

# Anàlisi de la diversitat genètica de la població alt-garrotxina de *Dichoropetalum schottii* (Apiaceae). Significació biogeogràfica

M. CARMEN MARTINELL\*, JORDI LÓPEZ-PUJOL\*\*, MOISÉS SOTO\*\*\*, ANA ROVIRA\*, JOAN SIMON\* MARIA BOSCH\* & CÈSAR BLANCHÉ\*

\*BioC-GReB, Institut de Recerca de Biodiversitat, Laboratori de Botànica, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona, Av. Joan XXIII s/n, 08028 Barcelona

\*\*BioC-GReB, Institut Botànic de Barcelona (CSIC-ICUB), Passeig del Migdia, s/n, 08038 Barcelona

\*\*\*Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo", Ap. de correos 14 de Tafira Alta, 35017, Las Palmas de Gran Canaria

*jlopez@ibb.csic.es*

Rebut: 13.12.2010  
Acceptat: 29.12.2010

## Resum

En el marc del projecte CGL2007-60475/BOS, s'han estudiat els nivells de diversitat al·loenzimàtica de l'única població ibèrica de *Dichoropetalum* (= *Holandrea* = *Peucedanum*) *schottii*, situada a la Mare de Déu del Mont (Alta Garrotxa), de mida poblacional reduïda (c. 250 individus) i qualificada com a CR segons les categories UICN (2001), i es comparen amb els obtinguts de tres altres poblacions pirinenques.

D'entre tots els individus estudiats al Mont, s'ha identificat un total de 10 genotips multi-locus diferents. Els paràmetres de variació genètica ( $P_{99}$ ,  $A$ ,  $H_e$ ) per a 8 loci indiquen valors més baixos a la població alt-garrotxina (25,0; 1,37; 0,100, respectivament) que no pas a la resta de poblacions dels Pirineus (37,5-50; 1,50; 0,112-0,134), congruents amb la més petita mida poblacional i amb la situació marginal excèntrica respecte a una àrea de distribució d'afinitats montanes mediterraneo-orientals.

A partir de l'estudi de l'estructuració de la diversitat a poblacions de tota l'àrea de distribució (incloent-hi poblacions dels Alps marítics, de la regió del Carst a Itàlia/Eslovènia i de la serralada del Pindus, al N de Grècia) es conclou que el nucli pirinenc en conjunt pot ser distingit com una fracció significativa de la variació genètica, amb presència d'al·lels privats i d'origen relativament recent, a partir d'una estirp procedent de les muntanyes mediterrànies orientals.

Es proposa la pertinença de la població alt-garrotxina a una unitat funcional de conservació constituïda pel conjunt de poblacions pirinenques del qual constitueix un nucli extrem empobrit, al límit dels llindars mínims de mida poblacional viable; finalment, es suggereixen una sèrie de mesures de conservació, tant *in situ* com *ex situ*.

**Paraules clau:** Alta Garrotxa, conservació, diversitat al·loenzimàtica, flora amenaçada, Pirineus, unitats funcionals de conservació.

## Abstract

As a part of the CGL2007-60475/BOS research project, we have studied allozyme diversity levels of the only Iberian population of *Dichoropetalum* (= *Holandrea* = *Peucedanum*) *schottii*, which is located in the Mare de Déu del Mont (Alta Garrotxa) and is regarded as CR according to the IUCN (2001) categories. Levels of genetic diversity of this population are further compared with those of other three Pyrenean populations.

A total of 10 multilocus genotypes have been identified within the Iberian population. Parameters of genetic variation ( $P_{99}$ ,  $A$ ,  $H_e$ ) for 8 loci show lower values for this population (25.0; 1.37; 0.100, respectively) than for the remaining Pyrenean populations (37.5-50; 1.50; 0.112-0.134), in congruence with small population size and marginal excentric situation in relation with a distribution area of E Mediterranean montane affinities.

By examining the population genetic structure of the whole distribution area (including populations from Maritime Alps, the Karst region in the Italian-Slovenian border, and the Pindus Mountains in N Greece), we conclude that the Pyrenean populations set can be distinguished as a significant portion of genetic variation, characterized by private alleles and by a relatively recent origin, coming from an E Mediterranean mountain stock.

The set of Pyrenean populations can be identified as a functional conservation unit in which the Iberian population can be viewed as a depauperated part, at the edge of the minimum viable population size. A series of

conservation measures, both *in situ* and *ex situ*, are suggested.

**Key words:** Alta Garrotxa, conservation, allozyme diversity, endangered flora, Pyrenees, functional conservation units.

### Introducció

*Dichoropetalum* és un gènere d'apiàcies que compta amb unes 26 espècies que havien estat prèviament assignades a diferents gèneres com ara *Peucedanum*, *Holandrea*, *Johrenia* i *Johreniopsis* (PIMENOV *et al.*, 2007). De distribució principalment europea i asiàtica occidental, el nombre d'espècies del gènere disminueix d'est a oest, i només dues són presents a l'Europa occidental, *D. carvifolia* i *D. schottii*. Aquest darrer tàxon, recentment adscrit al gènere i anteriorment denominat *Peucedanum schottii* i *Holandrea schottii* (PIMENOV *et al.*, 2007), té una àmplia distribució a les muntanyes del sud d'Europa: al Pindus, als Apenins, als Alps Dinàrics, a l'altiplà del Carst, als Alps (orientals, centrals i occidentals) i finalment als Pirineus (figura 1). La població de la Mare de Déu del Mont, situada a la part administrativament empordanesa de l'Alta Garrotxa, és l'única població catalana i ibèrica i se situa a l'extrem de l'àrea total de distribució de l'espècie. Les poblacions més properes

són les dels Pirineus francesos orientals, que estan situades a uns 70 km de la població del Mont (figura 1).

*Dichoropetalum schottii* és un hemicriptòfit de 30 a 60 (90) cm, que forma rosetes basals de fulles 2-3 pinnatisectes; cada roseta produeix nombroses tiges floríferes, amb 1-5 umbel·les de flors blanques (figura 2). La floració es produeix entre agost i setembre, mentre que els fruits assoleixen la maduresa a l'octubre. El nombre cromosòmic,  $2n = 22$  (FAVARGER, 1959; MOLERO & MONTERRAT, 1986) és constant a totes les espècies del gènere on s'han dut a terme recomptes (PIMENOV *et al.*, 2007). L'espècie sol trobar-se en pastures, clarianes i orles de bosc, i pot colonitzar també marges de camins i vies de comunicació, generalment a altituds moderades (800-1.800 m), tot i que ocasionalment pot créixer a alçades inferiors. L'única localitat catalana és de mida molt petita (per sota dels 250 individus i ocupa una àrea inferior als 2.000 m<sup>2</sup>; figura 2) i, de fet, tant al "llibre vermell" català (SÁEZ *et al.*, 2010) com a l'espanyol (MORENO, 2008) el tàxon és reconegut dins la màxima categoria de risc (CR) de la UICN (2001). La situació de l'espècie al Pirineu occità és, en canvi, força diferent: es coneix com a mínim d'una desena de localitats que compten amb un nombre relativament elevat d'individus (MARTINELL, 2010). L'espècie gaudeix de protecció legal tant a Catalunya (és inclosa dins l'annex I del

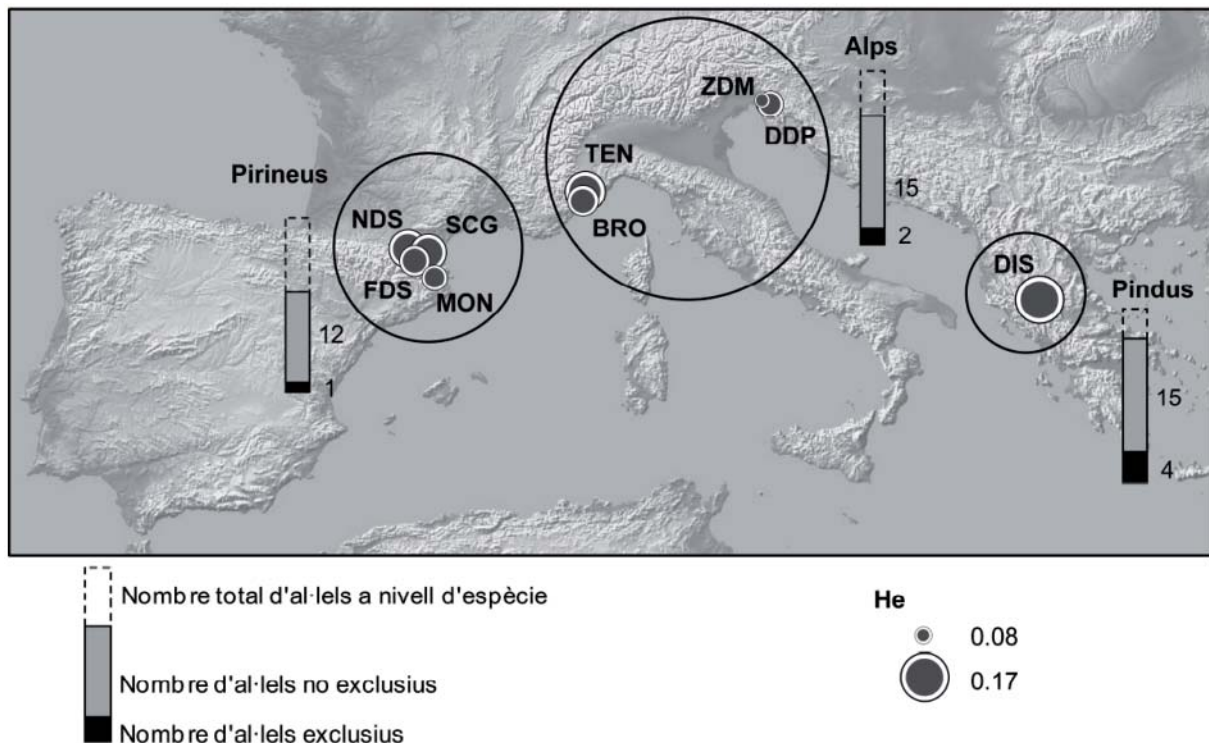


Figura 1. Localització de les poblacions de *Dichoropetalum schottii* a les diferents regions geogràfiques estudiades, i representació gràfica de les dades de diversitat genètica. La mida dels cercles de cada població és proporcional a l'heterozigosi esperada ( $H_e$ ). Les barres indiquen el nombre total d'al·lels i el nombre d'al·lels exclusius a cada regió en relació al nombre total d'al·lels trobats a l'espècie. Codis de les poblacions: Pirineus: MON = Santuari de la Mare de Déu del Mont; FDS = Fontanès-de-Sault; NDS = Niort-de-Sault; SCG = Sainte-Coulombe-sur-Guette. Alps: BRO: Col de Brouis; TEN: Col de Tende; DDP = Dolina di Perçadol; ZDM = Zolla di Monrupino. Pindus: DIS = Distrato.

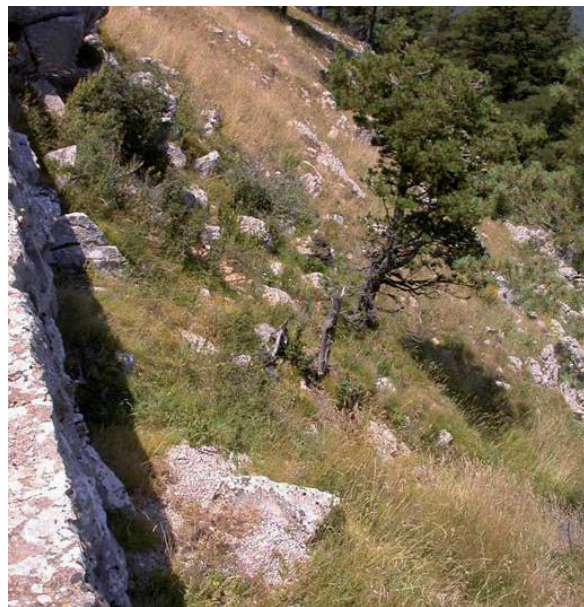


Figura 2. Detall de les flors de *Dichoropetalum schottii* i hàbitat que ocupa l'espècie a la població de la Mare de Déu del Mont (fotografies: M.C. MARTINELL).

Catàleg de flora amenaçada de Catalunya (Generalitat de Catalunya, 2008) com al Lenguadoc-Rosselló (République Française, 1998, 2005), fet que no es dona a la resta de territoris on l'espècie és present.

*Dichoropetalum schottii* és una espècie relativament poc coneguda. La majoria d'estudis realitzats amb anterioritat tracten exclusivament aspectes taxonòmics (HY, 1901; HADACEK *et al.*, 1989; SHNEYER *et al.*, 2003; SPALIK *et al.*, 2004; VALIEJO-ROMAN *et al.*, 2006). REDURON (1984) realitzà estudis de biologia reproductiva en poblacions alpines, però el seu treball, malgrat descriu minuciosament la fenologia i estructura floral, té un objectiu eminentment taxonòmic. D'altra banda, convé dir que la població de la Mare de Déu del Mont ha estat objecte d'un seguiment demogràfic per part de la Delegació de la Garrotxa de la Institució Catalana d'Història Natural des de fa alguns anys (MARTINELL & OLIVER, 2008). D'altra banda, investigadors del Laboratori de Botànica de la Facultat de Farmàcia han realitzat una cartografia en detall de la població (s'han georeferenciat tots els individus), han fet estudis de germinació i reclutament, i també han estudiat la fenologia, la polinització i la biologia reproductiva (MARTINELL *et al.*, 2008; MARTINELL, 2010).

En el marc d'un estudi més ampli de caracterització del fenomen d'extrem d'àrea/poblacions perifèriques en els nivells i la distribució de la diversitat genètica de les espècies vegetals (dins el Projecte del Pla Nacional de I+D+I CGL2007-60475/BOS), es presenten els primers resultats de variabilitat genètica amb marcadors al·loenzimàtics de l'única localitat catalana de l'espècie (la població de l'Alta Garrotxa), que

es comparen en primera instància amb els de les poblacions pirinenques (l'extrem d'àrea occidental de l'espècie), però també amb els de les poblacions centrals i orientals de l'àrea de distribució de l'espècie. És ben sabut que en determinats casos la conservació de poblacions perifèriques és altament aconsellable, com per exemple quan aquestes retenen una fracció substancial de la variabilitat genètica de les espècies, representen un camí evolutiu diferenciat (en el sentit de les ESU, *Evolutionarily Significant Units*; CRANDALL *et al.* 2000), o bé són ecològicament importants (e.g. MILLAR & LIBBY, 1991; LESICA & ALLENDORF, 1995). Les dades genètiques obtingudes poden guiar-nos a l'hora d'establir prioritats de cara a la conservació de la població catalana de l'espècie, tant des del punt de vista *in situ* com *ex situ*.

## Material i Mètodes

### Mostratge

A banda de la població del Santuari de la Mare de Déu del Mont (MON), s'han mostrejat tres poblacions representatives dels Pirineus occitans (FDS, NDS i SCG) dins de l'extrem occidental de l'àrea de distribució de l'espècie (fig. 1), quatre poblacions de l'àrea central (dues dels Alps Marítics, BRO i TEN, i dues de l'altiplà del Carst, ZDM i DDP; fig. 1) i una localitat de la serralada del Pindus (DIS) del nord de Grècia, que representa l'extrem oriental de l'espècie (fig. 1). De cada població s'han recol·lectat entre 25 i 36 individus, collint sempre fulles joves de les rosetes basals, que s'han dipositat en sobres, transportat al laboratori i conservat a la nevera a 4°C fins al moment de la seva anàlisi un o dos dies després.

### Extracció i electroforesi

Les fulles s'han triturat i homogeneïtzat en gresols de porcellana amb l'ajut d'un tampó d'extracció de composició coneguda (0,05 M tris-àcid cítric, 0,1% cisteïna-HCl, 0,1% àcid ascòrbic, 8% PVP-40 i 1 mM 2-mercaptoetanol). Els extractes obtinguts s'han absorbit en papers de filtre Whatman 3MM, que s'han conservat al congelador a  $-80^{\circ}\text{C}$  fins al moment de realitzar l'electroforesi, emprant com a suport gels de midó a l'11%. S'han assajat 14 enzims dels quals, usant tres tampons de gel diferents (borat de liti pH 8,2, morfolina-citrat pH 6,1 i histidina-citrat pH 5,7; composició detallada a LÓPEZ-PUJOL, 2005), n'hem pogut resoldre sis (ACO, EC 4.2.1.3; DIA, EC 1.6.99.-; IDH, EC 1.1.1.42; MDH, EC 1.1.1.37; 6PGD, EC 1.1.1.44; i PGM, EC 5.4.2.2), obtenint un total de 8 *loci* interpretables (*Aco-1*, *Aco-2*, *Dia-1*, *Idh-1*, *Mdh-2*, *6Pgd-1*, *6Pgd-2* i *Pgm-2*).

### Anàlisi genètica

Els *loci* s'han numerat consecutivament i els al·lèls presents en cada *locus* s'han designat alfabèticament a partir del més anòdic. Els patrons de bandes obtinguts han estat interpretats en termes genètics seguint els principis estàndard (SOLTIS & SOLTIS, 1989). A nivell de tota l'espècie, la majoria dels *loci* (*Aco-1*, *Aco-2*, *Idh-1*, *Mdh-2*, *6Pgd-2* i *Pgm-2*) semblen duplicats, tal i com es desprèn de la presència de patrons d'heterozigosi desequilibrada (els anomenats efectes de "dosi al·lèlica"; TYLER, 2004) en aquests.

Les freqüències al·lèliques a cada *locus* s'han calculat per a totes les poblacions estudiades. Per a determinar els nivells de diversitat genètica, s'han emprat els següents paràmetres: MLG, el nombre de genotips multi-*locus*, *P*, el percentatge de *loci* polimòrfics (considerats així quan la freqüència de l'al·lel més comú és igual o inferior a 0,99); *A*, el nombre mitjà d'al·lèls per *locus*, i  $H_e$ , l'heterozigosi esperada. Per a determinar l'estructura genètica, hem emprat tres eines diferents: (i) la identitat genètica de NEI (1978) entre parells de poblacions (*I*), que ens ha permès construir un dendrograma UPGMA mitjançant el programa NTSYS (ROHLF, 1997); (ii) l'anàlisi de la variància molecular (AMOVA) amb el programa ARLEQUIN 2.0 (SCHNEIDER *et al.*, 2000); i (iii) l'aproximació Bayesiana de PRITCHARD *et al.* (2000) implementada al programa STRUCTURE 2.3.1 (HUBISZ *et al.*, 2009).

### Resultats i discussió

**Nivells de diversitat genètica a la població de la Mare de Déu del Mont i comparació amb la resta de poblacions de *D. schottii*.**

A escala global, *D. schottii* presenta uns nivells de diversitat moderats ( $H_e = 0,121$ ), lleugerament superiors als valors de referència de HAMRICK & GODT (1990, 1996) per a espècies de distribució relativament restringida, com és el cas de l'espècie que ens ocupa ( $H_e = 0,105$  per a *narrow species* i  $H_e = 0,118$  per a *regional species*). La variabilitat relativament elevada de *D. schottii* pot respondre al fet que la majoria dels *loci* analitzats presentaven duplicacions, atès que cada *locus* duplicat pot presentar fins a 4 al·lèls diferents tal i com ocorre en els tetraploides amb herència tetrasòmica (LÓPEZ-PUJOL *et al.*, 2004). Descartant que es tracti d'un poliploide, atesos els recomptes diploides reportats de poblacions pirinenques i alpines de l'espècie (FAVARGER, 1959; MOLERO & MONTSERRAT, 1986) i que el nombre cromosòmic és constant en totes les espècies del gènere per a les quals s'han dut a terme recomptes (PIMENOV *et al.*, 2007), les duplicacions detectades poden reflectir duplicacions segmentals cromosòmiques o bé una antiga poliploidia (GOTTLIEB, 1982; WEEDEN & WENDEL, 1989). Tenint en compte la totalitat de l'espècie, la població més rica, en termes de riquesa al·lèlica i d'heterozigosi, és la més oriental (DIS), que a més presenta quatre al·lèls exclusius. Les poblacions dels Alps Marítics presenten una diversitat menor però que encara pot qualificar-se de moderada, mentre que les poblacions del Carst i les dels Pirineus són les més depauperades. Dins de les darreres, és precisament la població de la Mare de Déu del Mont la que presenta una menor variabilitat genètica (taula 2).

Respecte a l'estructura genètica poblacional, les identitats genètiques entre poblacions (*I*) són molt altes (de mitjana, properes al 99%). Tot i això, a l'arbre UPGMA es defineixen amb prou claredat tres grups genètics que es poden equiparar a tres regions geogràfiques: Pindus, Alps Marítics-Carst (és a dir, el que podríem definir aproximadament com els extrems occidental i oriental dels Alps) i Pirineus (figura 3). Com és d'esperar, la divergència genètica entre poblacions és molt petita ( $F_{ST} = 0,090$ ), i l'anàlisi de la variància molecular (AMOVA) ens indica, a més, que la majoria d'aquesta divergència es deu més a diferències entre regions que no pas a diferències entre poblacions dins de les regions. Els tres grups genètics identificats amb el dendrograma UPGMA es confirmen també amb l'anàlisi Bayesiana de l'estructura poblacional (figura 4).

L'elevada similitud genètica detectada entre les diferents regions estudiades probablement indica que l'actual distribució de *D. schottii* és el resultat d'una fragmentació al·lopàtrica recent (vicariància), tal i com ha estat proposat per a bona part de la flora montana europea (e.g. COMES & KADEREIT, 2003; KROPF *et al.*, 2006, 2008). En aquest sentit, hom pot imaginar

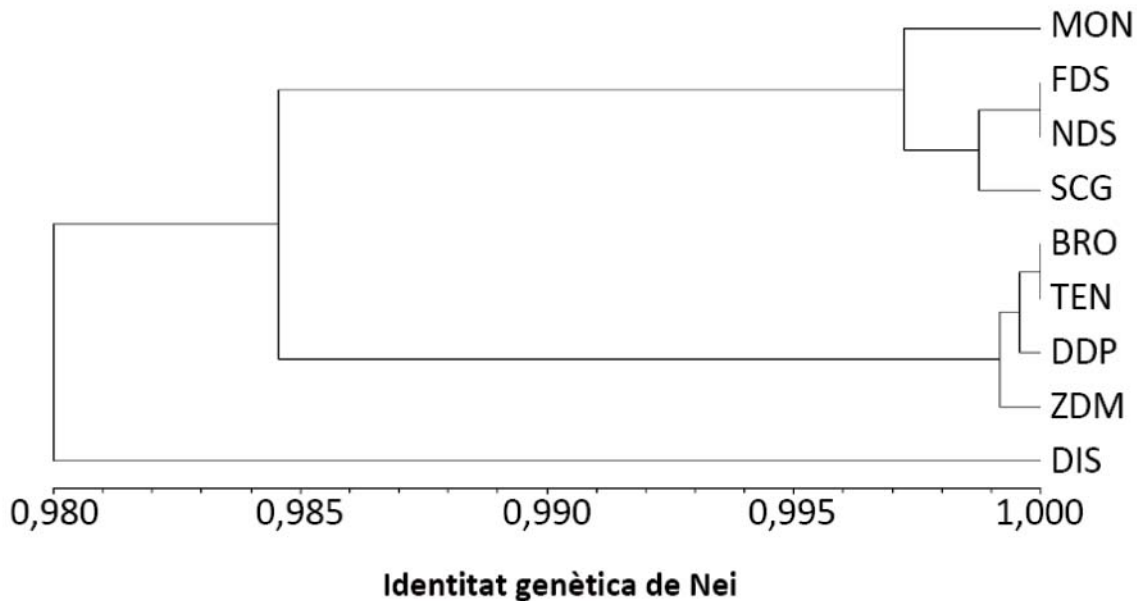


Figura 3. Dendrograma UPGMA construït a partir de les identitats genètiques de Nei ( $I$ ) entre parells de poblacions de *Dichoropetalum schottii*.

un escenari de migració altitudinal ascendent de les poblacions de *D. schottii* durant els períodes interglacials (com l'actual, l'holocè), que haurien restat aïllades en massissos muntanyosos. Amb l'adveniment d'un període glacial (l'últim va acabar fa uns 12.000 anys) les poblacions haurien descendit a les valls i terres baixes, on haurien augmentat les probabilitats de contacte entre elles (flux genètic) i per tant, s'hauria afavorit la cohesió genètica de l'espècie (en aquest sentit, és necessari recordar que els períodes glacials van ésser clarament dominants a llarg del plistocè, abastant aproximadament un 80% de tot aquest període geològic; BIRKS & WILLIS, 2008).

Els alts nivells de diversitat genètica de la regió del Pindus poden explicar-se per diferents raons. En primer lloc, les muntanyes del Pindus es varen glaçar molt menys que els Alps o els Pirineus (HUGUES *et al.*, 2006); de fet, aquesta regió es considera una de les principals àrees de refugi tant per plantes com per animals degut a la seva relativa estabilitat eco-climàtica al llarg de tot el quaternari (TZEDAKIS *et al.*, 2002). És plausible, doncs, pensar que les poblacions de *D.*

*schottii* al Pindus no s'haurien vist forçades a realitzar migracions tan importants, i per tant amb una menor incidència dels efectes dels colls d'ampolla i la deriva genètica associada (HEWITT, 1996; TIAN *et al.*, 2010). Un altre aspecte biogeogràfic que cal tenir en compte és que el centre de distribució del gènere està localitzat relativament a prop, a la península Anatòlica (on hi ha fins a 11 espècies de *Dichoropetalum*), i els Balcans podrien representar un centre d'especiació secundari (de fet, a les muntanyes del nord-oest de Grècia poden trobar-se quatre espècies més del gènere a banda de *D. schottii*). En aquest sentit, i en base a les dades genètiques de la figura 1 i la taula 2 (una gradació descendent tant pel que fa a l'heterozigosi esperada com a la riquesa al·lèlica en direcció est-oest), es podria hipotetitzar un escenari de migració progressiva (en contraposició a episodis de dispersió a llarga distància) en direcció oest des del centre de distribució del gènere. L'elevat nombre de genotips multi-locus (MLG) detectats tant als Alps Marítims com als Pirineus també semblen donar suport a una hipòtesi de colonització seqüencial front a episodis aïllats de dispersió a llarga distància.

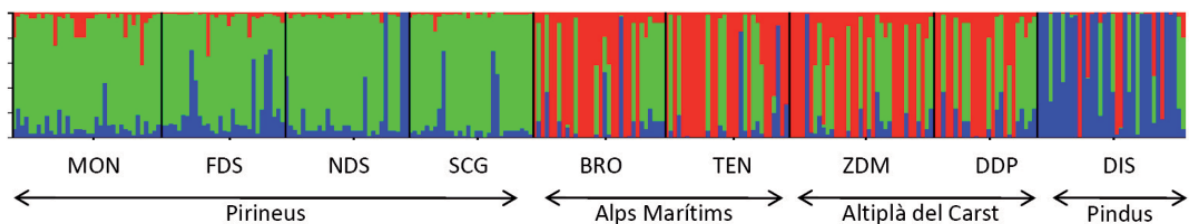


Figura 4. Resultats de l'assignació dels individus estudiats de *Dichoropetalum schottii* emprant el programa STRUCTURE (amb  $K = 3$ ).

Locus	Al·lel	Poblacions			
		MON	FDS	NDS	SCG
<i>Aco-1</i>	<i>a</i> <sup>1</sup>	0,000	0,000	0,000	0,000
	<i>b</i>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>
	<i>c</i> <sup>1</sup>	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>Aco-2</i>	<i>a</i> <sup>1</sup>	0,000	0,000	0,000	0,000
	<i>b</i>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>
	<i>c</i> <sup>1</sup>	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>Dia-1</i>	<i>a</i>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>
<i>Idh-1</i>	<i>a</i>	<i>0,007*</i>	<i>0,009*</i>	<i>0,028*</i>	<i>0,017*</i>
	<i>b</i>	<b>0,993</b>	<b>0,991</b>	<b>0,972</b>	<b>0,983</b>
	<i>c</i> <sup>1</sup>	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>Mdh-2</i>	<i>a</i> <sup>1</sup>	0,000	0,000	0,067	0,000
	<i>b</i>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>0,933</b>	<b>1,000</b>
	<i>c</i> <sup>1</sup>	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>6Pgd-1</i>	<i>a</i> <sup>1</sup>	0,000	0,000	0,000	0,000
	<i>b</i>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>
<i>6Pgd-2</i>	<i>a</i>	0,000	0,087	0,000	<i>0,034</i>
	<i>b</i>	<b>0,823</b>	<b>0,739</b>	<b>0,721</b>	<b>0,595</b>
	<i>c</i>	0,177	0,174	0,279	0,371
<i>Pgm-2</i>	<i>a</i> <sup>1</sup>	0,000	0,000	0,000	0,000
	<i>b</i>	0,465	<b>0,638</b>	<b>0,578</b>	<b>0,546</b>
	<i>c</i>	<b>0,535</b>	0,362	0,422	0,454
	<i>d</i> <sup>1</sup>	0,000	0,000	0,000	0,000
	<i>e</i> <sup>1</sup>	0,000	0,000	0,000	0,000

Taula 1. Freqüències al·leliques per a tots els loci a les poblacions estudiades dels Pirineus de *Dichoropetalum schottii*. L'al·lel més freqüent de cada locus a cada població s'indica en negreta. Les freqüències en cursiva indiquen els al·lells rars (aquells que estan en proporció inferior a 0,05).

<sup>1</sup>Al·lells que no es troben a les poblacions dels Pirineus però que sí estan presents en alguna de la resta de poblacions mostrejades de l'espècie.

\*Al·lel exclusiu de les poblacions dels Pirineus.

Les poblacions pirinenques constitueixen un nucli relativament empobrit respecte els altres dos grans nuclis identificats (Pindus i Alps *sensu lato*). Dels 23 al·lells detectats al conjunt de l'espècie, només 13 són presents al Pirineu, i d'aquests només un és exclusiu d'aquesta regió (l'al·lel *Idh-1a*), on es troba en una freqüència molt baixa (figura 1 i taula 1). La presència d'aquest al·lel exclusiu pot respondre a dues raons: (i) el resultat d'una mutació *in situ*, probablement a causa de la fragmentació al·lopàtrica des del darrer màxim glacial i la manca de connectivitat amb la resta de massissos muntanyosos en etapes posteriors (holocè), i (ii) que no s'hagi detectat a la resta de poblacions estudiades.

Dins el nucli pirinenc, tots els paràmetres de variabilitat mostren valors inferiors per a la població alt-garrotxina (Nbre total d'al·lells = 11;  $P_{99} = 25,0$ ;  $A = 1,37$ ;  $H_e = 0,100$ ) que per a la resta de poblacions pirinenques (Nbre total d'al·lells = 12;  $P_{99} = 37,5-50,0$ ;  $A = 1,50$ ;  $H_e = 0,112-9,134$ ; taula 2), resultats congruents amb la més petita mida poblacional i amb la situació marginal excèntrica respecte a les poblacions de la banda francesa dels Pirineus. La distància entre la

població ibèrica i les franceses (uns 70 km) sembla prou important per impedir un flux genètic entre ambdues bandes del Pirineu, tot i que tampoc pot descartar-se la presència de poblacions intermèdies no detectades. De fet, tot i que té nivells de diversitat genètica més baixos, la població de l'Alta Garrotxa presenta un elevat grau d'homogeneïtat amb la resta de poblacions pirinenques: els 11 al·lells de la primera són compartits per les segones i, a més a més, amb freqüències molt similars; els dos al·lells de les poblacions franceses que manquen al Mont es troben en freqüències molt petites, inferiors al 10% (taula 1).

#### Prioritats de conservació per a la població de la Mare de Déu del Mont

Les poblacions dels Pirineus, que probablement serien d'origen recent a partir d'una estirp procedent de les muntanyes mediterrànies orientals, constitueixen un nucli genèticament empobrit de *D. schottii*. Per tant, tot i que a nivell d'espècie no siguin mereixedores de la màxima prioritat a l'hora d'aplicar mesures de conservació (a priori caldria centrar esforços a la banda més oriental), les poblacions pirinenques constitueixen un conjunt relativament diferenciat de la resta, amb un al·lel que no es troba més enllà dels Pirineus (fig. 3 i taula 1). D'altra banda, convé no oblidar que, malauradament, les poblacions pirinenques són les úniques que gaudeixen de protecció legal a tot Europa. La població alt-garrotxina gaudeix del màxim nivell de protecció, atès que *D. schottii* està inclosa dins l'Annex I del Catàleg de flora amenaçada de Catalunya, que obliga a redactar un pla de recuperació per a l'espècie en terres catalanes (vegeu Generalitat de Catalunya, 2008).

Atesa la homogeneïtat genètica de les poblacions franceses i la del Mont, el més recomanable és abordar una gestió conjunta de totes elles (és a dir, que constitueixin una veritable "unitat funcional de conservació" transfronterera), la qual cosa permetria, per exemple, un hipotètic rescat poblacional de la localitat ibèrica a partir de les franceses. Precisament és la població del Mont la que mereix ser prioritzada, atesa la seva petita mida poblacional i el seu aïllament geogràfic; l'espècie, als Pirineus occitans, forma nuclis poblacionals de mida considerable i a més amb possibilitats reals de flux genètic entre ells. La població catalana està situada a tocar del santuari de la Mare de Déu del Mont, un indret relativament transitat i alterat i on, a banda de la excessiva freqüentació, les obres de manteniment del santuari han suposat la desaparició directa d'alguns individus. Com a amenaces a aquesta població, convé destacar també l'elevada fluctuació interanual en el nombre d'individus reproductors i la predació per herbívors; aquesta pressió de sobrepastura (cabres, ovelles), ha estat regulada durant

Població	$P_{99}$	$A$	$H_e$
<b>Pirineus</b>			
MON	25,0	1,37	0,100
FDS	37,5	1,50	0,112
NDS	50,0	1,50	0,134
SCG	37,5	1,50	0,129
<i>Mitjana poblacional</i>	$37,5 \pm 10,2$	$1,47 \pm 0,06$	$0,119 \pm 0,016$
<b>Alps Marítims</b>			
<i>Mitjana poblacional</i>	$50,0 \pm 0,0$	$1,74 \pm 0,18$	$0,128 \pm 0,020$
<b>Altiplà del Carst</b>			
<i>Mitjana poblacional</i>	$18,7 \pm 8,8$	$1,37 \pm 0,18$	$0,092 \pm 0,014$
<b>Pindus</b>			
DIS	62,5	2,37	0,173
<i>Mitjana de totes les poblacions</i>	$38,9 \pm 15,9$	$1,61 \pm 0,33$	$0,121 \pm 0,027$

Taula 2. Resum de la diversitat genètica a les nou poblacions estudiades de *Dichoropetalum schottii*.

$P_{99}$  = percentatge de loci polimòrfics (criteri del 99%);  $A$  = nombre mitjà d'al·lels per locus;  $H_e$  = heterozigosi esperada.

el darrer any pel Consorci de l'Alta Garrotxa, entitat gestora de l'EIN, a través de la instal·lació d'un tancat per a bestiar i de la derivació d'un ramat, amb resultats que caldrà avaluar (MARTINELL & OLIVER, 2008; MARTINELL, 2010).

Des del punt de vista legal, recomanem la inclusió de *D. schottii* al Catàleg Nacional de Espècies Amenazadas ja que la Mare de Déu del Mont constitueix l'única població ibèrica de l'espècie, sotmesa a risc de perill crític. Com a mesures de conservació *in situ*, amb caràcter d'urgència cal assegurar el manteniment de l'exclusió de predadors (prèvia avaluació de l'efectivitat del tancat) i dur a terme una vigilància de la població (per tal d'evitar l'acumulació de deixalles i restes de materials de construcció i qualsevol altra alteració de la zona culminar –antenes, aparcaments, etc.); també creiem adequat recomanar un reforçament poblacional –amb material vegetal originari de la pròpia població– en cas que es produeixin davallades significatives en el nombre d'individus, per sota de la MVP. Igualment caldria procedir a la recol·lecció de llavors de totes les poblacions amb una triple finalitat: (i) per a la seva conservació en bancs de germoplasma, (ii) per a la producció d'individus en cas necessari d'un reforçament, i (iii) per al manteniment de col·leccions vives a jardins botànics, tenint en compte una estratègia adequada de captura de la diversitat genètica (CAUJAPÉ-CASTELLS & PEDROLA-MONFORT, 2004), a partir de les dades que presentem. Una primera campanya de recol·lecció de granes ha estat duta a terme l'any 2009 per part del Jardí Botànic Marimurtra (Blanes).

#### Agraïments

Els autors agraeixen a O. ARGAGNON, F. BOILLOT, J. MOLINA (Conservatoire Botanique de Porquerolles, França), A. STRID (Kobenhavn University, Dinamarca),

G. KAMARI (University of Patras, Grècia), L. FEOLI, G. CUSMA (University of Trieste, Itàlia), X. OLIVER (Institut Catalana d'Història Natural) i S. SÀNCHEZ (Consorci de l'Alta Garrotxa) el seu ajut en la localització de poblacions i la recol·lecció de mostres. Igualment, agraïm la concessió dels permisos per a la recol·lecció científica de mostres, tant a França (Conservatoire Botanique) com a Catalunya (Departament de Medi Ambient i Habitatge, Generalitat de Catalunya). També cal reconèixer l'ajut de S. MASSÓ en el treball de laboratori, i els consells de N. GARCIA-JACAS, M. GALBANY, R. VILATERSANA i S. LÓPEZ per a l'anàlisi de dades i la discussió. Aquest treball ha estat finançat pel *Ministerio de Educación y Ciencia* [CGL2007-60475/BOS], i mitjançant la concessió d'una beca BRD (Universitat de Barcelona) a M.C. MARTINELL i un contracte post-doctoral Jae-Doc (CSIC) a J. LÓPEZ-PUJOL.

#### Bibliografia

- BIRKS, H. J. B & WILLIS, K. J. 2008. Alpines, trees and refugia in Europe. *Plant. Ecol. Divers.*, 1: 147-160.
- CAUJAPÉ-CASTELLS, J. & PEDROLA-MONFORT, J. 2004. Designing ex-situ conservation strategies through the assessment of neutral genetic markers: Application to the endangered *Androcymbium gramineum*. *Conserv. Genet.*, 5: 131-144.
- COMES, H. P. & KADEREIT, J. W. 2003. Spatial and temporal patterns in the evolution of the flora of the European Alpine System. *Taxon*, 52: 451-462.
- CRANDALL, K. A.; BININDA-EMONDS, O. R. P.; MACE, G. M. & WAYNE, R. K. 2000. Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends Ecol. Evol.*, 15: 290-295.
- FAVARGER, C. 1959. Notes de caryologie alpine. III. *Bull. Soc. Neuchateloise Sci. Nat.*, 82: 255-285.
- Generalitat de Catalunya, 2008. Catàleg de flora amenaçada de Catalunya. Decret 172/2008. *Diari Oficial de la Generalitat de Catalunya*.

- GOTTLIEB, L. 1982.** Conservation and duplication of isozymes in plants. *Science*, 216: 373-380.
- HAMRICK, J. L. & GODT, M. J. W. 1990.** Allozyme diversity in plant species. In: *Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources* (A. H. D. Brown, M. T. Clegg, A. L. Kahler & B. S. Weir. Eds.) Sinauer Associates. Sunderland (USA). p. 43-63.
- HAMRICK, J. L. & GODT, M. J. W. 1996.** Conservation genetics of endemic plant species. In: *Conservation genetics. Case histories from nature* (J. C. Avise & J. L. Hamrick. Eds.) Chapman & Hall. New York (USA). p. 281-304.
- Hewitt, G. M. 1996.** Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biol. J. Linn. Soc.*, 58: 247-276.
- HUBISZ, M. J.; FALUSH, D.; STEPHENS, M. & PRICHARD, J. K. 2009.** Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molec. Ecol. Resources*, 9: 1322-1332.
- HUGHES, P.; WOODWARD, J. & GIBBARD, P. 2006.** Quaternary glacial history of the Mediterranean Mountains. *Progr. Phys. Geogr.*, 30: 334-364.
- IUCN. 2001.** IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1. IUCN Species Survival Commission. IUCN. Gland and Cambridge.
- KROPF, M.; COMES, H.P. & KADEREIT, J. W. 2008.** Causes of the genetic architecture of south-west European high mountain disjuncts. *Plant Ecol. Divers.*, 1: 217-228.
- KROPF, M.; COMES, H.P. & KADEREIT, J. W. 2006.** Long-distance dispersal vs vicariance: the origin and genetic diversity of alpine plants in the Spanish Sierra Nevada. *New Phytol.*, 172: 169-184.
- LESICA, P. & ALLENDORF, F. W. 1995.** When are peripheral populations valuable for conservation? *Conserv. Biol.* 9: 753-760.
- LÓPEZ-PUJOL, J. 2005.** *Estudis de diversitat genètica d'espècies endèmiques i/o amenaçades de la Mediterrània Occidental*. Tesi Doctoral. Universitat de Barcelona.
- LÓPEZ-PUJOL, J.; BOSCH, M.; SIMON, J. & BLANCHÉ, C. 2004.** Allozyme diversity in the tetraploid endemic *Thymus loscosii* (Lamiaceae). *Ann. Bot.* 93: 323-332.
- MARTINELL, M. C. 2010.** *Biología de la conservación de especies amenazadas de área de distribución restringida en Cataluña*. Tesi Doctoral, Universitat de Barcelona.
- MARTINELL, M.C. & OLIVER, X., 2008.** *Peucedanum schottii* Besser ex DC. Fitxa de seguiment. Programa de seguiment i conservació de flora amenaçada. Delegació de la Garrotxa de la Institució Catalana d'Història Natural.
- MARTINELL M. C.; BLANCHÉ, C.; BOSCH, M.; LÓPEZ-PUJOL, J.; MASSÓ, S.; ROVIRA, A. & SIMON, J. 2009.** Campaña de camp de *Dichoropetalum schottii* 2008. Resum de resultats. Informe per al Consorci per a la Protecció i la Gestió de l'EIN de l'Alta Garrotxa; 7 pàgs.
- MILLAR, C. I. & LIBBY, W. J. 1991.** Strategies for conserving clinal, ecotypic and disjunct populations diversity in widespread species. In: *Genetics and conservation of rare plants* (D. A. FALK & K. E. HOLSINGER. Eds.) Oxford University Press. New York (USA). p. 149-170.
- MOLERO, J. & MONTSERRAT, J. M. 1986.** Números cromosómicos de plantas occidentales, 363-375. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 43: 137-142.
- MORENO, J. C. (Coord.) 2008.** *Lista Roja 2008 de la flora vascular española*. Dirección General de Medio Natural y Política Forestal (Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino, y Sociedad Española de Biología de la Conservación de Plantas). Madrid.
- NEI, M. 1978.** Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583-590.
- PIMENOV, M. G.; KLJUYKOC, E. V. & OSTROUMOVA, T. 2007.** Critical taxonomic analysis of *Dichoropetalum*, *Johrenia*, *Zeravschania* and related genera of *Umbelliferae-Apioideae-Peucedaneae*. *Willdenowia*, 37: 465-502.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M. & DONNELLY, P. 2000.** Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.
- République Française, 1998.** Arrêté du 29 octobre 1997 relatif à la liste des espèces végétales protégées en région Languedoc-Roussillon. Journal Officiel de la République Française 13, du 16 janvier 1998: 674.
- République Française, 2005.** Arrêté du 30 décembre 2004 relatif à la liste des espèces végétales protégées en région Midi-Pyrénées. Journal Officiel de la République Française 77, du 2 avril 2005: 5964.
- ROHLE, F. J. 1997.** *NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.02*. Exeter Software. Setauket (USA).
- SÁEZ, L.; AYMERICH, P. & BLANCHÉ, C. 2010.** *Llibre vermell de la flora vascular endèmica i amenaçada de Catalunya*. Argania Edicions. Barcelona.
- SCHNEIDER, S.; ROESSLI, D. & EXCOFFIER, L. 2000.** *Arlequin v. 2.0: A software for population genetic data analysis*. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva (Switzerland).
- SOLTIS, D. E. & SOLTIS, P. S. 1989.** *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press. Portland (USA).
- TIAN, S.; LÓPEZ-PUJOL, J.; WANG, H.-W.; GE, S. & ZHANG, Z.-Y. 2010.** Molecular evidence for glacial expansion and interglacial retreat during Quaternary climatic changes in a montane temperate pine (*Pinus kwangtungensis* Chun ex Tsiang) in southern China. *Pl. Syst. Evol.*, 284: 219-229.
- TYLER, T. 2004.** Studies in the *Melica ciliata* - complex: 1. Distribution of allozyme variation within and among individuals, populations and geographic regions. *Pl. Syst. Evol.*, 248: 1-30.
- TZEDAKIS, P.; LAWSON, I.; FROGLEY, M.; HEWITT, G. & PREECE, R. 2002.** Buffered tree population changes in a Quaternary refugium: evolutionary implications. *Science*, 297: 2044-2047.
- IUCN 2001.** *Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN: Versión 3.1*. Comisión de Supervivencia de Especies de la UICN. Gland (Suiza) i Cambridge (Reino Unido).
- WEEDEN, N. F. & WENDEL, J. F. 1989.** Genetics of plant isozymes. In: *Isozymes in plant biology* (D. E. Soltis & P. S. Soltis. Eds.) Dioscorides Press. Portland (USA). p. 46-72.