

ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA EN POBLACIONES DE PINSAPO (*ABIES PINSAPO* BOISS.). EVALUACION DE LOS RECURSOS GENÉTICOS

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

Dpto. de Genética. Facultad de Ciencias. UNIVERSIDAD DE GRANADA. C/ Severo Ochoa s/n. 18071-GRANADA (España)

Resumen

En este trabajo se ha evaluado, mediante técnicas electroforéticas, el nivel de variabilidad genética existente en las poblaciones españolas y marroquíes de *Abies pinsapo*. Se explica la baja variabilidad encontrada en todas las poblaciones, y se establecen posibles estrategias de conservación y utilización de los escasos recursos genéticos de la especie para futuros programas de reforestación.

P.C.: *Abies*, Isoenzimas, Variabilidad, Recursos genéticos

Abstract

Genetic variability of Spanish and Moroccan populations of *Abies pinsapo* has been estimated by electrophoretic methods. Low diversity of all populations is explained. Possible systems are defined for preservation and use of scarce gene-resources of this species for future reforestation programs.

K.W.: *Abies*, Isozymes, Variability, Gene-resources

INTRODUCCION

Abies pinsapo Boiss. es un abeto perteneciente a la familia Pinaceae, endémico del Sur de España y norte de Marruecos. En España se encuentran tres poblaciones principales:

- Sierra de las Nieves (Málaga), con 1500 Has.
- Sierra Bermeja (Málaga), con unas 50 Has.
- Sierra del Pinar en Grazalema (Cádiz), de 300 Has.

Aparecen manchas pequeñas o individuos aislados en algunos puntos cercanos a estos núcleos principales. En las montañas del Rif de Marruecos se encuentran dos poblaciones, descritas como variedades, (FARJON, 1990):

- Jbel Tissouka, var. *marocana*, con 2500 Has aproximadamente.
- Jbel Tazaot, var. *tazaotana*, con 1500 Has.

El pinsapo es una especie orófila, generalmente localizada a partir de los 1000 mts. de altitud y hasta los 2000-2100 en Marruecos, en los pisos bioclimáticos meso y supramediterráneos, con ombroclima húmedo o hiperhúmedo (precipitaciones superiores a

1000 mm).

Una de las características de la especie, que hace interesante e incluso necesario un estudio genético, es la de ser un endemismo con área de distribución muy reducida, con poblaciones aisladas y en algunos casos en estado de regresión. El análisis genético mediante el estudio del polimorfismo enzimático permite hacer una estima cuantitativa de la variabilidad genética dentro de la especie; una vez conocida dicha diversidad se puede aclarar si además de la acción antrópica existen otras razones de índole biológica que expliquen la relictica situación del pinsapo, como pueden ser accidentes históricos, fecundidad de la especie, sistema de cruzamiento o poblaciones de pequeño tamaño sobre las que actúa la deriva genética erosionando parte de los recursos genéticos de la especie, (MITTON, 1983).

El conocimiento de la estructura genética es importante para la preservación de los recursos genéticos, mejora y programas de reforestación.

MATERIAL Y METODOS

El material objeto de estudio han sido las semillas, tanto el megagametofito o tejido de reserva, de carácter haploide (n), como el embrión diploide (2n). Se han estudiado 6 megagametofitos por individuo para determinar su genotipo. La comparación entre el embrión diploide y el endospermo nos ha servido para estudiar la migración del polen y el sistema de cruzamiento.

La recogida de estróbilos maduros se realizó al azar en todas las poblaciones naturales y así mismo se muestreó una población artificial en la Sierra de la Alfaguara (Granada). El nº de individuos analizados en cada población es el siguiente:

- Jbel Tissouka.	114	árboles.
- Jbel Tazaot.	102	"
- Sierra de las Nieves	104	"
- Sierra del Pinar	114	"
- Sierra Bermeja	64	"
- Sierra de la Alfaguara	26	"

El método utilizado ha sido el análisis de isoenzimas mediante técnicas de electroforesis en gel de almidón, (CHELIAK & PITEL, 1984).

El estudio se ha llevado a cabo con 15 sistemas enzimáticos analizados en 4 tampones de electroforesis diferentes:

- Tampón Morfolina pH 6.1, con las siguientes enzimas: MDH, LAP, IDH.
- Tampón Tris-Histidina pH 7.0, con la ME, ACO, 6PGD, SKDH, DIA, ADH.
- Tampón LiOH pH 8.1 8.3, con la PGI, GDH, PGM, TPI.
- Tampón Tris-Citrato pH 8.0 8.8, con la GOT, G6PD.

El tampón de extracción utilizado para homogenizar los tejidos ha sido un tampón Fosfato 0.2 M a pH 7.5.

RESULTADOS Y DISCUSION

La interpretación de los patrones de bandas o zimograma de los 15 sistemas enzimáticos nos ha permitido identificar 31 loci estructurales y 1 modificador (Tabla 1).

De los 32 loci totales 18 son monomórficos en todas las poblaciones, es decir, presentan un sólo alelo:

ACO, ADH, DIA-1, DIA-2, DIA-3, ME-1, ME-2, GDH, GOT-1, G6PD-2, IDH-2, MDH-2, 6PGD-1, 6PGD-2, PGI-1, PGM-2, SKDH-2 y TPI-1.

Los restantes 14 loci son variables presentando 2 o más alelos por locus en al menos una población. Se han calculado las frecuencias alélicas de estos loci variables en todas las poblaciones. En base a estos datos se ha hallado la variabilidad existente en las distintas poblaciones utilizando para ello 3 parámetros:

- **Polimorfismo:** % de loci polimórficos, considerando un loci polimórfico aquel cuyo alelo más frecuente tiene una frecuencia no mayor del 0.990.
- **Riqueza alélica:** Media del nº de alelos por locus.
- **Heterocigosis:** frecuencia media de individuos heterocigotos; en este caso se utiliza tanto la observada (conteo directo) como la esperada (calculada con las frecuencias alélicas como si la población estuviera en equilibrio de Hardy-Weinberg).

Para el cálculo de estos parámetros se ha utilizado el programa informático BIOSYS-1 (SWOFFORD & SELANDER, 1989), mostrándose los resultados en la Tabla 2.

De la tabla nº 2 se deduce que la variabilidad genética de todas las poblaciones de *Abies pinsapo* es muy baja en comparación con la mayoría de coníferas, que como grupo son uno de los más variables de entre todas las especies, con altos niveles de heterocigosis (media=0.270), (HAMRICK & MITTON, 1979), (HAMRICK, 1983), (CHELIAK ET AL, 1985), (STRAUSS, 1986); esta media es cuatro veces superior a la de la población con valor más alto, Jbel Tazaot con $H_e=0.071$. Las coníferas presentan esa alta variabilidad al tratarse de plantas de larga vida, tener una distribución amplia, polinización por el viento y elevada fecundidad. Sin embargo existen casos, como *Pinus torreyana* o *Pinus resinosa*, con bajo nivel de variabilidad, que parece ser debida a una distribución geográfica muy restringida en el primer caso (LEDIG & CONKLE, 1983), y a un cuello de botella (reducción drástica del nº de individuos de la población y expansión de la misma a partir de unos pocos) en el segundo, (FOWLER & MORRIS, 1977).

La causa de esta baja variabilidad que creemos afecta al pinsapo es la **deriva genética**, que erosiona los recursos genéticos actuando más rápidamente en poblaciones pequeñas. No obstante el alto índice de alogamia que presenta esta especie ha impedido un mayor déficit en la diversidad de las poblaciones.

Se observa que las poblaciones marroquíes presentan un valor de heterocigosis un poco mayor que las españolas, quizás debido a su mayor extensión. Por otra parte, es de destacar que la población española más extensa, Sierra de las Nieves, presenta la heterocigosis más baja, probablemente causada por un cuello de botella producido por un incendio que asoló las faldas sudorientales de dicha Sierra, en el término de Yunquera, a finales de los años 30, observándose como laderas enteras están pobladas de individuos más o menos jóvenes originados a partir de árboles más viejos que sobrevivieron al incendio.

En comparación con las poblaciones naturales no se aprecia una disminución de la variabilidad en la población artificial de Sierra de la Alfaguara (Granada), debido probablemente a que el alto índice de alogamia posibilita el mantenimiento del grado de polimorfismo en las semillas recolectadas para realizar la repoblación.

Para la conservación de la especie y el mantenimiento de sus restringidos recursos genéticos proponemos las siguientes medidas:

1. La reforestación del área potencial del pinsapo, especialmente en las sierras actualmente deforestadas pero que probablemente en épocas pasadas estuvieron cubiertas de pinsapares (Sierra del Endrinal, Sierra de Líbar, Sierra Blanquilla, Sierra del Oreganal, Sierra Palmitera, Sierra Real, Sierra Blanca, etc...). De esta forma, aprovechando el sistema de polinización eólico de la especie, se puede facilitar el flujo génico entre las poblaciones principales lo cual ayuda al mantenimiento de la variabilidad genética.

2. Creación de un banco de germoplasma que permitiera la recuperación de las

poblaciones en caso de catástrofes naturales como son los incendios e infecciones de hongos patógenos, ambas frecuentes en el área de distribución del pinsapo.

3. La recolección de las semillas tanto para la reforestación como para la formación de un banco de germoplasma debe de realizarse de forma que se mantenga los recursos genéticos intactos.

BIBLIOGRAFIA

- CHELIAK, W.M. & PITEL, J.A. (1984). *Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species*. Canadian Forestry Service.
- CHELIAK, W.M., DANCİK, B.P., MORGAN, K., YEH, F.C.H. & STROBECK, C. (1985). Temporal variation of the mating system in natural population of jack pine. *Genetics* 109: 569-584.
- FARJON, A. (1990). *Pinaceae*.
- FOWLER, D.P. & MORRIS, R.W. (1977). Genetic diversity in red pine: evidence for low genic heterozygosity. *Can. J. For. Res* 7: 343-347.
- HAMRICK, J.L. (1983). The distribution of genetic variation within and among natural plant populations. In: *Genetics and Conservation*, Begamin, Cummings Publishing co., Inc. London 335-348.
- HAMRICK, J.L., MITTON, J.B. & LINHART, Y.B. (1979). Levels of genetic variation in trees: Influence of life history characteristics. *Symp. on isozymes of North American Forest Trees* :35-51.
- LEDIG, F.T. & CONKLE, M.T. (1983). Gene diversity and genetic structure in a narrow endemic, Torrey pine (*Pinus torreyana* Parry ex Carr.). *Evolution* 37: 79-85.
- MITTON, J.B. (1983). Conifers. *Isozymes in Plant Genetics and Breeding*: 443-473.
- STRAUSS, S.H. (1986). Heterosis at allozyme loci under inbreeding and crossbreeding in *Pinus attenuata*. *Genetics* 113: 115-134.

Enzima	Abrev	Nº EC	Nº Loci Observados
Aconitasa	ACO	4.2.1.3	1
Alcohol deshidrogenasa	ADH	1.1.1.1	1
Diaforasa	DIA	1.6.4.3	4
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	G6PD	1.1.1.49	2
Glutamato deshidrogenasa	GDH	1.4.1.2	1
Glutamato oxalacetato transaminasa	GOT	2.6.1.1	3
Isocitrato deshidrogenasa	IDH	1.1.1.42	2
Leucil amino peptidasa	LAP	3.4.11.1	2
Malato deshidrogenasa	MDH	1.1.1.37	2
Enzima málico	ME	1.1.1.40	2
6-Fosfogluconato deshidrogenasa	6PGD	1.1.1.44	3
Fosfoglucosa isomerasa	PGI	5.3.1.9	2
Fosfoglucomutasa	PGM	2.7.5.1	2
Siquimato deshidrogenasa	SKDH	1.1.1.25	2
Triosa fosfato isomerasa	TPI	5.3.1.1	2

Tabla nº 1. Sistemas enzimáticos analizados.

Población	Heterocigosis		nº P	Nº medio de alelos/locus
	Observada	Esperada HdyWbg		
JBEL TISSOUKA	0.057 (.024)	0.065 (.028)	21.88	1.31 (0.10)
JBEL TAZAOT	0.068 (.028)	0.071 (.029)	18.75	1.25 (0.10)
S. NIEVES	0.046 (.019)	0.050 (.021)	21.88	1.31 (0.10)
S. DEL PINAR	0.063 (.024)	0.062 (.024)	28.13	1.31 (0.10)
S. BERMEJA	0.052 (.022)	0.061 (.026)	15.63	1.22 (0.10)
S. ALFAGUARA	0.063 (.024)	0.063 (.024)	21.88	1.22 (0.10)
Media	0.058 (.023)	0.062 (.025)	21.36	1.27 (0.10)

Tabla nº 2. Parámetros de variabilidad genética.

CONGRESO
FORESTAL ESPAÑOL
Lourizán 1993

PONENCIAS Y COMUNICACIONES

PONTEVEDRA, 14 al 18 Junio de 1993

TOMO II

Mesa Temática II. El Monte Productor

Edición Científica a cargo de

Francisco Javier Silva-Pando y Guillermo Vega Alonso