

Determinación de las unidades evolutivamente significativas en *Polygonum balansae* var.

Miguel Angel González Pérez*, Francisco Batista, Elizabeth Rivero, Milena Polifrone y Pedro A. Sosa,
Departamento de Biología. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 35017 Las Palmas. Islas Canarias.

INTRODUCCION

Descripción

Polygonum balansae var. *tectifolium* es una planta rizomatosa de hasta 50 cm de largo, de color castaño, mientras *Polygonum maritimum* es una planta perenne con tallos decumbentes de 10 a 50 cm. Ambas especies son típicas de la vegetación halófila-psamófila de Canarias, la primera se encuentra en Tenerife y Gran Canaria, mientras *P. maritimum* está presente en Lanzarote, Fuerteventura, Gran Canaria y La Palma. *Polygonum balansae* resulta ser un taxón conflictivo puesto que se han utilizado las mismas localidades para su descripción que para *Polygonum maritimum*.



MATERIAL Y MÉTODOS

Muestreo

91 individuos pertenecientes a 5 poblaciones de *Polygonum maritimum* y una de *Polygonum balansae* var. *tectifolium* fueron muestreadas y conservadas en silicagel hasta su posterior análisis.

RAPD

La extracción y purificación del ADN se llevó a cabo mediante Kit comerciales (Nucleon Phytopure-Amersham Biosciences, QIAquick PCR Purification-QIAGEN). Las amplificaciones se realizaron en placas de 96 pocillos en los que se cargaron 20ng de ADN, 23 µl ReddyMix PCR Master Mix (AB-0619/LD, AB-gene®, 0.25 µl BSA (0.4%) y 1 µl del oligonucleótido (OPERON). Las muestras eran sometidas a 45 ciclos de amplificación: 94°C (30"), 36°C (30") y 72°C (1"), seguido de 4°C (Hold). Los productos de amplificación fueron separados mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.8%, y visualizados con luz ultravioleta (λ=302 nm). El patrón de bandedo fue interpretado con ayuda del programa

TAXON	ISLA	POBLACION	N	H (SHANNON)
<i>Polygonum maritimum</i>	LANZAROTE	Punta Prieta-Punta del Palo	14	0.2060
		Caletón Blanco	11	0.1854
		Playa de La Cantería	8	0.2922
		Caleta de Famara	11	0.3030
	FUERTEVENTURA	Lobos (Playa de La Concha)	9	0.1741
<i>Polygonum balansae</i> var. <i>tectifolium</i>	TENERIFE	El Médano	38	0.2321

Tabla 1. Poblaciones analizadas e índice de variabilidad genética (índice de Shannon) de *Polygonum balansae* var. *tectifolium* y *Polygonum maritimum*. N: Número de individuos analizados.

Análisis de datos

La matriz de datos de presencia/ausencia de bandas se introdujo en el software Transformer 3b.01 (Caujape Castells & Baccarani Rosas 2005), el cual permitió exportar esos datos a diferentes programas donde se calculó la diversidad genética (Índice de Shannon-POPGEN 3.2-Yeh et al. 1997), el AMOVA (Arlequín-Schneider et al. 2000), análisis de componentes principales (SPSS) y el dendrograma UPGMA basado en la distancia genética de Nei 1978 (NTSYS 1.32-Rohlf 1988). Se utilizó el programa STRUCTURE 2.2 (Pritchard et al. 2000) para determinar la estructura poblacional. La estructura poblacional fue inferido usando un agrupamiento Bayesiano mediante el programa STRUCTURE (Pritchard et al. 2000), diseñado para identificar las K poblaciones (desconocido) de origen de los individuos analizados y asignar los individuos simultáneamente a las poblaciones. El valor de K más probable es determinado comparando la probabilidad de los datos para diferentes valores de K asumidos. Las poblaciones y los individuos fueron asignados a un grupo

Variación	g.d.	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de la variación
LANZAROTE [P. maritimum]				
Entre poblaciones	3	18.622	0.27302 Va	7.64
Dentro de las poblaciones	39	128.680	3.29949 Vb	92.36
Total	42	147.302	3.57250	
Índice de diferenciación (F_{ST})	0.0764			
TODAS LAS POBLACIONES [P. maritimum -P. balansae]				
Entre poblaciones	5	45.954	0.42529 Va	11.04
Dentro de las poblaciones	84	287.768	3.42581 Vb	88.96
Total	89	333.722	3.85110	
Índice de diferenciación (F_{ST})	0.1104			

Tabla 2. Resultado del análisis de AMOVA entre las poblaciones de *Polygonum* analizadas

RESULTADOS

Nivel de variabilidad genética

Los 9 cebadores utilizados en las reacciones de amplificación generaron 109 fragmentos. La población de *Polygonum balansae* del Médano, en Tenerife, presentó más del doble de diversidad genética que la encontrada en la mayoría de las poblaciones de *Polygonum maritimum* (Tabla 1), siendo la población de Caleta de Famara (Lanzarote) la que mayor diversidad presentó

Grado de Diferenciación Genética

El análisis de AMOVA muestra que las cuatro poblaciones de *Polygonum maritimum* de Lanzarote se encuentran escasamente diferenciadas (Tabla 2). Sólo el 7.64% de la variación genética encontrada es debido a las diferencias interpopulacionales. Este porcentaje de variación aumenta sólo hasta el 11%, (un incremento de sólo un 3.36%) si realizamos el análisis AMOVA para todas las poblaciones en estudio, lo cual significa incorporar artificialmente la población de *P. balansae* de Tenerife a las anteriores. Esto significa que independientemente de la jerarquía taxonómica o de la isla de origen el coeficiente de diferenciación genética interpopulacional se ve escasamente alterado, reflejando en apariencia, pocas diferencias entre los dos taxones analizados (Tabla

Taxon	Población	P. Prieta (L)	C. Blanco (L)	Pl Cantería (L)	Famara (L)	Lobos (F)
<i>P. maritimum</i>	C. Blanco (L)	0.04256	*****			
	P. Cantería (L)	0.06532	0.09822	*****		
	Famara (L)	0.09858	0.14230	0.00067	*****	
	Lobos (F)	0.25284	0.43070	0.15530	0.10541	*****
<i>P. balansae</i>	El Médano (T)	0.07280	0.18670	0.03581	0.07058	0.07204

Tabla 3.- Matriz de coeficiente de diferenciación genética (F_{ST}) entre las poblaciones analizadas de *Polygonum*. L: Lanzarote; F: Fuerteventura; T: Tenerife..

Los valores de F_{ST} para cada par de poblaciones muestran que la mayor diferencia genética se detecta entre la población de Caletón Blanco (*P. maritimum*) y el islote de Lobos (*P. maritimum*), con $F_{ST} = 0.4307$, siendo por otro lado el valor más bajo detectado entre, entre las poblaciones de Playa de la Cantería y Caleta de Famara, ambas en Lanzarote, y ambas pertenecientes a *P. maritimum*. El resto de las comparaciones ofrece un rango de valores amplio que oscilan entre 0.2528 (Punta Prieta, Lanzarote, Fuerteventura; *P. maritimum*) y 0.0358 (Playa Cantería, Lanzarote, *P. maritimum* Médano, Tenerife, *P. balansae*) (Tabla 3).

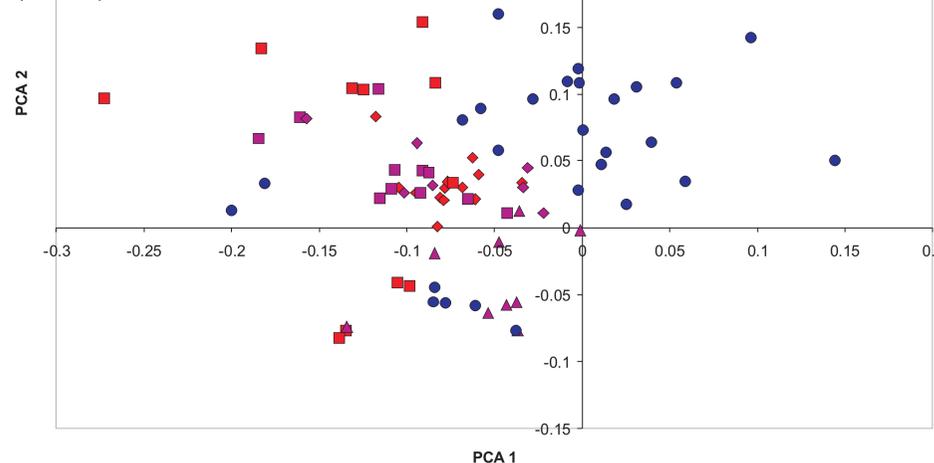


Figura 1. Análisis de Componentes Principales (PCA) de los individuos de *Polygonum* estudiados en el presente trabajo.

El análisis individualizado (PCA) muestra igualmente la escasa separación genética entre las poblaciones naturales (y taxones) estudiados, ya que la mayor parte de los individuos se superponen en la representación espacial establecida (Figura 1).

La probabilidad de agrupamiento de los individuos en el análisis bayesiano fue máxima cuando se asumió $K=2$, sugiriendo que los individuos analizados pueden asignarse a dos grupos (Tabla 4). En este sentido, las poblaciones de *P. maritimum* de Lanzarote fueron asignados al grupo I, mientras que la población *P. balansae* fue asignada al conjunto II. Por otro lado, la población de Lobos, compartía ancestro de ambos grupos, sugiriendo una distribución heterogénea y una estrecha relación entre ambos taxones.

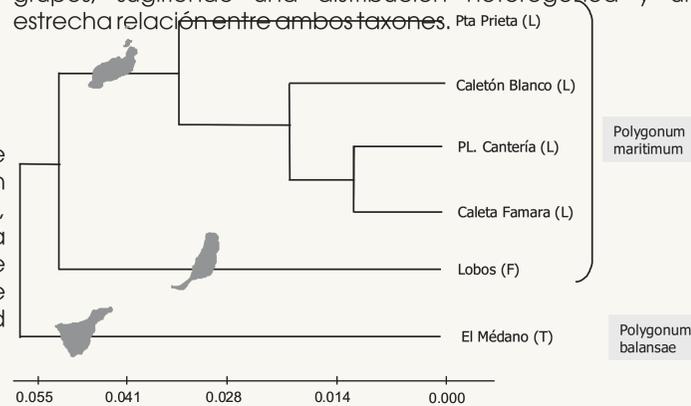


Figura 2.- Dendrograma UPGMA de las poblaciones de *Polygonum* basado en la Distancia de Nei (1978).

TAXON	POBLACION	Grupo	
		I	II
<i>Polygonum maritimum</i>	Punta Prieta-Punta del Palo (L)	0.892	0.108
	Caletón Blanco (L)	0.967	0.033
	Playa de La Cantería (L)	0.728	0.272
	Caleta de Famara (L)	0.930	0.070
	Lobos (F)	0.660	0.340
<i>Polygonum balansae</i> var. <i>tectifolium</i>	El Médano (T)	0.249	0.751

Tabla 4.- Análisis de agrupamiento Bayesiano de los individuos de *Polygonum balansae* var. *tectifolium* y *P. maritimum* estudiados usando STRUCTURE vs. 2.2. La tabla muestra la proporción de asignación (qi) de cada población predefinida en cada uno de los dos grupos inferidos.

CONCLUSIONES

- Existe una muy estrecha relación genética entre ambos taxones.
- Las poblaciones de Lanzarote pueden ser consideradas como una Unidad Evolutivamente Significativa.
- Así mismo, la población de Lobos (*P. maritimum*) puede ser considerada como una Unidad Evolutivamente Significativa, independiente de las poblaciones de

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por el proyecto BIOTA-GENES (INTERREG IIB) de la Viceconsejería de Medio Ambiente del Gobierno de Canarias.

REFERENCIAS

- Caujapé-Castells, J. & M. Baccarani-Rosas (2005). Transformer-3b.01: a program for the population genetic analysis of dominant and codominant molecular data. Jardín Botánico Canario Viera y Clavijo. Cabildo de Gran Canaria.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 155, 945-959.
- Rohlf, F.J. 1993. Ntsys-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, version 1.80. Applied Biostatistics.
- Schneider S., D. Roessli & L. Excoffier. 2000. Arlequin: a software for population genetic analysis ver. 2000. Genetics and Biometry Lab Dept. of Anthropology. University of Geneva.
- Yeh FC, Yang RC, Boyle T, Ye ZH, Mao JX (1997) popgene, the User-Friendly Shareware for Population Genetic Analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada