Universidad Rey Juan Carlos

GRADO EN BIOLOGÍA

Curso Académico 2023/24

Trabajo de Fin de Grado

Estudio del dimorfismo del color floral en *Bartsia trixago*

Autora: Andrea Fernández Doctor

Director: Marcos Méndez Iglesias

Tutor URJC: Marcos Méndez Iglesias

Índice

Resumen 3
Introducción 4
Material y métodos 5
Resultados 8
Discusión 10
Conclusiones 11
Bibliografía 12

Resumen

En este estudio se analizan las diferencias en eficacia biológica entre las plantas de flores amarillas y de flores blancas de una especie anual que posee dimorfismo del color intrapoblacional, *Bartsia trixago*. La eficacia biológica se midió mediante el conteo de semillas de cada morfo y la frecuencia de estos en las poblaciones y se compararon algunas variables como la depredación, la abundancia de flores, el tamaño de las plantas, el coste de producción de las flores o el despliegue floral. El morfo amarillo de la planta presentó un tamaño mayor de flores, mayor abundancia de estas y una eficacia biológica más alta que el morfo blanco, tanto en número de semillas como en frecuencia poblacional. En el morfo blanco, por el contrario, existió una correlación entre el tamaño de la planta y el número de flores, mientras que en el amarillo no. Además, el morfo blanco invirtió una concentración de nitrógeno y fósforo mayor en sus corolas que el morfo amarillo, algo que contradice la bibliografía utilizada. Con los resultados de este estudio no se puede determinar a qué se debe la ventaja del morfo amarillo sobre el blanco, pero sí se descartan algunas posibles causas.

Introducción

La variación fenotípica entre poblaciones de la misma especie es fundamental en Biología Evolutiva, puesto que sobre ella actúa la selección natural y permite descubrir cómo funcionan los mecanismos de evolución (Cheplick, 2015). Igualmente importante es la variación fenotípica intrapoblacional, que podría dar información sobre los procesos de selección a pequeña escala (Sapir et al., 2021). Existen diversos tipos de polimorfismos intraespecíficos en plantas, algunos resultan de diferentes condiciones ambientales, pudiendo incluso darse un gradiente de variación fenotípica (Cheplick, 2015). Otros pueden surgir como respuesta a la depredación, como ocurre en la especie *Cucumis sativus*, en la que aquellos individuos que sintetizan cucurbitacina son menos dañadas por ácaros que los que no producen dicha sustancia (Agrawal et al., 1999), o en *Arabidopsis halleri* subsp. *gemmifera*, algunas plantas de la especie están cubiertas de tricomas para evitar ser depredadas por el escarabajo *Phaedon brassicae* (Sato, 2018).

En angiospermas, uno de los polimorfismos asociados a la polinización afecta al color en las flores (Narbona et al., 2014). Se dan polimorfismos de color donde las flores de la misma especie sintetizan distintos tipos de pigmentos. Por ejemplo, algunos individuos de ciertas especies generan carotenoides y antocianinas, dando a las flores colores morados y rojos, mientras que otros individuos tan sólo sintetizan carotenoides, teniendo así sus flores color amarillo, como por ejemplo *Mimulus aurantiacus* (Streisfeld & Kohn, 2005). Incluso se pueden dar más de dos colores en función del pigmento del que carezca la planta o que produzca, como es el caso de *Raphanus sativus*, cuyas flores pueden presentar cuatro tipos de coloración: marrón, rosa, amarillo y blanco (Stanton, 1987). Sin embargo, los dimorfismos de color floral más comunes son aquellos en los que existe un bajo porcentaje de flores blancas en comparación con el porcentaje de flores pigmentadas en la población de la planta (Levin & Brack, 1995). Además, parecen ser más frecuentes aquellos que tienen ausencia o presencia de antocianinas, es decir, que poseen un morfo blanco y otro malva o rosa, mientras que los polimorfismos florales de morfo blanco y verde, o los de blanco y amarillo, son más atípicos (Warren & Mackenzie, 2001).

Se considera que estos polimorfismos se mantienen mediante diferencias entre morfos en eficacia biológica, sobre todo en aquellas especies que implican polinizadores (Sobel & Streisfeld, 2013). Aunque no siempre estas diferencias entre morfos se dan como resultado de la selección de los polinizadores, también se dan casos en los que influyen otras variables en el mantenimiento de los morfos. Por ejemplo, la protección frente a herbívoros, como ocurre en

la especie *Raphanus sativus*, cuyo morfo claro es más susceptible a sufrir ataques de depredadores que su morfo oscuro, aunque este por el contrario atrae a menos polinizadores (Sapir et al., 2021). También puede influir el uso de recursos, por ejemplo, en *Polemonium viscosum* la disponibilidad hídrica y de nutrientes puede influir en la forma, tamaño y en si son más o menos llamativas las flores (Galen, 1999), pues la producción de flores conlleva para la planta un coste fisiológico (Ashman & Baker, 1992).

Bartsia trixago L. es una planta herbácea anual que presenta dentro de la misma población tanto plantas con flores blancas como plantas con flores amarillas. Se desconoce qué mecanismos evolutivos conducen a la persistencia de flores blancas. La hipótesis es que el morfo blanco presentará alguna ventaja en eficacia biológica sobre el morfo amarillo, pero se ignora si es una ventaja debida a la atracción de polinizadores, herbívoros o de otro tipo.

El objetivo general del trabajo es comparar el éxito reproductor entre el morfo amarillo y el morfo blanco en *Bartsia trixago*. Para ello, se consideraron los siguientes objetivos específicos: (1) ¿cuál es la frecuencia de cada morfo en las poblaciones?, (2) ¿existen diferencias entre morfos en la altura de la planta?, (3) ¿existen diferencias entre morfos en el número de flores o en cómo varía la producción de flores con la altura de la planta?, (4) ¿es diferente el grado de depredación entre morfos?, (5) ¿difieren los morfos en fecundidad? y (6) ¿difiere entre morfos el coste de producción de flores, medida como concentración de fósforo y nitrógeno en las corolas?

Material y métodos

Especie de estudio

Bartsia trixago L. (Orobanchaceae) una planta herbácea anual ruderal que suele crecer en zonas de herbazal. Es indiferente edáfica y aparece asociada a leguminosas y a *Echium plantagineum* L., lo que puede tener que ver con su carácter hemiparásito (Castroviejo, 2020: 501-505). Tiene una altura media de 19 cm, con un único tallo piloso, rara vez ramificado. Sus flores zigomórficas se disponen sobre una única inflorescencia de manera decusada a lo largo del eje del tallo y están impregnadas de una sustancia oleosa que al secar se vuelve pegajosa. Sus poblaciones en la Comunidad de Madrid contienen con frecuencia dos morfos; uno de flores amarillas y otro de flores blancas (Fig. 1). El morfo blanco puede tener flores completamente blancas con cierto tono rosado en la quilla, o flores de un tono amarillo muy claro. Sin embargo, para este trabajo ambos tipos de flor clara se han considerado en conjunto como morfo blanco.

Zona de estudio

A finales de mayo de 2022 se identificaron dos poblaciones en el barrio de los Molinos, en Getafe (Madrid) las cuales fueron nombradas Zona 1 (40° 19' 0,3" N; 3° 41' 39,8" O) y Zona 2 (40° 18' 47,9" N; 3° 42' 4,4" O). La distancia entre ambas zonas es de 700 m. Las dos poblaciones son áreas llanas periurbanas. Mientras que la Zona 2 se compone exclusivamente de una comunidad ruderal, la Zona 1 contiene también algunas plantas de porte arbustivo en los alrededores.

Toma de datos

En la Zona 1 se estudió la producción de flores, frutos y semillas de cada morfo. Se marcaron y se numeraron 35 plantas de cada morfo. Una vez completado su ciclo, fueron recogidas desde la base y guardadas en sobres de papel. Se descartaron 11 plantas amarillas y 7 blancas que habían sido depredadas, con lo cual se obtuvo un total de 25 plantas del morfo amarillo y 28 del blanco.

En el laboratorio, se midió la altura en cm de cada planta de punta a punta con una cinta métrica y se contó el número de brácteas florales para averiguar las flores producidas. También se retiraron los frutos y se almacenaron de modo que se pudiese identificar su posición (basal, media o apical) en la inflorescencia. En el caso de cinco plantas ramificadas, todas del morfo amarillo, la inflorescencia de la ramificación se analizó aparte. Para cada fruto se anotó si contenía o no semillas desarrolladas. Se contaron las semillas en tres frutos de cada planta con menos de 20 flores y en cuatro frutos si la planta tenía más de 20 flores. Dado el alto número de semillas por fruto, se esparcieron las semillas de cada fruto en una placa Petri de plástico dividida en 16 cuadrantes. Se fotografió cada cuadrante bajo la lupa a 0.9X y se utilizó la herramienta "*multipoint*" del programa de análisis de imagen ImageJ-Fiji para contar las semillas que aparecían en cada cuadrante.

En la Zona 2 se midió la altura de 52 plantas en centímetros con una cinta métrica y el número de flores abiertas. Además, se midió el ancho, desde la parte más exterior de cada lóbulo, y el largo, desde la parte más alta del labio superior hasta el borde del labio inferior, de una flor de cada planta con un calibre (mm) para obtener el tamaño floral. En la misma zona, se contaron el número de plantas de morfo blanco y de morfo amarillo que aparecían en la población, para después medir la frecuencia de cada morfo.

Se recogieron las corolas de 30 plantas, la mitad de morfo amarillo y la otra mitad blanco, y se les retiró los estambres con pinzas. Estas corolas fueron secadas en una estufa a 60º C durante 24 h. Una vez secas, se pesaron, se hizo una digestión Kjeldahl y se analizó el contenido en N y en P mediante SKALAR.

Figura 1. Fotografías de dos ejemplares de *Bartsia trixago*, a la izquierda el morfo amarillo y a la derecha, el blanco.

Análisis estadístico

Todos los análisis se hicieron con el programa GraphPad Prism versión 8. Se compararon seis variables entre morfos: altura de la planta (cm), número de flores por planta, tamaño de las flores (mm), porcentaje de depredación, número de semillas, y la relación entre la altura de las plantas y su número de flores. Además, se comparó la frecuencia de cada morfo en las poblaciones.

Antes de cada análisis, se comprobó la normalidad de las muestras con un test de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de varianza mediante un test de Levene o un F-test. Cuando los datos seguían una distribución normal se realizó un t-test y cuando no, un test de Mann-Whitney. Para analizar las variables categóricas, tales como frecuencia poblacional y tasa de depredación, se usó el test de chi cuadrado. Para analizar las diferencias entre morfos en el número de

semillas se utilizó un ANOVA de dos vías, pues se consideraron dos factores: morfo y posición (basal, intermedia o apical) de los frutos. Para analizar la relación entre la altura de las plantas y el número de flores, se utilizó una correlación de Pearson.

Se consideraron datos estadísticamente significativos cuando $p < 0,05$.

Resultados

No hubo diferencias significativas entre morfos en la altura de las plantas (Tabla 1) ni en la depredación (Tabla 2). Sin embargo, el morfo amarillo tuvo significativamente mayor número de flores, mayor longitud y anchura de flores, mayor frecuencia poblacional y mayor número de semillas en cada posición de la inflorescencia (Tabla 1). El morfo blanco tuvo significativamente mayor concentración de nitrógeno y fósforo en las flores (Tabla 1).

Además, en el caso del análisis ANOVA de dos vías para el número de semillas, no se dieron diferencias significativas en función de la altura de los frutos dentro de cada morfo (F=2,606, df=2, 53, p=0,083), ni en la interacción entre morfo y posición (F=0,171, df= 2, 53, p=0,844).

Tabla 1. Valor medio ± desviación típica (n) para cada variable comparada entre morfos y resultados de los tests estadísticos utilizados para comparar cada variable entre morfos. Se indica el valor del estadístico y la significación (p). Todas las variables de esta tabla tienen un n=30 plantas.

Variable	Amarillo	Blanco	Estadístico	p
Altura (cm)	17,48 ± 4,30	16,98 ± 5,07	t = 0,247, df=33,81	0,806
Nº de flores	7 ± 5,25	5 ± 2,93	U = 186, df=757, 621	0,006
Longitud flor (mm)	19,52 ± 1,52	18,23 ± 1,43	t =2,257, df=25	0,033
Anchura flor (mm)	13,07 ± 1,55	11,37 ± 1,61	t = 2,630, df=25	0,014
[N] (µg/mg)	11,59 ± 1,99	17,18 ± 3,03	t= 5,826, df=22, 25	<0,001
[P] (µg/mg)	2,90 ± 0,47	3,91 ± 0,47	t= 5,294, df=27, 99	<0,001
Nº semillas apicales	345 ± 114,53	0 ± 0	F = 24,44, df=1, 53	0,005
Nº semillas intermedias	459 ± 222,34	181 ± 150,47	F = 24,44, df=1, 53	0,029
Nº semillas basales	448 ± 226,87	183 ± 132,32	F = 24,44, df=1, 53	0,039

Tabla 2. Porcentajes de cada morfo y resultados de los tests estadísticos utilizados para comparar cada variable entre morfos. Se indica el valor del estadístico y la significación (p). Para la variable depredación la n= 17 plantas, mientras que para la frecuencia poblacional n= 468 plantas.

Variable	Amarillo	Blanco	χ^2	p
Depredación	31,4%	20,0%	=1,094, df=1,197, 1	0,274
Frecuencia de cada morfo en la población	59,8%	40,2%	=1,958, df=3,835, 1	0,050

Hubo una correlación positiva significativa entre la altura de la planta y su número de flores para el morfo B ($r = 0,785$, $p < 0,001$, $n = 29$) pero no para el morfo A ($r = 0,233$, $p = 0,284$, $n = 23$) (Fig. 2).

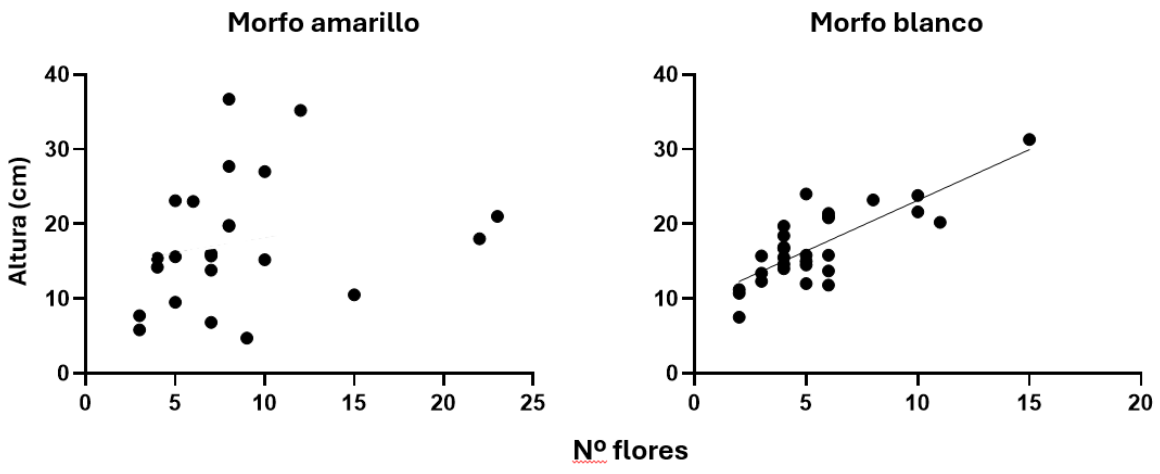

Figura 2. Correlación entre el número de flores y la altura (cm) de la planta, para cada morfo.

Discusión

La existencia de dos morfos de color floral en poblaciones de *Bartsia trixago* sugiere que pueda existir una diferencia de eficacia biológica entre ambos, debido a diferencias en la atracción de polinizadores, herbívoros, o uso de recursos. Según los resultados del presente estudio, las plantas de morfo amarillo han generado más flores y de mayor tamaño que las de morfo blanco, lo que se ha traducido en que el morfo amarillo ha producido una mayor cantidad de semillas y de plantas por población que el blanco. Por su parte, las plantas de morfo blanco presentan una mayor concentración de nitrógeno y fósforo en sus corolas. Además, las plantas de morfo blanco tienen mayor número de flores cuanto más alta es la planta, a diferencia de lo que ocurre con el morfo amarillo.

Una planta que tenga un despliegue floral mayor, es decir, más flores abiertas y de mayor tamaño, tendrá más posibilidades de ser polinizada que otra de su misma especie y población, pero cuyo despliegue floral sea menor. Incluso esas diferencias en despliegue floral podría ser un rasgo seleccionado por los polinizadores (Galen, 1999). Sin embargo, durante la toma de datos en campo no se atisbaron visitas de polinizadores en ningún morfo de *Bartsia trixago*. A pesar de ello, serían interesantes estudios complementarios que analicen más en detalle los polinizadores en esta planta, puesto que estos animales tienden a estar implicados de forma directa en los polimorfismos florales (Narbona et al., 2014).

Aunque, atendiendo a los resultados, no hubo diferencias entre morfos en cuanto a la depredación en *Bartsia trixago*, la defensa contra los herbívoros suele tener cabida en las diferencias entre dimorfismos florales (Galen, 1999). Es el caso de otras especies como *Cucumis sativus* y su defensa contra los ácaros (Agrawal et al., 1999), o *Polemonium viscosum* y las hormigas *Formica neorufibarbus gélida*, donde aquellas plantas que tienen menor tamaño floral tienden a ser menos atacadas por las hormigas (Galen, 1999). A pesar de esta falta de diferencias entre morfos en cuanto a depredación en *Bartsia trixago*, bien es cierto, que a simple vista durante el estudio se pudo observar que el morfo blanco era más piloso y sus corolas eran más oleosas que las del amarillo. Dando así la sensación de que poseía más estructuras de defensa contra la herbivoría, pero no se analizó en detalle por lo que no se puede concluir nada al respecto.

Un factor que sí parece influir en la diferencia entre morfos es el gasto de nutrientes. El tamaño de las flores y la pigmentación de estas puede variar también a causa de que la planta invierta más o menos nitrógeno en la corola (Galen, 1999). Ashman & Baker (1992) analizaron el coste

de los diferentes componentes de la flor y los pétalos eran la segunda estructura que más nitrógeno y fósforo consumía. Sin embargo, que el morfo amarillo tenga una menor concentración de nitrógeno y fósforo en sus corolas sugiere que ha invertido menos en ellas que el morfo blanco, algo que parece contradictorio. Sería interesante analizar qué demanda ese gasto de nutrientes en el morfo blanco.

Según los resultados obtenidos y en base a la bibliografía, es precipitado determinar qué causa la ventaja del morfo amarillo sobre el blanco, pero es posible que pueda deberse a un conjunto de factores (Galen, 1999). También puede ser que esa ventaja del morfo amarillo se explique a través de una variable que no ha sido medida o que se trate de un dimorfismo neutral, donde no media la selección natural, sino eventos aleatorios o deriva genética. Además, durante los muestreos de campo, existieron una serie de limitaciones que impidieron obtener más datos sobre otras poblaciones, por ejemplo, las condiciones de ola de calor que aceleraron el ciclo de la planta y el hecho de que se segasen algunas poblaciones marcadas para el estudio.

Con los datos obtenidos no podemos saber qué le da esa ventaja al morfo amarillo sobre el blanco en *Bartsia trixago*, aunque sí descartamos ciertas variables. Bien podría deberse a selección por parte de los polinizadores o incluso factores abióticos presentes en el ecosistema. Sea como sea, este estudio añade información sobre uno de los habitantes de las comunidades ruderales que podemos encontrar en la periferia de cualquier zona urbana, poniendo en valor estas comunidades que tenemos tan cerca, pero a la vez pueden resultar tan desconocidas. En relación con el ODS número 15, si un organismo no se conoce, difícilmente se puede hallar la manera de protegerlo, pero no sólo a él, sino a esos ecosistemas periurbanos que, a la vista popular, pueden parecer pedazos de tierra sin vida, pero que en realidad son muy importantes para los pequeños organismos con los que convivimos día a día.

Conclusiones

El morfo amarillo presentó una ventaja sobre el morfo blanco al contar con una mayor eficacia biológica medida en cantidad de semillas y frecuencia poblacional del morfo.

A pesar de que las flores estén coloreadas, posean mayor tamaño y que sean más abundantes las plantas amarillas invirtieron menos nitrógeno y fósforo en sus corolas que las blancas.

Para futuros estudios, sería interesante analizar en detalle la cantidad de polinizadores que esta planta puede tener y hacer una comparativa entre morfos. También si existe la capacidad de autofecundación del morfo blanco y a qué se debe el mayor gasto de nitrógeno y fósforo en este último.

Bibliografía

Agrawal, A. A.; Gorski, P. M.; Tallamy, D. W. (1999). Polymorphism in plant defense against herbivory: constitutive and induced resistance in *Cucumis sativus*. *Journal of Chemical Ecology* 25: 2285–2304.

Ashman, T. L.; Baker, I. (1992). Variation in floral sex allocation with time of season and currency. *Ecology* 73: 1237-1243.

Castroviejo, S. (2020). *Flora ibérica: plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Editorial CSIC

Cheplick, G. P. (2015). *Approaches to plant evolutionary ecology.* Oxford University Press, Oxford.

Galen, C. (1999). Why do flowers vary? The functional ecology of variation in flower size and form within natural plant populations. *BioScience* 49: 631-640.

Levin, D. A.; Brack, E. T. (1995). Natural selection against white petals in *Phlox*. *Evolution* 49: 1017-1022.

Narbona, E.; Buide, M. L.; Casimiro-Soriguer, I.; del Valle, J. C. (2014). Polimorfismos de color floral: causas e implicaciones evolutivas. *Ecosistemas* 23: 36-47.

Sapir, Y; Gallagher, K; Senden, E. (2021). What maintains flower colour variation within populations? *Trends in Ecology and Evolution* 36: 507-519.

Sato, Y. (2018). Associational effects and the maintenance of polymorphism in plant defense against herbivores: review and evidence. *Plant Species Biology* 33: 91-108.

Sobel, J. M.; Streisfeld, M. A. (2013). Flower color as a model system for studies of plant evo-devo. *Frontiers in Plant Science* 4: 321.

Stanton, M. L. (1987). Reproductive biology of petal color variants in wild populations of *Raphanus sativus*: I. Pollinator response to color morphs. *American Journal of Botany* 74: 178-187.

Streisfeld, M. A.; Kohn, J. R. (2005). Contrasting patterns of floral and molecular variation across a cline in *Mimulus aurantiacus*. *Evolution* 59: 2548-2559.

Warren, J.; Mackenzie, S. (2001) Why are all colour combinations not equally represented as flower-colour polymorphisms? *New Phytologist* 151: 237-241.