

## GEA, FLORA ET FAUNA

# Diversitat isoenzimàtica de dues plantes vasculares endèmiques dels Països Catalans: *Seseli farrenyi* (Apiaceae) i *Petrocoptis montsicciana* (Caryophyllaceae)<sup>1</sup>

Jordi López i Pujol\*

Rebut: 03.07.01

Acceptat: 29.10.01

## Resum

S'ha emprat electroforesi d'isoenzims per avaluar la diversitat genètica de dues plantes vasculares endèmiques dels Països Catalans, *Seseli farrenyi* Molero & Pujadas (Apiaceae) i *Petrocoptis montsicciana* O. Bolòs & Rivas Martínez (Caryophyllaceae). L'estudi d'aquesta última s'ha complementat amb el de *P. pardoii* Pau, atès a que en el darrer tractament taxonòmic són tractades com a sinònims. S'han interpretat un total de 14 *loci* en *S. farrenyi* i 16 *loci* en els dos tàxons de *Petrocoptis*. Són remarcables els alts nivells de diversitat genètica que presenten els tres tàxons, especialment en el cas de *S. farrenyi*, molt superiors als esperats per a espècies endèmiques. També s'aporten dades sobre l'estructura poblacional dels diferents tàxons tractats i, finalment, s'enumeren les principals amenaces que pateixen aquestes espècies i es proposen estratègies per a la seva conservació.

**MOTS CLAU:** plantes vasculares endèmiques, electroforesi d'isoenzims, diversitat genètica, *Seseli farrenyi*, *Petrocoptis montsicciana*, *P. pardoii*, estructura poblacional, subpoblacions, conservació.

<sup>1</sup> Aquesta publicació correspon al resum d'un treball que ha estat guardonat amb el primer Premi per a Estudiants de la Institució Catalana d'Història Natural, 2001

## Abstract

**Isozyme diversity of two vascular plants endemic to the Catalan Countries: *Seseli farrenyi* (Apiaceae) and *Petrocoptis montsicciana* (Caryophyllaceae)**

Allozyme electrophoresis is used to evaluate the allozymic diversity of two vascular plants endemic to the Catalan Countries, *Seseli farrenyi* Molero & Pujadas (Apiaceae) and *Petrocoptis montsicciana* O. Bolòs & Rivas Martínez (Caryophyllaceae). The study of *P. montsicciana* has been combined with that of *P. pardoii* Pau, since they are considered synonymous in the most recent taxonomic treatment. 14 *loci* have been interpreted in *S. farrenyi* and 16 *loci* in the two *Petrocoptis* taxa. The high levels of genetic diversity found in the three taxa are surprising, far exceeding those expected for endemic species, especially in the case of *S. farrenyi*. Data about population structure are given for the taxa studied and, finally, the main threats to these species are enumerated and conservation strategies are suggested.

\* GReB, Laboratori de Botànica, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona, Avda. Joan XXIII s/n, 08028 Barcelona. E-mail: jlopez@farmacia.far.ub.es

KEY WORDS: endemic vascular plants, isozyme electrophoresis, genetic diversity, *Seseli farrenyi*, *Petrocoptis montsiciana*, *P. pardoii*, population structure, subpopulations, conservation.

## Resumen

**Diversidad isoenzimática de dos plantas vasculares endémicas de los Países Catalans: *Seseli farrenyi* (Apiaceae) y *Petrocoptis montsiciana* (Caryophyllaceae).**

Se ha utilizado electroforesis de isoenzimas para evaluar la diversidad genética de dos plantas vasculares endémicas de los Países Catalans, *Seseli farrenyi* Molero & Pujadas (Apiaceae) y *Petrocoptis montsiciana* O. Bolòs & Rivas Martínez (Caryophyllaceae). El estudio de esta última se ha complementado con el de *P. pardoii* Pau, debido a que en el último tratamiento taxonómico son tratadas como sinónimos. Se han interpretado un total de 14 loci en *S. farrenyi* y 16 loci en los dos taxones de *Petrocoptis*. Son remarcables los altos niveles de diversidad genética que presentan los 3 taxones, especialmente en el caso de *S. farrenyi*, muy superiores a los esperados para especies endémicas. También se aportan datos acerca de la estructura poblacional de los diferentes taxones tratados, y, finalmente, se enumeran las principales amenazas que sufren estas especies y se proponen estrategias para su conservación.

PALABRAS CLAVE: plantas vasculares endémicas, electroforesis de isoenzimas, diversidad genética, *Seseli farrenyi*, *Petrocoptis montsiciana*, *P. pardoii*, estructura poblacional, subpoblaciones, conservación.

## Introducció

El coneixement de la composició genètica de les espècies és essencial a l'hora de plantejar-se plans de conservació (Hamrick, 1983; Ellstrand & Elam, 1993; Loeschcke *et al.*, 1994), atès que el manteniment dels nivells de variabilitat genètica és una acció que contribueix a conservar el potencial evolutiu i la capacitat de resposta i adaptació enfront canvis

ambientals, tan biòtics com abiòtics (Barrett & Kohn, 1991). L'electroforesi d'isoenzims és actualment una de les tècniques més emprades per a mesurar la composició genètica dels vegetals en el camp de la conservació, ja que ofereix una alta versatilitat i uns costos reduïts en comparació amb d'altres tècniques moleculars (Torres, 1999; Hogbin *et al.*, 2000).

La conca mediterrània és considerada avui un dels 25 punts calents (*hotspots*) de biodiversitat mundial, per l'elevat nombre d'espècies endèmiques i la considerable pèrdua d'hàbitats experimentada en els darrers temps (Myers *et al.*, 2000). Gairebé la meitat dels endemismes mediterranis són ibèrics (Torres, 1999), dels quals prop de 300 són de distribució limitada als Països Catalans o almenys al nord-est de la península Ibèrica (Sáez *et al.*, 1998). Les espècies rares o endèmiques, atesa la seva limitada àrea de distribució i una mida poblacional sovint petita són, en un principi, més susceptibles de patir un procés d'extinció que les espècies d'àmplia distribució.

S'han seleccionat dues espècies endèmiques dels Països Catalans, amb idiosincràsies diferents i sotmeses a diverses pressions, per tal de dur a terme una anàlisi electroforètica, amb els objectius de descriure els nivells de diversitat genètica, conèixer-ne l'estructura poblacional i establir criteris, amb les dades obtingudes, enfocats a la seva conservació.

## Material i mètodes

### Taxons estudiats i estratègia de mostratge

*Seseli farrenyi* Molero & Pujadas és una petita apiàcia perenne amb roseta basal, que produeix abundants umbel·les, de flors petites de color blanc i fruits ovoides. És una espècie diploide amb  $2n = 18$  (Fernández-Casas *et al.*, 1979), al·lògama i de pol·linització entomòfila,

---

visitada per una gran varietat de petits insectes (A. Rovira, *com. pers.*), i que creix en esquistos dels penya-segats litorals, lleugerament àcids. Només se'n coneixen tres poblacions, molt properes entre elles, que sumen poc més de 2000 individus, localitzades a la franja nord del cap de Creus (Alt Empordà). Seguint els criteris de la UICN (1994), l'extensió de presència de l'espècie és de 0,47 km<sup>2</sup>. Quan va ser descrita per primer cop (Molero & Pujadas, 1979), només se'n coneixia una població, Ses Estenedors, encara que alguns anys més tard (Franquesa, 1995) se'n descobriren dues més, Es Camallerús i Es Bol d'Es Prim. El mostratge s'ha dut a terme en les tres poblacions, seguint una estratègia de recol·lecció per subpoblacions detectades al camp (taula 1), i recollint 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.

*P. montsicciana* O. Bolòs & Rivas Martínez és una petita cariofil·làcia perenne de flors violades, amb una llavor que presenta un estrofol de pèls, gens freqüent en aquesta família (Montserrat & Fernández-Casas, 1990). És diploide amb  $2n = 24$  (Fernández-Benito, 1999), al·lògama i de pol·linització entomòfila, visitada bàsicament per himenòpters (M. Bosch, *com. pers.*). Habita en parets verticals extraplomades i balmes de roca calcària. Avui hi ha localitzades 13 poblacions d'aquesta espècie, situades en gorges i cingleres dels Pre-pirineus catalans i aragonesos, que comptabilitzen al voltant dels 11.000 individus (López-Pujol, 2000). La seva extensió de presència és d'uns 900 km<sup>2</sup> (López-Pujol, 2000). L'estudi d'aquest tàxon s'ha combinat amb el de *Petrocoptis pardoii* Pau, morfològicament gairebé indistingible de l'anterior i que creix a les parets calcàries de la conca del riu Bergantes, a la confluència de les províncies de Terol i Castelló. El nombre total d'individus d'aquest tàxon és similar (al voltant de

10.000), però la seva àrea de distribució és molt més reduïda (extensió de presència = 225 km<sup>2</sup>) (López-Pujol, 2000). El recent estudi taxonòmic de Mayol & Rosselló (1999) del gènere *Petrocoptis* ha unificat els dos tàxons en una sola espècie, seguint criteris morfològics, però també utilitzant marcadors bioquímics, com els isoenzims i les seqüències ITS nuclears. El mostratge s'ha dut a terme en quatre poblacions de *P. montsicciana* (presa de Camarasa, congost de Terradets, congost de Mont-Rebei i La Móra Comdal) i en tres de *P. pardoii* (Aiguaviva, Cantal Badat i Barranc de la Mare de Déu), seguint criteris de representativitat i accessibilitat (taula 1), i ha estat forçosament lineal, atenent al seu hàbitat rupícola, i abastant l'extensió total de la població quan ha estat possible. El tractament de les mostres ha estat idèntic que en l'estudi de *S. farrenyi*.

Cal afegir que es tracta de dues espècies amenaçades, i per tant el mostratge sempre s'ha realitzat de manera acurada, per tal de causar el mínim dany a les poblacions analitzades. *S. farrenyi* està inclosa dins la categoria *en perill* (EN) de la UICN, tant al «Catàleg de plantes vasculares endèmiques, rares o amenaçades de Catalunya» (Sáez *et al.*, 1998) com a la «Lista Roja de la Flora Vasculuar Española» (Aizpuru *et al.*, 2000). Per altra banda, tant *P. montsicciana* com *P. pardoii* estan llistats dins la categoria vulnerable (VU) a Catalunya (Sáez *et al.*, 1998), a l'Aragó (Sainz *et al.*, 1996) i a escala estatal (Aizpuru *et al.*, 2000). *P. montsicciana* ha estat inclosa també a l'Annex 2 de la Directiva Hàbitats de la Unió Europea (92/43/CEE) i a l'Annex 1 de la Revisió del Conveni de Berna.

### Anàlisi electroforètica

En tots els tàxons estudiats, les fulles, un cop esmicolades, s'han triturat i homogeneïtat

zat en gresols de porcellana amb l'ajuda d'un tampó d'extracció de composició coneguda (Bosch, 1999). Els extractes obtinguts s'absorbeixen en papers de filtre *Whatman* de 3 mm, que es guarden al congelador a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  fins al moment de realitzar l'electroforesi, que sempre ha estat horitzontal i emprant com a suport gels de midó al 12,5 %. S'han assajat 21 enzims en cadascun dels tàxons estudiats, variant el nombre d'enzims resolts i *loci* interpretats, que es detalla a la taula 2. La metodologia detallada està descrita a Vallejos (1983), Shields *et al.* (1983) i Wendel & Weeden (1989).

Per a l'anàlisi genètica, els *loci* s'han numerat consecutivament i els al·lels presents en cada *locus* s'han designat alfabèticament a partir del més anòdic. Els fenotips obtinguts han estat interpretats en termes genètics seguint els principis estàndard (Wendel & Weeden, 1989). Per calcular els nivells de diversitat genètica, s'han emprat els paràmetres següents: P, el percentatge de *loci* polimòrfics quan la freqüència de l'al·lel més comú es igual o inferior a 0,95; A, el nombre mitjà d'al·lels per *locus*,  $H_o$ , l'heterozigosi observada i  $H_e$ , l'heterozigosi esperada. També s'ha calculat F, l'índex de fixació de Wright (1951), per a comparar les desviacions de les freqüències genotípiques respecte l'equilibri de Hardy-Weinberg. La distribució de la diversitat genètica s'ha calculat mitjançant els estadístics de Nei (1973): diversitat genètica total ( $H_T$ ), diversitat intrapoblacional ( $H_S$ ), diversitat interpoblacional ( $D_{ST}$ ) i coeficient de diferenciació gènica ( $G_{ST}$ ). El fluxe gènec s'ha calculat a través de l'equació de Wright (1951):  $Nm = 1 - G_{ST} / 4 G_{ST}$ . També s'han determinat entre parelles de poblacions els paràmetres I, la identitat genètica de Nei (1978), i D, la distància genètica de Nei (1972). Específicament en *S. farrenyi*, també s'ha dut a terme l'anàlisi jeràrquica de  $F_{ST}$  (Wright, 1965), per avaluar la hipotètica estructura de les pobla-

cions en subpoblacions. El mètode d'agrupament UPGMA ens ha permès construir dendrogrames de poblacions basats en els valors de I entre parelles de poblacions.

El programa BIOSYS-1 versió 1.7 (Swofford & Selander, 1989) ens permet el càlcul de P, A,  $H_o$ ,  $H_e$ , F,  $F_{ST}$  i els dendrogrames, mentre que la resta de paràmetres s'han calculat amb el GeneStat versió 3.31 (Whitkus, 1988).

## Resultats

### *Seseli farrenyi*

S'han pogut interpretar 14 *loci* en *S. farrenyi*, i s'ha obtingut un total de 49 al·lels (taula 3). No s'han detectat diferències substancials en les freqüències al·lèliques comparant les tres poblacions, puix que en totes elles el mateix al·lel és el més freqüent en 13 dels 14 *loci*. A la població d'Es Camallerús hem detectat 4 al·lels privats (un al·lel privat és aquell que només és present en una població), 2 a Es Bol d'Es Prim i cap a Ses Estenedors. Els al·lels rars (al·lels que es troben en una proporció  $< 0,05$ ), en canvi, són prou nombrosos a les tres poblacions: 17 a Es Camallerús, 15 a Es Bol d'Es Prim i 8 a Ses Estenedors. *S. farrenyi* presenta uns valors elevadíssims de diversitat genètica si calculem la mitjana de les tres poblacions (taula 5):  $P = 83,3\%$ ,  $A = 3,0$  i  $H_e = 0,297$ . Si comparem les tres poblacions entre sí, la més diversa és Es Bol d'Es Prim ( $H_e = 0,305$ ), mentre que la menys diversa és Ses Estenedors ( $H_e = 0,285$ ). S'ha utilitzat un test xiquadrat ( $\chi^2$ ), per a avaluar les desviacions de F respecte de zero. 11 dels 39 tests indiquen conformitat amb l'equilibri Hardy-Weinberg ( $P \geq 0,05$ ), mentre que 28 valors de F són significativament més grans que zero ( $P < 0,05$ ), indicant una deficiència d'heterozigots.

La diversitat genètica total ( $H_T = 0,310$ ) està distribuïda gairebé exclusivament dins

TAULA 1. Poblacions estudiades de *S. farrenyi*, *P. montsicciana* i *P. pardoi*. La localització de les poblacions està detallada en quadrícules UTM 10 × 10 km.  
Populations of *S. farrenyi*, *P. montsicciana* and *P. pardoi* studied. The location of the populations is indicated by their UTM 10 × 10 km squares.

<i>Localitat</i>	<i>Localització</i>	<i>Mida poblacional</i>	<i>Mida mostral</i>
<i>S. farrenyi</i>			
Ses Estenedors	31TEG28	90	30
Es Camallerús	31TEG28	716	112
Es Bol d'Es Prim	31TEG28	1.260	135
<i>P. montsicciana</i>			
Presa de Camarasa	31TCG24	3.200	31
Congost de Terradets	31TCG25	1.750	21
Congost de Mont-Rebei	31TCG06	2.000	46
La Móra Comdal	31TCG66	220	42
<i>P. pardoi</i>			
Aiguaviva	31TYL41	80	22
Cantal Badat	31TYL31	600	31
Barranc de la Mare de Déu	31TYL31	5.000	30

les poblacions ( $H_s = 0,297$ ) que no pas entre elles ( $D_{ST} = 0,013$ ) (taula 6). Com a conseqüència, el coeficient de diferenciació gènica resulta molt petit ( $G_{ST} = 0,041$ ), la qual cosa indica que només al voltant del 4 % de la diversitat genètica total és atribuïble a la diferenciació interpoblacional i, per tant, el fluxe gènic és molt elevat ( $Nm = 5,85$ ), valor indicatiu d'un intercanvi substancial de gens entre poblacions, que pot explicar-se per la proximitat entre elles (les dues poblacions més distants es troben a 3 km). Són de preveure, doncs, valors elevats d'identitat genètica: la mitjana de *I* entre parelles de poblacions és prou alta (0,982), mentre la parella de poblacions més «idèntica» genèticament és Ses Estenedors-Es Camallerús ( $I = 0,987$ ) i la menys idèntica és la parella Es Bol d'Es Prim-Es Camallerús ( $I = 0,973$ ). El dendrograma UPGMA que obtenim situa més propera Ses Estenedors a Es Camallerús que respecte a Es Bol d'Es Prim (figura 2). Per

avaluar la hipotètica estructura de les poblacions en subpoblacions, detectada al camp (Es Bol d'Es Prim té 6 nuclis d'individus relativament aïllats, Ses Camallerús 4 i Ses Estenedors només un) s'ha portat a terme l'anàlisi jeràrquica de  $F_{ST}$  (Wright, 1965). Els nivells jeràrquics designats han estat el de població i subpoblació, i la proporció més gran de divergència ( $F_{XY}$ ) és deguda a la variació que es produeix entre subpoblacions dins les poblacions ( $F_{XY} = 0,045$ ), més que no pas la que es dona entre poblacions respecte el total ( $F_{XY} = 0,015$ ) (taula 7).

#### ***Petrocoptis montsicciana* i *P. pardoi***

Entre els 16 *loci* que s'han interpretat en ambdues espècies de *Petrocoptis*, hem detectat un total de 53 al·lels, 49 a les poblacions de *P. montsicciana* i 39 al nucli de poblacions de *P. pardoi* (taula 4). 35 al·lels són comuns a

TAULA 2. Enzims resolts i *loci* interpretats en els tàxons estudiats. Els enzims s'anomenen amb la seva abreviatura habitual, nom recomanat pel *Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology* (NC-IUBMB, 2001) i número EC (*Enzyme Commission*).

Enzymes resolved and *loci* interpreted in the taxa studied. Enzymes are designated by their usual abbreviation, name recommended by the *Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology* (NC-IUBMB, 2001) and EC number (*Enzyme Commission*).

<i>Enzim resolts</i>	<i>Loci interpretats</i>
<i>S. farrenyi</i>	
AAT / Aspartat transaminasa / 2.6.1.1	<i>Aat</i>
ADH / Alcohol deshidrogenasa / 1.1.1.1	<i>Adh</i>
DIA / NAD(P)H <sub>2</sub> deshidrogenasa / EC 1.6.99.-	<i>Dia-1, Dia-2</i>
IDH / Isocitrat deshidrogenasa / 1.1.1.42	<i>Idh</i>
MDH / Malat deshidrogenasa / 1.1.1.37	<i>Mdh-1, Mdh-3, Mdh-4</i>
6PGD / fosfogluconat deshidrogenasa (descarboxilant) / 1.1.1.44	<i>6Pgd-1, 6Pgd-2</i>
PGI / Glucosa-6-fosfat isomerasa / 5.3.1.9	<i>Pgi-1, Pgi-2</i>
PGM / Fosfoglucomutasa / 5.4.2.2	<i>Pgm-2</i>
RBC / Ribulosa bifosfat carboxilasa / 4.1.1.39	<i>Rbc</i>
<i>P. montsicciana</i> i <i>P. pardoi</i>	
AAT / Aspartat transaminasa / 2.6.1.1	<i>Aat</i>
ACO / Aconitat hidratasa / 4.2.1.3	<i>Aco-1, Aco-2</i>
ADH / Alcohol deshidrogenasa / 1.1.1.1	<i>Adh</i>
DIA / NAD(P)H <sub>2</sub> deshidrogenasa / EC 1.6.99.-	<i>Dia-2, Dia-3</i>
MDH / Malat deshidrogenasa / 1.1.1.37	<i>Mdh-1, Mdh-4</i>
ME / Malat deshidrogenasa (oxaloacetat-descarboxilant) (NADP) / 1.1.1.40	<i>Me</i>
6PGD / fosfogluconat deshidrogenasa (descarboxilant) / 1.1.1.44	<i>6Pgd-1, 6Pgd-2</i>
PGI / Glucosa-6-fosfat isomerasa / 5.3.1.9	<i>Pgi-2</i>
PGM / Fosfoglucomutasa / 5.4.2.2	<i>Pgm-1, Pgm-2</i>
PRX / Peroxidasa / 1.11.1.7	<i>Prx-1, Prx-2</i>

les dues espècies, mentre que 14 al·lels només es troben a *P. montsicciana* i 4 únicament a *P. pardoi*. Només han mostrat al·lels privats 4 poblacions dels dos tàxons: Camarasa (4), Mont-Rebei (3), Aiguaviva (1) i Barranc de la Mare de Déu (1). Hem detectat al·lels rars en totes les poblacions mostrejades (17 al·lels sumant totes les poblacions de *P. montsicciana* i 7 al·lels a les de *P. pardoi*). *Petrocoptis montsicciana* presenta uns valors més alts de diversitat genètica que *P. pardoi* (taula 5):  $P = 70,3\%$ ,  $A = 2,2$  i  $H_e = 0,239$  en la primera i  $P = 56,3\%$ ,  $A = 1,9$  i  $H_e = 0,192$  en la

segona. Prenent les dues espècies alhora, la població amb més diversitat és La Móra Comdal ( $H_e = 0,291$ ) i la menys variable Barranc de la Mare de Déu i ( $H_e = 0,175$ ). Aplicant un test xi-quadrat ( $\chi^2$ ), s'han avaluat les desviacions de F respecte zero. 19 dels 80 tests indiquen conformitat amb les proporcions de Hardy-Weinberg ( $P \geq 0,05$ ), mentre que 61 valors de F són significativament més grans que zero ( $P < 0,05$ ), fet que fa palesa una deficiència d'heterozigots.

La diversitat genètica total és lleugerament superior a *P. montsicciana* ( $H_T = 0,384$ ) que a

Taula 3. Freqüències al·lèliques per a 14 *loci* a les tres poblacions de *S. farrenyi*. L'al·lel més freqüent està en negreta.

Allele frequencies for 14 *loci* in three populations of *S. farrenyi*. Most frequent allele is bold type.

<i>Locus</i>	<i>Al·lel</i>	<i>Ses Estenedors</i>	<i>Es Camallerús</i>	<i>Es Bol d'Es Prim</i>
<i>Aat</i>	<i>a</i>	0,000	0,000	0,007
	<i>b</i>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>0,993</b>
<i>Adh</i>	<i>a</i>	<b>0,833</b>	<b>0,946</b>	<b>1,000</b>
	<i>b</i>	0,167	0,054	0,000
<i>Dia-1</i>	<i>a</i>	0,017	0,009	0,004
	<i>b</i>	<b>0,833</b>	<b>0,813</b>	<b>0,948</b>
	<i>c</i>	0,150	0,179	0,048
<i>Dia-2</i>	<i>a</i>	0,017	0,004	0,030
	<i>b</i>	0,133	0,138	0,289
	<i>c</i>	<b>0,850</b>	<b>0,857</b>	<b>0,670</b>
	<i>d</i>	0,000	0,000	0,011
<i>Idh</i>	<i>a</i>	0,017	0,018	0,059
	<i>b</i>	0,300	0,188	0,248
	<i>c</i>	<b>0,683</b>	<b>0,786</b>	<b>0,663</b>
	<i>d</i>	0,000	0,009	0,030
<i>Mdh-1</i>	<i>a</i>	0,000	0,013	0,000
	<i>b</i>	0,083	0,085	0,196
	<i>c</i>	<b>0,917</b>	<b>0,902</b>	<b>0,804</b>
<i>Mdh-3</i>	<i>a</i>	0,067	0,018	0,126
	<i>b</i>	<b>0,933</b>	<b>0,982</b>	<b>0,874</b>
<i>Mdh-4</i>	<i>a</i>	0,100	0,018	0,074
	<i>b</i>	<b>0,900</b>	<b>0,938</b>	<b>0,896</b>
	<i>c</i>	0,000	0,045	0,030
<i>6Pgd-1</i>	<i>a</i>	0,000	0,013	0,004
	<i>b</i>	<b>0,967</b>	<b>0,915</b>	<b>0,937</b>
	<i>c</i>	0,033	0,071	0,059
<i>6Pgd-2</i>	<i>a</i>	0,033	0,000	0,044
	<i>b</i>	0,233	0,098	0,304
	<i>c</i>	<b>0,717</b>	<b>0,683</b>	<b>0,507</b>
	<i>d</i>	0,017	0,214	0,141
<i>Pgi-1</i>	<i>e</i>	0,000	0,004	0,004
	<i>a</i>	0,017	0,027	0,026
	<i>b</i>	0,333	0,232	0,433
	<i>c</i>	<b>0,383</b>	<b>0,496</b>	<b>0,422</b>
	<i>d</i>	0,267	0,228	0,119
<i>Pgi-2</i>	<i>e</i>	0,000	0,018	0,000
	<i>a</i>	0,000	0,018	0,000
	<i>b</i>	0,117	0,277	0,015
	<i>c</i>	<b>0,750</b>	<b>0,451</b>	<b>0,737</b>
	<i>d</i>	0,133	0,219	0,230
<i>Pgm-2</i>	<i>e</i>	0,000	0,036	0,019
	<i>a</i>	0,000	0,125	0,004
	<i>b</i>	<b>0,983</b>	<b>0,848</b>	<b>0,889</b>
	<i>c</i>	0,017	0,027	0,107
<i>Rbc</i>	<i>a</i>	0,000	0,022	0,000
	<i>b</i>	0,167	0,281	0,107
	<i>c</i>	<b>0,533</b>	<b>0,478</b>	<b>0,689</b>
	<i>d</i>	0,300	0,174	0,159
	<i>e</i>	0,000	0,045	0,044

TAULA 4. Freqüències al·lèliques per a 16 loci a quatre poblacions de *P. montsicciana* i a tres poblacions de *P. pardoi*. L'al·lel més freqüent està en negreta.Allele frequencies for 16 loci in four populations of *P. montsicciana* and three populations of *P. pardoi*. Most frequent allele is bold type.

Locus	Al·lel	Camarasa	La Móra Comdal	Mont-Rebei	Terradets	Aiguaviva	Barranc de la Mare de Déu	Cantal Badat
Aat	a	0,032	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	b	<b>0,548</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	c	0,419	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>
Aco-1	a	<b>0,935</b>	<b>0,929</b>	<b>0,848</b>	<b>1,000</b>	<b>0,955</b>	<b>0,933</b>	<b>0,903</b>
	b	0,065	0,071	0,152	0,000	0,045	0,067	0,097
Aco-2	a	0,065	0,095	0,087	0,000	0,045	0,067	0,323
	b	<b>0,935</b>	<b>0,857</b>	<b>0,891</b>	<b>1,000</b>	<b>0,955</b>	<b>0,933</b>	<b>0,645</b>
	c	0,000	0,048	0,022	0,000	0,000	0,000	0,032
Adh	a	0,000	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>
	b	<b>1,000</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Dia-2	a	0,000	0,000	0,022	0,000	0,000	0,000	0,000
	b	0,048	<b>0,702</b>	0,043	0,024	0,000	0,000	0,000
	c	<b>0,952</b>	0,298	<b>0,913</b>	<b>0,881</b>	<b>1,000</b>	<b>0,917</b>	<b>0,871</b>
Dia-3	e	0,000	0,000	0,022	0,095	0,000	0,083	0,129
	a	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,167	0,000
	b	0,065	0,155	0,043	0,000	0,000	0,200	0,194
	c	<b>0,935</b>	<b>0,821</b>	<b>0,924</b>	<b>0,762</b>	<b>0,864</b>	<b>0,633</b>	<b>0,806</b>
Mdh-1	d	0,000	0,024	0,033	0,238	0,136	0,000	0,000
	a	0,000	0,357	0,000	0,000	<b>0,955</b>	0,050	<b>1,000</b>
Mdh-4	b	<b>1,000</b>	<b>0,643</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	0,045	<b>0,950</b>	0,000
	a	0,000	0,000	0,000	0,000	0,955	0,000	0,984
	b	<b>0,871</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	0,045	<b>1,000</b>	0,016
Me	c	0,129	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	a	0,177	0,024	0,076	0,095	0,068	0,000	0,065
	b	<b>0,710</b>	<b>0,679</b>	<b>0,652</b>	<b>0,833</b>	<b>0,545</b>	<b>0,800</b>	<b>0,710</b>
	c	0,113	0,238	0,250	0,071	0,386	0,200	0,226
6Pgd-1	d	0,000	0,060	0,022	0,000	0,000	0,000	0,000
	a	<b>0,839</b>	0,071	0,000	0,143	0,182	0,133	0,000
	b	0,161	0,095	0,043	<b>0,857</b>	0,341	0,150	0,097
	c	0,000	<b>0,833</b>	<b>0,870</b>	0,000	<b>0,477</b>	<b>0,717</b>	<b>0,903</b>
	d	0,000	0,000	0,076	0,000	0,000	0,000	0,000
6Pgd-2	e	0,000	0,000	0,011	0,000	0,000	0,000	0,000
	a	0,000	0,429	0,076	0,000	0,045	0,000	0,065
	b	<b>1,000</b>	<b>0,571</b>	<b>0,685</b>	<b>1,000</b>	0,182	0,050	<b>0,726</b>
	c	0,000	0,000	0,239	0,000	<b>0,523</b>	<b>0,950</b>	0,210
	d	0,000	0,000	0,000	0,000	0,250	0,000	0,000
Pgi-2	a	0,548	0,000	0,000	<b>0,619</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>
	b	0,435	0,107	<b>1,000</b>	0,381	0,000	0,000	0,000
	c	0,016	<b>0,893</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Pgm-1	a	0,000	0,000	0,000	0,000	0,364	<b>0,583</b>	0,355
	b	0,000	0,262	0,467	0,357	<b>0,636</b>	0,417	<b>0,629</b>
	c	<b>0,839</b>	<b>0,726</b>	<b>0,533</b>	<b>0,500</b>	0,000	0,000	0,016
	d	0,161	0,012	0,000	0,143	0,000	0,000	0,000
Pgm-2	a	0,000	0,048	0,109	0,048	0,000	0,000	0,000
	b	<b>0,758</b>	<b>0,833</b>	<b>0,891</b>	<b>0,762</b>	<b>0,932</b>	<b>0,967</b>	<b>0,903</b>
	c	0,226	0,071	0,000	0,190	0,068	0,000	0,097
	d	0,016	0,048	0,000	0,000	0,000	0,033	0,000
Prx-1	a	0,145	0,071	0,043	0,000	0,000	0,000	0,000
	b	<b>0,855</b>	0,440	<b>0,837</b>	<b>0,643</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>0,968</b>
	c	0,000	0,488	0,120	0,357	0,000	0,000	0,032
Prx-2	a	<b>0,565</b>	0,036	0,109	0,310	0,000	0,000	0,032
	b	0,435	<b>0,810</b>	<b>0,859</b>	<b>0,690</b>	<b>0,932</b>	<b>0,800</b>	<b>0,871</b>
	c	0,000	0,155	0,033	0,000	0,068	0,200	0,097



TAULA 5. Resum de la diversitat genètica per totes les poblacions estudiades de *S. farrenyi*, *P. montsicciana* i *P. pardoi*. *N*: mida de la mostra; *P*: percentatge de loci polimòrfics; *A*: nombre mitjà d'al·lels per locus; *H<sub>o</sub>*: heterozigosi observada; *H<sub>e</sub>*: heterozigosi esperada. Error estàndard entre parèntesis.

Summary of genetic diversity in all studied populations of *S. farrenyi*, *P. montsicciana* and *P. pardoi*. *N*: sample size; *P*: percentage of polymorphic loci; *A*: mean number of alleles per locus; *H<sub>o</sub>*: observed heterozygosity; *H<sub>e</sub>*: expected panmictic heterozygosity. Standard error in parentheses.

Població	<i>N</i>	<i>P</i>	<i>A</i>	<i>H<sub>o</sub></i>	<i>H<sub>e</sub></i>
<i>S. farrenyi</i>					
Ses Estenedors	30	78,6	2,6	0,124 (0,029)	0,285 (0,056)
Es Camallerús	112	85,7	3,3	0,137 (0,023)	0,302 (0,062)
Es Bol d'Es Prim	135	85,7	3,1	0,100 (0,020)	0,305 (0,057)
Mitjana		83,3	3,0	0,120	0,297
Desviació estàndard		4,1	0,36	0,019	0,011
<i>P. montsicciana</i>					
Presa de Camarasa	31	75,0	2,1 (0,2)	0,127 (0,043)	0,243 (0,047)
Congost de Terradets	21	56,3	1,8 (0,2)	0,146 (0,061)	0,221 (0,055)
Congost de Mont-Rebei	46	68,8	2,4 (0,3)	0,111 (0,059)	0,202 (0,045)
La Móra Comdal	42	81,3	2,4 (0,2)	0,100 (0,039)	0,291 (0,046)
Mitjana		70,3	2,2	0,121	0,239
Desviació estàndard		10,7	0,29	0,020	0,038
<i>P. pardoi</i>					
Aiguaviva	22	43,8	1,9 (0,2)	0,068 (0,040)	0,198 (0,060)
Cantal Badat	31	62,5	2,1 (0,2)	0,079 (0,039)	0,204 (0,046)
Barranc de la Mare de Déu	30	62,5	1,8 (0,2)	0,069 (0,043)	0,175 (0,047)
Mitjana		56,3	1,9	0,072	0,192
Desviació estàndard		10,8	0,5	0,0065	0,015
Mitjana de les 2 espècies de <i>Petrocoptis</i>					
		64,3	2,1	0,100	0,217
Desviació estàndard		12,3	0,26	0,030	0,038

*P. pardoi* ( $H_T = 0,298$ ), i tant la diversitat genètica intrapoblacional com interpoblacional també són més elevades a *P. montsicciana* ( $H_S = 0,239$  i  $D_{ST} = 0,144$ ) que a *P. pardoi* ( $H_S = 0,192$  i  $D_{ST} = 0,105$ ) (taula 4). El coeficient de diferenciació gènica ( $G_{ST}$ ) presenta uns valors de 0,376 i 0,354 a *P. montsicciana* i *P. pardoi*, respectivament, que són indicatius d'una elevada divergència entre poblacions. El flux gènic ( $Nm$ ) és en conseqüència molt petit (0,415 a *P. montsicciana* i 0,456 a *P. pardoi*), insuficient per a contrarestar la divergència resultant d'un

procés de deriva genètica ( $Nm$  hauria de ser  $\geq 1,0$ ; Wright, 1951). Els dos tàxons presenten petits nivells d'identitat genètica i, per tant, valors elevats de distància genètica ( $D$ ) entre les parelles de poblacions analitzades, probablement a causa de l'aïllament geogràfic entre elles. Els valors de  $I$  són lleugerament més alts entre parelles de poblacions de *P. pardoi* (mitjana de  $I$  és 0,870) que de *P. montsicciana* (la mitjana de  $I$  resta en 0,809) i, si observem el dendrograma UPGMA (figura 3), ens conforma dos *clusters* ben diferenciats, un per al nucli de

TAULA 6. Mitjana dels valors dels estadístics de Nei (1973) de tots els *loci* interpretats en *S. farrenyi*, *P. montsicciana* i *P. pardoi*.  $H_T$ : diversitat total de l'espècie;  $H_S$ : diversitat intrapoblacional;  $D_{ST}$ : diversitat interpoblacional;  $G_{ST}$ : coeficient de diferenciació gènica.

Mean values of Nei (1973) statistics across *loci* in *S. farrenyi*, *P. montsicciana* and *P. pardoi*.  $H_T$ : total genetic diversity;  $H_S$ : genetic diversity within populations;  $D_{ST}$ : genetic diversity between populations;  $G_{ST}$ : proportion of total genetic diversity among populations.

	$H_T$	$H_S$	$D_{ST}$	$G_{ST}$
Mitjana de <i>S. farrenyi</i>	0,310	0,297	0,013	0,041
Mitjana de <i>P. montsicciana</i>	0,384	0,239	0,144	0,376
Mitjana de <i>P. pardoi</i>	0,298	0,192	0,105	0,354
Mitjana de les 2 espècies de <i>Petrocoptis</i>	0,341	0,215	0,124	0,365

TAULA 7. Anàlisi jeràrquica de  $F_{ST}$  en *S. farrenyi*.  
Hierarchical  $F_{ST}$  analysis in *S. farrenyi*.

Comparació		Component de variància	$F_{XT}$
X	Y		
Subpoblació	—	Població	0,19524
Subpoblació	—	Total	0,26205
Població	—	Total	0,06681

poblacions de *P. montsicciana* i un altre per al nucli de *P. pardoi*. Entre els dos nuclis de poblacions, el de *P. montsicciana* i el de *P. pardoi*, la identitat genètica desprèn un valor relativament alt ( $I = 0,724$ ) en comparació amb les identitats que obtenim entre parells de poblacions.

## Discussió i conclusions

Des de fa molts anys hi ha una percepció generalitzada que les espècies rares o endèmiques estan genèticament depauperades (Stebbins, 1942); els reculls a bastament coneguts de dades isoenzimàtiques de plantes (Hamrick & Godt, 1990; 1996) postulen que hi ha un patró de baixa diversitat genètica a les espècies endèmiques. Cal prendre però amb precaució aquestes dades, ja que aquesta limitada variabilitat genètica es pot considerar alhora una causa i una conseqüència de raresa (Bosch *et*

*al.*, 1998; Gitzendanner & Soltis, 2000). Diverses raons són les que s'han proposat per explicar els baixos nivells de diversitat genètica trobats en els tàxons endèmics: la petita mida de les poblacions i/o l'aïllament d'aquestes (Barrett & Kohn, 1991) i un hàbitat molt uniforme (Babbal & Selander, 1974).

L'estudi isoenzimàtic de moltes espècies endèmiques en els darrers anys sembla que va camí de demostrar, però, que no existeix una correlació clara entre els nivells de diversitat genètica i l'àrea de distribució d'una espècie. A la Mediterrània occidental disposem de diversos exemples d'espècies endèmiques amb alts nivells de variabilitat genètica, com ara *Artemisia molinieri* (Torrell *et al.*, 1999), *Delphinium bolosii* (Bosch *et al.*, 1998), *Antirrhinum mollissimum* i *Antirrhinum microphyllum* (Mateu-Andrés, 1999; Torres, 1999). Els tres tàxons objecte del present estudi semblen pertànyer a aquest grup d'espècies

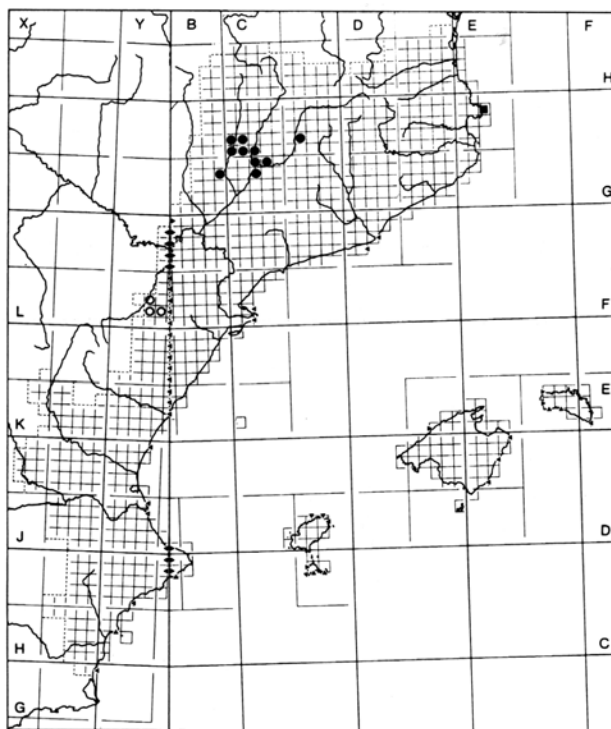


FIGURA 1. Àrea de distribució dels tres tàxons estudiats, en quadrícules UTM 10 × 10 km. ■ *Seseli farrenyi*; ● *Petrocoptis montsiciana*; ○ *Petrocoptis pardo*.

Distributions of the three taxa studied, by UTM 10 × 10 km squares. ■ *Seseli farrenyi*; ● *Petrocoptis montsiciana*; ○ *Petrocoptis pardo*.

que, tot i ser de distribució reduïda, mantenen uns nivells de variabilitat isoenzimàtica molt superiors als esperats.

### *Seseli farrenyi*

Aquesta espècie presenta uns nivells de diversitat genètica molt superiors als esperats per a espècies endèmiques ( $P = 26,3\%$ ,  $A = 1,39$ ,  $H_e = 0,063$ ; Hamrick & Godt, 1990). És adequat però matisar aquestes dades a causa de l'elevat nombre d'al·lels rars que contenen totes les poblacions, al·lels que, per la seva baixa freqüència, són susceptibles de perdre's del *pool* al·lèlic poblacional amb una relativa

rapidesa com a conseqüència de processos com ara la deriva genètica.

La població menys diversa és Ses Estenedors ( $H_e = 0,285$ ), amb uns valors lleugerament més petits de variabilitat, que poden explicar-se per una mida poblacional força reduïda (90 individus). El 1979 la seva mida es va estimar en 500 individus (Molero & Pujadas, 1979), el que fa pensar que aquesta població podria estar patint un coll d'ampolla, relatiu però, atesos els alts nivells de diversitat que encara conserva. L'antiga presència d'individus intermedis entre les poblacions de Ses Estenedors i Es Camallerús (J. Molero, *com. pers.*), molt properes geogràficament (0,5 km), ens fa pensar en la possibilitat que Ses Estene-

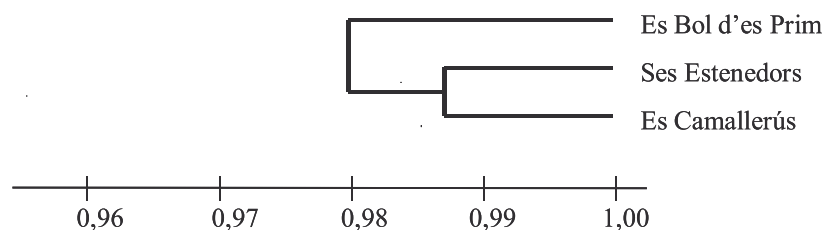


Figura 2. Dendrograma resultant de l'anàlisi UPGMA de les poblacions de *S. farrenyi* basat en la identitat genètica de Nei (1978). Percentatge de desviació estàndard = 0,657. Correlació cofenètica = 0,552.

Dendrogram resulting from UPGMA analysis of *S. farrenyi* populations based on pairwise values of Nei's (1978) genetic identity. Percentage standard deviation = 0,657. Cophenetic correlation = 0,552.

dors sigui un reducte resultat de la fragmentació d'una població ancestral que incloïa les dues, hipòtesi recolzada pel dendrograma UPGMA (figura 2) i els elevats valors d'identitat genètica entre ambdues.

La deficiència d'heterozigots observada (els valors de  $H_o$  són inferiors als de  $H_e$  a les tres poblacions) no pot explicar-se per una situació d'endogàmia, ja que només una proporció dels valors de  $F$ , i no la seva totalitat, indiquen disconformitat amb l'equilibri de Hardy-Weinberg, sinó que la causa més factible és l'estructuració de les poblacions en subpoblacions (efecte Wahlund), prèviament observades al camp. La raó més probable per explicar aquesta estructuració és la limitada pol·linització de l'espècie (les distàncies de dispersió del pol·len són petites pel tipus de pol·linitzadors que té; A. Rovira, *com. pers.*), que condueix a una agregació de genotips genèticament similars i produeix les desviacions detectades respecte de l'equilibri Hardy-Weinberg. Els resultats de l'anàlisi jeràrquica de  $F_{ST}$  confirmen aquesta subdivisió de les poblacions en subpoblacions en l'espai.

Aquesta estructura poblacional adquireix més complexitat si tenim en compte que només una petita proporció dels individus floreixen i fructifiquen cada any (entre el 10 % i el 25 %), de manera que només s'encreuen els

individus que comparteixen fenologia. Aquest fenomen ja havia estat detectat anteriorment en apiàcies (P. Arús, *com. pers.*), i condueix a l'existència de subpoblacions temporals o fenològiques. L'estructura de les poblacions cal explicar-la, doncs, per una confluència de subpoblacions espacials i temporals.

#### ***Petrocoptis montsicciana* i *P. pardoii***

Aquests dos tàxons presenten també uns nivells de variabilitat genètica prou superiors als esperats per espècies endèmiques (Hamrick & Godt, 1990), lleugerament més elevats en *P. montsicciana*. Si comparem les poblacions entre sí, no sembla existir cap correlació entre la mida poblacional i la diversitat genètica, puix que la població més gran (Barranc de la Mare de Déu) mostra uns nivells de diversitat més baixos que les poblacions més petites (La Móra Comdal i Aiguaviva). Els dos tàxons mostren una deficiència d'heterozigots (en totes les poblacions els valors de  $H_o$  són inferiors als de  $H_e$ ) que, de la mateixa manera que en *S. farrenyi*, no pot explicar-se per una situació d'endogàmia, sinó per una hipotètica existència de subpoblacions. Els mecanismes limitats de dispersió de pol·len (distàncies curtes de vol dels pol·linitzadors i visites re-

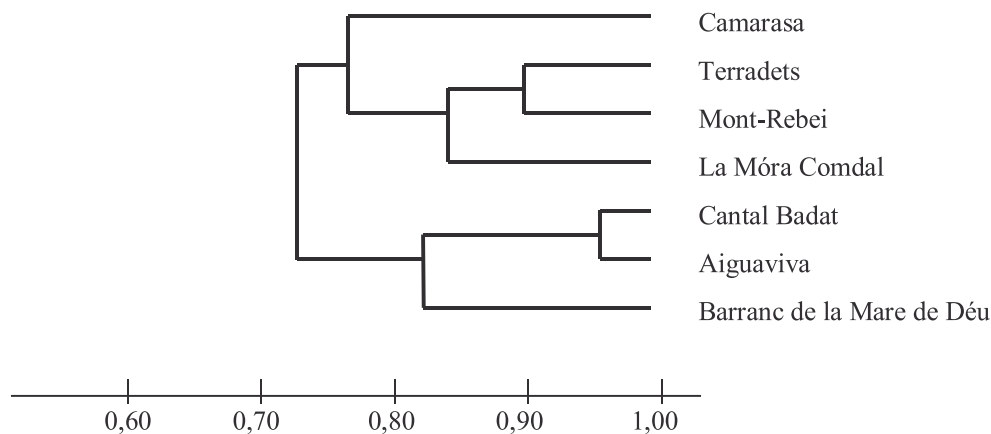


Figura 3. Dendrograma resultant de l'anàlisi UPGMA de les poblacions de *P. montsicciana* i *P. pardoii* basat en la identitat genètica de Nei (1978). Percentatge de desviació estàndard = 9,399. Correlació cofenètica = 0,731. Dendrogram resulting from UPGMA analysis of *P. montsicciana* and *P. pardoii* populations based on pairwise values of Nei's (1978) genetic identity. Percentage standard deviation = 9,399. Cophenetic correlation = 0,731.

petitives a la mateixa planta; M. Bosch, *com. pers.*) i granes (dispersió per gravetat i post-carpotropisme de les llavors; García, 1993), poden derivar en aquesta estructura de subpoblacions. Les petites taxes de germinació i també d'instal·lació de noves plàntules observades en els dos tàxons (Sainz *et al.*, 1996; López-Pujol, 2000) magnifiquen aquesta estructura, ja que limiten la introducció de nou material genètic a d'altres subpoblacions.

Una hipòtesi plausible és considerar *P. montsicciana* i *P. pardoii* com un parell de tàxons progenitor-derivatiu, en els quals s'ha de donar: (1) una elevada identitat genètica entre els dos tàxons, (2) que el progenitor presenti més diversitat genètica que el derivatiu, (3) que el derivatiu contingui un subconjunt dels al·lells presents en el progenitor i (4) que hi hagi pocs (si és que hi són presents) al·lells únics de cada tàxon, a causa del temps insuficient per acumular mutacions (Gottlieb, 1973; Crawford, 1983). Assumim que el tàxon derivatiu és *P. pardoii*, atès que la seva àrea de distribució és molt inferior a la de *P.*

*montsicciana* i, a més, és l'únic tàxon de *Petrocoptis* que no es troba situat a l'eix pirenaicocantàbric. És un model que s'escau prou bé per a aquests dos tàxons, ja que la identitat genètica entre els dos tàxons és prou alta en comparació amb les identitats que s'observen entre poblacions, *P. pardoii* presenta menys diversitat que *P. montsicciana* i, a més, *P. pardoii* mostra uns valors, tant pel que fa al nombre total d'al·lells com al nombre d'al·lells únics, inferiors a *P. montsicciana*. El nucli de poblacions de *P. pardoii* pot haver resultat d'una migració cap al sud com a conseqüència de l'última glaciació, implicant un cert empobriment genètic per la restricció del flux genètic entre les noves poblacions establertes i el *pool* genètic ancestral.

### Implicacions per a la conservació

La supervivència de les espècies es pot veure afectada per dos tipus d'amenaques: les naturals i les antròpiques. En el cas de *S.*

*farrenyi*, les principals amenaces són les activitats humanes (els incendis i les activitats derivades del turisme), més que no pas les naturals, per causa dels seus elevats nivells de diversitat genètica. Les amenaces naturals sí que són un important factor de risc en els dos tàxons de *Petrocoptis*, relacionades amb les petites taxes de germinació i d'instal·lació de noves plàntules. *P. montsicciana* i *P. pardoii* també estan sotmesos a amenaces d'origen humà, com ara els treballs de millora de la xarxa viària, l'escalada i l'herborització massiva. Es proposen mesures de conservació *in-situ* i *ex-situ* per als tàxons estudiats. Per a *S. farrenyi*, donat el petit nombre d'individus amb què compta l'espècie, és necessària l'aplicació d'un programa de monitorització, i també és aconsellable la creació d'una microreserva botànica. En el cas de *P. pardoii*, cal esmentar que la població més gran, Barranc de la Mare de Déu, constitueix avui una microreserva botànica (DOGV, 1994), però no existeix cap figura de protecció suficient per a la conservació de les poblacions de *P. montsicciana*. La recol·lecció de grans i el seu emmagatzemament a llarg termini (banc de germoplasma), sembla una bona estratègia de conservació per a *S. farrenyi*, però no pas per als tàxons de *Petrocoptis*, atesa la seva petita taxa de germinació (5,5 % en *P. montsicciana*, López-Pujol, 2000).

## Agraïments

Vull agrair en primer lloc als meus directors de tesi, els doctors Cèsar Blanché i Joan Simon, tota l'ajuda que em van oferir en el marc d'aquest treball, i encara em segueixen oferint. A la doctora Maria Bosch, per ensenyar-me tan pacientment la tècnica de l'electroforesi d'isoenzims. També m'agradaria agrair la col·laboració desinteressada del Parc Natural de Cap de Creus, de la Direcció General

del Medi Físic i Patrimoni Natural (Generalitat de Catalunya), de la Conselleria de Medi Ambient de la Generalitat Valenciana i de l'empresa FECSA. Aquest treball forma part del projecte AMB97-375 (CICYT).

## Bibliografia

- AIZPURU ET AL. 2000. Lista Roja de Flora Vasculare Española (valoración según categorías UICN). *Conservación Vegetal*, 6: 11-38.
- BABELL, G. R. & SELANDER, R. B. 1974. Genetic variability in edaphically restricted and widespread plant species. *Evolution*, 28: 619-630.
- BARRETT, S. C. H. & KOHN, J. R. 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. In: *Genetics and conservation of rare plants* (D. A. Falk & K. E. Holsinger. Eds.). Oxford University Press, Nova York. p. 3-30.
- BOSCH, M. 1999. *Biologia de la reproducció de la tribu Delphinieae a la Mediterrània occidental*. Institut d'Estudis Catalans, Barcelona.
- BOSCH, M.; SIMON, J.; MOLERO, J. & BLANCHÉ, C. 1998. Reproductive biology, genetic variation and conservation of the rare endemic dysploid *Delphinium bolosii* (Ranunculaceae). *Biol. Conservation*, 86: 57-66.
- CRAWFORD, D. J. 1983. Phylogenetic and systematic inferences from electrophoretic studies. In: *Isozymes in Plant Genetics and Breeding*. (S. D. Tanksley & T. J. Orton. Eds.) Elsevier Science Publishers, Amsterdam. p. 257-287.
- DOGV. 1994. Decret 218/1994, de 17 d'octubre, del Govern Valencià, pel qual es crea la figura de protecció d'espècies silvestres anomenada microreserva vegetal. *Diari Oficial de la Generalitat Valenciana*, 2379: 12948-12951.
- ELLSTRAND, N. C. & ELAM, D. R. 1993. Population genetic consequences of small population size: Implications for plant conservation. *Annual Rev. Ecol. Syst.*, 24: 217-242.
- FERNÁNDEZ-BENITO, R. 1999. *Estudis citogenètics en Petrocoptis montsicciana. Aportació a la base de dades CRÓMOCAT*. Treball Pràctic de Botànica I. Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona.
- FERNÁNDEZ-CASAS, J.; MOLERO, J. & PUJADAS, J. 1979. Números cromosòmatics de plantas occidentales. *Anales Jard. Bot. Madrid*, 36: 391-393.
- FRANQUESA, T. 1995. *El paisatge vegetal de la península del cap de Creus*. Institut d'Estudis Catalans, Barcelona.
- GARCÍA, M. B. 1993. *Biología reproductiva y ecología de plantas endémicas relictas de los Pirineos*. Tesi doctoral, Universidad de Navarra, Pamplona.
- GITZENDANNER, M. A. & SOLTIS, P. M. 2000. Patterns of genetic variation in rare and widespread plant congeners. *Amer. J. Bot.*, 87: 783-792.

- GOTTLIEB, L. D. 1973. Genetic differentiation, sympatric speciation, and the origin of a diploid species of *Stephanomeria*. *Amer. J. Bot.*, 60: 545-553.
- HAMRICK, J. L. 1983. The distribution of genetic variation within and among natural plant populations. In: *Genetics and Conservation* (C. M. Schonewald-Cox, S. M. Chambers, B. McBryde & W. L. Thomas. Eds.) Benjamin/Cummings. Menlo Park, California (EUA). p. 335-348.
- 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 (EUA). p. 43-63.
- HAMRICK, J. L. & GODT, M. J. W. 1996. Conservation genetics of endemic plant species. In: *Conservation Genetics*. (J. C. Avise & J. L. Hamrick. Eds.). Chapman and Hall. Nova York. p. 281-304.
- HOGGIN, P. M., PEAKALL, R. & SYDES, M. A. 2000. Achieving practical outcomes from genetic studies of rare Australian plants. *Aust. J. Bot.*, 48: 375-382.
- LOESCHCKE, V.; TOMIUK, J. & JAIN, S. K. 1994. Introductory remarks: Genetics and conservation biology. In: *Conservation Genetics*. (V. Loeschcke, J. Tomiuk & S. K. Jain. Ed.) Birkhäuser Verlag. Basel (Suïssa). p. 3-8.
- LÓPEZ-PUJOL, J. 2000. *Diversitat isoenzimàtica en dues espècies endèmiques de Catalunya: Petrocoptis montsiciana i Seseli farrenyi*. Màster Experimental en Ciències Farmacèutiques. Facultat de Farmàcia. Universitat de Barcelona.
- MATEU-ANDRÉS, I. 1999. Allozymic variation and divergence in three species of *Antirrhinum* L. (Scrophulariaceae-Antirrhineae). *Bot. J. Linn. Soc.*, 131: 187-199.
- MAYOL, M. & ROSSELLÓ, J. A. 1999. A synopsis of *Silene* subgenus *Petrocoptis* (Caryophyllaceae). *Taxon*, 48: 471-482.
- MOLERO J. & PUJADAS J. 1979. Aportaciones a la flora catalana. *Lagasalia*, 9(1): 29-38.
- MONTERRAT, P. & FERNÁNDEZ-CASAS, J. 1990. *Petrocoptis*. In: *Flora Ibérica*, Vol. 2. (S. Castroviejo; M. Laínz; G. López-González; P. Montserrat; F. Muñoz-Garmendia; J. Paiva & L. Villar. Eds.). Real Jardín Botánico, CSIC. Madrid. p. 304-312.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A. B.; & KENT, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403: 853-858.
- NC-IUBMB. 2001. Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology. Pàgina web: <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/enzyme/>.
- NEI, M. 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Naturalist*, 106: 283-292.
- NEI, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 70: 3321-3323.
- NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583-590.
- SÁEZ, L.; ROSSELLÓ, J. A. & VIGO, J. 1998. Catàleg de plantes vasculars endèmiques, rares o amenaçades de Catalunya. I: Tàxons endèmics. *Acta Bot. Barcinon.*, 45: 309-321.
- SAINZ, H.; FRANCO, F. & ARIAS, J. 1996. *Estrategias para la Conservación de la Flora Amenazada de Aragón*. Diputación General de Aragón. Saragossa.
- SHIELDS, C. R.; ORTON, T. J. & STUBER, C. W. 1983. An outline of general resources needs and procedures for the electrophoretic separation of active isozymes from plant tissue. In: *Isozymes in Plant Genetics and Breeding* (S. D. Tanksley & T. J. Orton. Eds.). Elsevier Science Publishers. Amsterdam.
- STEBBINS, G. L. 1942. The genetic approach to problems of rare and endemic species. *Madroño*, 6: 241-258.
- SWOFFORD, D. L. & SELANDER R. B. 1989. *Biosys-1: realase 1.7. A computer program for the analysis of allelic variation in genetics. User's Manual*. Department of Genetics and Development, University of Illinois. Urbana-Champaign (EUA).
- TORRELL, M.; BOSCH, M.; MARTÍN, J. & VALLÉS J. 1999. Cytogenetic and isozymic characterization of the narrow endemic species *Artemisia molinieri* (Asteraceae, Anthemideae): implications for its systematics and conservation. *Can. J. Bot.*, 77: 51-60.
- TORRES, M. E. 1999. *Estudios de la autoecología, biología reproductiva y estructura genética de Antirrhinum microphyllum Rothm. (Scrophulariaceae). Evaluación de su estado de conservación*. Tesis doctoral, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid.
- UICN. 1994. *Categorías de las Listas Rojas de la UICN: Preparadas por la Comisión de Supervivencia de Especies de la UICN*. Gland (Suïssa).
- VALLEJOS, E. 1983. Enzyme activity staining. In: *Isozymes in Plant Genetics and Breeding* (S. D. Tanksley, T. J. Orton. Eds.). Elsevier Science Publishers. Amsterdam. p. 469-516.
- WENDEL, F. & WEEDEN, N. F. 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes. In: *Isozymes in Plant Biology*. (D. E. Soltis & P. S. Soltis. Eds.). Dioscorides Press. Portland (EUA). p. 5-45.
- WHITKUS R. 1988. Modified version of GENESTAT: a program for computing genetic statistics from allele frequency. *Pl. Genet. Newslett.*, 4: 10.
- WRIGHT, S. 1951. The genetic structure of populations. *Ann. Eugen.*, 15: 323-354.
- WRIGHT, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19: 395-420.