSBAND & BARRETT, 1992). En los modelos teóricos, N_e considera el nº de individuos reproductores en una población ideal en la que los individuos se aparean al azar. La magnitud de este parámetro (N_e) determina la cantidad de error de muestreo entre generaciones que causa *deriva genética* (fluctuaciones al azar en las frecuencias alélicas).

Desde un punto de vista molecular, N_e se considera directamente relacionado con la tasa de autogamia (s) y se puede calcular como una función de la misma (HUSBAND & BARRETT, 1992): $N_e=N(2-s)/2$, donde s es la proporción de *progenie* derivada de autofertilización y N es el número medio de individuos censados. Cuando la autogamia es completa ($s=1$), N_e disminuirá a $1/2 N$ porque la pérdida de variación es similar a la de una población haploide de tamaño N .

Un método alternativo es el propuesto por Crawford (FRANKEL, BROWN & BURDON, 1995) calculado a partir de F : $N_e=N/(1+F)$ donde N es el tamaño de la población y F el índice de fijación.

3.6.4. Desviación del equilibrio Hardy-Weinberg. Test de la Chi-cuadrado

Se calculan las posibles desviaciones significativas del equilibrio Hardy-Weinberg utilizando el test no paramétrico de χ^2 . Cuando la probabilidad $P=1$, se considera que el *locus* está en equilibrio de H-W, y cuando $P \neq 1$, indica exceso o defecto de heterocigotos en la población analizada. En este estudio se ha considerado como *loci* en equilibrio los que mostraban una probabilidad $P \geq 0.970$. Para el cálculo de χ^2 se ha utilizado el programa BIOSYS-1 v1.7.

3.6.5. Estructura genética. Flujo génico (Nm)

La estructura genética de una población o núcleo de población puede ser definida como la distribución no al azar de los alelos y/o genotipos en el espacio o en el tiempo (HAMRICK, 1987). Los estadísticos de la estructura y diversidad genética entre poblaciones más ampliamente utilizados y más informativos son los F estadísticos de WRIGHT (1951) y los estadísticos de NEI (1973).

3.6.5.1. Estadísticos de Wright

Los F estadísticos de WRIGHT (1951) se fundamentan en las desviaciones de las frecuencias genotípicas esperadas bajo apareamiento al azar. La desviación total (F_{IT}) se descompone en las desviaciones entre poblaciones (F_{ST}) y las desviaciones dentro de las poblaciones (F_{IS}), donde $F_{IS}=(H_e-H_o)/H_e$ pudiendo variar entre (-1) y (+1).

Estos parámetros están relacionados por la siguiente fórmula: $1-F_{IT}=(1-F_{ST})(1-F_{IS})$.

3.6.5.2. Estadísticos de Nei

Los estadísticos de diversidad genética de NEI (1973) descomponen la diversidad genética total (H_T) en la diversidad genética media dentro de las poblaciones (H_S) y la diversidad genética media entre las poblaciones (D_{ST}). De manera que: $H_T=H_S+D_{ST}$.

Se define como G_{ST} la proporción de diversidad genética media entre poblaciones relativa a la diversidad genética total (D_{ST}/H_T).

NEI (1973) demostró que el estadístico G_{ST} (basado en los alelos) es equivalente al estadístico F_{ST} (basado en la heterocigocidad). Estos dos estadísticos se pueden utilizar por tanto de forma alternativa (HAMRICK, 1987).

Hay que considerar que F_{ST} (basado en la heterocigocidad) refleja la acción conjunta de la *deriva* que tiende a diversificar las poblaciones y el *flujo génico* que tiende a homogenizarlas, siendo por tanto un indicador de la cohesión genética de las poblaciones. Los valores altos indicarían poca cohesión y viceversa.

En primer lugar se calculan los valores de F_{ST} y G_{ST} entre poblaciones como entidades diferentes sin tener en cuenta su adscripción taxonómica. En segundo lugar se calculan los parámetros F_{ST} y G_{ST} para los taxones con más de una población *P.filifolia* (4), *P.ornata* (3) y *P.intermedia* (3). Por último, se comparan las poblaciones no adscritas a ningún taxon (POA, POVE y PFCH) con las especies con varias poblaciones especialmente de Gran considerando. Se pretende valorar si al incluir estas poblaciones se altera la cohesión genética de los taxones, pudiendo ser consideradas (o no) como poblaciones adscritas a alguno de ellos.

Para calcular los F -estadísticos se utiliza el programa BIOSYS-1 1.7 y para calcular los estadísticos de NEI (1973) el programa GENESTAT-PC 3.31 (LEWIS & WHITKUS, 1993).

3.6.5.3. Flujo génico (N_m)

Se denomina *flujo génico* al cambio de frecuencias génicas de una población por movimiento de gametos (polen) o individuos (semillas) de un lugar a otro (SLATKIN, 1987) y su medida más común es la tasa de migración (m).

El número de migrantes inter-poblacionales se evalúa indirectamente a partir de las diferencias en las frecuencias alélicas de las poblaciones por medio de la fórmula de SLATKIN & BARTON (1989): $N_m=1-F_{ST}/4F_{ST}$ o también $N_m=1-G_{ST}/4G_{ST}$, donde G_{ST} y F_{ST} son los componentes interpoblacionales de la diversidad genética total (NEI, 1973; WRIGHT, 1951).

Los valores de N_m superiores a 1, indican que hay intercambio de migrantes (polen o semillas) lo que presupone una distancia genética baja y la no diferenciación genética de las poblaciones. Cuando $N_m < 1$, no hay intercambio de migrantes que mantengan la cohesión genética, pudiéndose producir fragmentación de la población (SLATKIN, 1985; SLATKIN & BARTON, 1989).

El cálculo del flujo génico se lleva a cabo con el programa POPGENE 32 (YEH *et al.*, 1997).

3.6.5.4. Estructura genética y aplicaciones a la conservación

La estrategia de muestreo del número de poblaciones indicada por CESKA, AFFOLTER & HAMRICK (1997) con el objetivo de conseguir representar el 99% de la variabilidad genética de los taxones en los bancos de semillas (conservación *ex situ*) se fundamenta en la fórmula: $P=1-G_{ST}^n$, donde n es el número de poblaciones a muestrear y P es la proporción de la variación genética detectada entre poblaciones. Se utiliza el G_{ST} , estadístico de estructura poblacional de NEI (1973) considerado adecuado porque parece tener más sentido biológico que otros parámetros similares ya que es el más sensible a la diferenciación poblacional estimada a través de la variación de frecuencias alélicas entre poblaciones. No obstante un inconveniente potencial de la aplicación generalizada de la fórmula es que asume niveles parecidos de variación genética en todas las poblaciones consideradas (CESKA, AFFOLTER & HAMRICK, 1997; CULLEY *et al.*, 2002; CAUJAPÉ-CASTELLS, 2006 y 2008).

En esta memoria se aplica la fórmula utilizando el G_{ST} estimado en: i) las 17 poblaciones estudiadas de *Parolinia*, sin tener en cuenta su adscripción taxonómica, ii) las 12 poblaciones estudiadas de Gran Canaria, sin tener en cuenta su adscripción taxonómica y iii) los taxones con más de una población *P. filifolia* (4), *P. ornata* (3) y *P. intermedia* (3).

3.7. DISTANCIA GENÉTICA ENTRE POBLACIONES

Las relaciones genéticas entre poblaciones se estiman mediante el cálculo de la identidad y distancia genética de NEI (1972) a partir de las frecuencias alélicas.

3.7.1. Relaciones de identidad y distancia genética. Taxonomía numérica

La identidad genética (I) de NEI (1972) indica el grado de similitud y se calcula a partir de la fórmula $I = \sum x_i y_i / (\sum x_i^2 \sum y_i^2)^{0.5}$, donde x_i e y_i son las frecuencias de cada uno de los i alelos detectados en los núcleos o poblaciones x e y . Para poblaciones que no comparten alelos $I=0$, mientras que para poblaciones que tienen idénticas frecuencias alélicas, $I=1$ (HAMRICK & GODT, 1996).

La distancia genética de Nei (D) viene dada por la fórmula $D = -\log_e(I)$ que cuantifica el grado de diferenciación genética entre pares de poblaciones basándose en el polimorfismo molecular según los datos de frecuencias alélicas. Los valores de I y D se presentan generalmente en matrices cuadradas de valores apareados de medias de todos los *loci*.

Para el análisis de cluster por el método UPGMA se ha utilizado la distancia genética de NEI (1972) con el programa NTSYS-2.11 (ROHLF, 1998).

Como se explica en el capítulo IV de morfometrías, a partir de la matriz de frecuencias alélicas, se aplican también técnicas de ordenación del análisis de proximidad (MDS) y del análisis de componentes principales (ACP) a las que se les superpone un MST (árbol de expansión mínima).

Asimismo, se hace una estimación de las relaciones filogenéticas de los taxones y poblaciones de *Parolinia* por el método *Neighbor-Joining* (vecino más próximo) con el programa NTSYS-2.11, que se confronta posteriormente con la filogenia molecular según ADNn y ADNcp (JAÉN *et al.*, 2007).

3.7.2. Test de Mantel

Este es un procedimiento estadístico que calcula la correlación entre pares de matrices de distancia y su significación. El test de Mantel relaciona matrices de distancia geográfica (km), distancia genética (NEI, 1972) y flujo génico entre poblaciones. Para la realización del test de Mantel se utiliza el programa NTSYS-2.11 y XLSTAT (ADDINSOFT, 2008).

3.7.3. Tasas de mutación y tiempo de divergencia entre poblaciones y especies

En las últimas décadas, se ha estudiado en un gran número de proteínas la relación entre el número de sustituciones de aminoácidos y el tiempo evolutivo, demostrándose que el número de sustituciones se incrementa con el tiempo evolutivo (NEI, 1987).

Nei presenta un procedimiento para calcular el *tiempo de divergencia* en función de la identidad o distancia genética y de la tasa media de sustitución de aminoácidos (proteína) detectable electroforéticamente (PARKS & WENDEL. 1990; RUIZ *et al.* 2004).

Como señala NEI (1987) respecto a la relación entre la distancia genética y estimación de las mutaciones (sustitución de aminoácidos) que evolucionan paralelamente al tiempo de



de divergencia, se considera que la tasa de sustitución de los aminoácidos en las proteínas (genes) es constante por año. Por tanto, si la distancia genética es proporcional al número de sustituciones o mutaciones, también será proporcional al tiempo evolutivo, propiedad que se puede utilizar para estimar el *tiempo de divergencia* (t) o *evolutivo* entre dos poblaciones o

especies: Distancia genética $D = -\log_e I = 2\alpha t$ (9.54).

En esta ecuación D mide el número de sustituciones por *locus* entre dos poblaciones ($2\alpha t$). Se estima que la tasa media de sustitución detectable por electroforesis es de 10^{-7} por *locus* y año. Por tanto, si se asume que $\alpha = 10^{-7}$, se puede estimar el valor de t si se conoce el valor de D (NEI, 1987): $t = D/2\alpha = 5 \times 10^6 D$.

De la misma manera para los caracteres morfológicos, se puede estimar el *tiempo de divergencia* (t) o *tiempo evolutivo* entre poblaciones, una vez estimada la *distancia taxonómica* (D_T) entre las mismas, partiendo de la tasa de mutación espontánea (α) de los caracteres métricos o cuantitativos, estimada en 1/1000 por generación. Tomando como punto de partida la ecuación de NEI (1987): $t = D_T/2\alpha = D_T \times 1000/2 = 500 \times D_T$

La tasa de mutación para los caracteres morfológicos cuantitativos es $\alpha = 10^{-3}$ (BARRET & KOHN, 1991).

3.8. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN ENTRE LA DIVERSIDAD GENÉTICA Y SISTEMAS DE CRUZAMIENTO

Se llevan a cabo análisis de correlación (Pearson y Spearman) con el programa XLSTAT (ADINSOFT, 2008) entre la diversidad genética y parámetros asociados a los sistemas de cruzamiento y eficacia reproductiva de las poblaciones naturales de *Parolinia*.

3.8.1. Correlaciones entre la diversidad genética y parámetros asociados a los sistemas de cruzamiento y eficacia reproductiva de las poblaciones naturales

El análisis de correlación se lleva a cabo con 8 indicadores básicos de variabilidad genética obtenidos a partir de la técnica de electroforesis de *isoenzimas*, que estiman la cantidad o niveles de diversidad dentro de las poblaciones y especies: porcentaje de *loci* polimórficos (P), nº total de alelos (A_T), nº de alelos exclusivos (A_{ex}), nº de alelos por *locus* (A_l), heterocigosidad observada (H_o), heterocigosidad esperada (H_e), tasa de alogamia (t) y/o coeficiente de *inbreeding* o índice de fijación (F).

Asimismo se incluyen variables la talla poblacional (N) implicadas en los sistemas de cruzamiento y éxito reproductivo de las de las poblaciones naturales de *Parolinia* relacionadas con el vigor de los individuos, incluyendo algunas biometrías de la flor (Capítulos II y IV).

3.8.2. Correlación de los indicadores de diversidad genética y parámetros asociados a los sistemas de cruzamiento, cromosomas y talla poblacional en la familia Brassicaceae

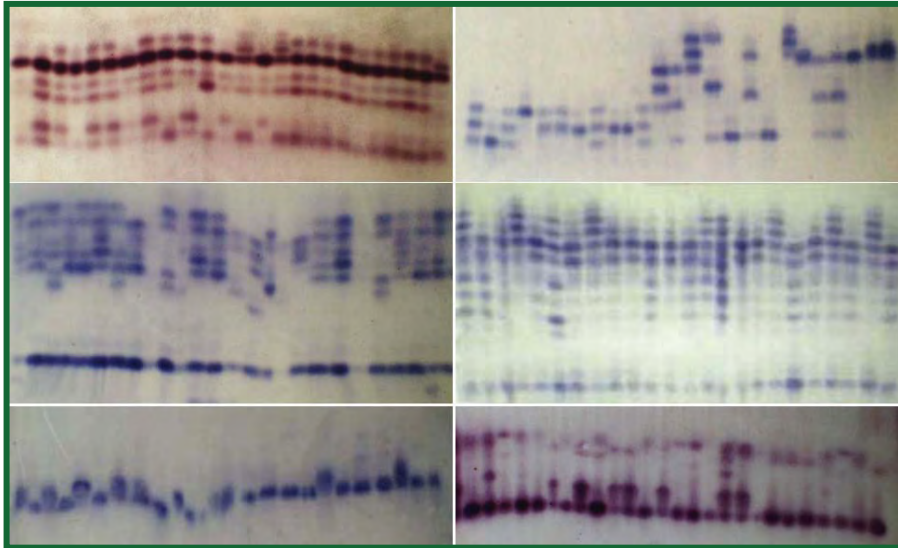
En los taxones de la familia Brassicaceae se confrontan y analizan, mediante el test de correlación y análisis Kruskal-Wallis, los parámetros de diversidad genética por aloenzimas (P , A_l , H_e , H_o , t y/o F) con datos de biología reproductiva, cromosomas y otras variables ecológicas como talla poblacional y rango geográfico.

Los datos de diversidad genética, biología reproductiva, cromosomas y variables ecológicas de los distintos taxones se obtienen a partir recopilación bibliográfica. Se tienen en cuenta variables como: presencia del sistema de auto-incompatibilidad esporofítico homomórfico (SSI), sistemas de cruzamiento, nº de cromosomas ($2n$), nº básico (x) y nivel de ploidía, así como variables ecológicas como la talla poblacional y rango geográfico o nº de poblaciones.

Las variables y codificaciones son: Presencia de auto-incompatibilidad esporofítica homomórfica (SSI): compatibilidad (SC) o ausencia de SSI (0), parcial o taxones con poblaciones SC y SSI (1) y completa con SSI en todas las poblaciones (2). Sistemas de cruzamiento: autogamia facultativa (AF=1), xenogamia facultativa (XF=2) y xenogamia obligada (XO=3). Número de cromosomas: $2n$ y $2n$ codificado: 12-16 (1), 18-20 (2), 21-30 (3), >32 (4). Número básico (x) y nivel de ploidía. Talla poblacional: < 50 individuos (1); 51-500 (2); 501-2500 (3), 2501-10000 (4); >10000 (5). Rango geográfico (número de poblaciones): < 3 (1), 4-10 (2), 11-30 (3), 31-50 (4), > 50 continental (5).

Los géneros y taxones analizados se muestran en el Anexo 3.





CAPÍTULO III



Resultados

4. RESULTADOS

4.1. INTERPRETACIÓN DE ISOENZIMAS. BANDAS MÚLTIPLES

En todas las poblaciones de *Parolinia*, los geles obtenidos presentan con frecuencia patrones de *bandas* o *electromorfos múltiples* que no concuerdan con los modelos establecidos para los taxones diploides según GOTLIEB (1982) y KEPHART (1990).

De las 12 enzimas ensayadas, dos (GDH y LAP) no se interpretan por mala resolución, cuatro (ACP, EST, ME y SKD) revelan un comportamiento típico diploide según GOTTLIEB (1984) y las 6 restantes muestran *modelos complejos de bandas* que podrían ser el resultado de *duplicaciones genéticas* según KEPHART (1990) y ANDERSON & WARWICK (1999). Aún así, cuatro de estas 6 enzimas (IDH, MDH, PGI y PGM) se han interpretado aunque quizás requieran estudios de progenie que revelen el auténtico modelo de transmisión genética. Las dos enzimas restantes (GOT y 6-PGD) presentan un patrón muy complicado y no se han interpretado hasta el momento.

4.1.1. Duplicaciones. Evidencias indirectas: bandas múltiples, número de *loci*, número de alelos e intensidad de bandas

En la mayoría de las Brassicaceae se observan *patrones de bandas múltiples* que pueden representar la variación alélica de un sólo *locus* o de diferentes *loci* de un enzima. Estos patrones de *bandas múltiples* se consideran además evidencias indirectas que sugieren la presencia de *duplicaciones genéticas* (WENDEL & WEEDEN, 1989; KEPHART, 1990; WERTH *et al.*, 1993; ANDERSON & WARWICK, 1999; WILLIAMSON & WERTH 1999; FERNANDEZ-PALACIOS *et al.*, 2004 y 2006).

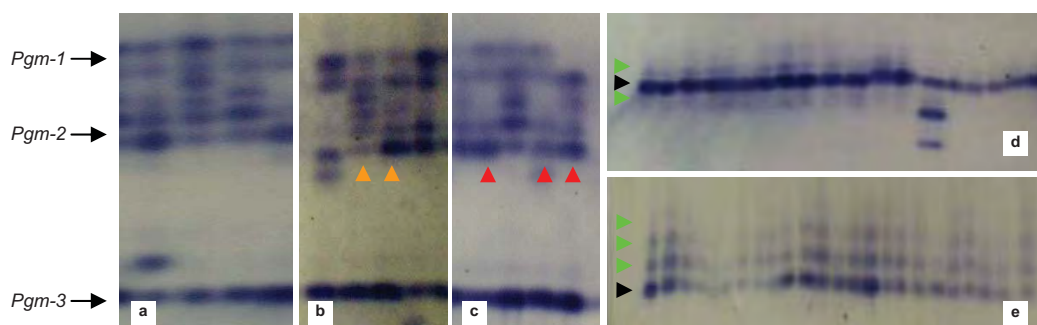


Figura 3.1.- Evidencias indirectas de duplicaciones en *P.ornata*. Enzima PGM: más *loci* de los esperados (a), ► más alelos o electromorfos de los esperados por *locus* (b) y ► heterocigotos asimétricos interpretados como homocigotos (c). Enzima PGI: ► electromorfos interpretados como homocigotos y ► bandas fantasmas: artefactos o posibles silenciamientos génicos (d, e).

La interpretación en estos modelos de *bandas múltiples* se complica, en los patrones de *heterocigotos clásicos* de enzimas monómeras (1:1), dímeras (1:2:1), tetrámeras (1:4:6:4:1), etc, cuando se observan *electromorfos* de *intensidad* diferente a la esperada según las enzimas.

En los patrones de *electromorfos múltiples* detectados, se han diferenciado los *alelos* que corresponden a un *locus* aloenzimático de los que pertenecen a otros *loci*, mediante la comparación de los distintos individuos y la confrontación con otros modelos de Brassicaceae.

4.1.1.1. Detección de más loci de los esperados en las enzimas MDH y PGM

En general el número de *loci* para un determinado enzima es altamente conservativo (GOTTLIEB, 1984). Según diversos autores, los enzimas PGM y MDH presentan dos y tres *loci* respectivamente (SOLTIS, SOLTIS, & GOTTLIEB, 1987; WEEDEN & WENDEL, 1989; KEPHART, 1990). Sin embargo en *Parolinia* se han detectado tres *loci* en PGM en lugar de dos (Figs.3.1 y 3.2) y cuatro *loci* en MDH en lugar de tres (Fig.3.3).

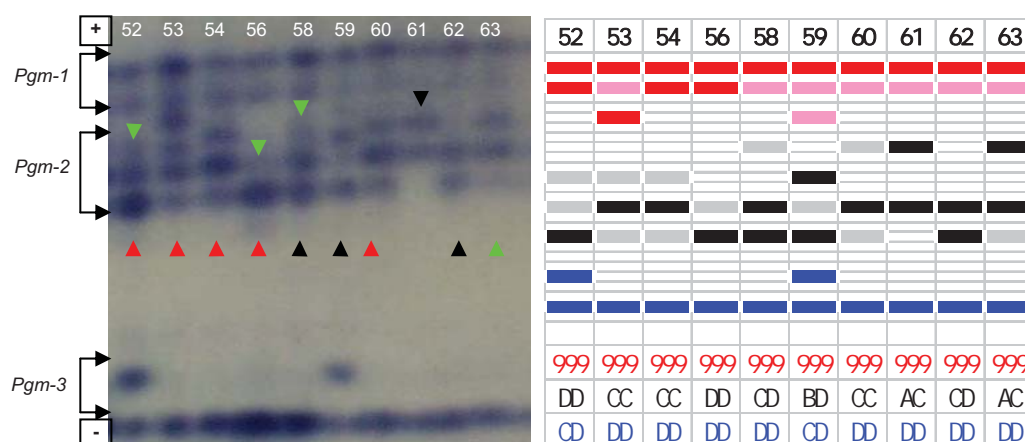


Figura 3.2.- Patrón del enzima PGM en *P. ornata* (POS). Se observan tres *loci* en vez de dos. Los colores rojo, negro y azul en el dibujo señalan los electromorfos interpretados como alelos y los colores rosa y gris las bandas fantasmas, de menor intensidad no asignadas a ningún alelo; ▶ heterocigotos asimétricos interpretados como homocigotos según la interpretación conservativa; ▶ heterocigotos normales; ▶ bandas fantasmas.

4.1.1.2. Detección de más electromorfos por locus en MDH, PGI y PGM

En las enzimas MDH, PGI y PGM, muchos individuos manifiestan más *alelos* o electromorfos de los esperados en la región correspondiente a cada *locus* (Figs.3.1- 3.2 y 3.3).

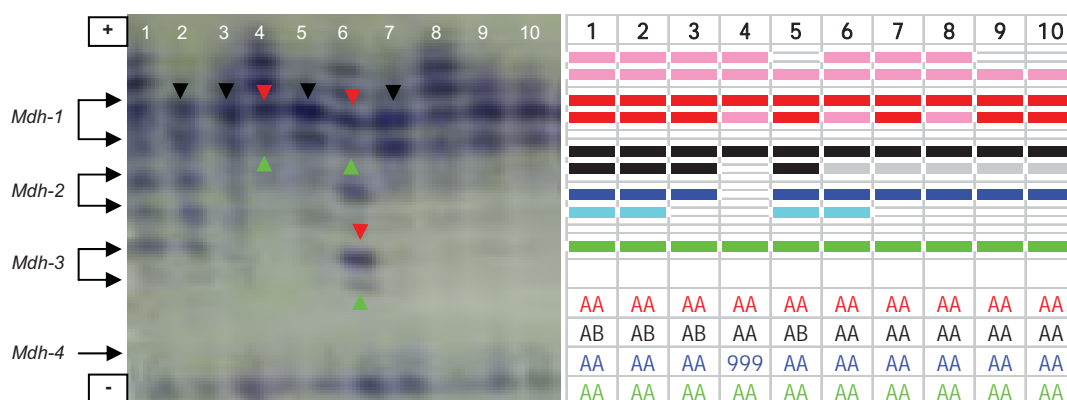


Figura 3.3.- Patrón del enzima MDH en *P. ornata* (POM). Se observan cuatro *loci* en vez de tres y más electromorfos de los esperados. Los colores rojo, negro, azul y verde en el dibujo señalan los electromorfos interpretados como alelos y los colores rosa, gris y turquesa las bandas fantasmas, de menor intensidad, no asignadas a ningún alelo; ▶ heterocigotos asimétricos interpretados como homocigotos según la interpretación conservativa; ▶ heterocigotos normales; ▶ bandas fantasmas. El *locus* *Mdh-4* no ha sido interpretado.

Por ejemplo en la PGM, enzima monómera (GOTTLIEB, 1984) el número máximo de *bandas* esperado en un diploide típico con dos *loci* es de cuatro y sin embargo, se pueden observar individuos con más de seis *bandas* o *electromorfos* (Figs.3.1a, b y 3.2).

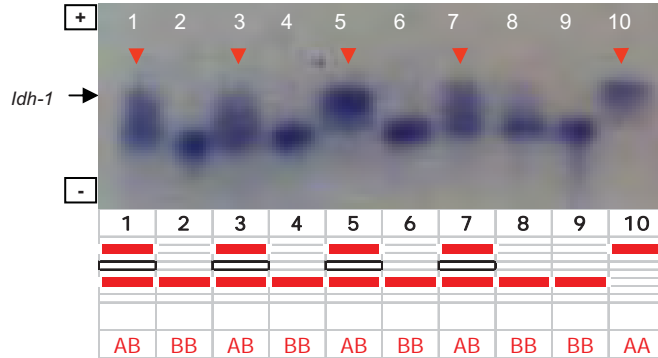


Figura 3.4.- Patrón del enzima IDH en *P. ornata* (POS) con un *locus* y su correspondiente interpretación. El color rojo del dibujo señala los electromorfos interpretados como alelos y el blanco el heterodímero. ▶ heterocigotos asimétricos.

4.1.1.3. Detección de heterocigotos asimétricos con bandas de intensidad diferente

En los *loci* asociados a las enzimas IDH, PGI, MDH y PGM, la presencia de bandas de intensidad diferente (Figs.3.1c, 3.2-3.5) que no se corresponden a los modelos de heterocigotos clásicos se han asumido como *heterocigotos asimétricos*, que delatan diferentes dosis alélicas según los individuos (ANDERSON & WARWICK, 1999; WILLIAMSON & WERTH, 1999).

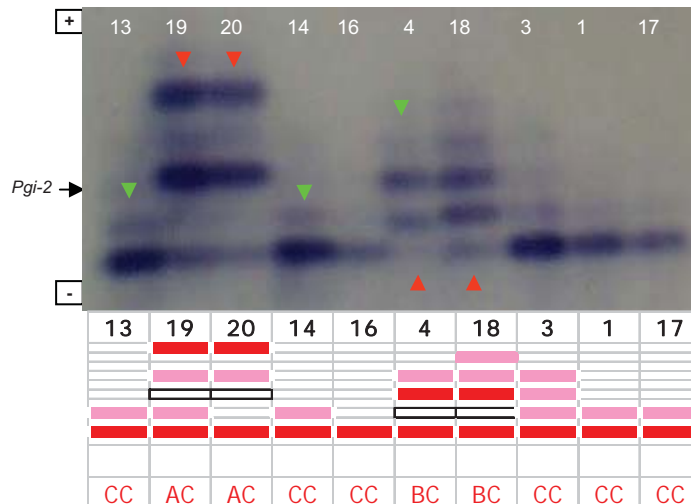


Figura 3.5.- Patrón de la enzima PGI en *P.ornata* (POM) con un *locus* y más electromorfos. El color rojo del dibujo señala los electromorfos interpretados como alelos, el blanco el heterodímero y el rosa las bandas fantasmas no asignadas a ningún alelo; ▶ heterocigotos asimétricos y ► bandas fantasmas.

En *Parolinia* en el caso de enzimas monómeras los *heterocigotos asimétricos* han sido interpretados como *homocigotos* asociados a la banda de mayor intensidad y en las enzimas dímeras como *heterocigotos clásicos*.

4.1.1.4. Detección de bandas fantasmas o de intensidad más débil

Asimismo la observación de electromorfos de intensidad más débil que migran muy cerca de las principales bandas, se han interpretado como *bandas fantasmas* (Figs.3.1 y 3.2-3.5).

Mientras algunos autores consideran estas bandas como artefactos de la técnica que se deben ignorar, la mayoría las asumen como *antiguas duplicaciones silenciadas* o en proceso de silenciamiento (KEPHART, 1990; ANDERSON & WARWICK, 1999; WILLIAMSON & WERTH, 1999; CRAWFORD *et al.*, 2001; etc.).

4.1.2. Interpretación asumida. Enzimas monómeras y dímeros

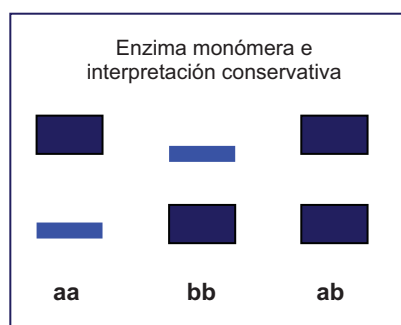
Los patrones de *bandas múltiples* detectados pueden ser interpretados como *heterocigotos asimétricos* o como *polimorfismos* producidos por duplicaciones genéticas resultado de diferentes dosis génicas en individuos con diferentes genotipos (ARÚS & ORTON, 1983; ARÚS & SHIELDS, 1983; BAYER & CRAWFORD, 1986; SOLTIS & RIESEBERG, 1986; MAHY *et al.*, 2000; WILLIAMS & ARNOLD, 2001; TYLER, 2004; AAGAARD *et al.*, 2005) pudiendo presentar dos alternativas:

a) *Asignación de genotipos a las bandas de desigual intensidad*. La interpretación se basaría en el establecimiento de un modelo subjetivo que asigna genotipos según la intensidad de cada una de las bandas.

b) *Asignación de genotipos en función de las dosis de alelos*. En esta interpretación se consideran las bandas o electromorfos como dosis alélicas diferentes.

En ausencia de un patrón repetido (constante) de intensidad en los distintos geles e individuos, que impide la identificación de genotipos e imposibilidad de conocer con certeza la composición alélica de los mismos y/o de estudios detallados de progenie que proporcionen un conocimiento sobre la herencia de cada uno de estos *loci* presumiblemente duplicados, en este trabajo para asignar los genotipos individuales, se asume una *interpretación conservativa*.

Según ésta interpretación, en las enzimas monómeras se consideran *homocigotos* tanto los individuos que poseen una sola banda como los que presentan bandas de diferente intensidad, y sólo se asignan genotipos *heterocigotos* a los individuos donde los heterodímeros correspondientes muestran igual intensidad (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 2004 y 2007).



En *Parolinia* en el caso de enzimas dímeros los posibles heterocigotos asimétricos (con heterodímeros de diferente intensidad) se han interpretado como heterocigotos clásicos.

Aunque esta interpretación suponga una subestimación de la variabilidad genética, es la que por el momento ofrece mayores garantías en la comparación de poblaciones y especies hasta que se conozcan mejor los mecanismos de la herencia de *loci* y la historia evolutiva del género. No se descarta evaluar otras interpretaciones posibles en un futuro próximo.

4.1.3. Enzimas monómeras y dímeros estudiadas e interpretación

Las enzimas ACP, EST y SKD presentan en general un patrón típico de enzima monómera con heterocigotos formados por dos bandas de igual intensidad.

4.1.3.1. Acido fosfatasa (ACP, E.C.4.2.1.3)

La enzima ACP muestra dos zonas claras de actividad enzimática en la región central de la región anodal del gel, que fueron interpretados como dos *loci* (*Acp-1* y *Acp-2*), con 5 y 6 alelos respectivamente (Fig.3.6, Tabla 3.3).

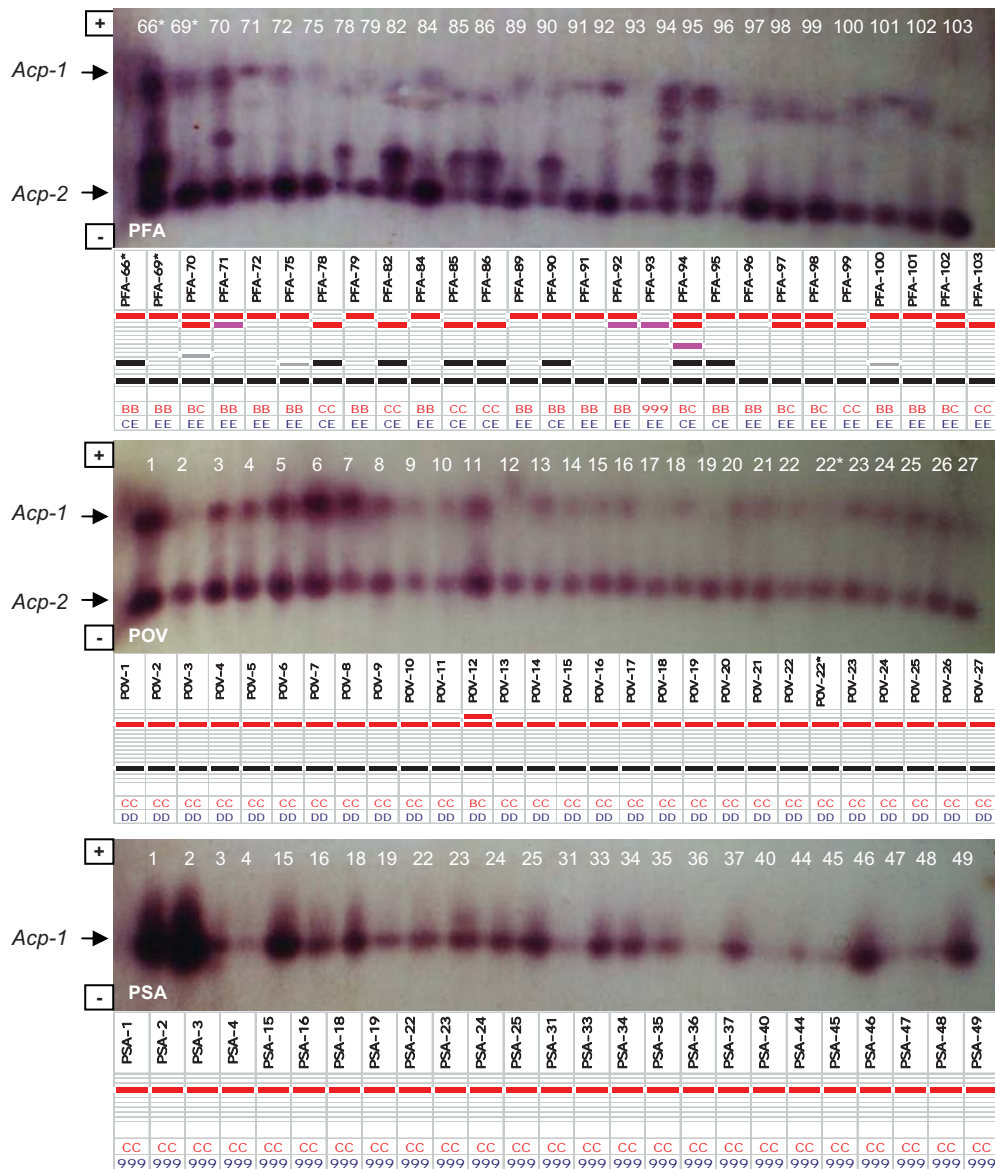


Figura 3.6.- Patrón de la enzima ACP. Se observan dos *loci* en *P.filifolia* (PFA) y *P.ornata* (POV) y un único *locus* en *P. schizogynoides* (PSA). Se muestran las interpretaciones donde los colores rojo y negro en el dibujo señalan los electromorfos interpretados como alelos y los colores rosa y gris las bandas fantasmas.

P.schizogynoides (PS) sólo muestra una zona clara de actividad en la región superior de la región anodal del gel (*locus Acp-1*), la aparente ausencia de un segundo *locus* en esta

especie se puede interpretar según GOTLIEB (1987) o SOLTIS, SOLTIS & TATE (2003) como una posible silenciación, mutación o delección cromosómica.

Se observa además la presencia de una o varias bandas de distinta intensidad que se consideran como *bandas fantasmas* y que se interpretan de forma conservativa como *homocigoto* asociado a la banda más fuerte (Fig.3.6).

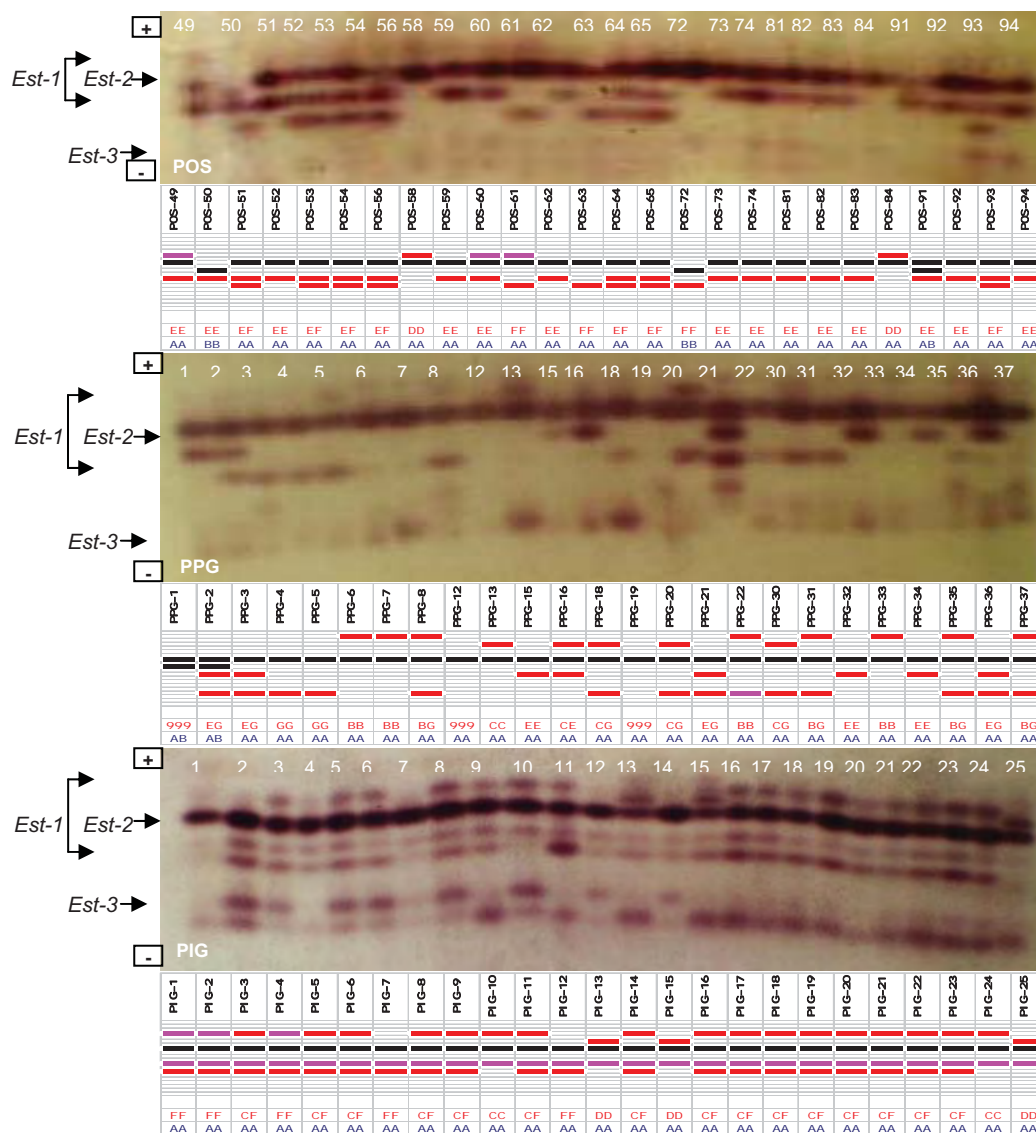


Figura 3.7.- Patrón de la enzima EST. Se muestran geles de *P.ornata* (POS), *P.platypetala* (PPG) y *P.intermedia* (PIG) con tres *loci* y las interpretaciones correspondientes a la *Est-1* y *Est-2*. El *locus Est-3* no fue interpretado. Los colores rojo y negro en el dibujo señalan los electromorfos interpretados como alelos y el color rosa las bandas fantasmas.

4.1.3.2. Esterasa (EST, E.C.3.1.1.)

La enzima EST exhibe tres *loci* segregantes (*Est-1*, *Est-2* y *Est-3*) en la parte superior de la región anodal del gel, *Est-1* con 9 alelos y *Est-2* con dos alelos que migran intercalados con los de *Est-1* y el *locus Est-3* no fue interpretado por su mala resolución. (Fig.3.7, Tabla 3.3). Ocasionalmente se observan bandas fantasmas.

4.1.3.3. *Sikímico deshidrogenasa (SKD, E.C.1.1.1.25)*

En la enzima SKD se observa un solo *locus* (*Skd-1*) con 5 alelos en total en la zona media de la región más anodal del gel. (Fig.3.8, Tabla 3.3).

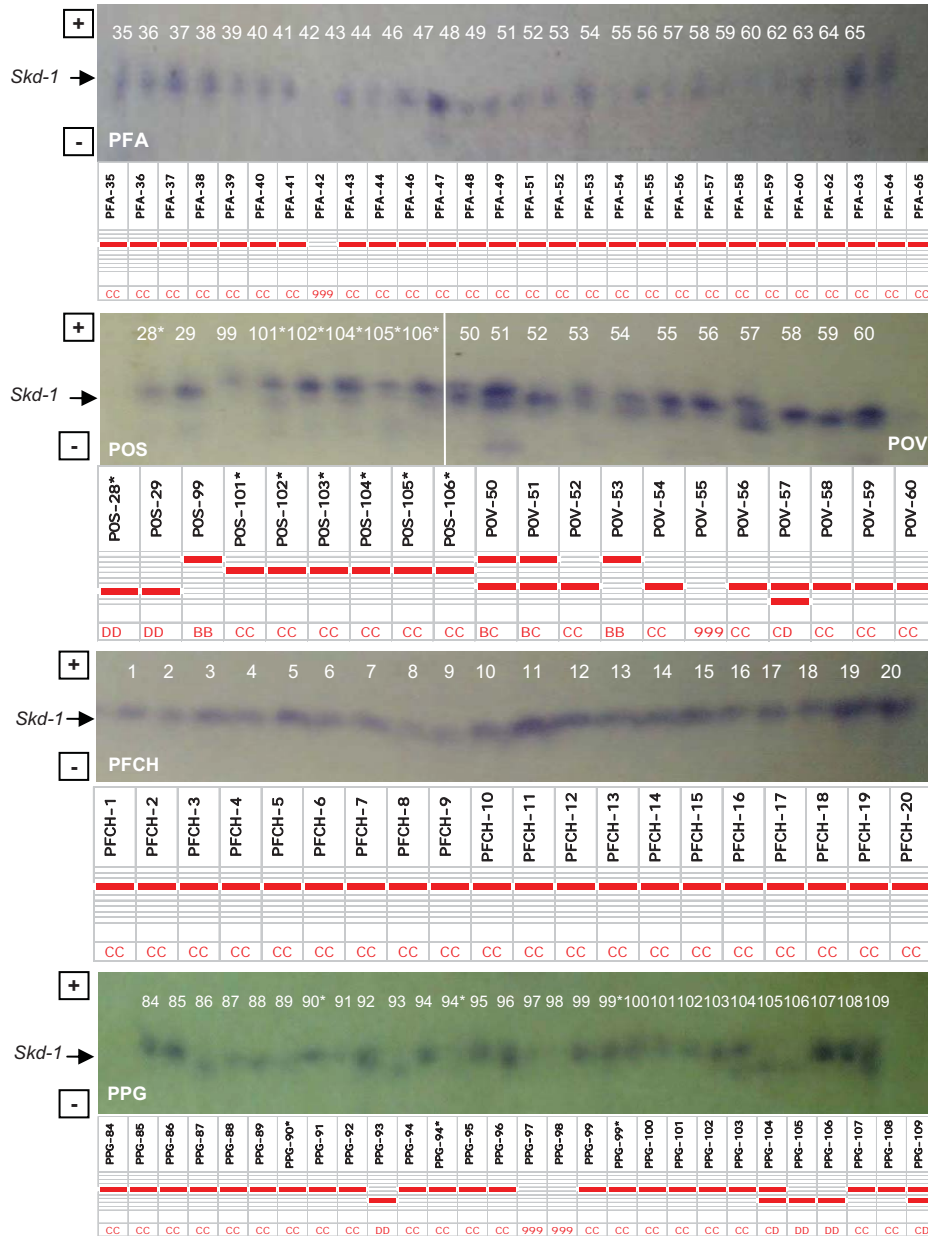


Figura 3.8.- Patrón de la enzima SKD con un único *locus* en *P.filifolia* (PFA), *P.omata* (POS y POV), PFCH (sin adscripción) y *P. platypetala* (PPG) y sus correspondientes interpretaciones. El color rojo en el dibujo señala los electromorfos interpretados como alelos.

4.1.3.4. *Enzima málica (ME, E.C.1.1.1.40)*

La enzima ME muestra una sola región de actividad en la región central de la zona anodal del gel que fue designada como un *locus* putativo (*Me-1*) con cuatro alelos en total (Tabla 3.3).

Aunque se ha documentado su estructura cuaternaria como una enzima tetrámera con los heterocigotos mostrando cinco bandas (WEEDEN & WENDEL, 1989) o incluso como dímera (ANDERSON & WARWICK, 1999), en este trabajo los distintos geles obtenidos aconsejan su interpretación como una enzima monómera con los heterocigotos de dos bandas (Fig.3.10).

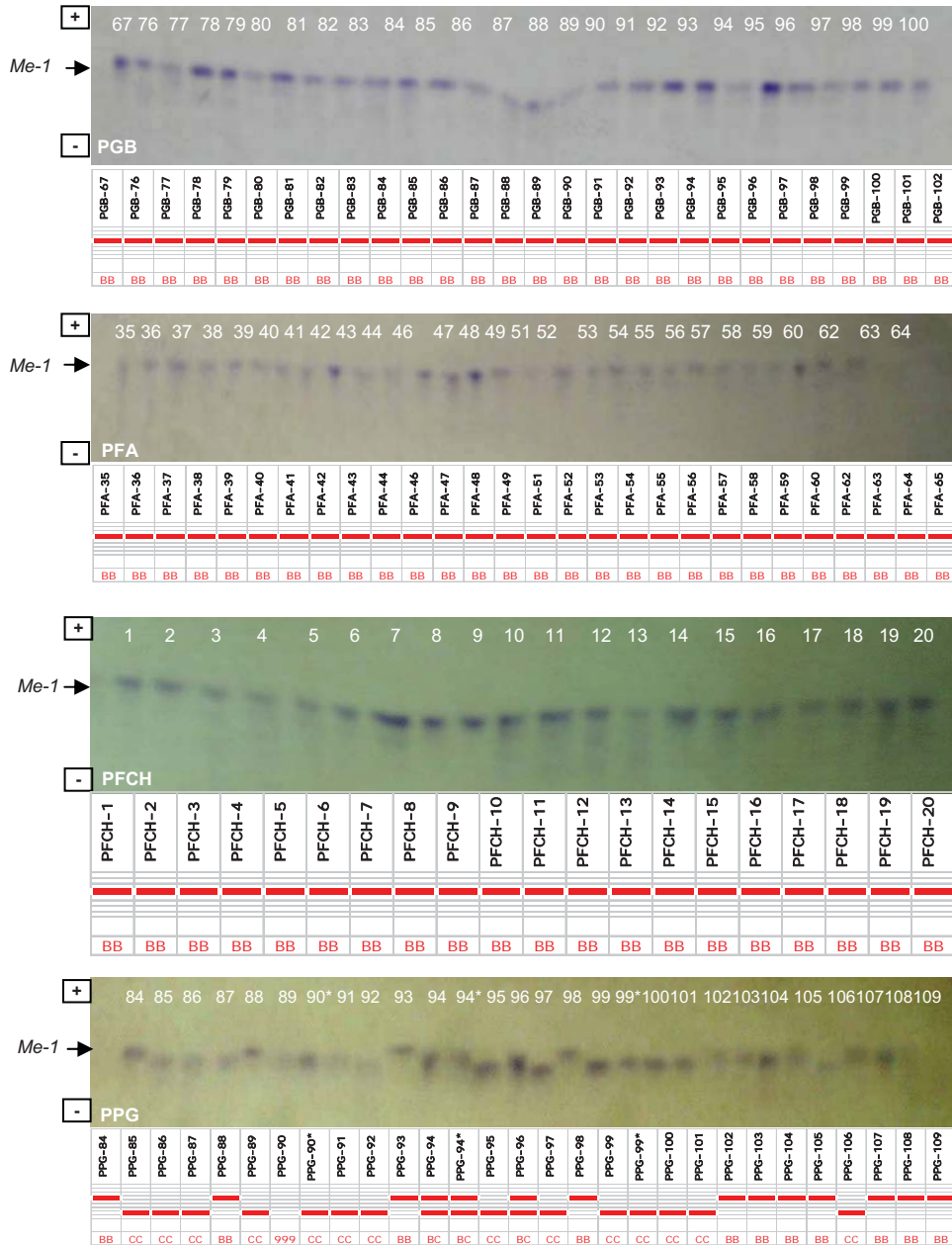


Figura 3.9.- Patrón de la enzima ME con un único locus en *P. glabriuscula* (PGB), *P. filifolia* (PFA) y PFCH (población sin adscripción) y *P. platypetala* (PPG) y sus correspondientes, interpretaciones donde el color rojo en el dibujo señala los electromorfos interpretados como alelos.

Las enzimas IDH, MDH, PGI y PGM, muestran heterocigotos asimétricos y bandas fantasmas que no corresponden a los patrones típicos de enzimas monómeras (PGM) y dímeras (IDH, MDH y PGI).

4.1.3.5. Malato deshidrogenasa (MDH, E.C.1.1.1.37)

La enzima MDH muestra tres zonas de actividad enzimática en la zona central de la región anodal del gel que se designan como tres *loci* (*Mdh-1*, *Mdh-2*, *Mdh-3*) con cuatro, tres y cuatro alelos respectivamente (Tabla 3.3). Se observa también una región de débil actividad en la zona más baja de la región anodal, *locus Mdh-4*, que no ha sido interpretada por su mala resolución (Figs.3.3 y 3.10).

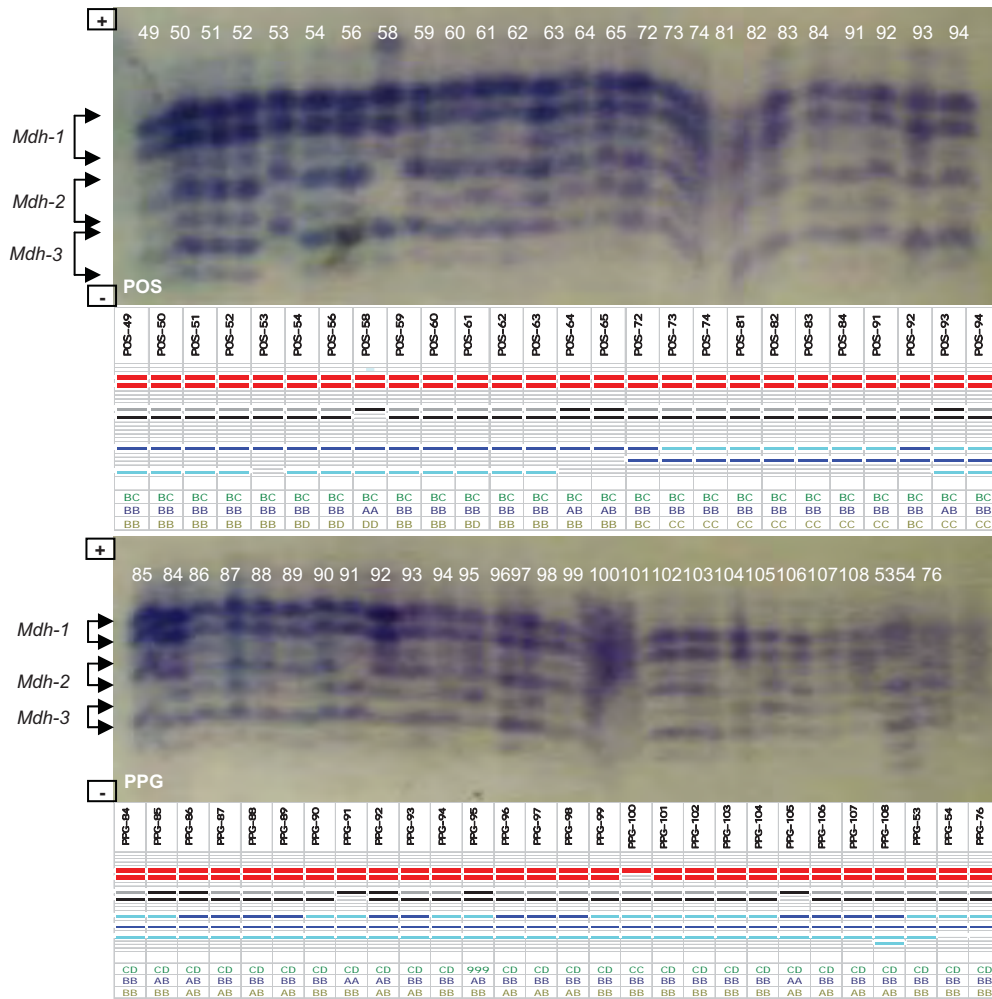


Figura 3.10.- Patrón de la enzima MDH con tres *loci* en *P.ornata* (POS) y *P.platypetala* (PPG) y sus correspondientes interpretaciones. Los colores rojo, negro y azul en el dibujo señalan los electromorfos interpretados como alelos y los colores gris y turquesa las bandas fantasmas y/o electromorfos de menor intensidad en los heterocigotos asimétricos, no asignados a ningún alelo.

Aunque la MDH se considera dímera (VALLEJOS, 1983; WEEDEN & WENDEL, 1989; KEPHART, 1990; MURPHY *et al.*, 1996), los patrones detectados en la mayoría de casos, con numerosas variaciones observadas en el número de bandas por individuo y en su intensidad, no permitían interpretarla de esta manera.

Toda vez que en algunos casos la estructura cuaternaria de la MDH ya se ha visto alterada e incierta por el pH (CHEN & SMITH, 2001), a efectos comparativos se ha considerado la presencia/ausencia de bandas de manera que: una sola banda se asocia a un homocigoto para ese alelo y dos bandas de igual intensidad se equiparan a un heterocigoto con los dos alelos correspondientes. La presencia de dos bandas de distinta

intensidad se interpreta de forma conservativa como *homocigoto* asociado a la banda más fuerte y no como heterocigoto asimétrico.

4.1.3.6. Fosfoglucomutasa (PGM, E.C.5.4.2.2)

La enzima PGM muestra tres regiones de actividad que se designan como tres *loci* putativos (*Pgm-1*, *Pgm-2* y *Pgm-3*). Los alelos detectados en los *loci* *Pgm-1* y *Pgm-2* exhiben una migración similar en la parte anodal del gel, que en todos los casos es superior a la zona de migración de *Pgm-3* (Figs.3.1a, 3.2 y 3.11, Tabla 3.3).

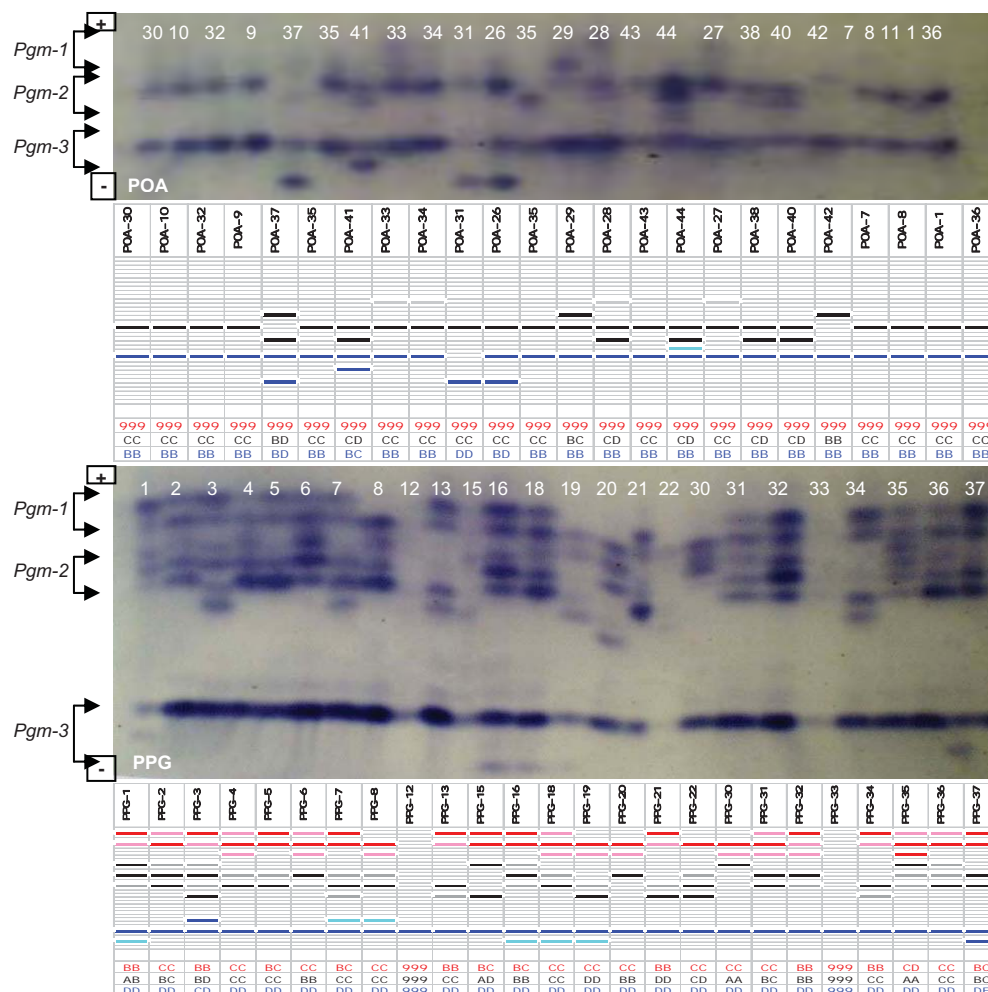


Figura 3.11.- Patrón de la enzima PGM con tres *loci* en POA y *P.platypetala* (PPG). En sus interpretaciones, los colores rojo, negro y azul en el dibujo señalan los electromorfos interpretados como alelos y los colores rosa, gris y turquesa las bandas fantasmas y/o el electromorfo de menor intensidad en los heterocigotos asimétricos, no asignados a ningún alelo.

Los *loci* *Pgm-2* y *Pgm-3* presentan cuatro y seis alelos cada uno. El *locus* *Pgm-1* omite del análisis de datos por su expresión variable según individuos y poblaciones, manifestando ausencia completa en PFS (*P.filifolia*) mientras que el resto de las poblaciones de la especie lo manifiestan en diferentes niveles (PFI=30%, PFA=34.3% y PFT=78.5%).

Las tres poblaciones de *P.ornata* presentan también un porcentaje alto de individuos en los que se manifiesta el locus duplicado de la enzima PGM (POM=56.0%, POV=59.0% y POS=76.7%), asimismo en los dos taxones de Gran Canaria con una única población,

P.glabriuscula y *P.playtpetala* también se observa un número elevado de individuos con el locus duplicado (PGB= 79.7% y PPG= 88.0%).

Las tres poblaciones sin adscripción taxonómica, POA, POVE y PFCH también muestran individuos con el locus *Pgm-1*, POA (10.9%), POVE (39.4%) y PFCH (45.0%).

En las islas occidentales, solo un 7.5% de los individuos de *P.schizogynoides* manifiestan el locus *Pgm-1*, mientras que en *P. aridanae* el porcentaje sube hasta un 58.8% de los individuos y en cuanto a *P.intermedia* también se observan diferentes intensidades según poblaciones: PIT=16.3%, PIA=20.0% y PIG=32.0% (Tabla 3.2 y Fig.3.11).

EXPRESIÓN DEL LOCUS PGM-1 SEGÚN INDIVIDUOS Y POBLACIONES				
POBLACIÓN	INDm	INDi	IND. <i>Pgm-1</i>	% IND
PGB	76	69	55	79.7%
PFS	57	47	0	0.0%
PFA	108	102	35	34.3%
PFT	70	65	51	78.5%
PFI	30	29	6	30.0%
POA	121	119	13	10.9%
POVE	34	33	13	39.4%
POS	137	133	102	76.7%
POV	144	144	85	59.0%
POM	102	91	51	56.0%
PFCH	20	20	9	45.0%
PPG	128	125	110	88.0%
PIT	100	49	8	16.3%
PIAJ	25	25	5	20.0%
PIG	25	25	8	32.0%
PSA	100	40	3	7.5%
PAC	100	34	20	58.8%

Tabla 3.2. Expresión variable del locus *Pgm-1*, según individuos y poblaciones.
 INDm=individuos muestreados, INDi=individuos interpretados, IND-*Pgm-1*=individuos con el locus *Pgm-1*, % IND=porcentaje poblacional de individuos con el locus *Pgm-1*.

Esta es la enzima donde se observa más claramente la presencia de heterocigotos asimétricos y bandas fantasmas.

4.1.3.7. Isocítrico deshidrogenasa (*IDH*, E.C.1.1.1.42)

La enzima IDH mostró una única zona de actividad enzimática en la zona baja de la región anodal del gel, que fue designada como un locus segregante (*Idh-1*) con tres alelos en total.

Los heterocigotos no muestran el patrón de intensidad típico de un enzima dímera (con la banda intermedia correspondiente al heterodímero más intenso que la de los homodímeros) y se consideraron heterocigotos asimétricos (Figs.3.4 y 3.12, Tabla 3.3).

Resultados

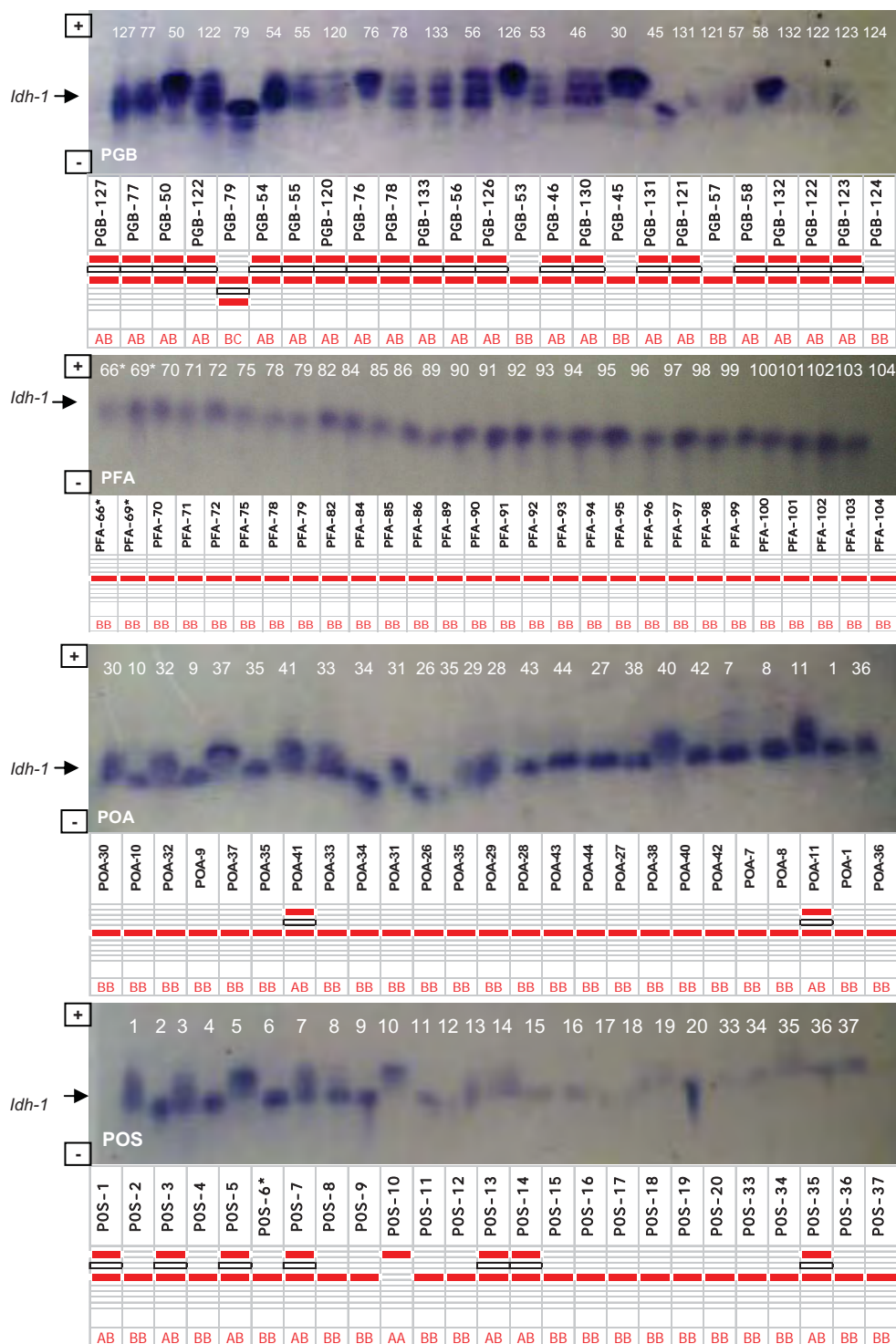


Figura 3.12.- Patrón representativo de la enzima IDH con un único locus en *P.glabriuscula* (PGB), *P.filifolia* (PFA), POA (población sin adscripción) y en *P.ornata* (POS) y sus correspondientes interpretaciones. El color rojo en el dibujo señala los electromorfos interpretados como alelos y la banda intermedia el heterodímero.

4.1.3.8. Fosfoglucoisomerasa (PGI, E.C.5.3.1.9)

La enzima PGI muestra dos regiones de actividad, de las cuales se interpreta sólo el locus más bajo de la región anodal del gel, *Pgi-2*, con 10 alelos en total. Los genotipos heterocigotos no muestran un comportamiento dímero típico, y se consideran heterocigotos asimétricos. Se observan además una o varias bandas fantasmas (Figs.3.5 y 3.13).

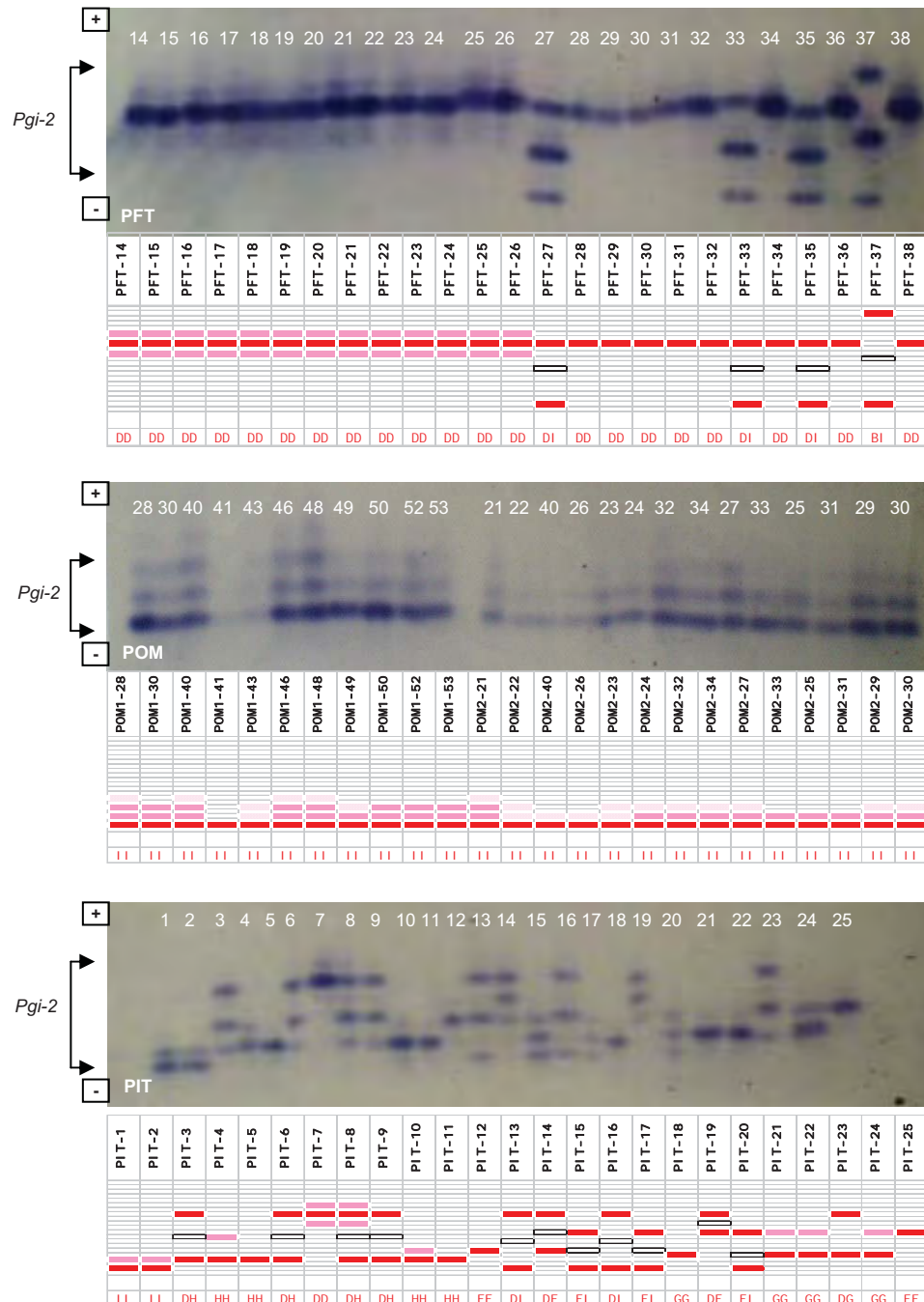


Figura 3.13.- Patrón representativo de la enzima PGI con un locus en *P. filifolia* (PFT), *P. ornata* (POM) y *P. intermedia* (PIT) y sus correspondientes interpretaciones. El color rojo en el dibujo señala los electromorfos interpretados como alelos y la banda intermedia el heterodímero; el color rosa representa las bandas fantasmas.

4.2. PARÁMETROS DE VARIABILIDAD GENÉTICA

4.2.1. Loci interpretados y parámetros cualitativos

Para el conjunto de las 17 poblaciones de *Parolinia*, se cuenta con resolución suficiente para garantizar la interpretación de 13 loci putativos en 8 enzimas: *Acp-1*, *Acp-2*, *Est-1*, *Est-2*, *Idh-1*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Mdh-3*, *Me-1*, *Pgi-2*, *Pgm-2*, *Pgm-3* y *Skd-1*, a excepción de uno (*Acp-2*) que no se expresa en la población de *P. schizogynoides* (PSA).

Cuando se contabilizan los 13 loci en las 17 poblaciones (Tabla 3.3) se detectan un total de 65 alelos y si se tiene en cuenta solamente los 12 loci comunes, se detectan 59 al descontar el loci ausente en PSA (*Acp-2*).

En el conjunto de las poblaciones estudiadas ninguno de los loci resulta monomórfico (alelo fijado de frecuencia 1.00), aunque en cada una de las poblaciones, individualmente se detectan algunos loci monomórficos a excepción de POVE, POS y PPG.

Se detectan 6 loci monomórficos en PGB (*Acp-1c*, *Est-2a*, *Mdh-2b*, *Mdh-3b*, *Me-1b* y *Pgm-3d*), en PFCH (*Est-1f*, *Idh-1b*, *Mdh-1c*, *Me-1b*, *Pgi-2d* y *Skd-1c*) y en PIA (*Est-2a*, *Idh-1b*, *Mdh-1c*, *Me-1b*, *Pgm-3d* y *Skd-1a*). Cinco loci en PSA (*Acp-1c*, *Est-2a*, *Idh-1b*, *Me-1b* y *Skd-1c*) y en PAC (*Acp-1a*, *Acp-2a*, *Idh-1b*, *Pgm-3d* y *Skd-1c*). Tres loci en PFT (*Est-2a*, *Idh-1b* y *Me-1b*) y en PIG (*Est-2a*, *Idh-1c* y *Mdh-1c*). Dos en PFA (*Idh-1b* y *Me-1b*), POA (*Est-2a*, *Me-1b*), POV (*Est-2a*, *Idh-1b*) y PFI (*Est-1f*, *Idh-1b*). Solamente se detecta un loci monomórfico (*Idh-1b*) en PFS, POM y PIT.

4.2.1.1. Análisis poblacional. Alelos y poblaciones

Se muestran las frecuencias alélicas de todas las poblaciones naturales estudiadas del género *Parolinia*, representando los alelos exclusivos de una población y los alelos compartidos por dos (Tablas 3.3, 3.4 y Fig.3.14).

Del total de los 65 alelos isoenzimáticos detectados en todas las poblaciones (incluyendo el locus *Acp-2* que no se manifiesta en PSA) sólo 6 son comunes a todas ellas (*Est-2a*, *Mdh-2b*, *Mdh-3b*, *Me-1b*, *Pgm-2b*, *Pgm-3d*), aunque merecen ser destacados otros 6 alelos que son comunes a todas excepto a una: *Acp-1c* (PAC), *Idh-1b* (PIG), *Mdh-1c* (POVE), *Mdh-3c* (PGB), *Pgm-2c* (PSA) y *Skd-1c* (PIA).

De los 53 alelos restantes, 6 alelos son exclusivos de una población: *Acp-1a* monomórfico (PAC), *Acp-2b* (PIG), *Acp-2f* (PFI), *Pgi-2a* (PSA), *Pgi-2g* (PIT), *Pgm-3f* (PPG). Se detectan además 8 alelos exclusivos de dos poblaciones: *Est-1i* (POS- PSA), *Mdh-3d* (POS-POA), *Me-1d* (POS-PAC), *Pgi-2c* (PFS-PFT), *Pgi-2j* (POV-PPG), *Pgm-3a* (PFT-PFI), *Skd-1a* (POV-PIA) y *Skd-1e* (PGB-POA).

El número total de alelos por población oscila entre 22 alelos (PIA) y 42 en PPG, compartiendo el mayor número de alelos (34) dos poblaciones de *P. filifolia* (PFS y PFA) y *P. ornata* (POS) con *P. platypetala* (PPG), mientras que el número mínimo compartido (13) corresponde a especies distintas monotípicas de islas diferentes, Gran Canaria con *P. glabriuscula* (PGB) y La Gomera con *P. schizogynoides* (PSA) y también, esta con *P. intermedia* (PIA) de Tenerife (Tablas 3.3 y 3.4).

4.2.1.2. Nivel específico. Alelos y especies

El análisis por taxon incluye los alelos de cada una de sus poblaciones, considerando independientemente las poblaciones todavía no adscritas a ninguna especie: POA, POVE y PFCH (Tabla 3.5 y Fig.3.15).

Conviene recordar que del total de los alelos detectados para el género (65 con 13 loci y 59 con 12) sólo 10 son comunes a todos los taxones (*Est-2a*, *Idh-1b*, *Mdh-2b*, *Mdh-3b*, *Me-1b*, *Pgi-2d*, *Pgm-2a*, *Pgm-2b*, *Pgm-3d* y *Skd-1c*). De los 50 alelos restantes 8 son exclusivos de un sólo taxon y poseen valor diagnóstico: tres en *P. filifolia* (*Acp-2f*, *Pgi-2c* y *Pgm-3a*), dos en *P. intermedia* (*Acp-2b* y *Pgi-2g*), uno en *P. platypetala* (*Pgm-3f*), uno en *P. schizogynoides* (*Pgi-2a*) y uno en *P. aridanae* (*Acp-1a*). El número total de alelos por taxon oscila entre un mínimo de 24 en PFCH (incluidos en PF) y un máximo de 49 en *P. ornata*.

- En ***P.glabriuscula*** (PGB) de los 27 alelos ninguno es exclusivo para la especie compartiendo 23 alelos con POA, de los cuales uno es exclusivo para las dos (*Skd-1e*).

- En ***P.filifolia*** (PF) del total de 44 alelos detectados, tres son exclusivos para la especie (*Acp-2f*, *Pgi-2c* y *Pgm-3a*) y aproximadamente la mitad (21) son comunes a las cuatro poblaciones estudiadas (PFS, PFA, PFT y PFI).

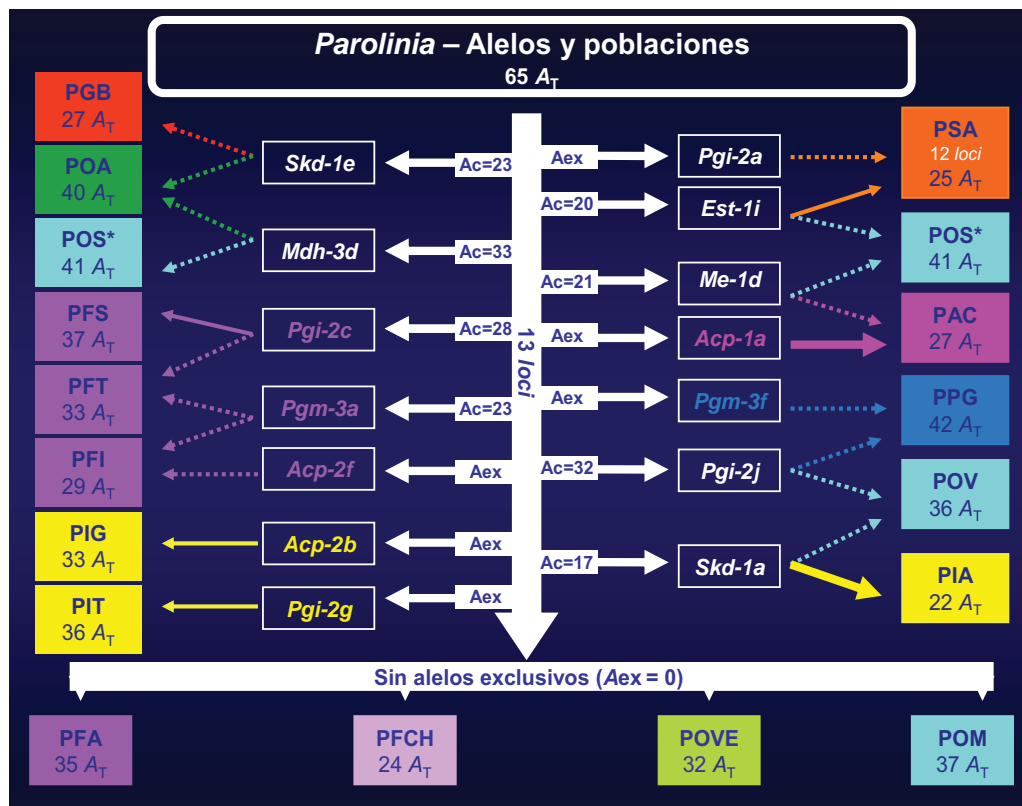


Figura 3.14.- Alelos totales (A_T) y exclusivos (A_{ex}) en las poblaciones de *Parolinia*. En los recuadros de cada población se cifran los alelos totales y en los recuadros blancos los alelos exclusivos de una o dos poblaciones (Ac=n° de alelos compartidos). Las flechas continuas de mayor grosor indican frecuencias alélicas >0.500, las de menor grosor frecuencias 0.500-0.100 y las flechas discontinuas frecuencias <0.100.

Además de los tres alelos exclusivos, comparte de forma exclusiva tres alelos (cada uno) con dos taxones diferentes de Gran Canaria: *Est-1b* (PO y PP), *Mdh-1b* (PP y PG) y *Pgi-2b* (PG y POA). De los 38 alelos restantes (56%) PF comparte el máximo de alelos (38) con *P. ornata* (Tabla 3.5 y Fig.3.15).

- En ***P.ornata*** (PO) del total de los 49 alelos detectados, ninguno es exclusivo para la especie y más de la mitad (29) son comunes a las tres poblaciones (POS, POV y POM), compartiendo el máximo (39) con *P.platypetala* (Tabla 3.5 y Fig.3.15) con la que además comparte uno de forma exclusiva (*Pgm-3f*).

FRECUENCIAS ALÉLICAS DE LAS POBLACIONES DE PAROLINIA. 1

Locus - alelo	PGB	PF				POA	POVE	PO			PFCH	PPG	PI			PSA	PAC
		PFS	PFA	PFT	PFI			POS	POV	POM			PIT	PIG	PIA		
<i>Acp-1</i>	77	48	89	69	20	106	33	103	142	91	15	119	31	25	25	49	49
a	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000*
b	0.000	0.052	0.506	0.007	0.000	0.014	0.227	0.010	0.011	0.011	0.033	0.029	0.000	0.000	0.820	0.000	0.000
c	1.000	0.906	0.483	0.993	0.975	0.802	0.773	0.937	0.989	0.989	0.933	0.962	0.226	0.900	0.180	1.000	0.000
d	0.000	0.010	0.006	0.000	0.000	0.104	0.000	0.049	0.000	0.000	0.000	0.008	0.774	0.000	0.000	0.000	0.000
e	0.000	0.031	0.006	0.000	0.025	0.080	0.000	0.005	0.000	0.000	0.033	0.000	0.000	0.100	0.000	0.000	0.000
<i>Acp-2</i>	76	57	99	70	28	115	33	117	142	95	20	125	50	24	20	—	50
a	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.750	0.425	—	1.000
b	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.104*	0.000	—	0.000
c	0.020	0.132	0.293	0.107	0.464	0.065	0.000	0.000	0.011	0.174	0.200	0.000	0.070	0.146	0.000	—	0.000
d	0.888	0.000	0.010	0.014	0.000	0.661	0.470	0.991	0.989	0.826	0.000	0.972	0.860	0.000	0.550	—	0.000
e	0.092	0.868	0.697	0.879	0.518	0.274	0.530	0.009	0.000	0.000	0.800	0.028	0.070	0.000	0.025	—	0.000
f	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018*	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	—	0.000
<i>Est-1</i>	73	58	106	69	27	120	32	117	138	95	20	97	47	25	25	38	48
a	0.000	0.026	0.005	0.015	0.000	0.000	0.000	0.000	0.015	0.095	0.000	0.005	0.011	0.000	0.000	0.000	0.021
b	0.000	0.000	0.000	0.101	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007	0.000	0.000	0.113	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
c	0.562	0.043	0.047	0.073	0.000	0.008	0.000	0.009	0.250	0.216	0.000	0.067	0.394	0.360	0.960	0.053	0.094
d	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004	0.000	0.026	0.054	0.137	0.000	0.026	0.011	0.120	0.000	0.000	0.000
e	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.083	0.203	0.718	0.583	0.042	0.000	0.449	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
f	0.438	0.931	0.948	0.804	1.000	0.000	0.000	0.068	0.000	0.390	1.000	0.000	0.553	0.520	0.040	0.000	0.875
g	0.000	0.000	0.000	0.007	0.000	0.904	0.797	0.128	0.087	0.116	0.000	0.273	0.032	0.000	0.000	0.000	0.010
h	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.034	0.004	0.005	0.000	0.067	0.000	0.000	0.000	0.750	0.000
i	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017**	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.197**	0.000
<i>Est-2</i>	73	58	106	70	29	120	34	120	144	99	20	127	48	25	25	49	45
a	1.000	0.914	0.986	1.000	0.914	1.000	0.956	0.958	1.000	0.980	0.975	0.984	0.979	1.000	1.000	1.000	0.689
b	0.000	0.086	0.014	0.000	0.086	0.000	0.044	0.042	0.000	0.020	0.025	0.016	0.021	0.000	0.000	0.000	0.311
<i>Idh-1</i>	70	56	103	68	29	108	11	108	80	94	20	114	44	11	19	7	18
a	0.450	0.000	0.000	0.000	0.000	0.032	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.048	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
b	0.543	1.000	1.000	1.000	1.000	0.958	0.909	0.958	1.000	1.000	1.000	0.952	1.000	0.000	1.000	1.000	1.000
c	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000	0.009	0.091	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000
<i>Mdh-1</i>	78	58	103	63	25	78	26	108	125	85	20	107	48	25	21	26	36
a	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.051	0.462	0.023	0.016	0.077	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.173	0.000
b	0.000	0.052	0.034	0.000	0.120	0.930	0.539	0.472	0.600	0.547	0.000	0.005	0.292	0.000	0.000	0.096	0.028
c	0.885	0.940	0.956	0.992	0.880	0.019	0.000	0.505	0.384	0.377	1.000	0.565	0.708	1.000	1.000	0.731	0.972
d	0.115	0.009	0.010	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.430	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Mdh-2</i>	78	58	103	62	26	71	25	105	124	83	20	102	45	25	21	21	33
a	0.000	0.198	0.058	0.210	0.115	0.380	0.020	0.238	0.202	0.247	0.050	0.123	0.511	0.000	0.048	0.714	0.424
b	1.000	0.543	0.762	0.790	0.885	0.606	0.960	0.762	0.798	0.753	0.950	0.878	0.489	0.960	0.952	0.262	0.546
c	0.000	0.259	0.180	0.000	0.000	0.014	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.040	0.000	0.024	0.030

FRECUENCIAS ALÉLICAS DE LAS POBLACIONES DE <i>PAROLINIA</i> . 2																	
Locus - alelo	PGB	PF				POA	POVE	PO			PFCH	PPG	PI			PSA	PAC
		PFS	PFA	PFT	PFI			POS	POV	POM			PIT	PIG	PIA		
<i>Mdh-3</i>	78	58	97	61	25	70	25	103	128	72	18	103	45	25	21	22	33
a	0.000	0.379	0.031	0.156	0.200	0.007	0.000	0.005	0.000	0.097	0.167	0.291	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
b	1.000	0.603	0.943	0.656	0.760	0.514	0.180	0.257	0.356	0.514	0.806	0.675	0.578	0.020	0.714	0.932	0.788
c	0.000	0.017	0.026	0.189	0.040	0.471	0.820	0.694	0.645	0.389	0.028	0.034	0.422	0.980	0.286	0.068	0.212
d	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007**	0.000	0.044**	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Me-1</i>	76	58	79	23	29	26	28	47	77	24	20	108	36	17	14	10	33
a	0.000	0.017	0.000	0.000	0.000	0.000	0.054	0.255	0.240	0.104	0.000	0.000	0.000	0.235	0.000	0.000	0.000
b	1.000	0.983	1.000	1.000	0.931	1.000	0.875	0.692	0.760	0.813	1.000	0.579	0.972	0.500	1.000	1.000	0.894
c	0.000	0.000	0.000	0.000	0.069	0.000	0.071	0.011	0.000	0.083	0.000	0.421	0.028	0.265	0.000	0.000	0.046
d	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.043**	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.061**
<i>Pgi-2</i>	78	50	101	66	28	120	33	135	144	99	20	127	49	25	25	41	45
a	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.024*	0.000
b	0.006	0.040	0.000	0.068	0.000	0.004	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
c	0.000	0.110**	0.000	0.068**	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
d	0.936	0.750	0.762	0.682	0.911	0.979	0.788	0.000	0.000	0.010	1.000	0.106	0.153	0.280	0.200	0.585	0.911
e	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017	0.000	0.041	0.004	0.010	0.000	0.024	0.153	0.140	0.000	0.000	0.000
f	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.100	0.000	0.390	0.089
g	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.194*	0.000	0.000	0.000	0.000
h	0.058	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.122	0.040	0.800	0.000	0.000
i	0.000	0.100	0.238	0.182	0.089	0.000	0.212	0.959	0.983	0.980	0.000	0.819	0.347	0.440	0.000	0.000	0.000
j	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.014**	0.000	0.000	0.051**	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Pgm-2</i>	68	42	93	65	29	116	27	124	88	85	20	121	34	25	23	35	25
a	0.007	0.024	0.070	0.000	0.035	0.052	0.074	0.057	0.097	0.135	0.050	0.157	0.015	0.060	0.000	0.143	0.220
b	0.044	0.083	0.167	0.208	0.103	0.168	0.019	0.157	0.171	0.324	0.250	0.165	0.177	0.180	0.022	0.857	0.140
c	0.478	0.810	0.570	0.746	0.862	0.629	0.685	0.686	0.511	0.459	0.175	0.529	0.279	0.020	0.957	0.000	0.420
d	0.471	0.083	0.194	0.046	0.000	0.151	0.222	0.101	0.222	0.082	0.525	0.149	0.529	0.740	0.022	0.000	0.220
<i>Pgm-3</i>	69	47	102	65	29	119	33	133	144	91	20	125	49	25	25	40	26
a	0.000	0.000	0.000	0.023**	0.069**	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
b	0.000	0.649	0.647	0.869	0.414	0.819	0.561	0.000	0.000	0.286	0.800	0.004	0.020	0.000	0.000	0.538	0.000
c	0.000	0.000	0.000	0.031	0.052	0.021	0.121	0.053	0.007	0.082	0.000	0.112	0.082	0.080	0.000	0.150	0.000
d	1.000	0.340	0.309	0.077	0.466	0.156	0.318	0.940	0.927	0.632	0.200	0.824	0.898	0.820	1.000	0.263	1.000
e	0.000	0.011	0.044	0.000	0.000	0.004	0.000	0.008	0.066	0.000	0.000	0.032	0.000	0.100	0.000	0.050	0.000
f	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.028*	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Skd-1</i>	75	54	80	36	29	37	28	44	72	25	20	102	13	24	7	9	6
a	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.035**	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000**	0.000	0.000
b	0.067	0.046	0.044	0.000	0.000	0.000	0.089	0.000	0.104	0.000	0.000	0.010	0.000	0.104	0.000	0.000	0.000
c	0.880	0.861	0.775	0.736	0.862	0.960	0.893	0.807	0.826	0.960	1.000	0.838	0.385	0.875	0.000	1.000	1.000
d	0.047	0.093	0.181	0.264	0.138	0.027	0.018	0.193	0.035	0.040	0.000	0.152	0.615	0.021	0.000	0.000	0.000
e	0.007**	0.000	0.000	0.000	0.000	0.014**	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Tabla 3.3.- Frecuencias alélicas (13 loci) en 17 poblaciones de *Parolinia*. Los números enteros son los individuos analizados por locus y por población. En negrita y (*) alelos exclusivos de una población y (**) alelos compartidos por dos poblaciones. El locus *Acp-2* no se manifiesta en la población de *P. schizogynoides* (PSA).

ALELOS COMPARTIDOS y G_{ST}																	
POB	PGB	PFS	PFA	PFT	PFI	POA	POVE	POS	POV	POM	PFCH	PPG	PIT	PIG	PIA	PSA	PAC
PGB	27	22	22	21	17	23*	18	19	18	19	17	21	21	20	17	13	15
PFS	0.269	37	34	28*	25	29	25	28	25	28	24	30	27	24	18	19	21
PFA	0.254	0.061	35	27	25	29	25	28	25	28	24	31	28	23	19	19	21
PFT	0.303	0.120	0.072	33	23*	26	22	24	24	27	21	28	26	19	19	16	18
PFI	0.239	0.049	0.072	0.072	29*	23	22	24	19	25	22	24	25	20	15	17	18
POA	0.344	0.239	0.281	0.272	0.281	40	27	33*	28	30	22	32	28	24	18	21	19
POVE	0.307	0.213	0.244	0.237	0.247	0.080	32	27	25	28	19	28	25	20	15	17	18
POS	0.303	0.243	0.326	0.334	0.320	0.279	0.206	41	30	33	21	34	29	24	18	20*	21*
POV	0.291	0.241	0.333	0.346	0.332	0.273	0.206	0.017	36	31	17	32*	26	23	17*	19	18
POM	0.238	0.170	0.229	0.237	0.224	0.207	0.175	0.074	0.056	37	22	33	31	24	18	20	22
PFCH	0.321	0.099	0.091	0.098	0.117	0.345	0.307	0.431	0.432	0.312	24	21	21	17	17	15	17
PPG	0.210	0.172	0.264	0.280	0.259	0.273	0.219	0.094	0.097	0.087	0.351	42*	31	23	18	20	21
PIT	0.228	0.179	0.229	0.271	0.261	0.277	0.256	0.183	0.186	0.154	0.327	0.182	36*	25	19	19	23
PIG	0.350	0.287	0.353	0.374	0.361	0.421	0.324	0.313	0.313	0.281	0.406	0.308	0.293	33*	16	17	19
PIA	0.419	0.345	0.393	0.465	0.449	0.498	0.423	0.414	0.412	0.379	0.571	0.368	0.306	0.474	22	13	16
PSA	0.337	0.243	0.259	0.244	0.291	0.297	0.315	0.325	0.320	0.236	0.307	0.259	0.275	0.410	0.410	25*	17
PAC	0.358	0.253	0.276	0.357	0.297	0.417	0.380	0.401	0.411	0.340	0.385	0.356	0.281	0.370	0.471	0.346	27*

Tabla 3.4.- Alelos totales y compartidos en las poblaciones de *Parolinia 13 loci* (12 en PSA) y estadístico de estructura de población G_{ST} . En la diagonal alelos totales (A_T) y por encima de la diagonal alelos compartidos (A_C), (*) alelos exclusivos de dos poblaciones. Por debajo de la diagonal G_{ST} entre pares de poblaciones.

Conviene destacar 5 alelos que comparte PO de forma exclusiva con varios taxones: *P.platypetala* (*Pgi-2j*), POA (*Mdh-3d*), *P.intermedia* (*Skd-1a*), *P.aridanae* (*Me-1d*) y *P.schizogynoides* (*Est-1i*).

ALELOS COMPARTIDOS ENTRE LOS TAXONES DE PAROLINIA										
TAXON	PG	PF	POA	POVE	PO	PFCH	PP	PI	PS	PA
PG	27									
PF	22	44***								
POA	23	32	40							
POVE	18	29	27	32						
PO	22	38	36	30	49					
PFCH	17	24	22	19	24	24				
PP	21	35	32	28	39	21	42*			
PI	23	36	33	30	38	23	34	46*		
PS	13	20	21	18	22	15	20	21	25*	
PA	15	21	19	19	22	17	21	25	17	27*

Tabla 3.5.- Alelos totales y compartidos en los taxones de *Parolinia*. Alelos totales por taxon (A_T) en la diagonal, marcando con (*) los alelos exclusivos. Por debajo de la diagonal, los alelos compartidos.

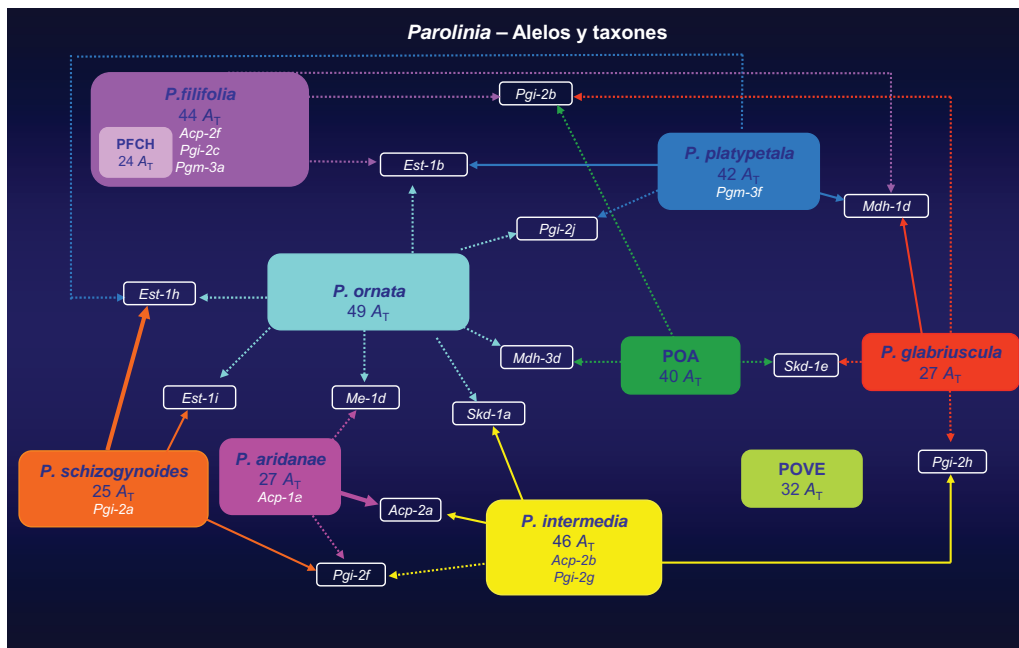


Figura 3.15.- Alelos totales (A_T) y exclusivos (A_{ex}) en los taxones de *Parolinia*. En los cuadros de los taxones se muestran los alelos totales (A_T) y los exclusivos (A_{ex}). Los cuadros blancos corresponden a los alelos exclusivos de dos o tres taxones, donde las flechas continuas de mayor grosor indican frecuencias de los alelos >0.500 , las flechas de menor grosor frecuencias $0.500-0.100$ y las flechas discontinuas frecuencias <0.100 .

- En *P.platypetala* (PPG) de los 42 alelos totales, uno es exclusivo para la especie (*Pgm-3f*) compartiendo el máximo (39 alelos) con *P.ornata* con la que además comparte uno de forma exclusiva.

- En *P.intermedia* (PI) del total de 46 alelos detectados, dos son exclusivos (*Acp-2b* y *Pgi-2g*), 15 son comunes a las tres poblaciones (PIG,PIA y PIT), compartiendo el máximo

(38 alelos) con *P.ornata*. Comparte además de forma exclusiva un alelo con PAC (*Apc-2a*), con PO (ya mencionado) y otro (*Pgi-2h*) con PGB (Tabla 3.5 y Fig.3.15).

- ***P.schizogynoides*** (La Gomera) con 25 alelos totales posee solamente un alelo exclusivo (*Pgi-2a*) y comparte el máximo (22) con *P.ornata* (Gran Canaria).

- ***P.aridanae*** (La Palma) con un total de 27 alelos, posee uno exclusivo para la especie (*Acp-1a*) que es monomórfico y comparte 25 con *P.intermedia* (Tenerife).

En las poblaciones sin adscripción taxonómica hay que destacar que ninguna de ellas posee alelos exclusivos:

- **POA** con un total de 40 alelos comparte el máximo (36) con *P.ornata*.

- **POVE** con 32 alelos, comparte el máximo (30) con *P.ornata* y *P.intermedia*.

- Los 24 alelos de **PFCH** se encuentran incluidos en *P.filifolia*.

4.2.1.4. Alelos e islas

Analizando los alelos según islas se puede observar que de los 65 alelos totales de *Parolinia* se encuentran únicamente 16 comunes a las cuatro islas (Tabla 3.6 y Fig.3.16).

De los 65 alelos detectados para el género, la isla de Gran Canaria presenta un total de 59 alelos con 13 exclusivos. Tenerife con 46 alelos solo presenta dos exclusivos y las islas de La Gomera y La Palma con 25 y 27 alelos respectivamente, presentan cada una un alelo exclusivo.

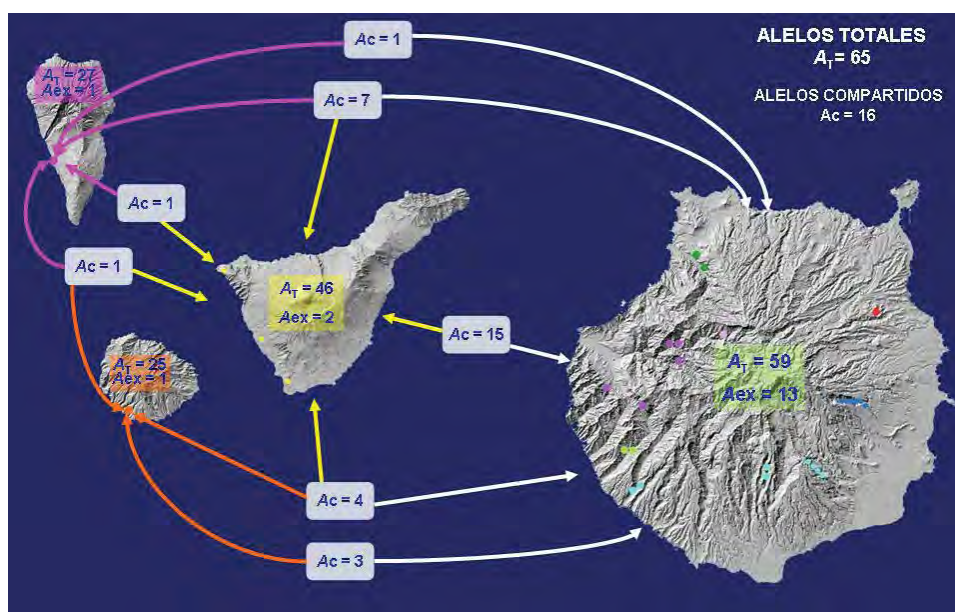


Figura 3.16.- Distribución de los 65 alelos en las islas. Se comparten 16 alelos por las cuatro islas. A_T=alelos totales; A_{ex}=alelos exclusivos por isla; A_c=alelos compartidos por islas.

Teniendo en cuenta los alelos exclusivos para dos islas, Gran Canaria comparte 15 con Tenerife, tres con La Gomera y uno con La Palma, mientras que Tenerife solo comparte un alelo con la isla de La Palma.

Por último destacar que 12 alelos son exclusivos para tres islas: 7 para Gran Canaria, Tenerife y La Palma, cuatro para Gran Canaria, Tenerife y La Gomera, y solo un alelo es exclusivo para las islas de Tenerife, La Gomera y La Palma.

PAROLINIA. ALELOS EXCLUSIVOS Y COMPARTIDOS POR ISLAS				
ISLA	GC	TF	G	P
GC	<i>Acp-2f, Est-1b, Est-1e, Idh-1a, Mdh-1d, Mdh-3a, Mdh-3d, Pgi-2b, Pgi-2c, Pgi-2j, Pgm-3a, Pgm-3f, Skd-1e</i>	<i>Acp-1b, Acp-1d, Acp-1e, Acp-2c, Acp-2d, Acp-2e, Est-1d, Idh-1c, Me-1a, Pgi-2e, Pgi-2h, Pgi-2i, Skd-1a, Skd-1b, Skd-1d</i>	<i>Est-1h, Est-1i, Mdh-1a</i>	<i>Me-1d</i>
TF		<i>Acp-2b, Pgi-2g</i>	—	<i>Acp-2a</i>
G	<i>Acp-1c, Pgm-3b, Pgm-3c, Pgm-3e</i>		<i>Pgi-2a</i>	—
P	<i>Est-1a, Est-1f, Est-1g, Est-2b, Me-1c, Pgm-2c, Pgm-2d</i>			<i>Acp-1a</i>
		<i>Pgi-2f</i>		

Tabla 3.6.- Parolinia. Alelos exclusivos y compartidos por isla. En la diagonal se muestran los alelos exclusivos de cada isla, por encima los alelos compartidos por dos islas y por debajo los compartidos por tres islas.

4.2.2. Indicadores básicos de variabilidad genética en las poblaciones y especies

En todas las poblaciones y taxones los cálculos de los indicadores básicos de variabilidad incluyen 13 *loci*, excepto en *P.schizogynoides* (PSA) donde sólo se analizan y contabilizan 12 *loci*, toda vez que no se expresa el *locus Acp-2* (Tablas 3.7 y 3.8).

4.2.2.1. Indicadores básicos poblacionales

Para 13 *loci* (Tabla 3.7) en todos los parámetros los valores más bajos se observan en PIA y los más altos en *P.platypetala* a excepción de *P* (PFS y POVE) y H_e (PIT).

La proporción más baja de *loci* polimórficos (*P*) se detecta en PIA (30.8%) y la máxima en PFS y POVE (84.6%) con un valor medio para el género de 63%.

La media de alelos por *locus* es de $A_f=2.5$ con el mínimo en PIA (1.7) y máximo en PPG y POS (3.2). La media de *alelos efectivos* ($A_e=1.5$) oscila entre el mínimo de PIA (1.2) y el máximo de POM y PIT (1.8). La *heterocigosidad observada* (H_o) oscila entre el mínimo de PIA ($H_o=0.123$) y el máximo en PPG ($H_o=0.245$), con una media para todas las poblaciones (0.180) inferior a la *heterocigosidad esperada* (H_e) de 0.252 excepto en *P.glabriuscula* ($H_o=0.183>H_e=0.177$) donde el mínimo se muestra en PIA (0.141) y el máximo en PIT (0.366). La media de *genotipos multilocus* (GML) en el género *Parolinia* es de 46.1 con los mínimos en PIA (24) y máximos en PPG (69).

Considerando los 12 *loci* comunes (Tabla 3.8), los indicadores básicos de variabilidad muestran que todos los parámetros de variabilidad genética tienen valores de *P* ligeramente más bajos que en el análisis de 13 *loci* excepto en POS, POV, PPG y PAC que aumentan. En general, los alelos por *locus* (A_i) tienden a disminuir excepto en PFS, POS, POM, PP y PA. La *heterocigosidad observada* (H_o) muestra valores ligeramente superiores en PO, PP y PA y la *heterocigosidad esperada* (H_e) muestra la misma tendencia en PO, PP y PA incluyendo también a PFS.

4.2.2.2. Indicadores básicos. Nivel específico

En los análisis de 13 y 12 *loci* en las especies se consideran tanto las medias de las distintas poblaciones de un taxon como los análisis globales. Las poblaciones POA, POVE y PFCH son tratadas de manera independiente por no estar actualmente adscritas a ningún taxon (Tabla 3.7 y 3.8).

En el análisis de 13 *loci* los máximos se observan en *P.platypetala* y *P.ornata* y luego *P.filifolia* y *P.intermedia* (Tabla 3.7). En cambio los indicadores más bajos de diversidad genética se observan en PFCH ($P=46.2\%$, $A_T=1.8$, $A_e=1.3$, $H_o=0.133$, $H_e=0.147$, $GML=26$) aunque hay que tener en cuenta que genéticamente está muy cerca de PF. En el análisis de 12 *loci* todos los parámetros de variabilidad genética muestran valores similares ligeramente inferiores a los del anterior análisis (Tabla 3.8).

INDICADORES BÁSICOS DE VARIABILIDAD. 13 LOCI										
POb / TAXON	POB/TX	A_T	P	A_l	A_e	H_o	H_e	F	t	GML
<i>P. glabriuscula</i>	PGB	27	53.8	2.1 (0.3)	1.3 (0.5)	0.183 (0.069)	0.177 (0.059)	-0.008	1.016	33
<i>P. filifolia</i>	PFS	37	84.6	2.8 (0.2)	1.5 (0.4)	0.218 (0.053)	0.263 (0.052)	0.184	0.689	52
	PFA	35	69.2	2.7 (0.3)	1.5 (0.5)	0.171 (0.045)	0.267 (0.061)	0.281	0.561	51
	PFT	33	61.5	2.5 (0.4)	1.4 (0.4)	0.135 (0.038)	0.228 (0.056)	0.314	0.523	48
	PFI	29	76.9	2.2 (0.2)	1.4 (0.4)	0.172 (0.054)	0.227 (0.052)	0.280	0.563	36
PF media	PF	33.5 (3.4)	73.1 (9.9)	2.6 (0.3)	1.5 (0.06)	0.174 (0.034)	0.246 (0.022)	0.265 (0.06)	0.584 (0.07)	46.5 (7.8)
PF global	PF	44	69.2	3.4 (0.3)	1.4 (0.3)	0.172 (0.037)	0.273 (0.049)	0.365	0.466	76
POA	POA	40	61.5	3.1 (0.3)	1.4 (0.5)	0.145 (0.038)	0.247 (0.058)	0.389	0.440	59
POVE	POVE	32	84.6	2.5 (0.2)	1.5 (0.4)	0.204 (0.047)	0.321 (0.045)	0.378	0.451	45
<i>P. ornata</i>	POS	41	69.2	3.2 (0.4)	1.5 (0.4)	0.157 (0.052)	0.274 (0.054)	0.357	0.473	63
	POV	36	61.5	2.8 (0.4)	1.5 (0.6)	0.180 (0.056)	0.262 (0.067)	0.311	0.526	58
	POM	37	61.5	2.8 (0.4)	1.8 (0.9)	0.215 (0.075)	0.327 (0.075)	0.406	0.423	57
PO media	PO	38 (2.7)	64.1 (4.5)	2.9 (0.2)	1.6 (0.15)	0.184 (0.029)	0.288 (0.035)	0.358 (0.05)	0.474 (0.05)	59.3 (3.2)
PO global	PO	49	69.2	3.8 (0.5)	1.6 (0.7)	0.182 (0.057)	0.301 (0.066)	0.401	0.427	98
PFCH	PFCH	24	46.2	1.8 (0.3)	1.3 (0.5)	0.133 (0.053)	0.147 (0.056)	0.072	0.866	26
<i>P. platypetala</i>	PPG	42	69.2	3.2 (0.4)	1.7 (0.7)	0.245 (0.068)	0.321 (0.063)	0.193	0.677	69
<i>P. intermedia</i>	PIT	36	76.9	2.8 (0.4)	1.8 (0.9)	0.239 (0.062)	0.366 (0.067)	0.397	0.432	50
	PIG	33	61.5	2.5 (0.3)	1.6 (0.7)	0.219 (0.070)	0.280 (0.072)	0.247	0.604	42
	PIA	22	30.8	1.7 (0.2)	1.2 (0.2)	0.123 (0.052)	0.141 (0.052)	0.332	0.502	24
PI media	PI	30.3 (7.4)	56.4 (23.5)	2.3 (0.6)	1.5 (0.31)	0.194 (0.062)	0.262 (0.114)	0.325 (0.08)	0.513 (0.14)	38.7 (13.3)
PI global	PI	46	92.3	3.5 (0.4)	2.1 (1.0)	0.206 (0.048)	0.438 (0.063)	0.577	0.268	72
<i>P. schizogynoides</i>	PSA	25	58.3	2.1 (0.3)	1.4 (0.5)	0.161 (0.055)	0.232 (0.069)	0.275	0.568	35
<i>P. aridanae</i>	PAC	27	53.8	2.1 (0.3)	1.4 (0.7)	0.162 (0.065)	0.205 (0.066)	0.248	0.602	38
Media total	—	32.4 (6.10)	63.0 (13.4)	2.5 (0.5)	1.5 (0.2)	0.180 (0.036)	0.252 (0.061)	0.286 (0.10)	0.566 (0.14)	46.1 (13.1)
Media global		35.6 (9.58)	65.8 (14.3)	2.8 (0.7)	1.5 (0.2)	0.179 (0.033)	0.266 (0.084)	0.289 (0.17)	0.578 (0.22)	55 (23.4)

Tabla 3.7.- Indicadores básicos de variabilidad. 13 loci. $A_T=n^\circ$ total de alelos observados; P =proporción de *loci* polimórficos; A = n° medio de alelos por *locus*; $A_e=n^\circ$ de alelos efectivos; H_o y H_e =heterocigosidad observada y esperada; F =índice de fijación; t =tasa de alogamia; GML=genotipos multilocus. Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar.

En *P.filifolia* (PF) la proporción más baja de *loci* polimórficos (P) se detecta en PFT (61.5%) y la más alta en PFS (84.6%), con una media para el taxon de 73.1%. La media de alelos por locus ($A_l=2.6$) oscila entre el mínimo de PFI (2.2) y el máximo de PFS (2.8). La

media de alelos efectivos ($A_e=1.5$) varía entre los mínimos de PFT y PFI (1.4) y los máximos de PFA y PFS (1.5).

La heterocigosidad observada (H_o) muestra su máximo en PFS (0.218) y mínimo en PFT (0.135) con una media para la especie (0.174) inferior a la media de la heterocigosidad esperada ($H_e=0.246$), cuyo máximo se observa en PFA (0.267) y el mínimo en PFI (0.227). La media de genotipos multilocus (GML) para *P.filifolia* es de 46.5 con máximos en PFS (GML=52) y mínimos en PFI (35).

INDICADORES BÁSICOS DE VARIABILIDAD. 12 LOCI										
POB / TAXON	POB/TX	A_T	P	A_l	A_e	H_o	H_e	F	t	GML
<i>P. glabriuscula</i>	PGB	24	50.0	2.0 (0.3)	1.3 (0.5)	0.180 (0.075)	0.175 (0.064)	0.008	0.983	29
<i>P. filifolia</i>	PFS	35	83.3	2.9 (0.2)	1.5 (0.5)	0.217 (0.057)	0.266 (0.056)	0.201	0.666	49
	PFA	32	66.7	2.7 (0.3)	1.5 (0.5)	0.150 (0.044)	0.254 (0.064)	0.308	0.529	47
	PFT	30	58.3	2.5 (0.4)	1.4 (0.4)	0.130 (0.041)	0.229 (0.060)	0.314	0.523	43
	PFI	26	75.0	2.2 (0.2)	1.4 (0.4)	0.136 (0.043)	0.202 (0.049)	0.326	0.509	32
PF media	PF	30.8 (3.8)	70.8 (10.8)	2.6 (0.3)	1.5 (0.1)	0.158 (0.040)	0.238 (0.028)	0.287 (0.058)	0.557 (0.073)	42.8 (7.6)
PF global	PF	39	66.7	3.3 (0.3)	1.4 (0.4)	0.158 (0.038)	0.265 (0.052)	0.391	0.379	71
POA	POA	37	58.3	3.1 (0.3)	1.4 (0.5)	0.135 (0.039)	0.227 (0.060)	0.383	0.446	54
POVE	POVE	30	83.3	2.5 (0.2)	1.5 (0.4)	0.193 (0.050)	0.305 (0.047)	0.382	0.447	42
<i>P. ornata</i>	POS	39	75.0	3.3 (0.4)	1.5 (0.4)	0.168 (0.055)	0.296 (0.054)	0.388	0.441	61
	POV	34	66.7	2.8 (0.5)	1.6 (0.6)	0.195 (0.058)	0.282 (0.069)	0.276	0.568	55
	POM	35	58.3	2.9 (0.4)	1.8 (1.0)	0.231 (0.079)	0.330 (0.082)	0.362	0.469	54
PO media	PO	36.0 (2.5)	66.7 (8.4)	3.0 (0.3)	1.6 (0.2)	0.198 (0.032)	0.303 (0.025)	0.342 (0.059)	0.493 (0.067)	56.7 (3.8)
PO global	PO	46	66.7	3.8 (0.5)	1.7 (0.7)	0.195 (0.060)	0.317 (0.069)	0.365	0.575	94
PFCH	PFCH	22	41.7	1.8 (0.3)	1.2 (0.5)	0.111 (0.052)	0.132 (0.059)	0.126	0.777	24
<i>P. platypetala</i>	PPG	40	75.0	3.3 (0.4)	1.7 (0.7)	0.261 (0.072)	0.343 (0.064)	0.211	0.651	67
<i>P. intermedia</i>	PIT	33	75.0	2.8 (0.4)	1.9 (1.0)	0.236 (0.068)	0.366 (0.067)	0.444	0.385	47
	PIG	30	58.3	2.5 (0.3)	1.6 (0.8)	0.195 (0.071)	0.269 (0.077)	0.300	0.539	39
	PIA	19	25.0	1.6 (0.2)	1.2 (0.2)	0.100 (0.051)	0.109 (0.044)	0.349	0.482	20
PI media	PI	27.3 (7.4)	52.8 (25.5)	2.3 (0.6)	1.6 (0.4)	0.177 (0.070)	0.248 (0.130)	0.364 (0.073)	0.469 (0.078)	35.3 (13.9)
PI global	PI	41	91.7	3.4 (0.4)	2.1 (1.0)	0.193 (0.050)	0.425 (0.067)	0.594	0.255	65
<i>P. schizogynoides</i>	PSA	25	58.3	2.1 (0.3)	1.4 (0.5)	0.161 (0.055)	0.232 (0.069)	0.275	0.568	35
<i>P. aridanae</i>	PAC	26	58.3	2.2 (0.3)	1.5 (0.7)	0.175 (0.069)	0.222 (0.069)	0.248	0.602	37
Media total	—	30.3 (5.9)	62.7 (15.1)	2.5 (0.5)	1.5 (0.2)	0.175 (0.045)	0.249 (0.070)	0.288 (0.107)	0.564 (0.145)	43.2 (12.9)
Media global	—	33 (8.6)	65 (15.1)	2.8 (0.7)	1.5 (0.3)	0.176 (0.04)	0.264 (0.086)	0.298 (0.163)	0.568 (0.207)	51.8 (22.2)

Tabla 3.8.- Indicadores básicos de variabilidad de las poblaciones de *Parolinia* (12 loci). $A_T=n^\circ$ total de alelos observados; P =proporción de loci polimórficos; A_l =n° medio de alelos por locus; $A_e=n^\circ$ de alelos efectivos; H_o y H_e =heterocigosidad observada y esperada; F =índice de fijación; t =tasa de alogamia; GML=genotipos multilocus. Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar.

En *P.ornata* (PO) la proporción de loci polimórficos más baja se detecta en POM y POV ($P=61.5\%$) y la más alta en POS (69.2%), con una media para el taxon del 64.1%. La media

de alelos por *locus* ($A_i=2.9$) oscila entre mínimos de POV y POM (2.8) y máximo de POS (3.2). La heterocigosidad esperada oscila desde el mínimo de POV (0.262) hasta el máximo de POM (0.327), con una media para la especie (0.288) que supera a la heterocigosidad observada ($H_o=0.184$) que oscila entre POS (0.157) y POM (0.215). El número medio de genotipos multilocus (GML) para PO es de 59.3 con el mínimo en POM (57) y el máximo en POS (63).

En *P.intermedia* (PI) los valores más bajos de diversidad genética se observan en PIA ($P=30.8\%$, $A_i=1.7$, $A_e=1.2$, $H_o=0.123$ y $H_e=0.141$) mientras que los máximos se observan en PIT ($P=76.9\%$, $A_i=2.8$, $A_e=1.8$, $H_o=0.239$ y $H_e=0.366$) con medias para la especie ($P=56.4\%$, $A_i=2.3$, $A_e=1.5$, $H_o=0.194$ y $H_e=0.262$). La media de genotipos multilocus (GML) para PI es de 38.7, presentando PIA los valores más bajos (GML=24) y PIT los más elevados (GML=50).

4.3. MANTENIMIENTO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA

4.3.1. Test de cuello de botella o exceso de heterocigotos

Bajo el modelo del alelo independiente (*IAM*) no se manifiesta cuello de botella reciente en ninguna de las poblaciones, aunque se observa exceso de heterocigotos en PGB (3/4), PFA (4/7), POVE (5/8), POV (5/6), POM (5/7), PIT (4/8), PIA (3/4) y PSA (1/6), el test no es significativo ($p>0.05$), lo que podría indicar su cercanía a cuellos de botellas (Tabla 3.9).

POB	NL	<i>IAM</i>		<i>SMM</i>	
		H_d/H_e	p	H_d/H_e	p
PGB	7	3/4	0.688	5/2	0.375
PFS	12	8/4	0.519	8/4	0.013
PFA	11	4/7	0.638	8/3	0.067
PFT	10	5/5	0.846	7/3	0.084
PFI	11	7/4	0.577	9/2	0.009
POA	11	7/4	0.413	9/2	0.005
POVE	13	5/8	0.376	6/7	0.455
POS	13	7/6	0.735	10/3	0.005
POV	11	5/6	0.413	6/5	0.175
POM	12	5/7	0.176	5/7	0.424
PFCH	7	4/3	0.578	4/3	0.109
PPG	13	7/6	0.588	8/5	0.094
PIT	11	4/8	0.077	5/7	0.910
PIG	10	6/4	1.000	7/3	0.084
PIA	7	3/4	1.000	3/4	0.578
PSA	7	1/6	0.078	4/3	0.297
PAC	8	4/4	0.641	4/4	0.742

Tabla 3.9.- Test del cuello de botella. NL=n° de *loci* polimórficos; *IAM*=modelo de alelo independiente; *SMM*=modelo de mutación por pasos, $H_d/H_e=n^\circ$ de *loci* con déficit de heterocigotos y exceso de heterocigotos. p =probabilidad de significación del test, $p<0.05$. En negrita, las poblaciones con exceso de heterocigotos bajo el modelo *IAM* y *SMM*.

En cuanto al modelo de mutación por pasos (*SMM*), únicamente se observa exceso de heterocigotos en POM (5/7), PIT (5/7) y PIA (3/4) aunque el test no es significativo ($p>0.05$), lo que indicaría cercanía al cuello de botella.

TEST DE NEUTRALIDAD EWENS-WATTERSON																											
Locus	PGB			PFS			PFA			PFT			PFI			POA			POVE			POS			POV		
	E-W	L95	U95	E-W	L95	U95	E-W	L95	U95	E-W	L95	U95	E-W	L95	U95	E-W	L95	U95	E-W	L95	U95	E-W	L95	U95	E-W	L95	U95
<i>Acp-1</i>	—	—	—	0.568	0.305	0.900	0.603	0.324	0.934	0.816	0.502	0.986	0.779	0.501	0.951	0.607	0.306	0.945	0.795	0.502	0.970	0.612	0.323	0.952	0.839	0.502	0.993
<i>Acp-2</i>	0.700	0.388	0.974	0.819	0.504	0.983	0.714	0.381	0.980	0.690	0.381	0.986	0.629	0.360	0.931	0.716	0.380	0.983	0.790	0.502	0.970	0.829	0.503	0.992	0.848	0.504	0.993
<i>Est-1</i>	0.827	0.505	0.986	0.675	0.376	0.966	0.699	0.383	0.981	0.515	0.269	0.972	—	—	—	0.612	0.332	0.951	0.789	0.502	0.969	0.423	0.221	0.765	0.439	0.224	0.816
<i>Est-2</i>	—	—	—	0.815	0.502	0.983	0.834	0.504	0.991	—	—	—	0.801	0.502	0.966	—	—	—	0.790	0.502	0.971	0.835	0.503	0.992	—	—	—
<i>Idh-1</i>	0.692	0.374	0.972	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.703	0.371	0.982	0.741	0.504	0.913	0.839	0.505	0.991	—	—	—
<i>Mdh-1</i>	0.823	0.502	0.987	0.682	0.372	0.966	0.711	0.379	0.981	0.811	0.502	0.984	0.772	0.501	0.961	0.695	0.386	0.975	0.782	0.503	0.962	0.713	0.380	0.982	0.716	0.386	0.976
<i>Mdh-2</i>	—	—	—	0.673	0.368	0.966	0.709	0.366	0.981	0.817	0.503	0.984	0.771	0.503	0.962	0.683	0.385	0.958	0.637	0.358	0.922	0.836	0.505	0.991	0.837	0.505	0.992
<i>Mdh-3</i>	—	—	—	0.672	0.368	0.966	0.697	0.381	0.980	0.686	0.376	0.968	0.637	0.363	0.922	0.593	0.318	0.930	0.779	0.501	0.961	0.617	0.317	0.943	0.841	0.502	0.992
<i>Me-1</i>	—	—	—	0.804	0.501	0.983	—	—	—	—	—	—	0.789	0.502	0.966	—	—	—	0.638	0.365	0.931	0.570	0.310	0.898	0.818	0.501	0.987
<i>Pgi-2</i>	0.698	0.374	0.975	0.561	0.314	0.904	0.828	0.502	0.990	0.581	0.314	0.926	0.792	0.503	0.965	0.707	0.375	0.983	0.798	0.504	0.970	0.835	0.504	0.993	0.724	0.379	0.979
<i>Pgm-2</i>	0.584	0.319	0.928	0.559	0.306	0.886	0.604	0.314	0.937	0.684	0.370	0.970	0.640	0.367	0.933	0.625	0.337	0.958	0.528	0.289	0.859	0.616	0.316	0.952	0.603	0.325	0.944
<i>Pgm-3</i>	—	—	—	0.678	0.374	0.958	0.705	0.389	0.981	0.591	0.309	0.925	0.532	0.298	0.869	0.622	0.323	0.967	0.629	0.360	0.941	0.722	0.397	0.978	0.718	0.395	0.979
<i>Skd-1</i>	0.593	0.308	0.935	0.682	0.385	0.964	0.696	0.377	0.975	0.795	0.502	0.973	0.784	0.501	0.966	0.651	0.369	0.947	0.645	0.368	0.931	0.801	0.502	0.978	0.592	0.322	0.919
Locus	POM			PFCH			PPG			PIT			PIG			PIA			PSA			PAC					
	E-W	L95	U95	E-W	L95*	U95*	E-W	L95	U95	E-W	L95	U95	E-W	L95	U95	E-W	L95	U95	E-W	L95	U95	E-W	L95	U95	E-W	L95	U95
<i>Acp-1</i>	0.830	0.503	0.989	0.588	0.362	0.873	0.703	0.382	0.975	0.783	0.502	0.968	0.786	0.502	0.968	0.777	0.501	0.961	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Acp-2</i>	0.823	0.503	0.990	0.774	0.501	0.951	0.845	0.503	0.992	0.672	0.381	0.961	0.672	0.380	0.961	0.632	0.360	0.919	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Est-1</i>	0.422	0.220	0.777	—	—	—	0.414	0.219	0.765	0.490	0.266	0.839	0.634	0.362	0.922	0.637	0.362	0.922	0.664	0.362	0.948	0.566	0.309	0.900	—	—	—
<i>Est-2</i>	0.830	0.504	0.990	0.772	0.501	0.951	0.835	0.504	0.992	0.807	0.502	0.979	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.801	0.502	0.978	—	—	—
<i>Idh-1</i>	—	—	—	—	—	—	0.832	0.501	0.991	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Mdh-1</i>	0.693	0.370	0.977	—	—	—	0.708	0.376	0.981	0.803	0.502	0.979	—	—	—	—	—	—	0.633	0.368	0.925	0.792	0.504	0.973	—	—	—
<i>Mdh-2</i>	0.823	0.504	0.988	0.763	0.501	0.951	0.833	0.505	0.990	0.801	0.502	0.978	0.770	0.501	0.961	0.786	0.501	0.961	0.613	0.501	0.956	0.664	0.364	0.941	—	—	—
<i>Mdh-3</i>	0.693	0.375	0.973	0.605	0.353	0.894	0.711	0.375	0.981	0.809	0.502	0.978	0.785	0.503	0.961	0.782	0.503	0.961	—	—	—	0.786	0.502	0.970	—	—	—
<i>Me-1</i>	0.637	0.357	0.919	—	—	—	0.834	0.504	0.991	0.793	0.504	0.973	0.604	0.362	0.888	0.598	0.350	0.888	0.656	0.371	0.952	0.655	0.361	0.941	—	—	—
<i>Pgi-2</i>	0.691	0.377	0.970	—	—	—	0.624	0.323	0.961	0.424	0.231	0.758	0.433	0.244	0.778	0.446	0.250	0.778	0.792	0.502	0.972	0.801	0.502	0.978	—	—	—
<i>Pgm-2</i>	0.594	0.319	0.942	0.497	0.296	0.814	0.615	0.322	0.951	0.538	0.301	0.887	0.522	0.297	0.849	0.527	0.295	0.849	0.550	0.303	0.903	0.511	0.294	0.849	—	—	—
<i>Pgm-3</i>	0.701	0.388	0.978	0.778	0.501	0.951	0.550	0.280	0.900	0.676	0.374	0.960	0.636	0.359	0.922	0.629	0.366	0.922	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Skd-1</i>	0.783	0.503	0.961	—	—	—	0.697	0.370	0.981	0.750	0.503	0.926	0.621	0.358	0.919	0.630	0.367	0.919	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabla 3.10.- Test de Neutralidad Ewens-Watterson. Test de Neutralidad para los 13 loci (65 alelos) de las 17 poblaciones de *Parolinia*. L95 y U95= extremos superior e inferior del intervalo de confianza al 95% de la homocigosidad esperada asumiendo neutralidad; E-W= promedio de la homocigosidad esperada según las proporciones Hardy-Weinberg.

4.3.2. Test de Neutralidad y selección natural

En el test de Neutralidad todos los valores observados se encuentran dentro de los límites del intervalo de confianza (L95 y U95) y por tanto no resulta significativo para ningún *loci* en ninguna de las poblaciones estudiadas, indicando que no están sometidas a presión de selección. No se revelan fuerzas de *selección natural* en el género (Tabla 3.10).

4.3.4. Autocorrelación espacial

De los 65 alelos totales analizados en las 12 poblaciones de Gran Canaria, el número de alelos que satisfacen los criterios de autocorrelación espacial descritos en el Material y Métodos, varía entre 9 alelos en PFCH y 25 en POVE (Tabla 3.11 y Fig.3.17).

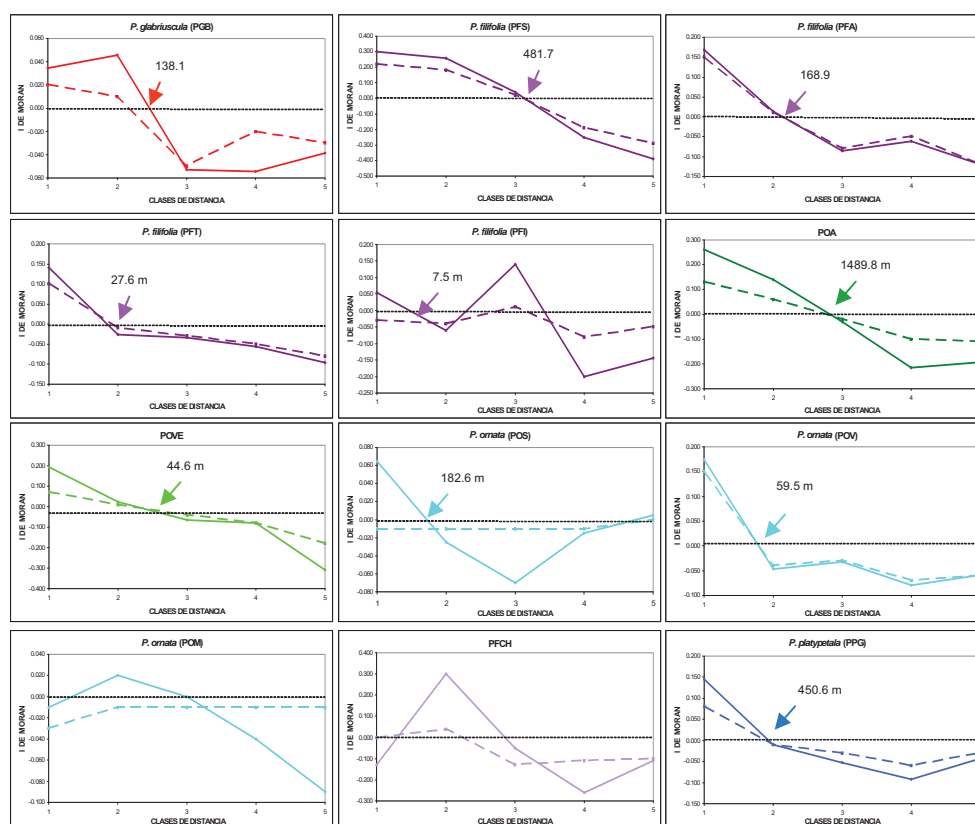


Figura 3.17.- Correlogramas de las poblaciones de Gran Canaria. Correlogramas medios de los alelos significativos (línea continua) y correlogramas totales correspondiente a todos los alelos (línea discontinua). Se señala el punto de intersección del eje X para las poblaciones que exhiben valores positivos de IM.

La proporción de alelos que resultan significativos a corta distancia oscila entre el 80% (16 de 20 alelos) en POV y solo el 4% (un alelo de 24) en POM.

En la primera clase de distancia, la proporción de alelos que están autocorrelacionados (significativamente positivos) oscila entre el 100% en POV ($IM=0.175$) y el 7% (PFS con $IM=0.301$) siendo inapreciables (0%) los valores de POM y PFCH ($IM=-0.010$ y -0.130) para ambas poblaciones.

Los correlogramas medios multibandas muestran que PFA, PFS, PFT y POVE, presentan un declive monótonico general de los valores de la *I* de Moran a través de las cinco clases de distancia (Fig.3.17), con una disminución media entre la primera y la

segunda clase de 0.065 unidades, oscilando entre 0.222 unidades de *IM* en POV y -0.430 unidades de *IM* en PFCH.

INDICE / DE MORAN					
Población/alelos	1	2	3	4	5
PGB (14, X=138.1)					
Media significativa (<i>IM</i>)	0.034	0.046	-0.053	-0.054	-0.039
Media total	0.020	0.010	-0.050	-0.020	-0.030
Distancia límite (m)	45	94	171	224	3182
PFS (19, X=481.7)					
Media significativa (<i>IM</i>)	0.301	0.258	0.041	-0.250	-0.391
Media total	0.220	0.180	0.020	-0.190	-0.290
Distancia límite (m)	38	165	449	630	1272
PFA (17, X=168.9)					
Media significativa (<i>IM</i>)	0.169	0.014	-0.085	-0.062	-0.120
Media total	0.150	0.010	-0.080	-0.050	-0.120
Distancia límite (m)	45	155	1771	1868	2111
PFT (20, X=27.6)					
Media significativa (<i>IM</i>)	0.140	-0.026	-0.034	-0.057	-0.096
Media total	0.100	-0.010	-0.030	-0.050	-0.080
Distancia límite (m)	19	31	44	68	144
PFI (21, X=7.5)					
Media significativa (<i>IM</i>)	0.055	-0.060	0.140	-0.200	-0.145
Media total	-0.030	-0.040	0.010	-0.080	-0.050
Distancia límite (m)	10	15	21	28	71
POA (20, X=1489.8)					
Media significativa (<i>IM</i>)	0.262	0.140	-0.030	-0.216	-0.192
Media total	0.130	0.060	-0.020	-0.100	-0.110
Distancia límite (m)	71	208	1613	1776	2161
POVE (25, X=44.6)					
Media significativa (<i>IM</i>)	0.195	0.023	-0.064	-0.079	-0.308
Media total	0.070	0.010	-0.040	-0.080	-0.180
Distancia límite (m)	16	35	1983	2006	2045
POS (20, X=182.6)					
Media significativa (<i>IM</i>)	0.065	-0.025	-0.070	-0.015	0.005
Media total	-0.010	-0.010	-0.010	-0.010	0.000
Distancia límite (m)	99	249	422	1332	1875
POV (20, X=59.5)					
Media significativa (<i>IM</i>)	0.175	-0.047	-0.032	-0.080	-0.058
Media total	0.150	-0.040	-0.030	-0.070	-0.060
Distancia límite (m)	35	72	127	213	557
POM (24, --)					
Media significativa (<i>IM</i>)	-0.130	0.300	-0.050	-0.260	-0.110
Media total	-0.030	-0.010	-0.010	-0.010	-0.010
Distancia límite (m)	52	107	1665	1739	1860
PFCH (9, --)					
Media significativa (<i>IM</i>)	-0.130	0.300	-0.050	-0.260	-0.110
Media total	0.000	0.040	-0.130	-0.110	-0.100
Distancia límite (m)	9	18	91	343	664
PPG (24, X=450.6)					
Media significativa (<i>IM</i>)	0.145	-0.011	-0.053	-0.093	-0.043
Media total	0.080	-0.010	-0.030	-0.060	-0.030
Distancia límite (m)	137	480	1791	2238	5113

Tabla 3.11- Autocorrelación espacial en 12 poblaciones de Gran Canaria. Valores del índice de Morán para las 5 clases de distancia donde los alelos dan información no redundante. Sólo se muestran las frecuencias de los alelos con correlogramas significativos. Entre paréntesis se muestra el n° de alelos sujetos a análisis y el punto de intersección con el eje X ó primer pariente. (<0.05).

El rango de intersección del eje X del correlograma para las poblaciones que exhiben valores positivos de *IM* para la primera clase de distancia varían desde 7.5m en PFI hasta 1489.8m en POA (Fig.3.17). El valor medio de intersección del eje X para todas las poblaciones estudiadas es de 305.1m.

4.4. ESTRUCTURA DE LAS POBLACIONES

Los parámetros de *estructura genética poblacional* mediante los valores de F_{ST} (F_{IS} y F_{IT}) o estadísticos de WRIGHT (1951) y los valores de G_{ST} (H_T , H_S , D_{ST}) o estadísticos de NEI (1973) junto con el flujo génico se muestran en las Tablas 3.4, 3.14, 3.15 y Anexo 3. Los resultados del *índice de fijación* o *coeficiente de endogamia* (F o F_{IS}) y la tasa de alogamia (t) para 13 *loci* se muestran en la Tabla 3.7 y para 12 *loci* en la Tabla 3.8. La estimación del *inbreeding depression* (δ), *talla efectiva poblacional* (N_e) y las *desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg* (test de Chi cuadrado) se muestran en las Tablas 3.12 y 3.13.

4.4.1. Coeficiente de autogamia o índice de fijación F_{IS} y tasa de alogamia (t)

El *coeficiente de endogamia* o *índice de fijación* F_{IS} muestra en las 17 poblaciones de *Parolinia* una media de $F_{IS}=0.286$, entre el máximo de POM ($F_{IS}=0.406$) y mínimo de *P.glabriuscula* (-0.008) cuyos valores negativos indican exceso de heterocigotos. La *tasa de alogamia* muestra el máximo en PGB ($t=1.016$) y mínimo en POM (0.423) con una media (0.566) que señala a la *alogamia* como sistema de cruzamiento predominante en las poblaciones (Tabla 3.7).

Considerando los 10 taxones, *P.intermedia* presenta el máximo índice de fijación (0.577) y el mínimo (-0.008) se observa en *P.glabriuscula*. Lógicamente la tasa de alogamia más baja (0.268) se observa en PI y la más elevada (1.016) en *P.glabriuscula* seguida por PFCH (0.866).

El índice de fijación (F_{IS}) en *P.filifolia* (PF) oscila entre PFS (0.184) y PFT (0.314) con una media de 0.265 igual que la *tasa de alogamia* entre PFS (0.689) y PFT (0.523) con una media ($t=0.584$) que señala la *alogamia* como sistema de cruzamiento predominante en las poblaciones de *P.filifolia*. En *P.ornata* (PO) el índice de fijación (0.358) oscila entre el mínimo de POV (0.311) y el máximo de POM (0.406). El valor medio de la tasa de *alogamia* ($t=0.474$), ligeramente más bajo que en PF, muestra el mínimo en POM (0.423) y el máximo en POV (0.526). El índice de fijación (F_{IS}) en *P.intermedia* presenta el máximo en PIT (0.397) y el mínimo en PIG ($F=0.247$) con una media de 0.325. Asimismo la tasa de alogamia de esta especie ($t=0.513$) señala predominancia ligera de alogamia, oscilando entre 0.432 (PIT) y 0.604 (PIG).

En el análisis con 12 *loci* comunes (sin el *loci Acp-2* ausente en PSA) la tasa de alogamia (t) sube ligeramente en POA (0.446), PFT y PAC se mantienen con los mismos valores mientras que el resto de las poblaciones muestra valores ligeramente inferiores (Tabla 3.8). A nivel de taxon, aunque la *tasa de alogamia* sube ligeramente en PO (0.575) es ligeramente inferior en el resto de las especies.

4.4.1.1. Talla efectiva de las poblaciones (N_e)

Los resultados del tamaño efectivo de la población según HUSBAND & BARRETT (1992) con $N_e=N(2-s)/2$, o según Crawford en FRANKEL, BROWN & BURDON (1995) con $N_e= N/1+F$ son prácticamente los mismos (Tabla 3.13) donde se observa que PFCH presenta el tamaño efectivo poblacional más bajo ($N_e=93$) y PPG el más alto ($N_e=38571$ y 38558).

4.4.1.2 Coeficiente de *inbreeding depression* (δ)

Los valores de *inbreeding depression* (que dependen de F y s) en los individuos adultos de la población siguiendo a DOLE & RITLAND (1993) se muestran en la Tabla 3.12, donde los valores superiores a 0.50 indicarían la presencia de *inbreeding depression*.

POBLACIÓN	δ 13	δ 12	N	N_e-1	N_e-2
PGB	-0.008	0.067	300	302	302
PFS	0.001	-0.003	800	676	676
PFA	0.001	0.000	616	481	481
PFT	-0.004	-0.004	280	213	213
PFI	-0.002	-0.003	250	195	195
POA	0.000	0.001	1000	720	720
POVE	0.002	0.001	8236	5975	5977
POS	0.003	0.000	40000	29460	29477
POV	-0.002	-0.002	4000	3052	3051
POM	-0.002	-0.002	200	142	142
PFCH	-0.003	-0.005	100	93	93
PPG	-0.003	0.002	46000	38571	38558
PIT	-0.001	0.000	30000	21480	21475
PIG	-0.001	-0.002	5000	4010	4010
PIA	-0.002	0.002	150	113	113
PSA	0.003	0.003	800	627	627
PAC	0.002	0.002	250	200	200

Tabla 3.12.- Talla efectiva poblacional e *inbreeding depression*. δ = *inbreeding depression* (Dole & Ritland, 1993); δ 13= para 13 *loci*; δ 12= para 12 *loci*; N = censo poblacional; N_e-1 = talla efectiva (Husband & Barrett, 1992) y N_e-2 (Frankel, Brown & Burdon, 1995). $\delta > 0.50$ indicio de pérdida de vigor por endogamia (Lande & Schemske, 1985).

Los resultados muestran el coeficiente de *inbreeding depression* desde valores negativos con mínimos en PGB (-0.008) hasta 0.003 (POS y PSA) significando que ninguna de las poblaciones manifiesta señales de pérdida de vigor por problemas de endogamia.

4.4.2. Desviación del equilibrio Hardy-Weinberg. Test de Chi-cuadrado X^2

El test de *Chi cuadrado* considera que están en equilibrio los *loci* que muestran una probabilidad $p \geq 0.970$ (Tabla 3.13). En las 17 poblaciones estudiadas señala sólo 7 *loci* en equilibrio Hardy-Weinberg concentrados en las poblaciones de *P. filifolia*, una sola de *P. ornata* (POM) y poblaciones sin adscripción taxonómica (PFCH, POVE y POA): *Acp-1* (PFT y PFI), *Est-2* (PFCH), *Mdh-1* (PFA, PFS y PFT), *Mdh-2* (POVE), *Mdh-3* y *Pgm-2* (PIG) y *Pgi-2* (POA, POM).

La mayoría de las poblaciones y especies no presentan equilibrio Hardy-Weinberg: PGB (PG), POS y POV (PO), PPG (PP), PIT y PIA (PI), PSA (PS) y PAC (PA). Según los datos generados se señala un defecto de heterocigotos en la mayoría de las poblaciones, a excepción de PGB donde se manifiesta un exceso en un mayor número de *loci*.

DESVIACIONES DEL EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG EN <i>PAROLINIA</i>																		
Pob / locus	PGB		PFS		PFA		PFT		PFI		POA		POVE		POS		POV	
	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P
<i>Acp-1</i>	—	—	68.137	0.000	64.094	0.000	0.000	1.000*	0.000	1.000*	178.723	0.000	19.415	0.000	205.308	0.000	0.011	0.917
<i>Acp-2</i>	1.128	0.770	0.007	0.933	197.059	0.000	139.097	0.000	1.678	0.642	178.723	0.000	3.958	0.047	0.004	0.948	93.665	0.000
<i>Est-1</i>	17.924	0.000	45.225	0.000	16.356	0.001	5.328	0.868	—	—	26.358	0.000	0.718	0.397	205.289	0.000	177.920	0.000
<i>Est-2</i>	—	—	1.115	0.291	0.014	0.904	—	—	0.203	0.652	—	—	21.662	0.000	45.346	0.000	—	—
<i>ldh-1</i>	3.337	0.343	—	—	—	—	—	—	—	—	23.355	0.000	21.053	0.000	4.467	0.035	—	—
<i>Mdh-1</i>	1.246	0.264	0.203	0.977*	0.190	0.979*	0.000	1.000*	29.470	0.000	55.054	0.000	19.464	0.000	34.327	0.000	46.008	0.000
<i>Mdh-2</i>	—	—	15.165	0.002	16.783	0.001	1.101	0.294	2.087	0.149	142.899	0.000	0.021	0.999*	50.328	0.000	1.308	0.253
<i>Mdh-3</i>	—	—	125.099	0.000	18.247	0.000	27.571	0.000	2.259	0.520	19.460	0.003	1.054	0.305	51.275	0.000	5.261	0.022
<i>Me-1</i>	—	—	0.009	0.925	—	—	—	—	38.038	0.000	—	—	54.313	0.000	110.737	0.000	62.963	0.000
<i>Pgi-2</i>	0.327	0.955	13.360	0.038	16.594	0.000	27.719	0.000	0.212	0.645	0.043	0.998*	0.403	0.525	0.221	0.639	46.833	0.000
<i>Pgm-2</i>	36.367	0.000	3.858	0.696	44.518	0.000	61.245	0.000	57.361	0.000	49.116	0.000	12.341	0.055	23.580	0.001	26.368	0.000
<i>Pgm-3</i>	—	—	2.267	0.519	3.952	0.267	97.606	0.000	21.528	0.001	48.704	0.000	7.591	0.055	17.378	0.001	0.846	0.839
<i>Skd-1</i>	88.433	0.000	48.930	0.000	91.095	0.000	23.410	0.000	16.693	0.000	73.014	0.000	4.331	0.228	39.901	0.000	136.181	0.000
Pob / locus	POM		PFCH		PPG		PIT		PIG		PIA		PSA		PAC			
	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	χ^2	P	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P
<i>Acp-1</i>	0.006	0.940	29.037	0.000	9.906	0.019	2.474	0.116	3.687	0.055	—	0.305	—	—	—	—	—	—
<i>Acp-2</i>	77.374	0.000	1.073	0.300	0.089	0.766	1.220	0.748	2.410	0.492	—	0.508	—	—	—	—	—	—
<i>Est-1</i>	281.537	0.000	—	—	165.643	0.000	4.092	0.943	31.630	0.000	0.000	0.000	7.849	0.049	136.289	0.000	—	—
<i>Est-2</i>	131.344	0.000	0.000	1.000*	0.024	0.876	95.011	0.000	—	—	0.009	—	—	—	6.867	0.009	—	—
<i>ldh-1</i>	—	—	—	—	2.594	0.107	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Mdh-1</i>	57.453	0.000	—	—	62.461	0.000	40.088	0.000	—	—	0.904	—	15.619	0.001	0.014	0.904	—	—
<i>Mdh-2</i>	3.226	0.072	0.027	0.869	26.556	0.000	0.945	0.331	49.021	0.000	0.056	0.000	7.353	0.061	7.578	0.056	—	—
<i>Mdh-3</i>	43.527	0.000	7.914	0.048	87.983	0.000	1.348	0.246	0.000	1.000*	0.672	0.509	0.077	0.782	0.179	0.672	—	—
<i>Me-1</i>	49.272	0.000	—	—	97.044	0.000	71.014	0.000	32.269	0.000	0.000	—	—	—	43.422	0.000	—	—
<i>Pgi-2</i>	0.031	0.999*	—	—	6.126	0.409	102.582	0.000	12.428	0.257	0.001	0.917	4.052	0.256	10.647	0.001	—	—
<i>Pgm-2</i>	32.952	0.000	11.107	0.085	36.649	0.000	35.260	0.000	1.303	0.972*	0.011	0.000	11.203	0.001	16.521	0.011	—	—
<i>Pgm-3</i>	13.245	0.004	1.073	0.300	21.704	0.017	0.564	0.905	1.054	0.788	—	—	69.290	0.000	—	—	—	—
<i>Skd-1</i>	49.021	0.000	—	—	229.997	0.000	14.222	0.000	17.978	0.000	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabla 3.13.- Desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg (H-W). Test de Chi-cuadrado (χ^2) en las 17 poblaciones de *Parolinia*. P =probabilidad del test. (*) loci en equilibrio de Hardy-Weinberg (P \geq 0.970).

4.4.3. Estructura genética (G_{ST} y F_{ST}) y flujo génico (N_m) de poblaciones y taxones

Se muestra la *estructura genética* (G_{ST} y F_{ST}) de las poblaciones y taxones estudiados de *Parolinia* que incluye el análisis de las poblaciones no adscritas a ningún taxon, POA, POVE PFCH (Tablas 3.4, 3.15 y Anexo 3). El flujo génico o número de migrantes inter-poblacionales (N_m) se muestra enfrentado a la distancia geográfica (kms) y el desnivel altitudinal entre poblaciones dentro de cada isla (Tabla 3.14).

Los G_{ST} más bajos se observan entre poblaciones coespecíficas de un mismo taxon (0.017 para POS-POV y 0.049 para PFS-PFI, etc.) excepto en *P.intermedia* que presenta G_{ST} altos entre sus poblaciones, PIA y PIG incluso mayores que con la mayoría de las otras poblaciones y especies (PG, PF, PO, PP, PS y PA), poniéndose de manifiesto la poca cohesión genética entre las poblaciones de PI. Este hecho se refuerza por la inexistencia de *flujo génico* o *migrantes* entre ellas ($N_m=0.3-0.7$) aunque comparten un 48-86% de los alelos de los 46 del taxon. Asimismo el componente inter-poblacional ($F_{ST}=0.424$) contribuye más a la diversidad total que el componente intra-poblacional $F_{IS}=0.247$.

Los G_{ST} más altos (0.571) se observan entre PIA (Tenerife) población de PI y PFCH (Gran Canaria) que no presentan flujo génico (0.2) aunque comparten del 71-77% de los alelos.

- En *P.filifolia* (Gran Canaria), los G_{ST} mínimos se observan entre PFS y PFI (0.049) separadas por solo 6.95 km con flujo génico alto N_m (4.9) compartiendo del 68- 88% de los alelos de los 44 del taxon, mientras que los máximos G_{ST} se observan entre PFS y PFT (0.120) a pesar del máximo N_m (6.8) y que comparten 76-85% de los alelos (28). Solo PFCH se encuentra dentro del rango de las poblaciones de PF que además incluye a todos sus alelos y manifiesta *flujo génico*. En los F estadísticos el componente intrapoblacional ($F_{IS}=0.287$) contribuye más a la diversidad total que el componente interpoblacional ($F_{ST}=0.088$).

- En *P.ornata* (Gran Canaria) las poblaciones POS y POV distantes unos 8.21km, presentan el mínimo G_{ST} (0.017), el máximo flujo génico N_m (14.2) y comparten 73-83% alelos de los 49 detectados para el taxon. A su vez, la tercera población de PO que se encuentra más alejada de las otras (POM), muestra también valores bajos de G_{ST} (0.074-0.056) y elevados de N_m (3.2-4.3) compartiendo el 89% de los alelos con POS y 84% con POV (Tablas 3.4 y 3.15). Los F estadísticos ($F_{IS}=0.356$ y $F_{ST}=0.067$) de *P. ornata* como en la especie anterior, indican que el componente intrapoblacional también contribuye más a la diversidad total que el interpoblacional.

- Hay que señalar a *P.platypetala* en relación a *P.ornata* (ambas en Gran Canaria) por presentar G_{ST} muy bajos (0.087 y 0.097) que revelan una relación de población coespecífica con PO. Se justifica además por la existencia de flujo génico ($N_m=2.3-2.6$) y por el 76-81% de los alelos que comparte con PO de los 42 que posee.

- Los taxones de una población como *P.glabriuscula* (aislada en una caldera de Gran Canaria) muestra el G_{ST} mínimo con PPG más próxima geográficamente y con la única que posee flujo génico aunque comparte más alelos con POA (85%) población que además es más distante geográficamente.

El resto de los taxones integrados por una sola población se encuentran en otras islas: *P.schizogynoides* (PSA) en La Gomera y *P.aridanae* (PAC) en La Palma. Ambas poseen el G_{ST} más bajo con PFS de Gran Canaria (0.243 y 0.253) y aunque no poseen *flujo génico* los valores mayores cercanos a "1" se encuentran también con Gran Canaria en poblaciones también de PF y Tenerife (PIT) en Teno.

FLUJO GÉNICO (N_m), DISTANCIA GEOGRÁFICA Y DESNIVEL ENTRE POBLACIONES																	
POB	PGB	PFS	PFA	PFT	PFI	POA	POVE	POS	POV	POM	PFCH	PPG	PIT	PIG	PIA	PSA	PAC
PGB	300	24.33 (1329)	25.91 (1373)	33.76 (1337)	30.55 (1376)	23.33 (745)	32.30 (1570)	19.39 (904)	25.31 (1225)	37.25 (1830)	18.68 (1462)	11.25 (642)	156.8	115.0	136.5	177.0	253.6
PFS	0.7	600	1.81 (568)	9.53 (771)	6.95 (1144)	12.66 (1313)	10.77 (1086)	21.38 (1186)	18.20 (934)	17.12 (1411)	6.67 (661)	21.55 (1381)	134.6	92.7	114.3	154.7	231.4
PFA	0.7	3.8	315	8.52 (805)	7.02 (1070)	11.89 (1240)	11.21 (1226)	23.51 (1172)	19.99 (1193)	17.83 (1352)	7.24 (800)	23.58 (1571)	133.0	91.1	112.7	153.1	229.8
PFT	0.6	6.8	3.2	550	3.89 (533)	19.45 (896)	6.75 (654)	27.42 (990)	21.29 (962)	12.25 (742)	15.67 (803)	29.51 (1050)	143.6	101.8	123.3	163.8	231.4
PFI	0.8	4.9	2.9	3.5	1031	18.77 (1215)	4.58 (787)	23.49 (1004)	17.53 (903)	11.42 (1000)	12.97 (1015)	26.01 (876)	137.5	95.6	117.1	157.6	234.3
POA	0.5	0.7	0.6	0.7	0.6	210	23.12 (1322)	29.14 (1700)	29.14 (1345)	29.74 (1295)	9.75 (1092)	26.63 (1262)	142.0	100.2	121.7	162.2	238.8
POVE	0.6	0.8	1.0	0.9	0.8	2.8	240	22.49 (926)	15.48 (754)	6.74 (605)	16.54 (1262)	26.32 (1215)	145.3	103.5	125.0	165.5	242.1
POS	0.6	0.6	0.5	0.5	0.7	0.7	1.2	300	8.21 (737)	23.54 (1006)	19.55 (1476)	8.19 (649)	156.6	114.7	136.2	176.7	253.4
POV	0.6	0.5	0.5	0.5	0.6	0.7	1.2	14.2	450	15.18 (669)	19.47 (1141)	15.04 (736)	152.3	110.4	131.9	172.4	249.1
POM	0.8	0.9	0.8	0.8	1.0	1.0	1.3	3.2	4.3	60	22.20 (1306)	29.15 (1210)	137.3	95.4	116.9	160.4	235.1
PFCH	0.6	2.4	2.4	2.4	2.0	0.6	0.6	0.5	0.5	0.7	1051	18.29 (1166)	138.8	97.0	118.5	159.0	235.6
PPG	1.0	0.7	0.7	0.7	0.8	0.7	1.0	2.4	2.3	2.6	0.6	578	156.2	114.4	135.9	176.4	253.1
PIT	0.9	0.7	0.8	0.7	0.7	0.7	0.7	1.2	1.3	1.6	0.5	1.2	140	39.65 (595)	28.43 (571)	50.6	107.1
PIG	0.5	0.5	0.6	0.5	0.5	0.4	0.5	0.7	0.7	0.8	0.4	0.7	0.6	125	11.11 (212)	62.0	138.7
PIA	0.4	0.4	0.5	0.3	0.3	0.3	0.4	0.5	0.5	0.5	0.2	0.5	0.7	0.3	156	54.5	126.5
PSA	0.6	0.9	0.9	0.8	0.6	0.4	0.5	0.5	0.5	0.7	0.7	0.7	0.9	0.3	0.4	200	86.0
PAC	0.4	0.6	0.7	0.6	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5	0.5	0.5	0.7	0.3	0.4	0.5	100

Tabla 3.14.- Flujo génico, distancia geográfica y desnivel entre poblaciones. Flujo génico (por debajo de la diagonal) y distancia geográfica en km (encima de la diagonal), entre paréntesis desnivel altitudinal entre poblaciones dentro de cada isla (m) y en la diagonal cota media de la población.

El máximo número de alelos compartidos también se observan con poblaciones de Gran Canaria para PS (84%) y PAC (La Palma) con Tenerife (85%) y Gran Canaria (81%).

4.4.3.1 Estructura genética de las poblaciones sin adscripción POA, POVE y PFCH

Las poblaciones POA y POVE sin adscripción taxonómica presentan una elevada cohesión genética entre ellas revelada por el G_{ST} encontrado (0.080) que se observa para algunas poblaciones coespecíficas de *Parolinia*, y a su vez, el mínimo encontrado para POA y el resto de especies y poblaciones. Observación reforzada por la presencia de flujo génico (2.8 migrantes) y por los 27 alelos compartidos de los 40 y 32 que poseen ambas (Tablas 3.4, 3.14 y 3.15).

ESTADÍSTICOS DE ESTRUCTURA TAXONES Y POBLACIONES SIN ADSCRIPCIÓN							
TAXON	F-estadísticos Wright (1951)			Estadísticos de NEI (1973)			
	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	H_S	H_T	D_{ST}	G_{ST}
<i>P. filifolia</i> = (PFS + PFA+ PFT+PFI)	0.287	0.350	0.088	0.244	0.267	0.024	0.088
<i>P. filifolia</i> + POA	0.311	0.472	0.234	0.244	0.319	0.075	0.234
<i>P. filifolia</i> + POVE	0.303	0.455	0.218	0.258	0.330	0.072	0.218
<i>P. filifolia</i> + PFCH	0.259	0.344	0.115	0.224	0.253	0.029	0.115
<i>P. filifolia</i> + PPG	0.274	0.446	0.238	0.259	0.340	0.081	0.238
<i>P. filifolia</i> + PGB	0.237	0.402	0.217	0.230	0.294	0.064	0.217
<i>P. filifolia</i> + <i>P. ornata</i>	0.319	0.535	0.317	0.262	0.383	0.121	0.317
<i>P. ornata</i> = (POS+ POV+ POM)	0.356	0.399	0.067	0.286	0.306	0.021	0.067
<i>P. ornata</i> + POA	0.368	0.509	0.223	0.276	0.355	0.079	0.223
<i>P. ornata</i> + POVE	0.355	0.474	0.184	0.293	0.359	0.066	0.184
<i>P. ornata</i> + PFCH	0.315	0.532	0.316	0.250	0.366	0.116	0.316
<i>P. ornata</i> + PPG	0.323	0.394	0.105	0.294	0.329	0.035	0.105
<i>P. ornata</i> + PGB	0.288	0.453	0.232	0.259	0.336	0.078	0.232
<i>P. intermedia</i> = (PIT+ PIG+ PIA)	0.247	0.567	0.424	0.219	0.456	0.237	0.519
<i>P. intermedia</i> + POA	0.286	0.625	0.475	0.254	0.485	0.230	0.475
<i>P. intermedia</i> + POVE	0.278	0.595	0.439	0.272	0.484	0.212	0.439
<i>P. intermedia</i> + PFCH	0.219	0.602	0.490	0.229	0.449	0.220	0.490

Tabla 3.15.- Estadísticos de Wright y Nei para 13 loci analizados. Taxones y poblaciones sin adscripción. Parámetros de estructura genética y confrontaciones de las poblaciones sin adscripción taxonómica (POA, POVE y PFCH) con las especies del género.

En cambio los G_{ST} entre PFCH-POA (0.345) y PFCH-POVE (0.307) no manifiestan cohesión genética alguna, reforzada además por la carencia de flujo génico (0.6) y por la cercanía de PFCH con *P. filifolia* (ya comentada).

4.4.3.1.1. *P. filifolia* (PF) y poblaciones sin adscripción

- El análisis de **PFCH** (Riscos de Chapín) en relación a PF muestra unos parámetros de estructura de la diversidad genética bastante similares a los obtenidos para las cuatro poblaciones de *P. filifolia* (0.088) observándose incluso valores inferiores en todos los parámetros o solo ligeramente superiores en F_{ST} y G_{ST} (0.115) que además es inferior a 0.120 de PFS-PFT (Tablas 3.4y 3.15) indicando una gran cohesión genética con PF.

- La comparación de **POA** (Agaete) con PF muestra un incremento de G_{ST} (0.234), considerablemente superior al de las poblaciones de *P.filifolia* (0.088). La adición de POA al conjunto de PF disminuye la cohesión genética del complejo.

- La comparación de **POVE** (Veneguera) con PF muestra un incremento de G_{ST} (0.218), superior al del complejo de *P.filifolia*. Como en el caso anterior, la adición de POVE al conjunto de PF disminuye su cohesión genética.

- Con el objetivo de testar el complejo de *P.filifolia* con los otros tres taxones de Gran Canaria se obtienen G_{ST} y F_{ST} , indicando en todos los casos una disminución de la cohesión genética del complejo PF: PF-PP con $G_{ST}=0.238$, PF-PGB con $G_{ST}=0.217$ y PF-PO con $G_{ST}=0.317$.

4.4.3.1.2. *P. ornata* (PO) y poblaciones sin adscripción

Al añadir **PFCH** a PO muestra un incremento de G_{ST} (0.316) muy superior al de las poblaciones de *P.ornata* (0.067). La adición de PFCH al conjunto de PO disminuye notablemente la cohesión genética de la especie.

En el análisis conjunto de **POA** y PO también presenta G_{ST} (0.223) superiores a los del complejo PO indicando la poca cohesión genética de este conjunto.

La inclusión de **POVE** al complejo PO, presenta un G_{ST} (0.184) solo ligeramente superior al de la especie indicando una relativa cercanía que se refuerza por la presencia de flujo génico (1.2-1.3).

El análisis del conjunto de **PO** con los taxones *P.platypetala* (PP) y *P.glabriuscula* (PG), obtiene G_{ST} de 0.105 y 0.232 respectivamente, indicando mayor cohesión genética con PP que con PG.

4.4.3.1.3. *P. intermedia* (PI) y poblaciones sin adscripción

A la vista de los resultados obtenidos se puede observar que no existe concordancia entre los estadísticos de Wright y los F estadísticos de Nei, lo que no invita a sacar ninguna conclusión sobre el nivel de cohesión genética de los taxones anteriores (Tabla 3.15).

Al añadir PFCH al complejo PI, al contrario que los casos anteriores el G_{ST} (0.490) obtenido es ligeramente inferior al del conjunto PI (0.519) lo que indica que PFCH aumenta la cohesión genética de la especie.

Al añadir POA también se observa un aumento ligero de cohesión genética de *P.intermedia* (0.519→0.475) aunque no se corresponden con valores coespecíficos de *Parolinia*.

Al añadir POVE a PI, el G_{ST} como en casos anteriores también disminuye ligeramente (0.439) indicando asimismo una mayor cohesión genética que de ningún modo supone una relación coespecífica.

4.5. DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA. APLICACIONES A LA CONSERVACIÓN

4.5.1. Pérdida de alelos por muestreo

Las probabilidades de pérdida observada y esperada (L_o y L_e) para los 33 alelos incluidos en este análisis (con frecuencias <0.5) se muestran en la Tabla 3.16 y Fig.3.18. El resultado (cociente entre las pendientes de las dos líneas de regresión de las frecuencias alélicas medias y las probabilidades de pérdida), resulta en un valor de representatividad de

pérdida $R=0.189$ (Fig.3.18a), que indica que el *muestreo genético en una sola población* representaría el 18.9% del total de alelos raros detectados en el género *Parolinia*.

PROBABILIDAD DE PÉRDIDA DE ALELOS							
ALELOS	p	N	L_o	L_e	$-\log(L_o)$	$-\log(L_e)$	APF
<i>Acp-1d</i>	0.158	6	0.126	0.003	0.899	2.548	PIT
<i>Acp-1e</i>	0.040	7	0.564	0.249	0.248	0.603	PIG
<i>Acp-2b</i>	0.104	1	0.803	0.024	0.096	1.624	PIG
<i>Acp-2f</i>	0.018	1	0.965	0.542	0.016	0.266	PFI
<i>Est-1a</i>	0.024	8	0.679	0.440	0.168	0.357	POM
<i>Est-1b</i>	0.074	3	0.630	0.073	0.200	1.136	PPG
<i>Est-1d</i>	0.054	7	0.460	0.152	0.337	0.818	POM
<i>Est-1e</i>	0.346	6	0.006	0.000	2.216	6.279	POS
<i>Est-1h</i>	0.172	5	0.151	0.002	0.820	2.787	PSA
<i>Est-1i</i>	0.107	2	0.635	0.021	0.197	1.675	PSA
<i>Idh-1a</i>	0.143	4	0.291	0.005	0.536	2.280	PGB
<i>Idh-1c</i>	0.277	4	0.075	0.000	1.126	4.786	PIG
<i>Mdh-1a</i>	0.134	6	0.179	0.008	0.747	2.117	POVE
<i>Mdh-1d</i>	0.114	5	0.297	0.016	0.527	1.792	PPG
<i>Mdh-2c</i>	0.081	7	0.307	0.057	0.513	1.246	PFS
<i>Mdh-3d</i>	0.025	2	0.902	0.417	0.045	0.380	POS
<i>Me-1a</i>	0.151	6	0.140	0.004	0.853	2.417	POS
<i>Me-1c</i>	0.124	8	0.120	0.011	0.922	1.958	PPG
<i>Me-1d</i>	0.052	2	0.809	0.165	0.092	0.782	PAC
<i>Pgi-2a</i>	0.024	1	0.952	0.432	0.021	0.365	PSA
<i>Pgi-2b</i>	0.030	4	0.786	0.359	0.105	0.445	PFT
<i>Pgi-2c</i>	0.089	2	0.688	0.042	0.162	1.378	PFS
<i>Pgi-2e</i>	0.055	7	0.450	0.144	0.346	0.841	PIT
<i>Pgi-2f</i>	0.152	4	0.266	0.004	0.575	2.442	PSA
<i>Pgi-2g</i>	0.194	1	0.650	0.001	0.187	3.182	PIT
<i>Pgi-2h</i>	0.255	4	0.095	0.000	1.023	4.347	PIA
<i>Pgi-2j</i>	0.033	2	0.876	0.325	0.057	0.488	PPG
<i>Pgm-3a</i>	0.046	2	0.828	0.202	0.082	0.696	PFI
<i>Pgm-3e</i>	0.039	8	0.526	0.256	0.279	0.592	PIG
<i>Pgm-3f</i>	0.028	1	0.945	0.381	0.025	0.419	PPG
<i>Skd-1a</i>	0.517	2	0.054	0.000	1.266	10.757	PIA
<i>Skd-1b</i>	0.066	7	0.383	0.097	0.417	1.013	POV-PIG
<i>Skd-1e</i>	0.010	2	0.960	0.708	0.018	0.150	POA

Tabla 3.16. Probabilidad de pérdida alélica. p =frecuencia alélica media en las poblaciones $N=n^{\circ}$ de poblaciones donde se detectan alelos raros; L_o y L_e =probabilidad de pérdida observada y esperada para los 33 alelos que satisfacen los criterios de rareza. APF=área de muestreo y población donde el alelo raro tiene una frecuencia mayor.

Aplicando el test para la isla de Gran Canaria las probabilidades de pérdida observada y esperada (L_o y L_e) para los 22 alelos considerados tienen un valor de representatividad de pérdida $R=0.219$ (Fig.3.18b), lo que indica que el *muestreo genético en una sola población* representaría el 21.9% del total de alelos raros detectados en el género *Parolinia* para Gran Canaria.

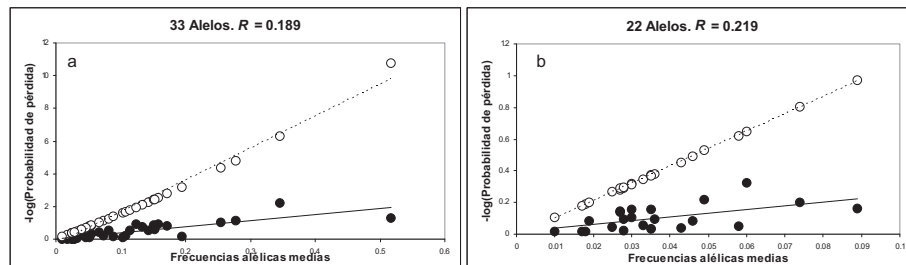


Figura 3.18.- Líneas de regresión de la frecuencia alélica media (eje X) con $-\log(L_o)$ (círculos negros) y $-\log(L_e)$ (círculos blancos) para los 33 alelos raros analizados en las 17 poblaciones (a) y para los 22 alelos raros analizados en Gran Canaria (b). R =valor de representatividad de pérdida.

4.5.2. Estructura genética (G_{ST}) y aplicaciones a la conservación

Se aplica la fórmula de CESKA, AFFOLTER & HAMRICK *et al.* (1997) fijando $p=0.99$ como recomienda HAMRICK (en CAUJAPÉ-CASTELLS, 2006),

4.5.2.1. *Parolinia* como conjunto

El valor medio de G_{ST} para las 17 poblaciones estudiadas de *Parolinia*, sin tener en cuenta su adscripción taxonómica es 0.280. La aplicación de la fórmula de CESKA, AFFOLTER & HAMRICK *et al.* (1997) muestra que el número de poblaciones a muestrear (n) es 3.6 (≈ 4).

4.5.2.2. *Parolinia* como conjunto en Gran Canaria

Aplicando la misma fórmula a las 12 poblaciones de Gran Canaria, sin tener en cuenta su adscripción taxonómica ($G_{ST}=0.224$) muestra que el número de poblaciones a muestrear (n) es 3.1 (≈ 3).

4.5.2.3. *Parolinia* según tres especies (PO-PP, PF-PFCH y PI)

Aplicando la fórmula al complejo PF-PFCH ($G_{ST}=0.115$) indica que el número de poblaciones a muestrear es 2.1 (≈ 2). En el complejo PO-PP ($G_{ST}=0.105$) señala que el número de poblaciones a muestrear (n) también es 2.0. En PI ($G_{ST}=0.519$) señala que el número de poblaciones a muestrear es 7.

4.6. IDENTIDAD Y DISTANCIA GENÉTICA ENTRE POBLACIONES (NEI, 1972)

Para el conjunto de las 17 poblaciones estudiadas de *Parolinia*, la distancia genética de NEI (1972) a partir de la matriz de *frecuencias alélicas* considerando 13 (65 alelos) y 12 *loci* (59 alelos) se expresan mediante técnicas de agrupación según fenogramas UPGMA y de ordenación con análisis de proximidad (MDS-NM) y análisis de componentes principales (ACP) a los que se les superpone un MST (árbol de expansión mínima).

Por último, se hace una estimación de posibles relaciones filogenéticas entre las poblaciones de *Parolinia* por el método *Neighbor-Joining* (vecino más próximo).

4.6.1. Distancia genética (D_{NEI}) y geográfica

Para el conjunto de las 17 poblaciones se obtiene la *distancia genética* de NEI (1972) a partir de la matriz de *frecuencias alélicas* (Tabla 3.17), considerando los 13 (65 alelos) y 12 *loci* (59 alelos).

Considerando 13 *loci* (65 alelos) la *distancia genética* menor entre dos poblaciones (0.013) se observa entre POS-POV (*P.ornata*) distantes unos 8.2km (737m de desnivel) que muestran el máximo *flujo génico* (14.2) y comparten un 73-83% de los alelos (Tablas 3.4, 3.14 y 3.17). La distancia genética más elevada ($D_{NEI}=0.711$) se observa entre POA (GC) y PIG (TF) poblaciones situadas en islas diferentes separadas unos 100 Km y aunque no presentan *flujo génico* (0.4 y 0.3) comparten el 60-73% de los alelos.

- Las poblaciones pertenecientes a PF muestran una distancia genética media (0.042), que oscila entre la mínima de PFS-PFT (0.024) separadas unos 9.5km (771m de desnivel) intercambiando un *flujo génico* elevado de 6.8 migrantes y la mayor entre PFA-PFT y PFA-PFI (0.051) geográficamente distantes unos 8.5 y 7km e intercambiando un *flujo génico* de 3.2 y 2.9 migrantes, respectivamente.

DISTANCIA GENÉTICA DE NEI (1972)																	
POB	PGB	PFS	PFA	PFT	PFI	POA	POVE	POS	POV	POM	PFCH	PPG	PIT	PIG	PIA	PSA	PAC
PGB	0.000	0.158	0.153	0.179	0.113	0.348	0.337	0.318	0.286	0.248	0.136	0.206	0.259	0.301	0.314	0.294	0.212
PFS	0.228	0.000	0.048	0.026	0.022	0.249	0.286	0.322	0.335	0.201	0.058	0.253	0.287	0.454	0.427	0.234	0.208
PFA	0.213	0.048	0.000	0.052	0.050	0.285	0.303	0.359	0.359	0.221	0.053	0.269	0.248	0.460	0.344	0.249	0.183
PFT	0.246	0.024	0.051	0.000	0.035	0.229	0.257	0.312	0.325	0.188	0.052	0.253	0.289	0.436	0.429	0.211	0.269
PFI	0.169	0.033	0.051	0.046	0.000	0.245	0.260	0.291	0.304	0.187	0.056	0.219	0.278	0.421	0.399	0.251	0.183
POA	0.327	0.284	0.312	0.263	0.273	0.000	0.067	0.332	0.308	0.242	0.262	0.368	0.430	0.653	0.653	0.284	0.453
POVE	0.335	0.288	0.306	0.260	0.274	0.069	0.000	0.226	0.217	0.206	0.297	0.290	0.436	0.449	0.550	0.399	0.474
POS	0.288	0.418	0.442	0.404	0.370	0.316	0.242	0.000	0.014	0.074	0.417	0.101	0.258	0.333	0.460	0.414	0.434
POV	0.260	0.431	0.442	0.417	0.382	0.294	0.234	0.013	0.000	0.052	0.398	0.102	0.254	0.318	0.433	0.388	0.442
POM	0.229	0.282	0.286	0.267	0.242	0.232	0.221	0.070	0.050	0.000	0.249	0.102	0.230	0.334	0.461	0.268	0.363
PFCH	0.197	0.055	0.050	0.049	0.060	0.291	0.299	0.502	0.483	0.318	0.000	0.302	0.318	0.384	0.522	0.212	0.220
PPG	0.188	0.348	0.352	0.344	0.298	0.348	0.301	0.090	0.091	0.095	0.387	0.000	0.292	0.381	0.423	0.323	0.382
PIT	0.236	0.364	0.314	0.364	0.339	0.401	0.431	0.231	0.228	0.209	0.386	0.260	0.000	0.405	0.337	0.384	0.261
PIG	0.372	0.525	0.516	0.506	0.467	0.711	0.511	0.420	0.404	0.405	0.443	0.470	0.483	0.000	0.631	0.602	0.499
PIA	0.312	0.488	0.394	0.487	0.443	0.633	0.552	0.450	0.425	0.451	0.572	0.416	0.335	0.626	0.000	0.626	0.443
PSA	0.333	0.276	0.280	0.251	0.276	0.311	0.428	0.469	0.441	0.311	0.243	0.380	0.431	0.634	0.648	0.000	0.363
PAC	0.301	0.300	0.265	0.361	0.258	0.531	0.554	0.539	0.546	0.456	0.302	0.490	0.359	0.455	0.452	0.414	0.000

Tabla 3.17.- Distancia genética de Nei (1972). Distancia genética) considerando 12 *loci* (59 alelos) por encima de la diagonal y considerando 13 *loci* (65 alelos) por debajo de la diagonal para las 17 poblaciones de *Parolinia*.

- Las poblaciones de PO, con una media de 0.044, muestran la mayor *distancia genética* entre POM-POS (0.070) a pesar de acusar *flujo génico* entre ellas ($N_m=3.2$ y 4.3) y estar más separadas geográficamente (POM y POS-POV con 23.5 y 15.2km).

- Las poblaciones pertenecientes a PI, con una distancia genética media de 0.481 muy superior a la de anteriores especies, muestran la mayor (0.626) entre las más cercanas geográficamente PIA-PIG (11.1Km) y la menor entre PIT-PIA (0.335), de las más separadas geográficamente (28.4) dentro de una isla después de PGB, PPG y POA en Gran Canaria.

- *P.glabriuscula* (PGB) presenta la distancia menor (0.169) con PFI (*P.filifolia*) separadas por unos 30.6km y no presentan *flujo génico*.

- La distancia menor de *P.platypetala* (PPG) se observa con POS (0.090) que separadas unos 8.2km muestran *flujo génico* entre ellas (2.4). *P.schizogynoides* (PSA) de La Gomera presenta la distancia menor con PFCH (0.243) a pesar de los 159km que las separa en otra isla. Finalmente *P.aridanae* (PA) de La Palma muestra la distancia más baja (0.258) con PFI a pesar de estar separadas por el mar unos 234.3km.

- Las poblaciones sin asignación taxonómica, POA y POVE muestran la distancia genética más baja entre ellas mismas (0.069) separadas por unos 23.1km y flujo génico (2.8) comparten el 68- 84% de los alelos.

- En PFCH, la mínima distancia genética se observa con PFT (0.049) que se encuentra en el rango de las poblaciones coespecíficas de *P. filifolia*. A pesar de estar separadas unos 17.9km (803m) presentan flujo génico ($N_m=2.4$ migrantes) y comparten el 64-88% de los alelos

Las distancias genéticas considerando 12 *loci* (59 alelos) muestran en general una tendencia a disminuir aproximando a las especies, especialmente PO, PP y PA con respecto a PF-PFCH (Tabla 3.17). El análisis con 13 *loci* en el que PSA no manifiesta el *locus Acp-2*, resulta por tanto más discriminatorio.

4.6.1.1. Técnicas de agrupación. Análisis de cluster (UPGMA) y MST

Para el conjunto de las 17 poblaciones se obtienen dos *fenogramas* a partir de la distancia de NEI (1972) considerando los 13 (65 alelos) y 12 *loci* (59 alelos).

- UPGMA 13 loci (65 alelos)

En el *fenograma* UPGMA ($r=0.861$) considerando 13 *loci* (65 alelos) para el conjunto de las 17 poblaciones (Fig.3.19a) PIG y PIA dos poblaciones de *P.intermedia*, se posicionan como basales lejanas del resto del grupo, en el que se distinguen dos cluster principales: uno para PF (acompañado de PG, PS y PA), y otro para PO (acompañado fundamentalmente de PP y PIT y más alejadamente de POVE y POA (íntimamente relacionadas).

i) En el primer cluster se agrupan muy estrechamente las poblaciones asignadas a *P.filifolia* (PFS-PFT, PFI y PFA con la integración de PFCH) con *P.glabriuscula* (PGB) como población basal, y a su vez a PSA (La Gomera) y a PAC (La Palma) también como poblaciones basales.

ii) En el segundo cluster, se encuentra la asociación POA-POVE (poblaciones sin adscripción taxonómica) como grupo hermano del complejo PO-PP (POS-POV, POM y PPG) acompañado por PIT (Tenerife) como población basal.

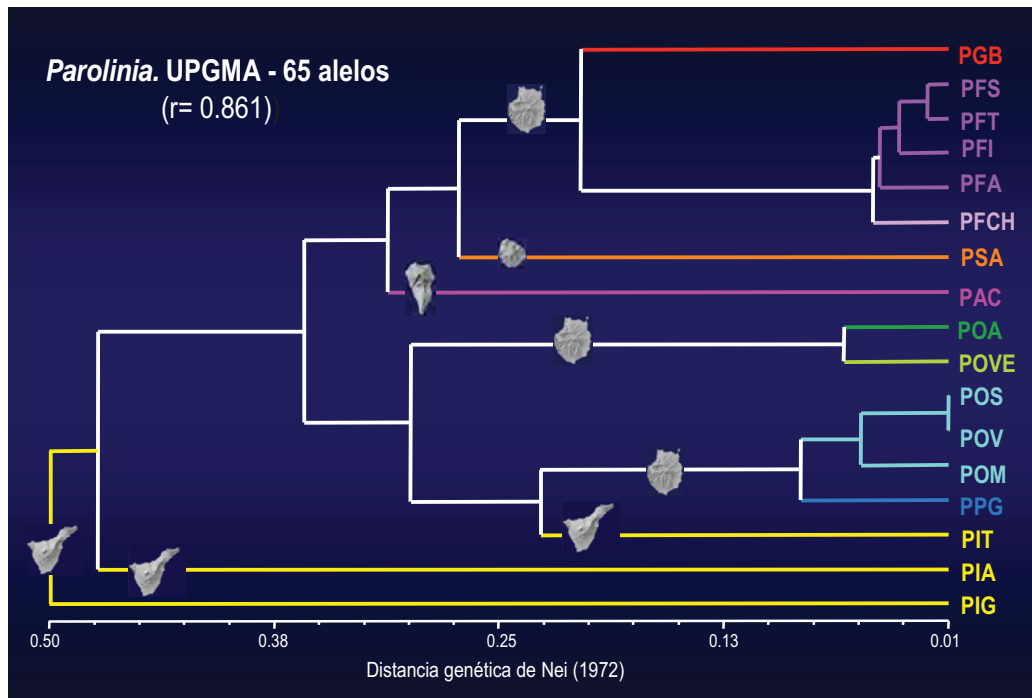


Figura 3.19a.- UPGMA 13 loci y 65 alelos según distancia genética de Nei (1972). La imagen de la isla indica la distribución geográfica.

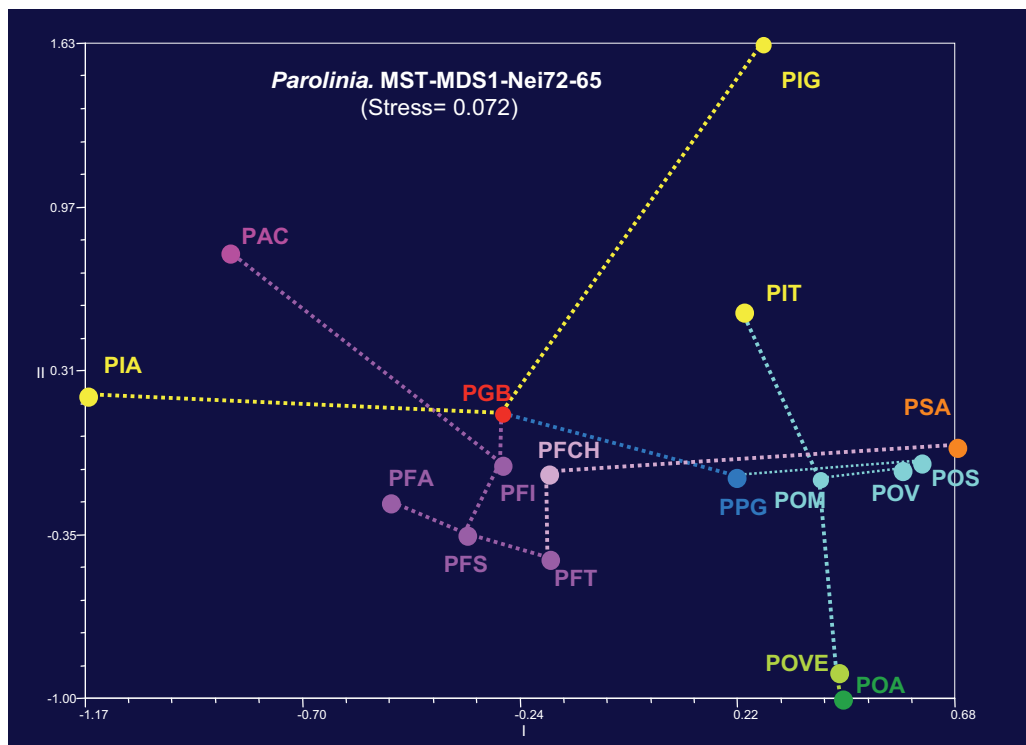


Figura 3.19b.- MST y MDS (13 loci). Las líneas de puntos representan las conexiones del MST. Se pone de manifiesto la importancia de PF como complejo crucial en la conexión de taxones e islas: PF y el complejo PO-PP por medio de PGB (PPG) que a su vez conecta lejanamente con Tenerife (PIA y PIG). Con la Palma (PAC) por PFI y con La Gomera (PSA) por PFCH.

- UPGMA 12 loci (59 alelos)

El fenograma UPGMA obtenido considerando 12 loci (59 alelos) para el conjunto de las 17 poblaciones ($r=0.860$) aunque con resolución ligeramente más baja, muestra fundamentalmente las mismas relaciones genéticas, a excepción del complejo POVE-POA que pasa a posición basal (Fig.3.20) de los dos cluster principales (PF y PO-PP).

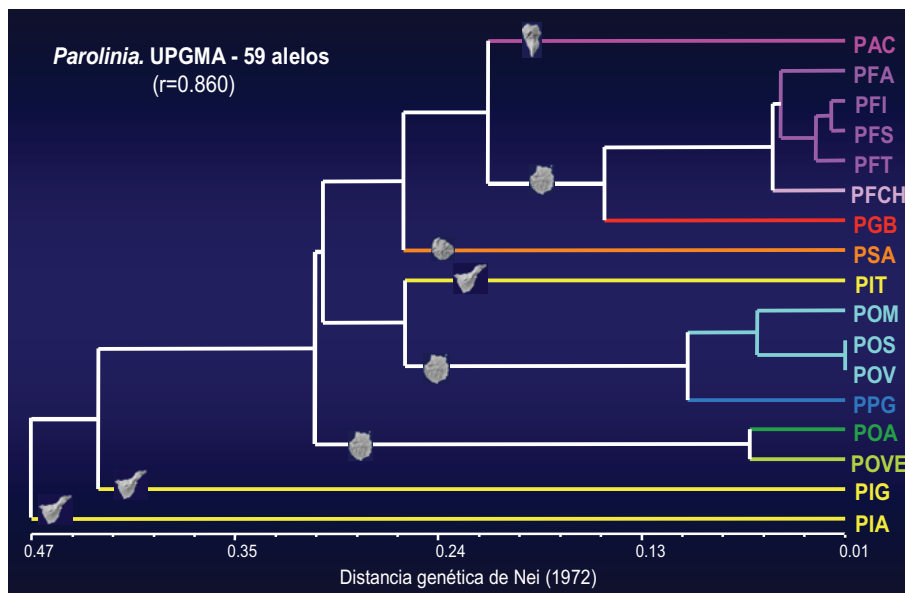


Figura 3.20a.- UPGMA 12 loci y 59 alelos. La imagen de la isla indica la distribución geográfica.

Como en el fenograma anterior se distinguen dos cluster principales (PF y PO-PP) con las dos poblaciones de *P.intermedia* en posición basal alejada del resto del grupo pero de distinta manera (PIA más basal que PIG).

i) En el cluster de PF y PG con las islas occidentales (PA y PS) la exclusión del locus *Acp-2* sitúa a *P.schizogynoides* (PS) de La Gomera como población más basal.

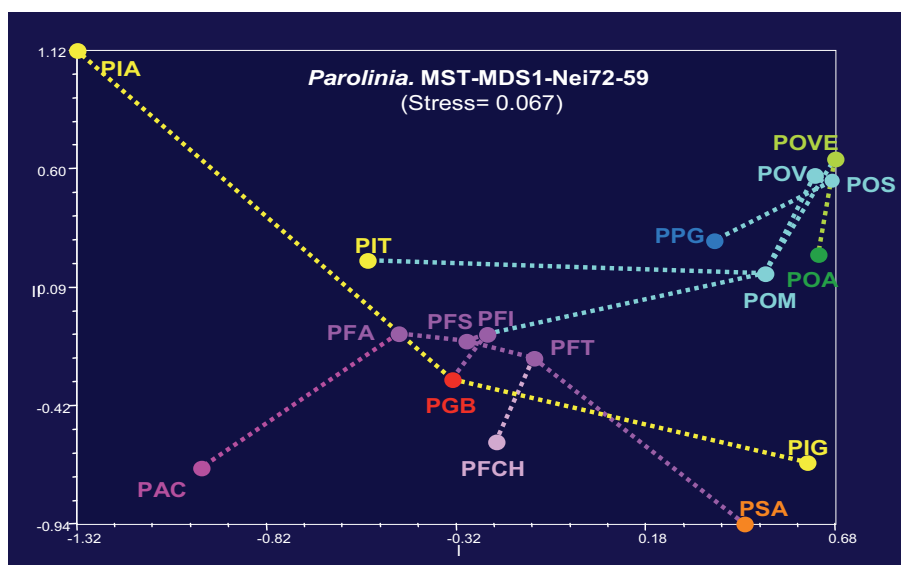


Figura 3.20b.- MST y MDS-NM (12 loci). Las líneas de puntos representan las conexiones del MST. Se pone de manifiesto la distinta conexión entre el complejo PF y PO-PP por medio de POM-PFI.

ii) El segundo cluster que agrupa cercanamente las tres poblaciones de *P.ornata* (POS-POV, POM) con *P. P.platypetala*: PPG, también se les anexiona PIT (*P.intermedia*) como población basal.

A diferencia del anterior, la asociación POA-POVE se sitúa en posición basal a los dos cluster anteriores.

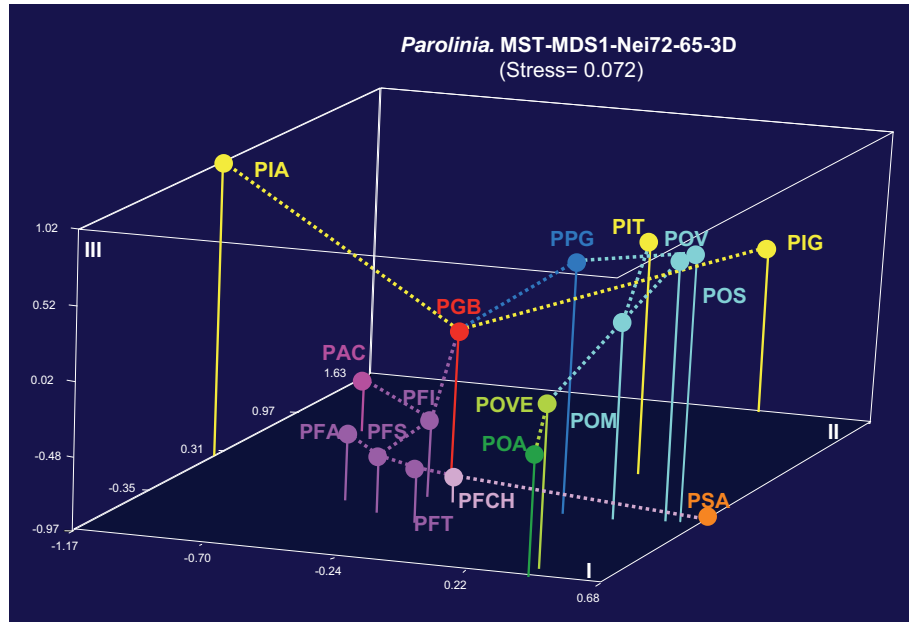


Figura 3.19c.- MST y MDS-NM (13 loci y 65 alelos). Las líneas de puntos representan las conexiones del MST sobre el MDS. Se pone de manifiesto la relación de PF de Gran Canaria con La Gomera (PFCH-PSA) y La Palma (PAC-PFI) así como la disociación dentro de PI (PIT-POM y PGB con PIA y PIG).

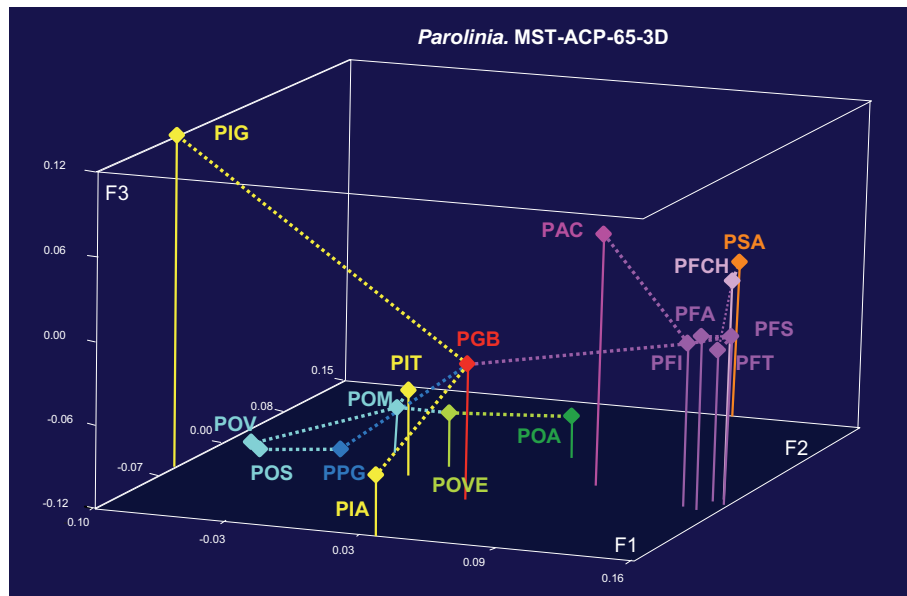


Figura 3.19d.- MST y ACP con 13 loci. Las líneas de puntos representan las conexiones del MST sobre el ACP que ponen de manifiesto el aislamiento propiciado por el locus *Acp-2* entre el complejo PF y PO-PP que se relacionan solo a través de PG quién conecta aunque lejanamente con PIA y PIG (Tenerife) separadas de PIT.

4.6.1.2. Técnicas de ordenación con MST (MDS y ACP)

Tanto para los 13 *loci* como para los 12 en las 17 poblaciones estudiadas de *Parolinia*, los resultados de los análisis de proximidad (MDS-NM) se califican de excelentes (stress=0.072 y 0.067).

- En la superposición del MST sobre los MDS y del ACP de 13 *loci* (Figs.3.19) se observa la misma cohesión entre las poblaciones de *P.ornata* y *P.platypetala* (PO-PP) y se refuerza la agrupación POA-POVE que se relaciona al complejo de PO-PP (POM-POVE-POA) a través de Mogán (POM) relacionada muy lejanamente con Teno (PIT) población de *P.intermedia*.

Dentro de *P.intermedia* se pone de manifiesto la falta de cohesión de Teno (PIT) más relacionado a PO que con las otras dos poblaciones congéneres (PIA y PIG) que aisladamente se relacionan a *P.glabriuscula* (PGB).

En *P.filifolia* se observa la misma cohesión entre sus poblaciones y PFCH que lejanamente se relaciona con PSA (La Gomera). La conexión con PAC (La Palma) es también desde PF a través de PFI quién también conecta con *P.glabriuscula* (PGB) que también se vincula con el complejo PP-PO (PGB-PPG) justificado por el flujo génico.

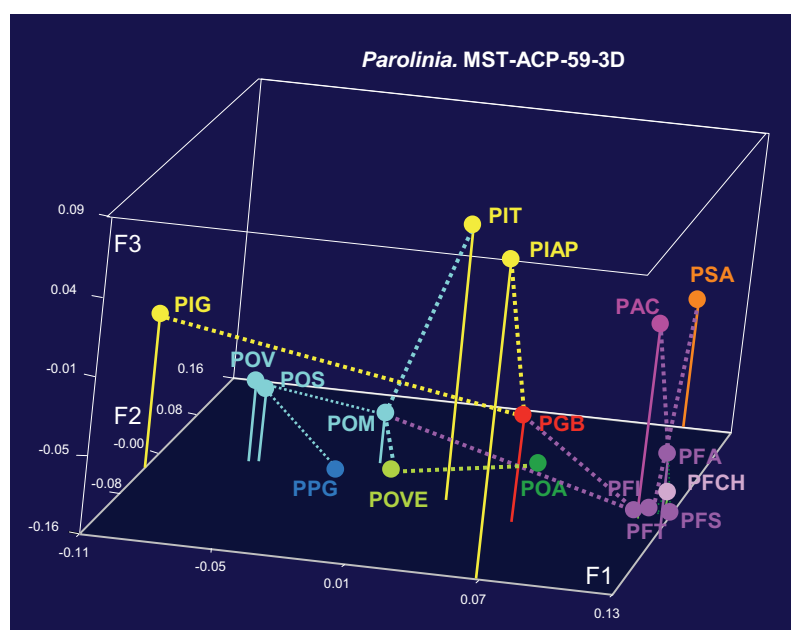


Figura 3.20c.- MST y ACP con 12 *loci*. Las líneas de puntos representan las conexiones del MST sobre el ACP que pone de manifiesto la distancia entre los complejos PF y PO-PP los relaciona por POM-PFI.

- Considerando solamente los 12 *loci* (59 alelos) para el conjunto de las 17 poblaciones, se muestran fundamentalmente las mismas conexiones genéticas que los anteriores análisis (Figs.3.20) pero el complejo de las especies PO-PP (en un extremo de las gráficas) aparece conectado con el complejo PF por Mogán e Inagua (POM-PFI).

Es también desde PF (PFA) donde se encuentra la conexión con PAC (La Palma) pero, a diferencia del anterior (PFI) se verifica por PFA. Por otro lado los vínculos con el complejo PO-PP se llevan a cabo por medio de PFI-POM, esta última relacionándose lejanamente con PIT (Tenerife).

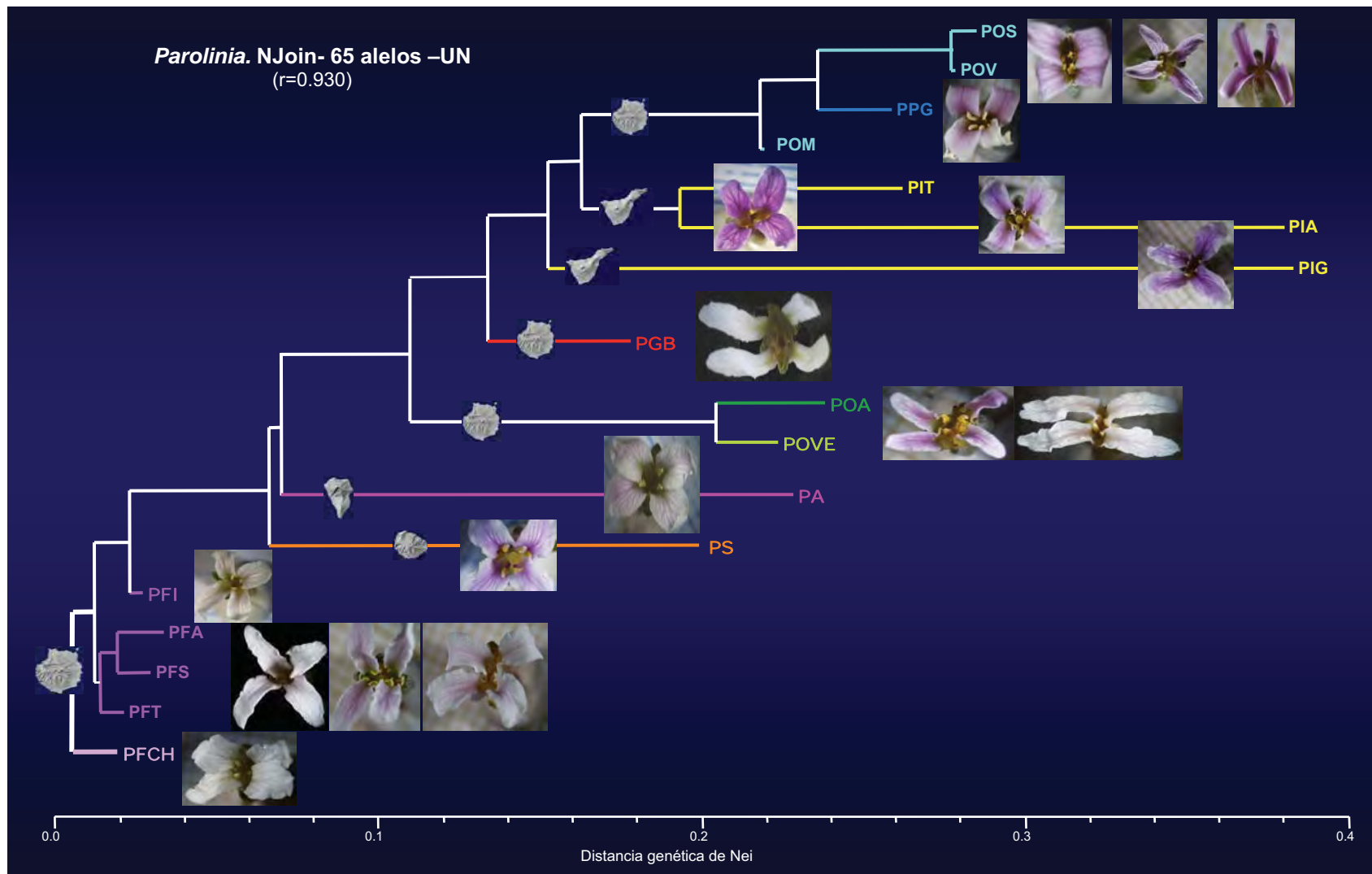


Figura 3.21a.- Neighbour Joining considerando 13 *loci* (65alelos) para las 17 poblaciones. La imagen de la isla indica la distribución geográfica.

Se puede concluir pues que el *locus Acp-2* que se manifiesta en todas las poblaciones y especies de *Parolinia*, excepto en la isla de La Gomera (*P.schizogynoides* PSA) discrimina más ostensiblemente al complejo poblacional de *P.filifolia*-PFCH (PF-PFCH) del complejo integrado por las poblaciones de *P.ornata* y *P.platypetala* (PO-PP).

4.6.1.3. Técnicas de agrupación. Neighbour Joining. Inferencias filogenéticas y evolutivas

La estimación filogenética de la diversidad genética por aloenzimas se lleva a cabo a partir de 13 y 12 *loci*.

- Árbol de 65 alelos y 13 *loci*

Considerando el total de los caracteres (65 alelos y 13 *loci*) para 17 poblaciones incluyendo PSA (Fig. 3.21a) se pone de manifiesto un árbol con *coeficiente de correlación cofenético* ($r= 0.930$) superior al UPGMA ($r= 0.861$).

Este árbol señala como *outgroup* a PFCH del resto de las poblaciones que se separan en dos nodos. Se observa una primera diversificación para *P. filifolia* (Gran Canaria) donde se encuentra primero PFT, después PFS y PFA, todas con ramas de longitud evolutiva muy corta y cerca del ancestro.

El segundo nodo diferencia claramente como *outgroup* a PFI muy cerca del ancestro con *ratio* evolutivo muy corto y más lejanamente a PSA (La Gomera) basal a La Palma (PAC) y a su vez a la asociación POVE-POA en posición basal del sub-nodo que tiene a PGB como basal del complejo PO-PP (Gran Canaria) por un lado y por el otro a PIA y PIT (Tenerife) con PIG.

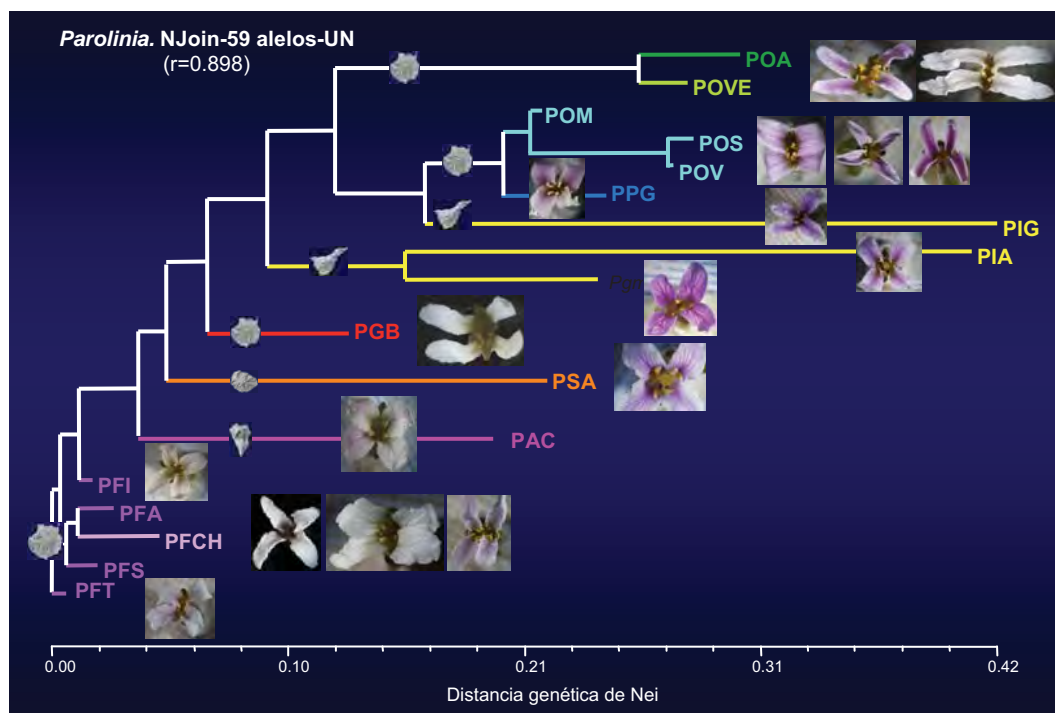


Figura 3.21b.- Neighbour Joining considerando 12 *loci* (59alelos) para las 17 poblaciones.

- Árbol de 59 alelos y 12 *loci*

Cuando solo se consideran solo los 59 alelos de los 12 *loci* en las 17 poblaciones del género *Parolinia*, el árbol obtenido (Fig. 3.21b) posee un *coeficiente de correlación cofenético* ($r=0.898$) también superior al fenograma UPGMA ($r= 0.860$).

El árbol resultante muestra una topología muy parecida, con PFT de *outgroup* del resto de las poblaciones de *P. filifolia* (Gran Canaria) que también se presentan muy cerca del ancestro con longitudes de ramas muy cortas.

El segundo nodo conserva a PFI como *outgroup* muy cerca del ancestro, y más lejanamente a La Palma (PAC) y luego a La Gomera (PSA) como *outgroup* del resto, que cambia ligeramente y señala primero como basal a PGB del grupo de PO-PP con PI y la asociación POVE-POA como grupo hermano basal. En último lugar PIT-PIA y PIG.

4.6.2. Distancia genética y tiempo de divergencia

El tiempo de divergencia entre las 17 poblaciones de *Parolinia* estimado siguiendo a NEI (1987) depende íntimamente de la *distancia genética* y por tanto muestran las mismas relaciones genéticas entre las poblaciones y taxones (Anexo 3).

La menor distancia (0.013) y por tanto el menor tiempo de divergencia (64,247 mil años) lo muestran dos poblaciones de PO (POS-POV) y dos de PF (PFS-PFT: 0.024: 120,138 mil años). La mayor distancia se observa entre POA (NO de Gran Canaria) y *P.intermedia* (0.633 y 0.711; ≈ 3.5 Ma) cuyas poblaciones PIA y PIG del SO de Tenerife, manifiestan la mayor longitud de ramas (tiempo evolutivo) en los árboles *Neighbour Joining* (Fig.3.22).

P.filifolia (PF) de Gran Canaria con poblaciones muy cercanas al ancestro del género, según su identidad genética y árboles *Neighbour Joining* se muestra más cercana a PFCH (0.049), cercanía que ya se ha puesto de manifiesto en la estructuración de poblaciones y técnicas de agrupación y ordenación (Figs.3.19-3.22), dándose además el caso de que todas estas poblaciones se encuentran datadas en la zona más antigua de Gran Canaria (ITGE, 1992).

El taxon más cercano al complejo PF-PFCH es *P.glabriuscula* (PGB: 0.169; 847,000 años) también de Gran Canaria, como se pone de manifiesto por las técnicas de agrupación y ordenación (Figs.3.19-3.22), aunque está situado en una de las zonas geológicamente más recientes de Gran Canaria. El segundo taxon más cercano (0.251) es *P.schizogynoides* (PSA) de La Gomera, seguido de *P.ornata* (POM con 0.242), POVE-POA (0.260 y 0.263) todas con un tiempo de divergencia de 1.2-1.3 Ma y situadas en zonas antiguas. Con distancias y tiempos similares se encuentra *P.aridanae* de La Palma (PAC con 0.258), *P.platypetala* (PPG) de Gran Canaria (0.298) y *P.intermedia* de Tenerife (PIT con 0.314) todas situadas en zonas geológicamente más recientes. Por último, más alejadas de PF-PFCH se encuentran dos poblaciones de *P.ornata* (POS-POV: 0.370-0.382; ≈ 1.90 Ma) y dos poblaciones de *P.intermedia* de Tenerife (PIA-PIG: 0.394 y 0.467) que muestran los mayores tiempos de divergencia (1.97-2.33 Ma) y también son las que se observan más distantes del ancestro en el árbol *Neighbour Joining* (NJ).

Señalar la mínima *distancia* y tiempo entre taxones en *P.platypetala* y las poblaciones de *P.ornata* (0.090; 451,479 años) y entre las poblaciones sin adscripción taxonómica POA y POVE (0.069; 346,201 años) que asimismo muestran relaciones más cercanas en los árboles UPGMA y NJ (Figs.3.19 y 3.22).

Por último, destacar que *P.intermedia* (TF) muestra distancias genéticas y tiempos muy altos entre sus poblaciones (0.335-0.626; >3.1 Ma) superiores a los del resto de poblaciones excepto POA, como ya se mencionó. Todo ello también se pone de manifiesto por las técnicas de agrupación y ordenación.

4.7. DIVERSIDAD GENÉTICA. ESTRUCTURA Y DISTANCIA GEOGRÁFICA

Se muestran los resultados del test de Mantel o correlaciones entre distintas matrices de distancias considerando: *distancia genética de Nei*, *estructura inter-poblacional* (G_{ST}), *flujo génico* (N_m), *alelos compartidos* y matrices de *distancias geográficas* entre las islas y considerando el relieve solo para Gran Canaria (Fig.3.23 y Anexo 3).

4.7.1. Distancia genética y distancias geográficas. Flujo génico y alelos compartidos

En las 17 poblaciones de *Parolinia* los resultados del test de Mantel entre la *distancia genética* de Nei (1972) y *distancia geográfica* (lineal) muestran una correlación significativa ($r=0.408$, $p=0.006$), lo que indica que poblaciones más alejadas geográficamente lo están genéticamente (Fig.3.23a).

En Gran Canaria, los resultados de este test entre la *distancia genética* y *distancia geográfica* (lineal) para los taxones de esta isla (Fig.3.23b) muestran una correlación positiva ligeramente superior a la de todas las islas ($r=0.434$, $p=0.002$). En Tenerife, sin embargo no se observa correlación significativa ($r=-0.594$, $p=0.500$).

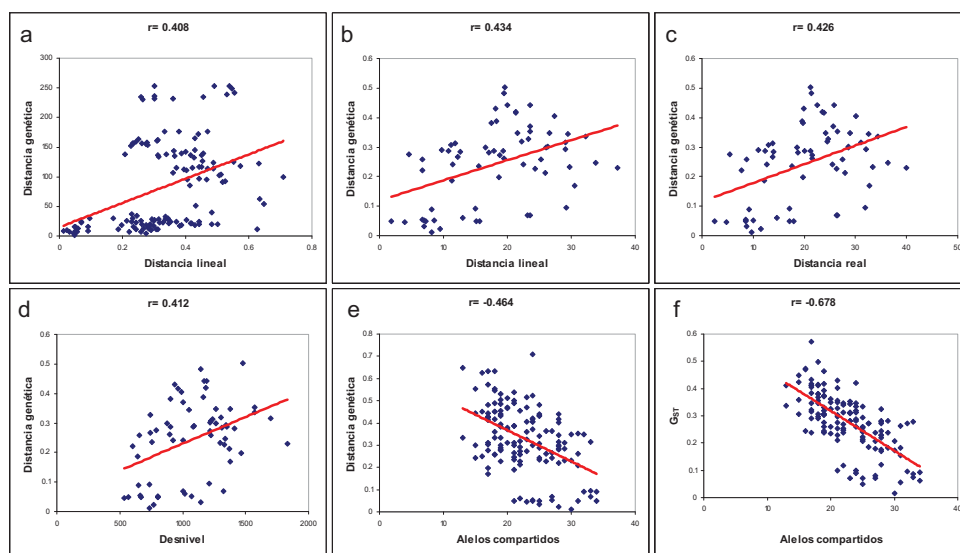


Figura 3.22.- Test de Mantel entre distancia genética, geográfica y desnivel altitudinal. Correlación entre la distancia genética de Nei y distancia geográfica (lineal) para todas las poblaciones (a). Correlación para Gran Canaria con la distancia lineal (b), distancia real (c) y desnivel altitudinal (d). Correlación entre la matriz de alelos compartidos y la distancia genética (e) y el G_{ST} (f).

- Este mismo test en Gran Canaria entre la *distancia genética* y *distancia geográfica real* (incluyendo el relieve) muestra una correlación similar aunque ligeramente inferior ($r=0.426$, $p=0.004$), como también este test para la *distancia genética* y el *desnivel altitudinal* entre las poblaciones, donde también la correlación positiva ($r=0.412$, $p=0.002$) indica que la *distancia genética* aumenta con el *desnivel altitudinal* entre las poblaciones (Figs.3.23c, d).

- Los resultados del test de Mantel entre la *distancia genética* de Nei (1972) y la *estructura genética inter-poblacional* (G_{ST}) muestran la mayor correlación altamente significativa ($r=0.867$, $p=0.000$) que en Gran Canaria se supera ($r=0.895$, $p=0.000$).

4.7.1.1. Flujo génico, estructura poblacional (G_{ST}) y distancia geográfica

- Los resultados del test de Mantel entre el *flujo génico* (N_m) y la *distancia geográfica lineal* de las 17 poblaciones, muestran una correlación negativa relativamente baja ($r=-0.298$, $p=0.000$), que señala un *flujo génico* menor entre las poblaciones más alejadas geográficamente.

En Gran Canaria, los resultados aumentan considerablemente la correlación negativa entre la matriz de *flujo génico* y *distancia geográfica lineal* ($r=-0.396$, $p=0.000$), poniendo de manifiesto que en esta isla cuando se agudiza el aislamiento disminuye notablemente el *flujo génico*, aunque el relieve no parece influir decisivamente ya que se observa una ligera disminución de la correlación con la *distancia real* ($r=-0.388$, $p=0.001$) y el *desnivel altitudinal* ($r=-0.371$, $p=0.001$).

- Los resultados del test entre el *flujo génico* (N_m) y *estructura genética inter-poblacional* (G_{ST}) muestran una correlación altamente significativa y negativa ($r=-0.638$, $p=0.000$) que subraya la acción homogenizante del *flujo génico* en las poblaciones con abundante intercambio de migrantes, aunque quizás menor de lo que cabría esperar (según la fórmula N_m de Slatkin & Barton: $N_m=1-F_{ST}/4F_{ST}$). En Gran Canaria el efecto "homogenizante" del *flujo génico* se agudiza ($r=-0.680$, $p=0.000$).

- Unos niveles de correlación parecidos, se obtienen entre el *flujo génico* y *distancia de Nei* ($r=-0.604$, $p=0.000$) donde también se manifiesta el efecto "homogeneizante" del *flujo génico* que en las poblaciones de Gran Canaria también se agudiza ($r=-0.660$, $p=0.000$).

4.7.1.2. Alelos compartidos, distancia genética y distancia geográfica

- Los resultados del test de Mantel entre los *alelos compartidos* y *distancia geográfica lineal* en las 17 poblaciones de *Parolinia* ($r=-0.440$, $p=0.008$) es notablemente mayor (Fig.3.23e) que la del *flujo génico* (N_m). En la isla de Gran Canaria, los resultados no muestran correlación alguna ($r=-0.112$, $p=0.263$), lo que indicaría que en esta isla el alejamiento geográfico, no influye en los *alelos compartidos*, aunque se observa un ligero aumento cuando se contempla la altitud.

- La correlación entre los *alelos compartidos* y *distancia genética de Nei* ($r=-0.464$, $p=0.002$) es sensiblemente menor a la que muestra con la *diferenciación inter-poblacional* o G_{ST} ($r=-0.678$, $p=0.000$) indicando que a mayor número de *alelos compartidos* menor distancia genética y mucha menor *diferenciación inter-poblacional* (Fig.3.23f). En Gran Canaria estas correlaciones disminuyen notablemente mostrando la correlación más baja con D_{Nei} ($r=-0.238$, $p=0.015$) aunque tiende a mantenerse con G_{ST} ($r=-0.498$, $p=0.010$) indicando que en esta isla, los *alelos compartidos* no reflejan siempre con la misma intensidad los niveles de cohesión genética.

- La correlación entre los *alelos compartidos* y el *flujo génico* ($r=0.395$, $p=0.000$) es una correlación de las más bajas que disminuye también aún más en Gran Canaria ($r=-0.316$, $p=0.003$).

En general se observa mayor relación entre la *distancia genética* y el *flujo génico* de las poblaciones que entre la *distancia genética* y el número de los *alelos compartidos*.

4.8. DIVERSIDAD GENÉTICA Y SISTEMAS DE CRUZAMIENTO. CORRELACIONES

El análisis de correlación incluye 10 caracteres de variabilidad genética poblacional obtenidos a partir de la electroforesis de isoenzimas considerando 13 y 12 *loci*, teniendo en cuenta las variables implicadas en los *sistemas de cruzamiento*, *éxito reproductivo* y la *talla poblacional*. Los resultados del análisis de correlación para las 17 poblaciones de *Parolinia* se muestran en la Tabla 3.18 y Anexo 3, destacando en color rojo los valores del coeficiente (r) del nivel de significación $\alpha=0.05$, en azul $\alpha=0.1$ y en verde $\alpha=0.3$. Toda vez que las correlaciones considerando los 12 *loci* son similares a los de 13 *loci* solo se muestran estos últimos (Anexo 3).

4.8.1. *Parolinia*. Parámetros genéticos, sistemas de cruzamiento y eficacia reproductiva

Se tienen en cuenta las correlaciones entre las variables implicadas en los *sistemas de cruzamiento* y *éxito reproductivo* relacionadas con el vigor de los individuos, incluyendo algunos *biometrías* o *atributos florales*, *recursos del androceo* y *gineceo*, *ratio P/O* y variables referidas a los *índices ISI* de *incompatibilidad* y *tasas de autogamia*. Asimismo se incluyen en el análisis las variables implicadas en la *eficacia reproductiva* de las poblaciones naturales como el *ratio Fr/FI*, *ratio S/O*, el *PERS*, *% de germinación de semillas* y *supervivencia de plántulas*, (*PoERS*), *talla de las semillas* y *talla de las valvas*, así como el *ORS* (Tabla 3.18 y Anexo 3).

La correlación más alta ($r=0.908$) de la *diversidad genética* considerando 13 *loci*, se observa entre el *nº de alelos por locus* (A_i) y *sistemas de cruzamiento* representados por la *tasa de autogamia* (S) e *índice ISI* ($r=0.908$ y 0.872).

1º) El *% de loci polimórficos* (P) se encuentra fuertemente correlacionado (positivamente) con la *tasa de autogamia* S de Karron ($r=0.764$, 0.691) e *índice ISI* ($r=0.679$ y 0.606). También, aunque negativamente con el *peso seco* de las semillas ($r=-0.649$) y un poco menos con la *talla poblacional* y *talla efectiva* o N_e ($r=0.592$) y el *% de humedad* de las semillas ($r=0.540$).

2º) El *nº alelos totales* (A_T) se encuentra fuertemente correlacionado con el *índice ISI* ($r=0.838$ y 0.659) y la *tasa de autogamia* S de Karron ($r=0.826$ y 0.683). También con la *talla poblacional* y *talla efectiva* o N_e ($r=0.647$ y $r=0.657$), *longitud de las anteras* y *sépalos* ($r=0.515$ y 0.475), *ORS1* ($r=0.543$) y *% de humedad de las semillas* (0.462). Además, se correlaciona negativamente con la *biomasa* o *peso seco de las semillas* ($r=-0.452$).

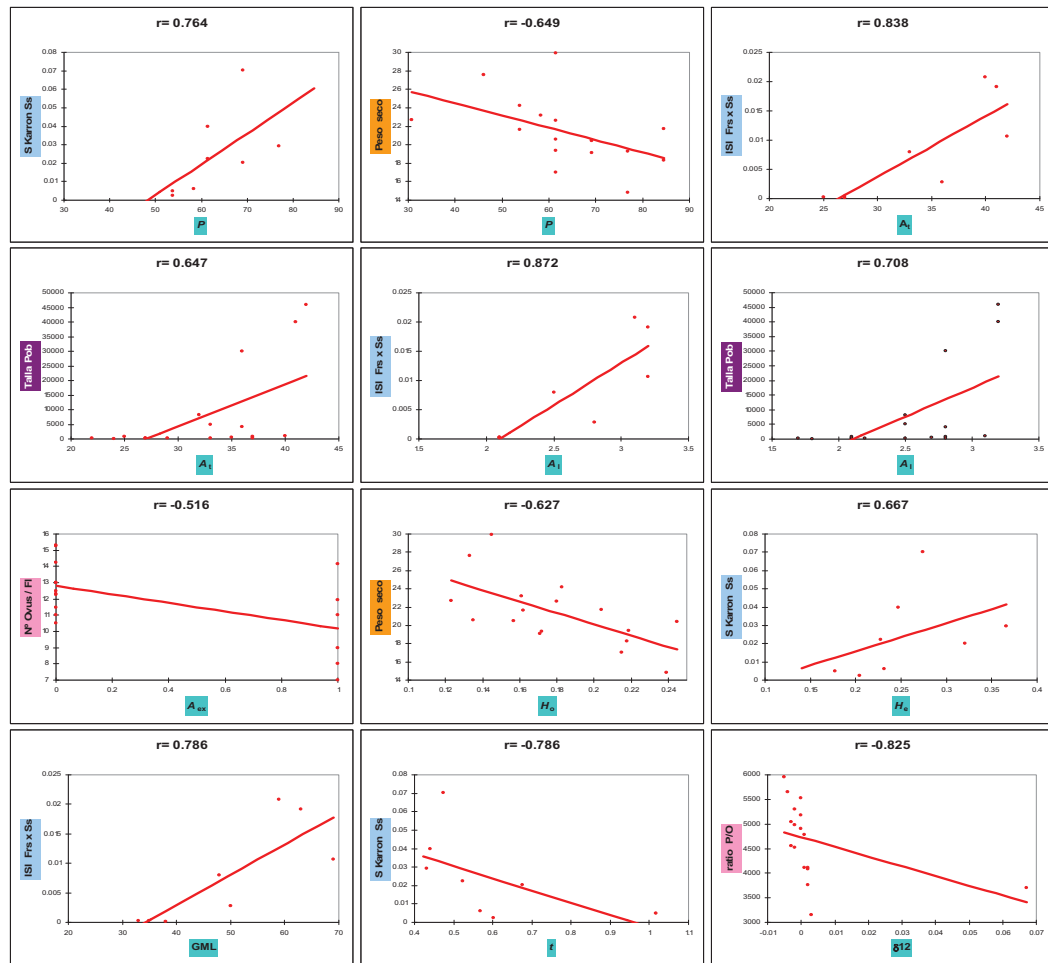
3º) El *nº de alelos por locus* (A_i) está fuertemente correlacionado con la *tasa* S de *autogamia* ($r=0.908$ y 0.786) e *índice ISI* ($r=0.872$ y 0.761). Luego con la *talla poblacional* y *talla efectiva* o N_e ($r=0.708$ y 0.715), *longitud de anteras* y *sépalos* ($r=0.480$, 0.469), *nº de óvulos por flor* ($r=0.463$), *ORS1* ($r=0.489$), *% de humedad de las semillas* ($r=0.417$) y negativamente con el *peso seco* ($r=-0.423$).

4º) El *nº de alelos exclusivos* (A_{ex}) únicamente se correlaciona con el *nº de pólenes* ($r=-0.516$) y *nº de óvulos por flor* ($r=-0.603$) negativamente. Aunque con menor significación y también negativamente se correlaciona con el *índice ISI* ($r=-0.546$) y con la *longitud de las valvas* ($r=-0.452$ y $r=-0.427$).

5º) La *heterocigosidad observada* (H_o) se correlaciona con el *ISI* ($r=-0.524$), con la *talla poblacional* o censo de individuos y *talla efectiva* o N_e ($r=0.547$ y $r=0.554$). También con el *ratio S/O* ($r=0.466$), *peso seco* y *% de humedad* de la semilla ($r=-0.627$, $r=0.650$).

6º) La heterocigosidad esperada (H_e) se correlaciona con la tasa de autogamia S de Karron ($r=0.690, 0.667$ y 0.619), índice ISI ($r=0.548$ y $r=0.524$), talla poblacional ($r=0.696$), talla efectiva ($r=0.698$) y negativamente con el peso seco de las semillas ($r=-0.657$).

7º) Los genotipos multilocus (GML) están fuertemente correlacionados con la tasa S de autogamia (0.833) e índice ISI (0.786), con la talla poblacional y talla efectiva o N_e (0.684 y 0.658), longitud de las anteras indehiscentes (0.524), sépalos (0.489), nº de pólenes por flor ($r=0.422$), con el nº de óvulos por flor ($r=0.515$) y con el $ORS1$ ($r=0.451$).



8º) La tasa de alogamia (t) está correlacionada negativamente con la tasa S de autogamia ($r=-0.786$) e índice ISI ($r=-0.714$) y con el % de cicatrices ($r=0.694$). En relación a las variables de eficacia reproductiva, está correlacionada con el ratio Fr/FI ($r=-0.684$), talla de las semillas ($r=0.574$), con el inbreeding depression acumulativo δ_{1-2} según producción y germinación de semillas ($r=-0.500$) y con el % de germinación ($r=0.424$).

9º) La presencia de inbreeding depression (δ_{13}) en los individuos adultos de la población, considerando 13 loci, está correlacionada negativamente con el % de cicatrices ($r=-0.615$), con la longitud de los pétalos ($r=-0.480$), ovario ($r=-0.438$) y con el ancho del estigma ($r=-0.430$), y positivamente con el ratio Fr/FI ($r=0.654$), $PERS$ ($r=0.489$) y % de germinación de las semillas ($r=0.415$).

10º) La talla efectiva de la población (N_e) o número de individuos reproductores según aloenzimas tiene la mismas correlaciones que la talla estimada según el censo de

individuos. Están correlacionadas con la *tasa S de autogamia* ($r=0.714$ y 0.619) y con el *índice ISI* ($r=0.643$).

Esto quiere decir que en *Parolinia* los niveles de diversidad genética referida al *porcentaje de loci polimórficos (P)*, *nº de alelos por locus (A_1)*, *heterocigosidad esperada (H_e)* y *heterocigosidad observada (H_o)*, dependen en primer lugar de los *sistemas de cruzamiento* expresados por los índices de auto-incompatibilidad (SSI) y tasa de autogamia, en segundo lugar de la *talla poblacional* y en tercero de los *recursos del androceo y gineceo* sobretodo los *alelos* y los *genotipos multilocus (GML)* que a su vez se correlacionan con otros atributos florales con valor diagnóstico como la *talla de las anteras* y de los *sépalos*. Convendría destacar que la *tasa de alogamia (t)* además de correlacionarse con los sistemas de cruzamiento (*ISI* y *tasa S*), se correlaciona significativamente con el *nº de cicatrices por infrutescencia*.

4.8.2. Brassicaceae. Correlaciones y análisis de varianza de la diversidad genética y parámetros asociados a los sistemas de cruzamiento (SSI).

De la recopilación bibliográfica se obtiene una matriz de datos 14x80 (Anexo 3) en la que las columnas corresponden a los 14 caracteres o variables y las filas representan 80 taxones de 17 géneros de Brassicaceae algunos de ellos presentes en Canarias (*Brassica*, *Crambe*, *Erysimum*, *Lobularia*, *Matthiola* y *Parolinia*) y en otras islas o en áreas continentales (*Arabis*, *Brassica*, *Coincya*, *Diplotaxis*, *Iberis*, *Leavenworthia*, *Matthiola*, *Moricandia* *Raphanus*, *Sibara*, *Streptanthus*, *Vella* y *Warea*).

En el análisis de correlación a un nivel de significación $\alpha=0.05$, se confrontan y analizan los parámetros de *diversidad genética* por *aloenzimas* en relación a los sistemas de cruzamiento según presencia del *sistema de auto-incompatibilidad esporofítico homomórfico (SSI)*. Se incluyen otros caracteres biológicos como el *número de cromosomas (2n)*, *nº básico (x)* y *nivel de ploidía*, así como algunas variables ecológicas como la *talla poblacional* y *rango geográfico* (*nº de poblaciones*). Los parámetros genéticos obtenidos por *aloenzimas*, también se confrontan mediante un análisis de varianza (Kruskall-Wallis con $\alpha=0.05$).

En los cinco parámetros genéticos analizados, la correlación más alta ($r=0.700$) se observa entre la *heterocigosidad observada (H_o)* y *sistemas de cruzamiento (SSI)*.

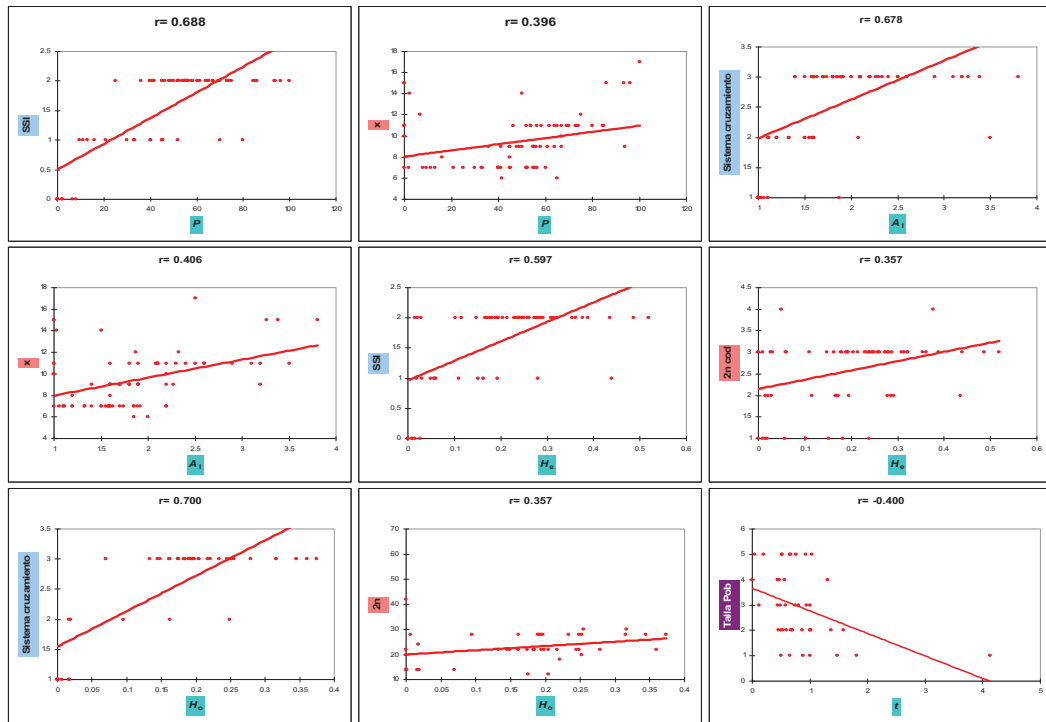
1º) El *porcentaje de loci polimórfico (P)* depende significativamente en primer lugar de la presencia del *sistema de auto-incompatibilidad* ($r=0.688$) y en segundo lugar del *nº básico de cromosomas* y *ploidía* ($r=0.396$, $r=-0.225$). Estos resultados se refuerzan con los obtenidos en el *análisis de varianza* de este parámetro en relación a las variables biológicas y ecológicas que muestran diferencias significativas con el *género* ($p=0.000$), con el SSI ($p<0.0001$), *nº de cromosomas (2n con $p=0.001$)*, *2n codificado* ($p=0.032$) y *nº básico, x* ($p=0.005$).

2º) El *número de alelos por locus (A_1)* también depende en primer lugar del SSI ($r=0.678$), *nº básico de cromosomas* ($r=0.406$), *rango geográfico* ($r=-0.261$) y del nivel de ploidía ($r=-0.236$). El *análisis de varianza* en relación a las variables biológicas y ecológicas muestra diferencias significativas con el *género* ($p=0.000$), con el SSI ($p<0.0001$), *nº de cromosomas (2n $p=0.000$ y 2n codificado $p=0.021$)* y *nº básico x* ($p=0.002$) y *rango geográfico* ($p=0.046$).

3º) La *heterocigosidad esperada (H_e)* depende en primer lugar de la presencia del SSI ($r=0.597$) y luego con el *nº de cromosomas (2n codificado $r=0.357$ y nº básico $r=0.313$)*. El

análisis de varianza muestra diferencias significativas únicamente con el SSI ($p=0.040$).

4º) La heterocigosidad observada (H_o) depende de la presencia del sistema de auto-incompatibilidad ($r=0.700$) y del nº de cromosomas $2n$ y $2n$ codificado ($r=0.357$ y $r=0.293$). El análisis de varianza muestra diferencias significativas con el género ($p < 0.0001$), con el SSI ($p=0.001$), nº de cromosomas ($2n$ $p=0.000$, $2n$ codificado $p=0.001$ y nº básico $p=0.000$), talla poblacional ($p=0.023$) y rango geográfico ($p=0.047$).

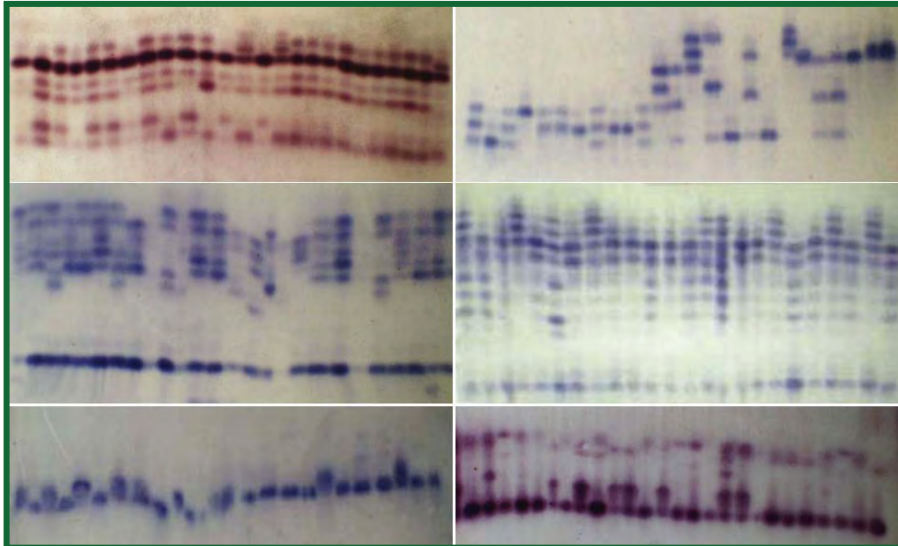


5º) La tasa de alogamia (t) se correlaciona positivamente con la ploidía ($r=0.571$) y negativamente con el nº básico de cromosomas ($r=-0.466$) y con la talla poblacional ($r=-0.400$). Existen diferencias significativas con el género ($p < 0.0001$), nº de cromosomas ($2n$ $p=0.009$, $2n$ codificado $p=0.001$, número básico $p=0.019$), talla poblacional ($p=0.020$) y rango geográfico ($p=0.000$).

El análisis de correlación considerando 12 loci muestra valores similares al análisis de 13 loci, observándose valores ligeramente superiores en la correlación de la H_o con el SSI y sistema de cruzamiento ($r=0.702$) y ligeramente inferiores en el resto.

Esto quiere decir que, en general, en los taxones analizados de la familia Brassicaceae los niveles de diversidad genética referida al porcentaje de loci polimórficos (P), nº de alelos por locus (A_1), heterocigosidad esperada (H_e) y heterocigosidad observada (H_o), dependen en primer lugar sistema de cruzamiento (SSI) y en segundo lugar del nº de cromosomas ($2n$ y nº básico x); sin embargo, la talla poblacional tiene poca incidencia sobre los niveles de diversidad genética (excepto con la tasa t de alogamia).





CAPÍTULO III



Discusión y Conclusiones

5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

1. DUPLICACIONES GENÉTICAS

La familia Brassicaceae enmarcada en el orden Brassicales, Eurosidae II y eudicotiledoneas centrales (STEVENS, 2001) se caracteriza por su gran variabilidad en el número de cromosomas y frecuentes procesos de *poliploidización* y *diploidización* como fuerzas evolutivas importantes y modelos de especiación auto, alopoliploide y homoploide. Estudios recientes consolidan el carácter generalizado de la *poliploidía* como uno de los principales mecanismos de evolución, ratificando a la *poliploidización* y *duplicación genómica* como procesos de *diversificación ancestral* y especiación en la familia Brassicaceae, donde se confirma una *duplicación generalizada* en su genoma justificando que, los actuales diploides son más parecidos a los poliploides antiguos que los poliploides recientes (BROCHMANN, 1993; BORGÉN, 1997; HURKA & NEUFFER, 1997, ANDERSON & WARWICK, 1999; NEUFFER & HOFFFROGGE, 2000; SIMILLION *et al.*, 2002; SOLTIS, SOLTIS & TATE, 2003; MARHOLD & LIHOVÁ, 2006; WARWICK & AL-SHEHBAZ, 2006; SOLTIS *et al.*, 2009).

Hasta el momento, se ha considerado que las siete especies que conforman el género *Parolinia* son presuntamente *diploides* con número básico $x=11$ (BORGÉN, 1969; BRAMWELL *et al.*, 1972; FEBLES, 1989; FEBLES sin publicar). La presencia generalizada de *duplicaciones génicas* en la familia Brassicaceae tanto en taxones diploides como poliploides, sugiere que los patrones complejos de *bandas múltiples* en *Parolinia* (en los que no se descarta un origen alopoliploide muy antiguo) se puedan considerar como evidencias indirectas de *duplicaciones genéticas* apoyadas por: (i) detección de más *loci* de los esperados (MDH y PGM), (ii) aparición de más *electromorfos* (alelos) de los esperados (MDH, PGI y PGI) y (iii) presencia de *heterocigotos asimétricos* o heterocigotos con bandas de intensidad desigual (IDH, MDH, PGI y PGM). Asimismo se ha considerado *evidencia indirecta* de *duplicaciones*, la presencia de *bandas fantasmas* asociadas a posibles *silenciaciones genéticas* de antiguas duplicaciones, que además se consideran de gran importancia filogenética (GOTTLIEB, 1984; CRAWFORD, 1989; WERTH *et al.*, 1993).

La presencia de *duplicaciones genéticas* se ha manifestado también en otros representantes de la tribu Matthioleae en Canarias como el género *Matthiola* (según imágenes de geles y electromorfos) endemismo diploide $2n=12$, y en otros componentes de la familia Brassicaceae como los taxones canarios del género *Lobularia* presumiblemente diploide con $2n=22$ y en *Erysimum albescens* (también según imágenes de geles y electromorfos) endemismo tetraploide con $2n=28$ (BORGÉN, 1969, 1987 y 1997; VAN LOON, 1974; VILCHES *et al.*, 2002; SANCHEZ *et al.*, 2004, 2005 y 2006). También se observan duplicaciones en taxones macaronésicos de otras familias diploides y/o tetraploides como el género *Lotus* en Fabaceae (OLIVA *et al.*, 2004) y el género *Tolpis* en Asteraceae (CRAWFORD *et al.*, 2006).

La distribución taxonómica de *genes duplicados* puede suministrar información filogenética muy valiosa. Partiendo de la base que las *duplicaciones genéticas* en especies diploides son raras, la manifestación aloenzimática de la misma duplicación se considera producto de un ancestro común. Esta es la razón que evidencia la necesidad de conocer la diversidad y estructura genética de los géneros más directamente allegados, *Diceratella* y *Morettia* componentes de la disyunción Macaronésica-Saharo-Síndica-África del Este fundamentada

en el número de cromosomas ($2n=22$) y tipo polínico (JONSELL 1978 y 1979; PÉREZ DE PAZ, 1981; BRAMWELL, 1986), ha sido reforzada recientemente por la filogenia molecular (WARWICK *et al.*, 2007; JAÉN *et al.*, 2007).

La expresión duplicada de los genes producto de duplicaciones ancestrales en la familia Brassicaceae tiende a mantenerse estable durante algún tiempo, aunque en el curso de la evolución se puede *silenciar* (diploidizar) pudiendo representar según muchos autores, sinapomorfías de carácter filogenético (GOTTLIEB, 1984; SOLTIS, SOLTIS & GOTLIEB, 1987; CRAWFORD, 1989; CRAWFORD *et al.*, 1990; WERTH *et al.*, 1993; ANDERSON & WARWICK, 1999; SOLTIS, SOLTIS & TATE, 2003; MARHOLD & LIHOVÁ, 2006; SOLTIS *et al.*, 2009).

La presencia poliploidizaciones generalizadas en la familia justifica la presencia de procesos de *silenciación* con *pérdida* de las *duplicaciones genéticas* como fenómeno común después de las poliploidizaciones ancestrales. La *silenciación genética* o *diploidización* afecta tanto a la constitución genética como al comportamiento cromosómico de los taxones con ancestros poliploides (ANDERSON & WARWICK, 1999; SOLTIS, SOLTIS & TATE, 2003; MARHOLD & LIHOVÁ, 2006; SOLTIS *et al.*, 2009). Este proceso de *silenciación genética* y *diploidización* con reducción gradual de genes, se puede manifestar en diploides putativos como *Parolinia* donde las *duplicaciones aloenzimáticas*, siendo abundantes no se manifiestan absolutamente generalizadas, e hipotéticamente se dirigen hacia un nivel genético similar al de su primer ancestro diploide. Según algunos autores, estos mecanismos se favorecen de manera especial en ecosistemas oceánicos con acontecimientos posiblemente similares a los de la gran diversificación de angiospermas durante el Cretáceo (PIRES & HERTWECK, 2008; SOLTIS *et al.*, 2009).

A diferencia del resto de las especies de *Parolinia* que manifiestan dos *loci* en la enzima ACP (*Acp-1* y *Acp-2*), *P.schizogynoides* sólo muestra una zona de actividad (*Acp-1*). Algo parecido ocurre en dos endemismos hawaianos del género *Silene*, donde en la enzima GOT que manifiesta diferentes *loci* cuya expresión depende de la especie y antigüedad de las poblaciones, se consideran en los análisis (como en *Parolinia*) como loci presentes o ausentes de forma similar a los alelos (WESTERBERGH & SAURA, 1994).

Estos casos de *diploidización* actualmente se interpretan como una posible reversión a través de la *silenciación* genética y al mismo tiempo se han reconocido por algunos autores, como mecanismos que se favorecen de manera especial en ecosistemas oceánicos (GOTLIEB, 1987; WITTER, 1990; ANDERSON & WARWICK, 1999; MARHOLD & LIHOVÁ, 2006; PIRES & HERTWECK, 2008; SOLTIS *et al.*, 2009) donde *Parolinia* podría constituir uno de los ejemplos.

2. DIVERSIDAD GENÉTICA Y SISTEMAS DE CRUZAMIENTO. ADSCRIPCIÓN FILOGENÉTICA

Los parámetros básicos de *variabilidad genética* en los taxones de *Parolinia*, *porcentaje de loci polimórficos* (P), *nº de alelos por locus* (A_i), *alelos totales* (A_T), *alelos exclusivos* (A_{ex}) *heterocigosidad esperada* (H_e) y *heterocigosidad observada* (H_o), indican niveles de diversidad genética considerablemente más altos que los niveles poblacionales proporcionados por HAMRICK & GODT (1996) para endemismos y taxones alógamos, y en sintonía con FRANCISCO-ORTEGA *et al.* (2000) para taxones canarios.

En los primeros datos de diversidad genética para Canarias recopilados en parte por FRANCISCO-ORTEGA *et al.* (2000) se pone de manifiesto la alta variabilidad genética de la *flora canaria* en relación a otras *floras oceánicas*. Es importante destacar que en Canarias, el conocimiento conjunto de los Sistemas de Reproducción y diversidad genética está poniendo de manifiesto que hay poblaciones de *talla reducida* con gran *variabilidad genética*, mientras que su éxito reproductivo se ve mermado por la pérdida de diversidad morfológica asociada a dimorfismo sexual o de auto-incompatibilidad (*Limonium dendroides*) susceptible de producir cruces fértiles (PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007b y en preparación; SUÁREZ *et al.*, 2009). Se pone de manifiesto por tanto que, para una evaluación adecuada de las especies canarias amenazadas, se requiere un conocimiento no solo genético sino también *morfológico-reproductivo*, que debiera estar integrado en las bases científicas de sus estrategias de recuperación. Hasta hace muy poco, las repercusiones del *número de cromosomas* en la diversidad genética de las especies no habían sido consideradas y siguiendo a RICHARDS (1986 y 1997) y posteriormente a PÉREZ DE PAZ (2002), se incluye en las primeras valoraciones y análisis (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 2007; PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007b). La primera valoración conjunta de la *diversidad genética* y *biología reproductiva* de la *Flora Canaria*, solo se puede verificar en un 10% de los géneros con endemismos canarios y en taxones de los mismos géneros o familias de otras floras, incluyendo algunas islas oceánicas.

Parolinia junto con los taxones incluidos en esta primera confrontación, refuerza la hipótesis que desde una misma *adscripción filogenética* los *sistemas de reproducción* son los principales responsables de la *variabilidad genética* detectada y que taxones del mismo género con el mismo *sistema de cruzamiento* (sistema sexual, auto-incompatibilidad: SSI), apomixia) pueden variar según su *número cromosómico* y *talla poblacional* (WEBB, 1984; RICHARDS, 1986 y 1997; KARRON, 1987; HAMRICK & GODT, 1996; GITZENDANNER & SOLTIS, 2000; FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 2007; PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007b; PÉREZ DE PAZ & CAUJAPÉ, en preparación).

***Parolinia*. Relaciones de la diversidad genética, sistemas de cruzamiento (SSI) y talla poblacional**

En *Parolinia* los análisis de correlación entre *diversidad genética*, *sistema de cruzamiento* (SSI) y *talla poblacional*, señalan que los niveles de *diversidad genética* (P , A_i , A_T , A_{ex} , H_e , H_o , F y GML) dependen en primer lugar con una fuerte correlación, de la presencia del *Sistema de Auto-incompatibilidad Esporofítico Homomórfico* (SSI) típico en la familia (principalmente A_i , A_T , GML y P) y en segundo lugar de la *talla poblacional*, que no se correlaciona con la tasa de *alogamia* o coeficiente de inbreeding (F). Sin embargo, los *recursos del androceo* y *gineceo de las flores* (número de pólenes y óvulos) tienen relativamente poca incidencia sobre los *parámetros de diversidad genética*, excepto el número de *alelos exclusivos* (A_{ex}) y *genotipos multilocus* (GML).

En la correlación significativa de la *talla poblacional* con los *parámetros de diversidad genética*, habría que destacar que las poblaciones más grandes como POS (*P.ornata*), PPG (*P.platypetala*) y PIT (*P.intermedia*) que comparten idénticos parámetros genéticos (P , A_i , H_e), solo superan ligeramente a poblaciones más pequeñas. Aún así, se observan poblaciones relativamente pequeñas que superan o igualan en algunos parámetros (P , H_e , A_{ex}) a las poblaciones mayores. En las especies de *Parolinia*, no se observa una relación directa entre la tasa de *alogamia* (t) y la *talla poblacional*, aunque las mayores correlaciones

significativas (negativas) de la tasa (t) corresponden a la tasa S de *autogamia* de Karron e índice ISI que a su vez se correlacionan positivamente con la *talla poblacional*. Como ya se comenta en el capítulo anterior de *sistemas de cruzamiento*, en *Parolinia* la relación entre los ISI , tasa S de *autogamia* y *talla poblacional* refleja el polimorfismo del *locus S* respecto a la talla de las poblaciones (GIBBS, 1986 y 1988; RICHARDS, 1986 y 1997; BARRETT, 1988; BYERS & MEAGHER, 1992; FERNÁNDEZ-PALACIOS, PÉREZ DE PAZ & FEBLES, 2007; BUSCH & SCHOEN, 2008). La correlación positiva de la tasa de *alogamia* (t) con el % de *cicatrices por infrutescencia* podría calificar a las *cicatrices* como evidencias indirectas de *auto-incompatibilidad*.

El defecto de *heterocigotos* (exceso de homocigotos) detectado en los taxones *P.intermedia* (PIT), *P.filifolia* (PFT), *P.platypetala* (PPG), POA y *P.ornata* (POS) con poblaciones relativamente grandes, se justifica por la mayor incidencia de alelos S que puede permitir apareamientos entre individuos allegados e incluso alguna posibilidad de cruzamientos mixtos con auto-polinización (*autogamia*), configurando así una descendencia donde se pueden favorecer los *homocigotos*, que como en *Leavenworthia*, puede ser de reciente adquisición. La diversidad genética relativamente alta en las poblaciones *autógamas* de este último género se explica en términos de adquisición *reciente*, ya que la estabilización no se manifiesta hasta después de varias generaciones de cambio en el sistema de cruzamiento. Otra posible explicación es que la diversidad en las poblaciones altamente *autógamas* se podría estar manteniendo por *selección equilibrante* (CHARLESWORTH & YANG, 1998).

Por último, cabe destacar los trabajos de KARRON (1987) y GITZENDANNER & SOLTIS (2000) que encuentran que los niveles de diversidad para *congéneres* raros y ampliamente distribuidos están altamente correlacionados. Como en *Parolinia*, WELLER, SAKAI & STRAUB (1996) encuentran en Hawaii *congéneres* donde la variabilidad aloenzimática es fuertemente dependiente del *sistema de cruzamiento*, con una gran diferencia entre las especies *autógamas* con poca variabilidad, y las *alógamas* con altos niveles de variabilidad. Asimismo, como en algunas poblaciones de *Parolinia*, encuentran que las poblaciones más pequeñas están asociadas a una menor variabilidad genética, aunque no siempre las especies con poblaciones más *grandes* poseen mayor diversidad genética.

La evaluación *genética* en *Parolinia* pone de manifiesto a la filogenia como responsable de los *sistemas de cruzamiento* que en este grupo de especies *congéneres* vienen determinados por el *sistema de auto-incompatibilidad* (SSI), responsable a su vez de los niveles de variabilidad genética que pueden variar según el *número de cromosomas* (en *Parolinia* constante) y *talla poblacional*, aunque, como en otros grupos taxonómicos, no siempre en este caso las especies con poblaciones más *grandes* poseen mayor diversidad genética de acuerdo a las hipótesis previas (KARRON, 1987; RICHARDS, 1986 y 1997; BARRETT & KHON, 1991; GITZENDANNER & SOLTIS, 2000; FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 2004 y 2007; PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007b; SUAREZ *et al.*, 2009).

Brassicaceae. Relaciones de la diversidad genética, sistemas de cruzamiento (SSI), cromosomas, talla poblacional y rango geográfico

En Brassicaceae los resultados del *análisis de correlación* y Kruskal-Wallis confirman las hipótesis previas, que revelan que los niveles de diversidad genética referida al *porcentaje de loci polimórficos* (P), *nº de alelos por locus* (A_1), *heterocigosidad esperada* (H_e)

y *heterocigosidad observada* (H_o), dependen en primer lugar del sistema de cruzamiento (SSI) y en segundo lugar del *nº de cromosomas* ($2n$ y x). La *talla poblacional*, como el *rango geográfico* muestran poca incidencia sobre los niveles de diversidad genética en los géneros analizados (excepto en la *tasa t* de *alogamia*).

En Brassicaceae, existen bastantes antecedentes de estudios conjuntos del sistema de cruzamiento y la diversidad genética en varios géneros, destacando los del género *Brassica* con cruces experimentales e isoenzimas (ROY, 1995), *Raphanus* con morfometrías florales e isoenzimas (KERCHER & CONNER, 1996), *Leavenworthia* que contrasta auto-incompatibilidad con diversidad genética en varias especies (CHARLESWORTH & YANG, 1998), *Warea wartieri* endemismo norteamericano con auto-compatibilidad e isoenzimas (EVANS *et al.*, 2000), sin olvidar una primera valoración del género *Parolinia* considerando tres especies (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 2007). En todos ellos se muestra la alta correlación del *sistema de cruzamiento* y niveles de diversidad genética.

Se comparan los niveles de *diversidad genética* de una serie de géneros de Brassicaceae incluyendo a *Parolinia* en relación a los *sistemas de cruzamiento*, *talla poblacional* y *rango geográfico*, incluyendo también el *número de cromosomas* ya contrastado por PÉREZ DE PAZ *et al.* (2007b). En este trabajo los 80 taxones incluidos en el análisis de correlación de la familia Brassicaceae, pertenecen a 17 géneros algunos de ellos presentes en Canarias (*Brassica*, *Crambe*, *Erysimum*, *Lobularia*, *Matthiola* y *Parolinia*) y en otras islas y áreas continentales (*Arabis*, *Brassica*, *Coincya*, *Diplotaxis*, *Iberis*, *Leavenworthia*, *Matthiola*, *Moricandia* *Raphanus*, *Sibara*, *Streptanthus*, *Vella* y *Warea*).

- Dentro de la tribu Matthioleae, los indicadores básicos de los 10 taxones de *Parolinia*, aunque similares a los de las 8 poblaciones canarias de *Matthiola bolleana* ($2n=12$), superan sin embargo a los cinco taxones mediterráneos de *Matthiola* con mayor rango geográfico y mayor número de cromosomas ($2n=14$) que *M.bolleana*. Aunque sólo se ha confirmado el sistema de cruzamiento por el *ratio* P/O para cinco taxones del género *Matthiola* y por cruces artificiales solo en dos auto-incompatibles, la variabilidad genética del taxon canario, indica que pudiera encontrarse entre los taxones incompatibles (VAN LOON, 1974; KUNIN & SHMIDA, 1997; SÁNCHEZ *et al.*, 2004. 2005 y 2006; WARWICK, FRANCIS & AL-SHEHBAZ, 2006).

- Fuera de Matthioleae y en taxones donde se ha verificado *auto-incompatibilidad* (SSI), los cinco taxones canarios de *Lobularia canariensis* presentan también valores similares a *Parolinia*, compartiendo además el mismo *número de cromosomas* y *rango geográfico*.

El complejo *Brassica*, presenta valores similares y ligeramente inferiores a *Parolinia*, en consonancia quizás a su menor *número de cromosomas*, a pesar de su mayor *rango geográfico*, conviene señalar que una sola población del endemismo canario *B.bourgeauii*, puede superar a algunos de los taxones mediterráneos que además están más ampliamente distribuidos. La variabilidad genética de 9 poblaciones del endemismo grancanario *Erysimum albescens* es considerablemente inferior a *Parolinia* a pesar de su amplia distribución y nivel de ploidía ($4x$), señalando una posible auto-compatibilidad como en otras especies del género donde la tetraploidía puede haber favorecido la ruptura del sistema de *auto-incompatibilidad*. En cambio dos endemismos canarios de *Crambe* (*C.pritzelli* y *C.tamadabensis*) con similares rangos de distribución y *talla poblacional* donde no está confirmada la *auto-incompatibilidad* (SSI) presentan valores ostensiblemente superiores a *Parolinia*, justificados por su *número básico de cromosomas* ($x= 15$), superior al de *Parolinia* (BORGEN, 1969, 1987 y 1997; BORGEN *et al.*, 1979; RICHARDS, 1986 y

1997; NIETO FELINER, 1991; CHARLESWORTH & AWADALLA, 1998; HATAKEYAMA *et al.*, 1998; LÁZARO & AGUINALDE, 1998; VILCHES *et al.*, 2002 y 2004; SOTO *et al.*, 2007).

- Fuera de Canarias, solamente taxones auto-incompatibles de los géneros *Raphanus*, *Leavenworthia*, *Coincya* y *Vella* se acercan o superan los valores de *Parolinia*:

Los máximos encontrados para los 80 taxones analizados de la familia se encuentran en *Vella pseudocytisus*, endemismo restringido de la Península Ibérica, que posiblemente encuentre justificación en el *número de cromosomas* ($2n=68$) y nivel de ploidía ($4x$) a pesar de la presencia de propagación vegetativa por estolones. En la especie cosmopolita *Raphanus raphanistrum* los valores de las 6 poblaciones estudiadas superan a *Parolinia*, a pesar de su *número de cromosomas* más bajo, aunque su co-específica *R.sativus* var. *hortensis* presenta valores similares, en ambos casos se trata de especies ampliamente distribuidas. *Moricandia moricandioides*, taxon de la Península Ibérica ampliamente distribuido presenta valores similares a *P.glabriuscula* a pesar de su número cromosómico más elevado, $x=14$ (BATEMAN, 1955a; HINATA & KONNO, 1972; NANSON & ELLSTRAND, 1995; KERCHER & CONNER, 1996; GOODELL *et al.*, 1997a; MASELLI, PÉREZ GARCÍA & AGUINALDE, 1999; HUH & OHNISHI, 2001; PÉREZ-COLLAZOS & CATALÁ, 2006).

Los mayor diversidad genética del género *Leavenworthia* se observa en una especie auto-incompatible con mayor *número de cromosomas* ($x=15$) que otras con poblaciones compatibles y auto-incompatibles ($x=11$). Los taxones compatibles del género ($x=15$), apenas presentan variabilidad genética. Este género, como *Parolinia*, está formado por muy pocos endemismos restringidos, algunos de los cuales comparten el *sistema de cruzamiento* e incluso el *nº de cromosomas* (CHARLESWORTH & YANG, 1998; LYONS & ANTONOVICS, 1999; BUSCH, 2005; BECK, AL-SHEHBAZ & SCHAAL, 2006).

Coincya rupestris, endemismo restringido de la Península Ibérica en estado crítico (MASELLI, PÉREZ GARCÍA & AGUINALDE, 1999; COPETE, HERRANZ & FERRANDIS, 2003) como *P.glabriuscula* y *P.platypetala* supera los valores de diversidad genética de algunos taxones de *Parolinia* en consonancia quizás con su mayor *número de cromosomas* ($x=12$).

Con valores similares de *diversidad genética* y mayor rango de distribución que *Parolinia*, los géneros *Diplotaxis* y *Streptanthus*, podrían justificar su variabilidad por el *sistema de auto-incompatibilidad* (SSI) toda vez que la menor diversidad genética se observa en los taxones compatibles independientemente de su *número de cromosomas* (PRESTON, 1991; MAYER, SOLTIS & SOLTIS, 1994; RUSTAN, 1996; ESCHMANN-GRUPE *et al.* 2004; MOYLE, OLSON, TIFFIN, 2004; WARWICK, FRANCIS & AL-SHEHBAZ, 2006).

Por el contrario, los valores ostensiblemente inferiores a *Parolinia* de varias especies de *Arabis*, *Iberis pectinata*, *Sibara filifolia* y *Warea carteri* estarían en consonancia con su auto-compatibilidad (SC) a pesar de su mayor rango de distribución geográfico y número de cromosomas (ROY, 1995; OYAMA, 1998; KÄRKÄINEN *et al.*, 1999; MASELLI, PÉREZ-GARCÍA & AGUINALDE, 1999; EVANS *et al.*, 2000; HELENURM, 2003; WARWICK, FRANCIS & AL-SHEHBAZ, 2006).

En Brassicaceae pues los resultados del análisis de correlación revelan que los niveles de diversidad genética referida al *porcentaje de loci polimórficos* (P), *nº de alelos por locus* (A_i), *heterocigosidad esperada* (H_e) y *heterocigosidad observada* (H_o), dependen en primer lugar del sistema de cruzamiento (SSI) y en segundo lugar del *nº de cromosomas* ($2n$ y x). La *talla poblacional*, como el *rango geográfico* muestran poca incidencia sobre los niveles de diversidad genética en los géneros analizados (excepto en la *tasa t* de *alogamia*).

Taxones de otras familias presentes en Canarias y otras islas oceánicas

Superando a *Parolinia*, se encuentran los dos taxones de Oleaceae (*Olea*) y Fabaceae (complejo *Chamaecytisus proliferus*) todos ellos con número de cromosomas elevado, presuntamente auto-incompatibles y rango variable de distribución (FRANCISCO-ORTEGA *et al.* 1992; LUMARET *et al.*, 2004).

Con valores similares de diversidad genética, pero sin superar a *Parolinia*, algunos taxones de Asteraceae (*Senecio*, *Sonchus* y *Tolpis*), Plumbaginaceae (*Limonium*), Fabaceae (*Lotus*) todos ellos taxones auto-incompatibles, con menor número de cromosomas que los anteriores y distribución restringida. Con valores inferiores a *Parolinia*, se pueden encontrar taxones de Arecaceae (*Phoenix*), Aquifoliaceae (*Ilex*), Asteraceae (*Argyranthemum* y *Cheirolophus*), Boraginaceae (*Echium*), Cistaceae (*Cistus*), Cneoraceae (*Neochamaelea*), Colchicaceae (*Androcymbium*), Myricaceae (*Myrica*), Pinaceae (*Pinus*), Poaceae (*Avena*, *Dactylis* y *Lolium*), Polygonaceae (*Polygonum*) y de Violaceae (*Viola*), taxones tanto auto-compatibles como auto-incompatibles, con número de cromosomas mayor o menor y distribución más amplia o igualmente restringida (MORIKAWA & LEGGETT, 1990; CHARMET & BALFOURIER, 1994; PEDROLA-MONFORT, & CAUJAPÉ-CASTELLS, 1994 y 1996; FRANCISCO-ORTEGA *et al.*, 1996; LOWE & ABBOTT, 1996; SAHUQUILLO & LUMARET, 1996; BATISTA & SOSA, 1998 y 2002; GARNATJE, SUSSANA & MESSEGUER, 1998; KIM *et al.*, 1999; KOROL *et al.*, 1999; SCHILLER *et al.*, 1999; BATISTA *et al.*, 2001; MEMBRIVES, PEDROLA-MONFORT & CAUJAPÉ-CASTELLS, 2001; LORENZO *et al.*, 2003; GONZALEZ-PÉREZ, CAUJAPÉ-CASTELL & SOSA, 2004; OLIVA *et al.*, 2004, 2005 y 2006 y en preparación; CRAWFORD *et al.* 2006; PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007b y en prep; MORA *et al.*, 2009; SUAREZ *et al.*, 2009; OLANGUA *et al.*, en prep.).

- Taxones de otras islas oceánicas

En otras islas oceánicas se encuentran algunos taxones xenógamos con parámetros genéticos similares o superiores a *Parolinia*. En el género *Schiedea*. (Caryophyllaceae) de Hawaii con una fuerte evolución en los sistemas de cruzamiento (sistemas sexuales de hermafroditismo, ginodioecia y dioecia) y taxones con talla poblacional superior a 100 individuos (WELLER, SAKAI & STRAUB, 1996), así como taxones xenógamos (dioicos) del género *Robinsonia* (Asteraceae) en las islas de Juan Fernández (CRAWFORD *et al.* 2001) todos poliploides con número elevado de cromosomas (IPCN, 2006).

De acuerdo con la mayoría de los autores sería necesario un conocimiento consensuado de la biodiversidad vegetal canaria, no solamente genético sino también morfológico-reproductivo, donde el conocimiento de sus sistemas de reproducción pudiera disipar las incógnitas y cuestiones evolutivas de la biodiversidad canaria, sin que dichos estudios se vieran afectados por cuestiones relacionadas al muestreo (BARRETT, 1998 y 2003; FRANCISCO-ORTEGA *et al.*, 2000; CRAWFORD *et al.*, 2001, 2006 y 2008; ANDERSON *et al.*, 2002; FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 2007; PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007; CAUJAPÉ, 2009). Esto además redundaría en un mejor conocimiento de la biodiversidad poblacional fundamento sobre el cual se debiera perfilar el diseño de estrategias de conservación verdaderamente efectivas en las especies amenazadas.

3. ESTRUCTURA GENÉTICA (G_{ST}), MANTENIMIENTO Y EVOLUCIÓN DE LAS POBLACIONES NATURALES DE *PAROLINIA*

Las alteraciones (fluctuaciones) de la diversidad y estructura genética (G_{ST}) de las poblaciones naturales o desviaciones de las frecuencias génicas según la ley de Hardy-Weinberg, se pueden deber: i) a causas *intrínsecas* a la población como los *sistemas de cruzamiento*, *endogamia* o *consanguinidad*, *apareamientos preferenciales (assortative mating)* y/o al efecto *Wahlund* o ii) a causas *extrínsecas* como la *deriva genética*, *selección natural*, *mutación* y *flujo génico*.

En el test de la *Chi-cuadrado* en las 17 poblaciones estudiadas se señalan sólo 7 *loci* en equilibrio de H-W ($p \geq 0.970$) y 6 en desequilibrio mostrando tanto exceso de *heterocigotos* como de *homocigotos*.

De acuerdo con algunos autores ante un desequilibrio Hardy-Weinberg que no afecta a todos los *loci* de una población, hay que descartar como responsables de tales desviaciones a la *deriva genética* y *flujo génico* que afectarían por igual a todos los *loci* (SOLTIS & SOLTIS, 1988; VILJOEN *et al.*, 1996), en las poblaciones de *Parolinia* que no posean todos los *loci* en desequilibrio (POM, PIG, PFA, PFS, PFT, PFI, PFCH, POA y POVE) habría que señalar a la *selección*, *mutación* o factores *intrínsecos (sistemas de cruzamiento, endogamia y efecto Wahlund)* como responsables prioritarios de tales desviaciones en dichas poblaciones, señalando posiblemente en POM (con fragmentación manifiesta de su hábitat y mayor coeficiente *F*) a la *endogamia* o *efecto Wahlund* y en el resto (PF, POA y POVE) queda abierta la posibilidad de las *mutaciones*.

Mientras que en las poblaciones, POS y POV (*P.ornata*), PGB (*glabriuscula*), PPG (*P.platypetala*), PIT y PIA (*P.intermedia*), PSA (*P.schizogynoides*) y *P.aridanae* (PAC) que no muestran ningún *loci* en equilibrio, se señalarían como factores responsables del desequilibrio a la *deriva* y carencia de *flujo génico* más que a las *fuerzas selectivas* o *mutaciones* y factores *intrínsecos (sistemas de cruzamiento)*.

Desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg. Causas intrínsecas

En este apartado se consideran los *factores intrínsecos* capaces de producir alteraciones del equilibrio H-W, como los *sistemas de cruzamiento*, *endogamia* o *consanguinidad* y *efecto Wahlund*.

1ª) Sistema de cruzamiento, coeficiente de autogamia *F*

A excepción de *P.glabriuscula* (PG) se puede considerar a las poblaciones de *Parolinia* con *cruzamientos mixtos*. *P.filifolia* con PFCH (PF) con cuatro poblaciones estudiadas se puede considerar como especie fundamentalmente *alógama* (PFCH) en relación a *P.ornata* (PO), PIT, POA y POVE que se pueden considerar con cruces mixtos y mayor implicación de *autogamia* en POM.

En general, se observa en *Parolinia* un mayor número de *loci* que manifiestan defecto de heterocigotos, a excepción de PGB. El *coeficiente de endogamia* o *índice de fijación F* en las 17 poblaciones de *Parolinia* muestra en general un defecto de heterocigotos (como reflejan sus coeficientes de inbreeding *F*) acusando autopolinización o *autogamia* (POM), que gradualmente iría disminuyendo (PIT, POA, POVE, POS, PIA, PFT, POV, PFA, PFI, PSA, PAC y PIG) hasta poblaciones menos autógamas (PPG y PFS). Con un *loci* en equilibrio H-W y el mismo número de *loci* con defecto y exceso de homocigotos se puede

señalar a PFCH y con valores negativos que indican *exceso de heterocigotos* a *P.glabriuscula* (PGB) ambas como más alógamas.

2ª) Sistema de cruzamiento e *inbreeding depression*

De acuerdo con la hipótesis que la presencia de *inbreeding depression* es la responsable de la *evolución de los sistemas de cruzamiento* por la cual se puede favorecer la *autopolinización*, los indicios y posibilidad de *autogamia* en algunas poblaciones de *Parolinia* (tallas poblacionales grandes), junto con el *defecto de heterocigotos*, puede estar revelando que en las grandes poblaciones del género donde la diversidad de alelos *S* está permitiendo el cruce de parientes allegados se favorecen los individuos homocigotos y el mantenimiento del vigor de la población por la purga de alelos perjudiciales en los mismos (BARRETT & CHARLESWORTH, 1991; ECKERT & BARRETT, 1994; LANDE, SCHEMSKE & SCHULTZ, 1994; JOHNSTON & SCHOEN, 1995; BARRETT & HARDER, 1996; HUSBAND & SCHEMSKE, 1996; MAYER, CHARLESWORTH & MEYERS, 1996; PORCHER & LANDE, 2005). En la mayoría de las poblaciones los *cruces mixtos*, obedecen al resultado alternativo estable que determina el equilibrio y evolución de los apareamientos (*autogamia y/o alogamia*).

En *Parolinia* los resultados obtenidos de los niveles de *inbreeding depression* (δ) según el marcador molecular de *isoenzimas*, ponen de manifiesto que en los individuos adultos de la población, no se detecta *pérdida de vigor por endogamia*. Al parecer los indicios de *autogamia* detectados se consideran suficientes para eliminar los alelos perjudiciales responsables de la presencia de *inbreeding depression* (que se purgan por homocigosis). Según FOX (2005) los coeficientes negativos (δ) denunciarían niveles altos de *heterocigotos* con *F* negativos que se han puesto de manifiesto en algunos *loci* (Anexo 3) y revelarían indicios de *pérdida de vigor por alelos perjudiciales recesivos* en heterocigosis, que se eliminarían por la homocigosis de las tasas de *autogamia* (BARRETT & KHON, 1991; LANDE, SCHEMSKE & SCHULTZ, 1994; HUSBAND & SCHEMSKE, 1996).

No obstante los niveles de *inbreeding depression* detectados en fases tempranas del *ciclo vital* (Capítulo II): producción y germinación de semillas y establecimiento de plántulas (progenie) se encuentran en los rangos establecidos ($\delta \geq 0.53$) para especies predominantemente *xenógamas* (HUSBAND & SCHEMSKE, 1996).

3ª) Efecto Wahlund y autocorrelación espacial

Todas las poblaciones de *Parolinia* tienen defecto de heterocigotos (*exceso de homocigotos*) excepto PGB. Como apuntan algunos autores, en especies alógamas auto-incompatibles, la aparición de *loci* con *exceso de homocigotos* puede ocurrir en poblaciones genéticamente estructuradas según núcleos o subpoblaciones con escaso flujo genético y cruces entre individuos relacionados (NEI, 1987; CESKA, AFFOLTER & HAMRICK, 1997; WILLIAMSON & WERTH, 1999; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001). Esto sugiere que algunas poblaciones de *Parolinia* pueden actuar como núcleos o fragmentos donde se cruzan individuos allegados que justificarían el exceso de homocigotos en las poblaciones fundamentalmente *xenógamas* de este género.

El análisis de *auto-correlación espacial* pondría en evidencia los parientes cercanos y la distancia más corta de apareamiento (cruces entre individuos allegados) solamente en las poblaciones PFI y PFT. De todas formas esta aproximación cuantitativa se considera un tanto incierta, al considerar exclusivamente la estocasticidad estadística y no tener en

cuenta las variables biológicas reales de las poblaciones naturales como el *flujo génico* de la polinización y dispersión de semillas.



Desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg. Causas extrínsecas

Las alteraciones o desviaciones de las *frecuencias génicas* y *estructura* de las poblaciones naturales según la ley de Hardy-Weinberg, se deben también a causas *extrínsecas* como la *deriva genética*, *selección natural*, *mutación* y *flujo génico*, reconocidas asimismo como fuerzas *micro-evolutivas*, pudiendo producir consecuencias como el defecto o exceso de *heterocigotos* (NEI, 1987; BARRETT & KOHN, 1991; FRANKEL, BROWN, BURDON, 1995; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001).

1ª) Deriva genética y cuello de botella o exceso de heterocigotos

En ausencia de selección, la *deriva genética* puede tener distinta repercusión en las poblaciones naturales donde se puede manifestar de distinta manera (CORNUET & LUIKART, 1996; VILJOEN *et al.*, 1996; PIRY, LUIKART & COURNUET, 1998; SOSA & LINDSTROM, 1999): (i) *fijación eventual de alelos* o *pérdida de alelos*, (ii) *pérdida de un alelo común* y (iii) *pérdida de heterocigosidad* ($H_e < H_o$).

i) La presencia de *loci monomórficos* (con alelos de frecuencias igual a 1) donde se fija un alelo y se eliminan los de baja frecuencia se observa en 14 de las 17 poblaciones de *Parolinia*, donde uno de los *alelos fijados* más frecuentes es *Idh-1b* (monomórfico en 12 poblaciones). Las poblaciones sin alelos fijados POVE, POS y PPG (en principio sin *deriva genética*) se corresponden justo con las de talla mayor en el género. El resto de las poblaciones, manifiestan los efectos de la *deriva genética* con alelos fijados, destacando a PGB (6 alelos fijados) y PAC (un alelo fijado exclusivo). PIT una de las poblaciones más grandes (con unos 30000 individuos) también posee un alelo fijado (*Idh-1b*) que lo está mayoritariamente en el género. Sin embargo POM, a pesar de ser una de las poblaciones más pequeñas, tiene uno de los niveles más altos de *heterocigosidad esperada*, que solo supera PIT.

ii) La *carencia de un alelo común* como prueba indirecta de los efectos de la *deriva genética* se observa en algunas poblaciones de *Parolinia* como PGB (*Mdh-3c*), POVE (*Mdh-1c*), PIG (*Idh-1b*), PIA (*Skd-1c*), PSA (*Pgm-2c*) y PAC (*Acp-1c*). Esto puede ser producto de *tallas poblacionales pequeñas* unido a un *aislamiento geográfico sin flujo génico* más acusado en el caso de PIG, PIA, PSA y PAC.

iii) Otra manifestación de la *deriva genética*, es la *pérdida de heterocigotos* en *loci* polimórficos ($H_e < H_o$). En *Parolinia* no se manifiesta un *cuello de botella reciente* ($H_o > H_e$) significativo en ninguna de las poblaciones, aunque bajo el modelo IAM se observa *exceso de heterocigotos* con situación cercana al *cuello de botella* en PSA y PIT y posibles indicios de *deriva genética*.

Se podría considerar, por tanto, que en *Parolinia* las poblaciones PGB, POV, POM, PF, POA, POVE, PI, PSA y PAC presentan alguna de estas tres manifestaciones de *deriva genética*, aunque algunos autores consideran también la presencia de *alelos fijados* como una posible manifestación de la *selección* (SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001; LOWE, HARRIS & ASHTON, 2004).

2ª) Selección natural y test de neutralidad

Se reconoce como indicios de evolución por *selección natural* en una población, la presencia de variación fenotípica heredable que afecta al *sistema reproductivo*, generando una progenie con cambios en las *frecuencias genotípicas* (individuos) pero no en las *alélicas*. En *Parolinia*, los resultados no significativos del *test de neutralidad* indican la *ausencia de presiones selectivas*, o según algunos autores en caso que la hubiera no sería suficiente para contrarrestar los efectos de la *deriva genética*, sobretudo en el caso de poblaciones pequeñas (BARRETT & KOHN, 1991).

Asimismo la relación entre los *genotipos multilocus* (GML) o número total de *genotipos* detectados en una población (contando *loci* mono y polimórficos) y el *número total de alelos* (A_T) detectados para la misma población, también reforzaría en principio la ausencia de *selección* en las distintas poblaciones estudiadas *Parolinia*, toda vez que no parece que en este conjunto poblacional se favorezcan especialmente nuevos genotipos (Anexo 3).

No obstante habría que tener en cuenta a algunos autores que consideran la presencia de *alelos fijados* como una posible manifestación de la intervención de las *fuerzas selectivas* aún a partir de marcadores moleculares en principio selectivamente neutrales como las *aloenzimas* (CHARLESWORTH, NORDBORG & CHARLESWORTH, 1997; SILVERTOWN & CHARLESWORTH, 2001; LOWE, HARRIS & ASHTON, 2004). Como consecuencia se podría señalar que las fuerzas responsables de la mayor parte de la variabilidad genética detectada en *Parolinia* para determinadas poblaciones, podría ser debida a posibles

mutaciones posiblemente asociadas a un aislamiento más o menos prolongado en el tiempo, para algunas poblaciones, con intervención de la *deriva genética* y sin descartar una posible intervención de las *fuerzas selectivas*.

3ª) *Mutaciones y alelos exclusivos*

Algunos autores han sugerido que la presencia de *alelos exclusivos* relacionados al tiempo evolutivo y antigüedad del hábitat, presupone además un *aislamiento* geográfico suficientemente intenso como para generar una considerable diferenciación genética cualitativa, que se puede favorecer por las barreras geográficas y carencia de *flujo génico* (WESTERBERGH & SAURA, 1994; BORGÉN, 1997). BORGÉN explica la divergencia aloenzimática de *Lobularia canariensis* por el aislamiento y estabilidad del hábitat.

Salvo *P.filifolia* (PF) de Gran Canaria con *tres alelos exclusivos* y *P.schizogynoides* (PS) de la Gomera con uno, en el resto de las poblaciones situadas en las zonas geológicamente más antiguas no se correlacionan los *alelos exclusivos*, *antigüedad del hábitat* y *tiempo evolutivo*. En líneas generales Gran Canaria, con una datación geológica más antigua, presenta la mayor diversificación (cuatro especies y 59 alelos) y el mayor número de *alelos exclusivos* (15), aunque La Gomera (PS) con una datación similar posee una sola especie (25 alelos) y un alelo exclusivo. Sin embargo, Tenerife con una datación en principio más reciente presenta una sola especie (*P.intermedia*) con varias poblaciones (46 alelos) y dos alelos exclusivos, como también La Palma (*P.aridanae*) con una sola especie (27 alelos) y uno exclusivo está situada (en principio) en una zona calificada de reciente.

La aparición de *alelos exclusivos* en poblaciones teóricamente más recientes, como Tenerife y La Palma, según algunos autores, puede ser producto del tiempo transcurrido suficientemente largo para que se produzcan *mutaciones*, o como en el caso de *Silene* en Hawai, los alelos presentes en las poblaciones más recientes, ausentes en las poblaciones más antiguas, pueden haber derivado de variantes alélicas raras (de frecuencia baja) favorecidas por un *efecto fundador* (CRAWFORD, 1989; WESTERBERGH & SAURA, 1994).

4ª) *Flujo génico (Nm) y estructura genética (G_{ST}). Barreras geográficas y alelos compartidos*

La presencia de *flujo génico* entre algunas poblaciones de *Parolinia* que sugieren *intercambio de migrantes* por generación (polen/semillas), se sustenta biológicamente por el gran poder de dispersión de las semillas aladas de *Parolinia* (BRAMWELL, 1986) a pesar de los barrancos, cuya orografía en este caso, no ha constituido al parecer un aislamiento insalvable.

En las poblaciones de *Parolinia* se puede observar una concordancia entre el *flujo génico* y la *diferenciación inter-poblacional (G_{ST})* donde se puede observar el efecto homogeneizante del intercambio de migrantes en las poblaciones coespecíficas. Estos resultados se refuerzan por el test de Mantel que muestra más *flujo génico* entre poblaciones más parecidas mostrando la mayor y más significativa correlación en Gran Canaria donde se hace aún más patente. A nivel específico la escasa *diferenciación inter-poblacional (G_{ST})* dentro de *P.filifolia* (PF) y de *P.ornata* (PO) reflejan la gran cohesión genética entre las poblaciones co-específicas de estas especies y revelan además su carácter fundamentalmente alógamo. Cohesión genética que se mantiene incluso para el conjunto PO-PP y PF-PFCH (población de los Riscos de Chapín no adscrita en principio a ningún taxon).

No ocurre así en *P.intermedia* especie de Tenerife donde la alta *diferenciación inter-poblacional* (G_{ST}), mayor incluso que con las poblaciones de otras especies e islas (PG, PF, PO, PP, PS y PA) pone de manifiesto la poca cohesión entre sus poblaciones y revela además su carácter de especie predominantemente *autógama*, hecho que concuerda con la *tasa más baja de alogamia* obtenida por aloenzimas, que además estaría en consonancia con la inexistencia de *flujo génico* en estas poblaciones, aunque el índice *ISI* y tasa *S* de *autogamia* Capítulo II) según los cruces experimentales las califica como auto-incompatibles (SI) y alógamas.

Aunque la correlación (negativa) entre el *flujo génico* (N_m) y *distancia geográfica* de las 17 poblaciones estudiadas de *Parolinia* es de las más bajas observadas, se pone de manifiesto que entre las poblaciones más alejadas geográficamente se produce menos *intercambio de migrantes*. Esta correlación se acusa más intensamente en Gran Canaria, donde el relieve no parece influir decisivamente.

El *flujo génico* (N_m) parece más importante en la configuración de la *distancia genética* de las poblaciones de *Parolinia*, que el *número de alelos compartidos* (A_c), lo cual señala en Gran Canaria que, los *alelos compartidos* no reflejan siempre con la misma intensidad, los niveles de cohesión genética.

Los *alelos compartidos* entre las 17 poblaciones de *Parolinia* se correlacionan más con la *distancia geográfica* que el *flujo génico*, aunque en Gran Canaria la falta de correlación indica que el alejamiento geográfico no implica menos *alelos compartidos* (aunque cuando se contempla la altitud se observa un aumento). Un ejemplo claro es *P.glabriuscula* cuya población más cercana es *P.platypetala* (PPG) y con la única que acusa *flujo génico*, aunque sin embargo comparte más *alelos* con POA, más alejada geográficamente.

La carencia de *flujo génico* entre algunas poblaciones de *Parolinia* similares, permite pensar que el intercambio genético en algunos casos, puede haber ocurrido en el pasado de forma más intensa que en la actualidad, con vestigios de *flujo génico histórico* que ha propiciado intercambio de migrantes en el pasado entre sectores isleños de configuración morfogeográfica diferente, como está ampliamente documentado también para otras regiones continentales (EHLERS & PEDERSEN, 2000; GRIFFIN & BARRETT, 2004; LEDIG, HODGSKISS & JOHNSON, 2005). De cualquier manera, la estimación indirecta del *flujo génico* obtenida partir de F_{ST} o G_{ST} se debe tomar con precaución ya que no deja de ser un modelo matemático que puede no contemplar la realidad biológica de las poblaciones naturales (SLATKIN, 1994; WHITLOCK & McCAULEY, 1999).

4. PAROLINIA. DIVERSIDAD GENÉTICA Y FILOGENIA MOLECULAR

En las 17 poblaciones de *Parolinia* los resultados del *test de Mantel* entre la *distancia genética* de Nei (1972) y *distancia geográfica* (lineal) se correlacionan significativamente indicando que las poblaciones más alejadas geográficamente lo están también genéticamente, salvo alguna ligera excepción. Para los taxones de Gran Canaria la correlación es mayor y en Tenerife, sin embargo no se observa correlación significativa.

Para configurar la *distancia genética* entre las poblaciones de *Parolinia* se considera más importante el *flujo génico* (N_m) que el *número de alelos compartidos* (A_c) lo cual además de estar de acuerdo con HAMRICK & GODT (1996) indica, sobretodo en Gran Canaria, que los *alelos compartidos* no reflejan con la misma intensidad, los niveles de cohesión genética. Este hecho al mismo tiempo revelaría indicios de un *flujo génico histórico*

en épocas pasadas que quizás se pone de manifiesto cuando no se tiene en cuenta los cambios en las *frecuencias alélicas* que al mismo tiempo denunciarían (fenotipos diferentes) una especiación por intervención de *fuerzas selectivas*.

Relaciones de similitud, distancia genética, taxonomía numérica y árboles Neighbour Joining

En *Parolinia*, la alta *identidad genética* y la escasa *distancia inter-poblacional* de las especie (*P.filifolia* y de *P.ornata*) refleja la gran cohesión entre poblaciones co-específicas (a excepción de *P.intermedia*) en sintonía con otras especies vegetales, así como la identidad entre congéneres, aunque en otras islas estas identidades suelen ser mayores (WITTER & CARR (1988) y CRAWFORD (1989).

Se consolida la cohesión de las poblaciones coespecíficas de *P.ornata* (PO) y *P.filifolia* (PF) a la que se le suma PFCH (población sin adscripción taxonómica) que comparte el 100% de sus alelos con PF integrándose y justificando en principio su adscripción al complejo poblacional de dicha especie. Según todas las técnicas de agrupación (UPGMA y MST) y ordenación (MDS y ACP) y árboles *Neighbour Joining*, que infieren una *aproximación filogenética* a este grupo de poblaciones y especies:

- ***P.filifolia***, con poblaciones muy cercanas al ancestro del género, constituye un conjunto de poblaciones fundamentalmente ubicadas en la zona más antigua de Gran Canaria (ITGE, 1992) menos sujeta a episodios volcánicos posteriores. Aunque el máximo *flujo génico* tiene lugar entre las poblaciones más alejadas geográficamente (PFS-PFT), las poblaciones más cercanas geográficamente (PFS y PFA) comparten el máximo de alelos. Intercambia el mínimo de migrantes (N_m) con POVE y POM (≈ 1).

- En ***P.ornata*** con el máximo *flujo génico* del género (14) entre las poblaciones más cercanas (POS-POV) comparten el máximo de alelos las más alejadas (POM-POS), acorde con su mayor cohesión genética. Presentan también *flujo génico* con PPG (≈ 2.5) y PIT (≈ 1.5) y con POVE, POA y PFI el mínimo (≈ 1).

Se pone de manifiesto la gran afinidad genética entre las poblaciones de *P.ornata* (PO) y ***P.platypetala*** (PP) especie monotípica aislada en el Bco. de Guayadeque (GC) que comparte el máximo de alelos (81%) con *P.ornata* (POS) y también el máximo *flujo génico* con POM (2.6) acorde con la gran cohesión genética de ambas especies. Presentan el mínimo N_m con PGB, POVE y PIT (≈ 1) y no muestran flujo génico con el resto de las poblaciones.

- Se pone de manifiesto el complejo **POVE-POA** ambas sin adscripción taxonómica con gran afinidad genética y notable *intercambio de migrantes* (N_m) que justifica su asociación en todas las técnicas de *taxonomía numérica* y árboles *Neighbour Joining*.

La ausencia de *flujo génico* (N_m) en algunas poblaciones de *Parolinia* podría justificar el aislamiento de:

- ***P.glabriuscula*** (PGB), especie monotípica aislada en la Caldera de Bandama en una de las zonas geológicamente más recientes de Gran Canaria que aunque comparte el máximo % de alelos con POA y PF no acusa *flujo génico* con ellas, sino únicamente con PPG población más cercana geográficamente.

- En ***P.intermedia*** (Tenerife) no se acusa *flujo génico* entre ninguna de sus poblaciones (en zonas relativamente recientes) aunque comparten el mismo % de alelos (86.4%) que con otros congéneres de Gran Canaria (PO) con los que además acusa un flujo mínimo (≈ 1). En el árbol *Neighbour Joining* ocupa la posición más distante respecto al ancestro.

- *P.schizogynoides* (PSA) especie aislada en la isla de La Gomera no acusa *flujo génico* con ninguna población aunque se acerca a PF (Gran Canaria) y PIT con la que comparte el máximo de alelos.

- *P.aridanae* (PAC) especie monotípica aislada en La Palma tampoco presenta *flujo génico* con ninguna población, aunque también comparte el máximo de alelos con PIT.

La presencia de *flujo génico* entre algunas poblaciones de *Parolinia* que sugiere *intercambio de migrantes* (polen/semillas) en cada generación, se sustenta biológicamente por el gran poder de dispersión de las semillas aladas de *Parolinia* (BRAMWELL, 1986) a pesar de los barrancos, cuya orografía en este caso, no ha constituido al parecer un aislamiento insalvable. Este aspecto permite además pensar que el intercambio genético en algunos casos puede haber ocurrido en el pasado de forma más intensa que en el presente.

WITTER & CARR (1988) y CRAWFORD (1989) consideran que se puede alcanzar los mismos niveles de *identidad o distancia genética* por distintas vías que a su vez requieren tiempos diferentes: 1º) de forma más o menos rápida, la divergencia de genes se puede producir desde poblaciones grandes con alta variabilidad genética, desde donde las nuevas poblaciones fundadoras pueden divergir por *deriva* con cambios en las *frecuencias alélicas* ó 2º) por un proceso más lento con acumulación de *mutaciones* en las dos poblaciones (nueva y suministradora).

Por tanto se concluye que el patrón de diferenciación genética observado en taxones de islas no es una característica de los organismos de ecosistemas isleños *per se*, sino que depende de su *historia evolutiva y filogenia* y de la *estructuración de poblaciones*, a su vez íntimamente relacionada y dependiente de los *sistemas de cruzamiento*, lo cual se confirma con carácter generalizado (KARRON, 1987; GITZENDANNER & SOLTIS, 2000) y se refuerza posteriormente para la flora canaria (PÉREZ DE PAZ *et al.*, 2007b).

Diversidad genética y filogenia molecular de *Parolinia*

El análisis de secuencias (ITS1+2) da lugar a 157 árboles parsimoniosos, uno de ellos con 778 pasos, CI=0.56, HI=0.43 y RI=0.69 (JAÉN *et al.*, 2007). El árbol consenso (mayoría) resuelve las relaciones continentales del género *Parolinia*, aunque por la poca resolución, siguen permaneciendo como incógnitas las relaciones inter e intra-insulares del género:

i) Se confirma a los géneros *Diceratella* (NE-África) y *Morettia* (Sáhara y Arabia) como parientes más cercanos calificándolos como *relictos* de un contingente antes más ampliamente distribuido con posibles *extinciones*, o como un caso de *dispersión a larga distancia*.

ii) Se señala la monofilia del género *Parolinia* lo cual explica su presencia en Canarias por un solo evento colonizador.

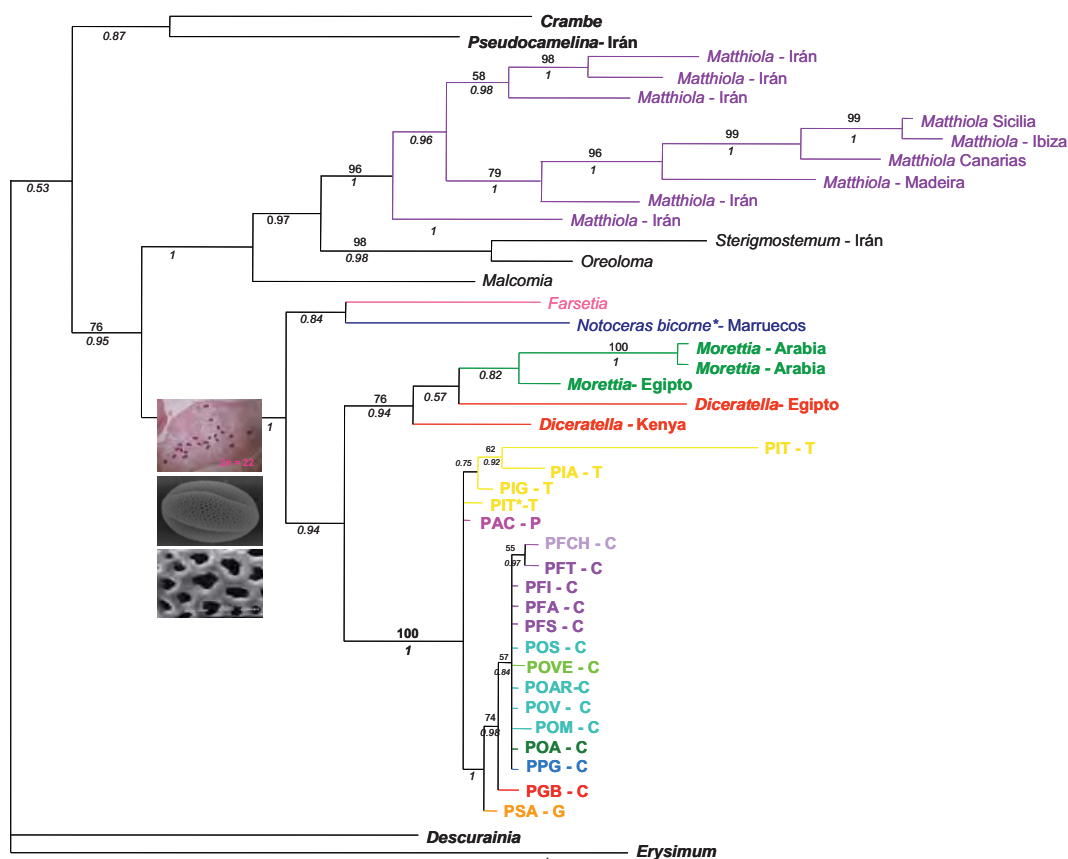
iii) La poca resolución obtenida dentro del género no resuelve las *relaciones inter-intra-insulares* y plantea dudas razonables:

- Por un lado *P.intermedia* de Tenerife (PIT, PIA, PIG) disgrega sus poblaciones en un clado hermano con posición basal, donde al mismo tiempo se disgregan dos muestras de PIT y *P.aridanae* de La Palma (PAC). Queda sin resolver los 15 alelos compartidos exclusivamente con Gran Canaria, con la que además manifiesta *flujo génico* (PIT) y *distancia* de Nei más corta que con sus poblaciones.

- La posición de La Palma (*P.aridanae*) es incierta a pesar de que la D_{NEI} la sitúa cercana a *P.filifolia* (PF) y *P.glabriuscula* (PG) de Gran Canaria. A pesar de no acusar *flujo*

génico con ninguna de las islas, sin embargo comparte *alelos exclusivos* no solo con Tenerife sino también con Gran Canaria y La Gomera, lo que deja abierta la posibilidad de un *flujo génico* histórico.

- El clado de la isla de Gran Canaria con La Gomera (PS) se ve reforzado por la diversidad aloenzimática del género. Las dos islas comparten de forma exclusiva tres alelos y aunque no acusan *flujo génico* entre ellas, la presencia exclusiva de estos alelos, denunciaría también la posibilidad de un *flujo génico histórico* que se reforzaría por el hecho que *P.schizogynoides* (PS) comparte con Gran Canaria 23 de los 25 alelos detectados para la especie.



iv) En Gran Canaria, las poblaciones y especies son monofiléticas y se puede pensar que la presencia en esta isla se explica por una sola introducción. Salvo *P.glabriuscula*, las demás especies (*P.filifolia*, *P.ornata* y *P.platypetala*) se agrupan en un sub-clado con secuencias ITS prácticamente idénticas donde se agrupan especialmente PFT-PFCH reforzada por las aloenzimas que constatan su gran similitud y cohesión.

La secuencia colonizadora inter-insular se presenta compleja y en principio contradictoria. *P.aridanae* (La Palma) y *P.intermedia* (Tenerife) ocupan posiciones de grupos hermanos al clado de Gran Canaria y *P.schizogynoides* (La Gomera) que a su vez es especie basal. Este resultado sugiere que el ancestro llegó a todas las islas y diversificó aisladamente en cada una.

La idea de un patrón de colonización desde el Oeste, es contradictorio al de *diversidad genética aloenzimática*, toda vez que la isla con mucha mayor diversidad y diversificación, se coloniza más recientemente. En cualquier caso, la extinción puede estar jugando un papel distorsionador importante en la colonización inter-insular, con ancestros desaparecidos en la distribución actual de las islas.

Las filogenias moleculares de las floras de islas oceánicas como Canarias a niveles infra-genéricos no suelen quedar bien resueltas con los marcadores utilizados hasta el momento. La falta de variabilidad molecular en las floras isleñas a estos niveles específicos y subespecíficos, posiblemente podría encontrar mejor respuesta, complementando estos estudios infragenéricos con *marcadores moleculares poblacionales* y técnicas de filogeografía (prácticamente inexistentes en la flora canaria) incrementadas además con datos citogenéticos, palinológicos y reproductivos, cuyo significado biológico y evolutivo no es accesible desde la perspectiva exclusivamente molecular.

5. DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA. APLICACIONES A LA CONSERVACIÓN

Probabilidad de pérdida de alelos raros y muestreo

En el test de *probabilidad de pérdida de alelos raros*, se señala ($R=0.189$) que un muestreo intensivo en una población solo representaría el 18.9% del total de alelos raros detectados para el género *Parolinia*. Las repercusión de este test en las aplicaciones a la conservación de especies amenazadas, aconseja un muestreo de por lo menos el 80% de las poblaciones de *Parolinia* (prácticamente casi todas).

Con estos datos se refuerza la hipótesis de que las poblaciones que contienen muchos alelos raros de frecuencia baja responden a una situación común en especies alógamas (GOTTLIEB, 1977).

Estructura genética y muestreo

Los bajos valores de G_{ST} y altos niveles de *flujo génico* detectados para poblaciones co-específicas como *P.filifolia* y *P.ornata* no se corresponden con los elevados niveles de diferenciación genética documentados en la literatura aloenzimática para endemismos canarios (FRANCISCO-ORTEGA, 2000).

En cambio, a diferencia de los taxones anteriores, contrastan los altos valores de G_{ST} y bajos niveles de *flujo génico* para las poblaciones de *P.intermedia* que se justificarían por la distancia geográfica y aislamiento de las tres poblaciones estudiadas y no por la sobre-estimación consecuencia de un muestreo poco representativo que según CAUJAPÉ-CASTELLS (2007 y 2009) sería el caso de algunos de los géneros citados en FRANCISCO-ORTEGA *et al.* (2000). Aunque también asume que no todos los valores de G_{ST} estimados estén sesgados al alza, y que existen numerosas investigaciones donde el muestreo ha sido intensivo y representativo.

Aún así, algunas poblaciones de *P.filifolia* (PFI y PFCH) con muestreo escaso (20 individuos) presentan baja *diferenciación inter-poblacional* demostrando que no siempre un escaso muestreo va acompañado de G_{ST} elevados, sino que puede señalar también una alta cohesión genética que se sustenta además por la identidad y distancia de Nei. En otros endemismos canarios de los géneros *Lobularia* y *Cistus* (BORGAN, 1997; BATISTA *et al.*, 2001) se han observado patrones similares a *P.intermedia* de alta diferenciación *inter-poblacional*, resultados que se sostienen en los UPGMA y el resto de técnicas empleadas. No quiere decir, que en algunos otros grupos de taxones la alta diferenciación genética

documentada para los endemismos canarios pueda estar sobreestimada y pudiera explicarse por muestreos intra-poblacionales sesgados (CAUJAPÉ-CATELLS, 2007 y 2009).

Diferenciación inter-poblacional (G_{ST}) y aplicaciones a la conservación

Con el fin de conocer la variabilidad genética poblacional de las especies y tenerla en cuenta para las estrategias de muestreo en las colecciones *ex situ* de Jardines Botánicos y Bancos de Semillas (conservación *ex situ*), una serie de autores (HAMRICK *et al.*, 1991; CESKA, AFFOLTER & HAMRICK, 1997; CAUJAPÉ-CATELLS, 2008) han propuesto una fórmula orientativa que señalaría el número mínimo de poblaciones necesarias para un muestreo representativo de por lo menos el 95-99% de la variabilidad genética total.

En *Parolinia* cuando se aplica este cálculo sin tener en cuenta la diferenciación taxonómica, solo sería necesario muestrear cuatro poblaciones de las 17 estudiadas. Al aplicar la fórmula teniendo en cuenta la diferenciación taxonómica, para el complejo de *P.filifolia* (PF-PFCH) sería necesario muestrear dos poblaciones, también dos para el complejo PO-PP y para *P.intermedia* sería aconsejable muestrear 7 poblaciones, cuando se da la circunstancia de que solo se han incluido tres en el análisis.

Por tanto, si la suma total de poblaciones a muestrear son 7 teniendo en cuenta las poblaciones por taxones, hay que valorar que en este cómputo total se ha de incluir a *P.glabriuscula*, *P.schizogynoides* y *P.aridanae*, especies en principio monotípicas que además están muy aisladas geográficamente del resto, cuya suma elevaría hasta 10 las poblaciones a muestrear.

Por otro lado, al mismo tiempo que se consideran infravaloradas las cuatro poblaciones aconsejadas que se señalan teniendo en cuenta el conjunto de las 17 poblaciones, habría que destacar que además en el análisis por taxones no se está teniendo en cuenta la posible adscripción como taxones independientes del complejo POA-POVE.

Aún así todavía habría que extremar las precauciones y tener en cuenta que estas valoraciones no dejan de ser estimaciones que no contemplan toda la realidad biológica de las poblaciones naturales *in situ* (SLATKIN, 1994; WHITLOCK & McCAULEY, 1999; CULLEY *et al.*, 2002; CAUJAPÉ-CASTELLS, 2006).

