

HETEROCIGOSIS Y EFICACIA BIOLÓGICA DE 'CALICOTOME VILLOSA' ('FABACEAE') EN EL ESTRECHO DE GIBRALTAR

Fco J. Aguilera Ruiz / P. Muriel Delgado / Dpto. de Biología Vegetal y Ecología. Universidad de Sevilla.

RESUMEN

Se ha estudiado un número de características morfológicas en semillas y plántulas de *Calicotome villosa* en la región de Estrecho de Gibraltar. Se han seleccionado 24 poblaciones (15 en la zona norte del Estrecho y 9 en la zona sur). Dentro de cada población se seleccionaron diez plantas, y en cada una de ellas se estudiaron diez semillas, midiendo el peso y el tamaño de éstas. A continuación, se sembraron cinco al azar y se calculó el porcentaje de germinación de cada población.

El peso, tamaño de semillas, porcentaje de germinación, el peso fresco y seco de las plántulas, número de nodos y número de hojas son variables que potencialmente están asociadas con el vigor o eficacia biológica de las plantas. Los resultados obtenidos se han correlacionado con datos existentes del nivel de heterocigosis de cada una de las poblaciones. El objetivo de este estudio ha sido detectar la existencia, como predicen algunos modelos teóricos, de una relación significativa entre el nivel de heterocigosis y la eficacia biológica en *Calicotome villosa*; siendo aparentemente significativa en el peso y el tamaño de las semillas, el peso fresco y número de nodos de las plantas. Aún así, la relación entre heterocigosis y la eficacia biológica no queda claramente definida con las variables medidas, debido a que algunas relaciones son de signo contrapuesto.

Palabras claves: *Genisteeae*, variabilidad genética, variabilidad fenotípica, semillas, plántulas.

INTRODUCCIÓN

Los organismos producen, normalmente, más descendencia de la que puede soportar el ecosistema en el que viven. Sólo aquellas especies que son buenas competidoras producen lo justo, con respecto a la carga que puede soportar el sistema (Ridley, 1996).

Es ampliamente conocido que el término “selección natural” ha sido usado cada vez con más frecuencia desde Darwin (1859). Dicha selección sólo actúa ante aquellos caracteres que son heredables. La selección favorece a aquellos individuos que poseen la mejor adaptación al medio ambiente en el cual se encuentran (Stansfield, 1984). Para que la selección natural actúe debe cumplirse que:

- Los organismos se reproduzcan para dar origen a una nueva generación.
- Los descendientes deben tender a reemplazar a los parentales.
- Exista variación entre los caracteres individuales dentro de los miembros de la población.
- Exista una variación en la eficacia biológica de los organismos en relación con los caracteres heredados.

La eficacia biológica (“fitness”) se define como el éxito reproductivo relativo; se puede medir, por ejemplo, como el número medio de descendientes dejados por un individuo, en relación con el número medio dejado por la media de la población (Strickberger, 1988). Cuanto mayor sea la variabilidad genética sobre la que la selección pueda actuar, tanto mayor podrá ser el incremento esperado en la eficacia biológica (Strickberger, 1988). Este principio es la base del teorema fundamental de la selección natural de Fisher, que establece, en términos matemáticos, que la eficacia biológica de una población debería incrementarse a un ritmo que es proporcional a la variabilidad genética que hay en la población (Strickberger, 1988).

Según Stansfield (1984) muchos individuos con caracteres recesivos permanecen ocultos en condiciones de heterocigosis, pero conforme la homocigosis aumenta en la población hay una mayor probabilidad de que se manifiesten los caracteres recesivos, muchos de los cuales son perjudiciales. Una de las consecuencias de la endogamia es la pérdida del vigor (es decir, vegetativa y reproductivamente menos productivos), que teóricamente suele acompañar al aumento de la homocigosis. Los cruces entre las líneas endogámicas producen por lo general, una generación híbrida vigorosa. Este incremento de “aptitud” en los individuos heterocigotos ha sido denominado *heterosis*. La variabilidad fenotípica de la generación híbrida es por lo general, mucho menor que la que manifiestan las líneas precursoras endogámicas.

Especies que normalmente usan una amplia variedad de recursos u ocupan ambientes espaciales heterogéneos, no son por lo general más polimórficos que las especies más especializadas (Futuyma, 1986).

Otros estudios sobre el vigor o eficacia biológica se han centrado en la heredabilidad de caracteres, comparando las diferencias genéticas y fenotípicas. En dichos estudios las diferencias morfológicas están claramente identificadas, mientras que las diferencias entre las frecuencias génicas están mucho menos claras. En otras ocasiones, no hay diferencias morfológicas entre los individuos, pero sí existe una diferenciación altamente significativa de las frecuencias génicas (Lewontin, 1984).

Nuestro estudio se centra en *Calicotome villosa* Link. perteneciente a la tribu *Genisteae* (*Fabaceae*) que en su gran mayoría son arbustos espinosos. Esta especie presenta hojas compuesta y posee flores amarillas con una estructura característica: pentámeras, hermafroditas, zigomorfas con la típica morfología papilionácea. Las plantas pueden alcanzar una altura de dos metros y medio, con el tallo densamente veloso y abundantemente ramificado. Son matas de suelos variados que se distribuyen por toda la región mediterránea. En Andalucía vive en el litoral, en la campiña alta gaditana, en la Subbética, Grazalema y Algeciras (véase Domínguez, 1987, para una descripción de la especie). Las poblaciones analizadas están

ubicadas en la zona del estrecho de Gibraltar (zona norte y zona sur), área en la que esta especie forma una parte importante, y frecuentemente dominante, del matorral sobre suelo moderadamente ácido y ligeramente básico, tanto en materiales desprovistos de vegetación arbórea, como en sotobosques de alcornoques (Ojeda, 1995).

El objeto fundamental de nuestro estudio es comprobar la asociación entre la heterocigosis y la eficacia biológica. Para ello partimos de la base de la teoría de la sobredominancia de Stansfield, que afirma que la heterocigosis produce un mayor vigor en el individuo híbrido (Stansfield, 1984), entendiendo que se trata aquí de hibridación intraespecífica.

MATERIAL Y MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDIO

Hemos estudiado 24 poblaciones de esta especie, distribuidas en la zona del estrecho de Gibraltar, la cual está formada por el enfrentamiento de dos pequeñas penínsulas, la gaditana (España) y la tingitana (Marruecos) (véase Hidalgo *et al*, 1996, para la localización de las poblaciones). El estrecho de Gibraltar se localiza a 35°50' - 36°0' de latitud norte; y 5°20' - 6°0' de latitud oeste. El suelo de esta zona está constituido en su mayor parte por materiales derivados de areniscas oligomiocénicas. La zona norte está ubicada mayoritariamente dentro del Parque Natural Los Alcornocales, en las provincias de Cádiz y Málaga. Limita al nordeste con las sierras calizas que constituyen la dorsal Bética. En cuanto a la zona marroquí, comprende el área al norte del Oued loukos y al oeste de la Dorsal calcárea en Marruecos. Las areniscas presentan un modelo espacial más fragmentado (Ojeda *et al*, 1996) y existe en general un mayor nivel de perturbación en la vegetación debido a una mayor intensidad de la ocupación y utilización del suelo por el hombre (Ojeda *et al*, 1996).

MÉTODO DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS

Las poblaciones analizadas son las mismas que ya se utilizaron en un estudio anterior sobre la variabilidad genética de esta especie (véase Hidalgo *et al*, 1996, para su localización y descripción de parámetros genéticos). De cada población se seleccionaron diez plantas y de ellas se tomaron, azarosamente, diez semillas. Éstas últimas se midieron y se pesaron con la ayuda de una lupa binocular, una regleta ($\pm 0,1$ mm) y una balanza de precisión ($\pm 0,001$ gr.). Con los datos recogidos se elaboró una matriz compuesta por 2.400 semillas con sus pesos y tamaños.

Dentro de cada una de las diez plantas de cada población, se separaron cinco semillas (de entre el grupo anterior de diez semillas) para someterlas a germinación. Este proceso se realizó utilizando placas de Petri con una base de papel de filtro humedecidos con agua destilada, donde se depositaron las semillas, que previamente fueron mecánicamente escarificadas con papel abrasivo. Durante tres semanas estuvieron germinando en el invernadero, bajo condiciones de temperatura y humedad controladas, a continuación se obtuvieron los porcentajes de germinación de cada población a partir de conteo directo.

Una vez germinadas las semillas, las plántulas se transplantaron a macetas con una base de turba y perlita, donde crecieron durante dos meses. Transcurrido este tiempo se separaron las plantas individuales. Se midió el peso fresco, el tamaño (desde el hipocótilo hasta el eje apical), el número de nudos, así como el número de hojas y el peso seco de las plantas completas (las muestras se secaron a 60°C durante 48 horas).

Tanto el peso y el tamaño de las semillas como el porcentaje de germinación, el peso seco, el peso fresco, el tamaño, número de nudos y número de hojas de las plántulas, son medidas que deben estar relacionadas con la eficacia biológica de los individuos (las cinco últimas variables fueron medidas en condiciones homogéneas debido a que están directamente relacionadas con el crecimiento de las plantas).

Los valores de heterocigosis (Ho) utilizados son los resultados del estudio previo de Hidalgo *et al* (1996), para cinco loci enzimáticos.

Los análisis estadísticos consistieron en regresiones simples entre las variables de la eficacia biológica y los niveles de heterocigosis, usando para ello el programa informático Statistica (StatSoft, 1997).

RESULTADOS

En la Tabla 1 se incluye la matriz de correlaciones entre las variables de eficacia biológica consideradas para las semillas.

TABLA 1. Valores de las correlaciones entre las variables de la eficacia biológica de las semillas, heterocigosis (Ho) y porcentaje de germinación.

VARIABLES	Peso (x)	Peso (Sd)	Tamaño (x)	Tamaño (Sd)	%Germinación	Ho
Peso (x)	1	0.10	0.71**	-0.23	-0.48*	-0.35
Peso (Sd)		1	-0.04	0.24	0	0.22
Tamaño (x)			1	-0.16	-0.42*	-0.37
Tamaño (Sd)				1	-0.23	0.36
%Germinación					1	0.16
Ho						1

En todos los casos N=24 , *p<0,05; **p<0,01

Según estos resultados, se observa una correlación positiva entre el peso y el tamaño; una correlación negativa entre la heterocigosis y estas dos variables. De la misma manera, se obtuvieron correlaciones negativas entre el porcentaje de germinación y la media del peso, así como con el tamaño.

En la tabla 2 se incluye la matriz de datos de las correlaciones entre las variables consideradas para las plántulas, siendo positivas y significativas las relaciones entre peso fresco y heterocigosis, así como el número de nodos y el valor de la heterocigosis.

TABLA 2. Valores de las correlaciones de las variables de eficacia biológica medidas en las plántulas y la heterocigosis (Ho).

VARIABLES	Peso fresco(X)	Peso seco (X)	Tamaño (X)	Nº nodos	Nºhojas	Ho
Peso fresco(X)	1	-0.10	0.60*	0.53*	0.27	0.79**
Peso seco (X)		1	-0.08	-0.20	-0.05	0.39
Tamaño (X)			1	0.12	-0.05	0.43
Nº nodos				1	0.45	0.63**
Nº hojas					1	0.44
Ho						1

En todos los casos N=16, *, p<0,05, **p<0,01

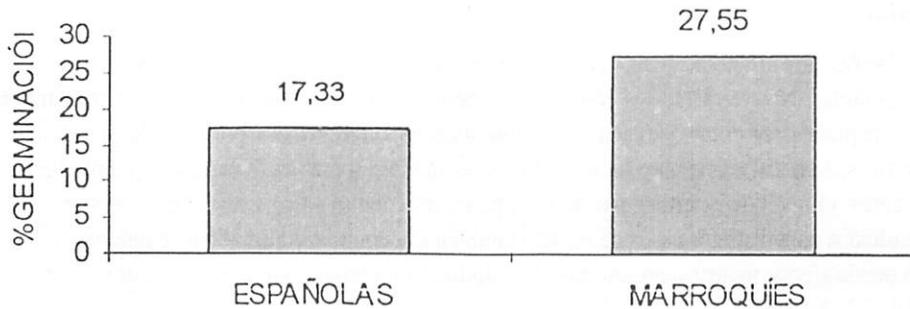


Figura 1. Porcentajes de germinación de las poblaciones españolas y marroquíes.

Los porcentajes de germinación se separaron según el origen de las poblaciones. Estos datos se representan en la figura 1, diferenciándose el origen de las poblaciones.

DISCUSIÓN

En algunos estudios anteriores (Schwaegerle *et al*, 1986; Prentice, 1992) se han encontrado patrones donde la variabilidad genética es responsable de los patrones de distribución geográfica. Pero en otros casos, se ha puesto de manifiesto que no existen diferencias genéticas significativas en relación con los distintos tipos morfológicos (Lewontin, 1984).

En el presente estudio se parte de la hipótesis de que una mayor heterocigosis implica un beneficio adaptativo, reflejándose en la eficacia biológica. Por otro lado muchas de las variables analizadas están a su vez correlacionadas entre sí, como el peso y el tamaño de las semillas, como es esperable.

Otras relaciones encontradas son de explicación más compleja. Así, la correlación negativa entre el porcentaje de germinación, con el tamaño y el peso de las semillas resulta intrigante. Se observa por tanto que hay un aumento de la germinación en aquellas semillas con valores menores de peso y tamaño. Sin embargo el hecho de que germinen más fácilmente y tal vez más rápidamente las semillas más pequeñas, no implica necesariamente una ventaja adaptativa de éstas. Tal vez las semillas mayores tengan una cubierta más gruesa y la escarificación haya sido menos eficaz. En leguminosas la cubierta suele ser muy dura e impermeable, lo que retrasa considerablemente la germinación. Igualmente se ha relacionado tanto la media de los pesos obtenidos como la media de los tamaños con la heterocigosis. Los resultados nos muestran que se produce un correlación negativa en estos análisis. La relación negativa no es la que en un principio se esperaba, puesto que altos valores de las variables que representan a la eficacia biológica deberían corresponderse con una mayor heterocigosis.

En cuanto a los resultados obtenidos con las plántulas, se observa una correlación positiva entre el peso fresco y heterocigosis (Tabla 2). En cuanto al peso seco, como se observa en la Tabla 2, no existe una correlación significativa. Todas las correlaciones entre heterocigosis, tamaño y peso fresco de las plántulas son positivas, aunque el nivel de significación varía. En particular resultan significativas las correlaciones con el peso fresco y el número de nodos. Esta respuesta variable es esperable debido a que no todas las fases del desarrollo de las plantas tienen por qué mostrar de la misma forma la eficacia resultante del vigor híbrido, si lo hay. Debe analizarse la respuesta de la planta completa durante todo el ciclo biológico, lo que obliga a extender en el tiempo las fases a analizar. Por lo tanto, nuestras suposiciones de partida deberían ser contrastadas con otros trabajos y con el estudio de otras variables morfológicas durante más tiempo.

CONCLUSIONES

El estudio de la relación entre la heterocigosis y la eficacia biológica ha sido objeto de estudio frecuentemente, encontrándose resultados muy variables. Normalmente los efectos de la heterocigosis se estudian indirectamente, tras realizar cruces experimentales entre plantas con dotaciones genéticas supuestamente diferenciadas, por ejemplo, provenientes de diferentes distancias geográficas. Aún así, no siempre se obtienen los resultados esperables (Véase por ejemplo Small & Lefkovich, 1986). En otros casos, el nivel de heterocigosis no se supone, sino que se calcula con marcadores génicos, como en este estudio, y los resultados para distintos casos de estudio también son controvertidos. Aquí se muestra que esta variabilidad de los resultados pueda afectar incluso a un solo caso de estudio, *Callicotome villosa*, que muestra distintos resultados para distintas fases del ciclo reproductivo.

Agradecimientos

Queremos agradecer a Juan Arroyo por proporcionarnos el material necesario y todos sus consejos para realizar este trabajo, aunque ello supuso trabajar como auténticos “esclavos” dejándonos la vista en ello. También queremos agradecerle su ayuda a Fernando, Begoña, Mónica, M^a Ángeles, Raquel y Maru.

Este informe es el resultado del trabajo voluntario de la asignatura de Geobotánica de quinto curso de la Licenciatura de Biología, impartida por el Departamento de Biología Vegetal y Ecología de la Universidad de Sevilla durante el curso 1998-99.

BIBLIOGRAFÍA

- DARWIN, C., (1859). *The Origin of Species by Means of Natural Selection*, 1 st edn. John Murray, London.
- DOMÍNGUEZ, E., (1987). *Calicotome*. En B. Valdés, S. Talavera & E. Fernández Galiano (eds.). *Flora vascular de Andalucía Occidental*, vol. 2. Ketres, Barcelona.
- FUTUYMA, D. J., (1986). *Evolutionary biology*, second edition. Sinauer Associated, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts.
- HIDALGO, R., J. MUÑOZ & J. ARROYO, (1996). “Aplicación de la electroforesis de enzimas para la evaluación de la diversidad de plantas: el caso del jergón (*Callicotome villosa* Link.) a través del Estrecho de Gibraltar”. *Almoraima* 15:223-231.
- LEWONTIN, R. C., (1984). “Detecting population differences in quantitative characters as opposed to gene frequencies”. *American Naturalist* 123: 115 - 124.
- LONN, M., & PRENTICE, H. C., (1995). “The structure of allozyme and leaf shape variation in isolated, range-margin populations of the shrub *Hippocrepis emerus* (Leguminosae)”. *Ecography* 18: 276-285.
- OJEDA, F., (1995). *Ecología, biogeografía y diversidad de los brezales del Estrecho de Gibraltar (Sur de España, Norte de Marruecos)*. Tesis Doctoral, Universidad de Sevilla.
- OJEDA, F., T. MARAÑÓN & J. ARROYO, (1996). “Patterns of ecological, chorological and taxonomic diversity at both sides of the Gibraltar Strait”. *Journal of Vegetation Science* 7:63-72.
- PRENTICE, H. C., (1992). “The structure of morphometric and allozyme variation in relic populations of *Gypsophila fastigiata* (Caryophyllaceae) in Sweden”. *Biological Journal of the Linnean Society*, 47: 192- 216.
- RIDLEY, M., (1996). *Evolution*. Blackwell, Science.
- SCHWAEGERLE, K. E., GARBUTT, K. & BAZZAZ, F. A., (1986). “Differentiation among nine population of *Phlox*. I. Electrophoretic and quantitative variation”. *Evolution* 40: 506-517.
- SMALL, E. & L. P. LEFKOVITCH, (1986). “Relationships among morphology, geography, and fertility in *Medicago*”. *Canadian Journal of Botany* 64: 45-52.
- STANSFIELD, W. D., (1984). *Genética*, segunda edición. McGRAW-HILL. México.
- STATSOFT Inc., (1997). *Statistica for Windows* (v.5.1), Tulsa.
- STRICKBERGER, M. W., (1985). *Genética*, tercera edición. Eds. Omega. Barcelona.
- VALDÉS, B., TALAVERA, S. & FERNÁNDEZ-GALIANO, E., (1987). *Flora Vasculosa de Andalucía Occidental*. Ketres. Barcelona.