

# GENÉTICA DEL PAISAJE Y ECOLOGÍA DE PASTOS SUBALPINOS PIRENAICO-CANTÁBRICOS (*FESTUCA*, GRAMINEAE) EN LA RED DE PARQUES NACIONALES: CONSERVACIÓN DE LA BIODIVERSIDAD Y RESTAURACIÓN VEGETAL

PILAR CATALÁN<sup>1</sup>, CARMEN ACEDO<sup>2</sup>, ISABEL MARQUES<sup>1</sup>, FÉLIX LLAMAS<sup>2</sup>, ALICIA ALONSO<sup>2</sup>, ERNESTO PÉREZ-COLLAZOS<sup>1</sup>, JUAN VIRUEL<sup>1</sup>, ELVIRA SAHUQUILLO<sup>3</sup>, MARÍA DEL CARMEN SANCHO<sup>4</sup>, BENJAMÍN KOMAC<sup>5</sup>, JOSÉ ANTONIO MANSO<sup>1</sup>, MARÍA LUISA LÓPEZ-HERRANZ<sup>1</sup>, JOSÉ GABRIEL SEGARRA-MORAGUES<sup>6</sup>, DAVID DRAPER<sup>7</sup> Y LUIS VILLAR<sup>4</sup>

## RESUMEN

Los pastos subalpinos y oromediterráneos dominados por festucas punzantes (*Festuca* gr. *eskia*, Gramineae) se encuentran entre los ecosistemas más extensos y diversos de los Parques Nacionales de Ordesa - Monte Perdido (PNOMP), Aigüestortes i Estany de Sant Maurici (PNAESM) y Picos de Europa (PNPE). En este estudio se han investigado la genética del paisaje y la ecología de individuos de *Festuca eskia* Ramond ex DC., *F. gautieri* (Hack.) K. Richt. y su híbrido *F. x picoeuropeana* Nava. Los análisis se han desarrollado en los tres Parques Nacionales y en otros lugares de sus áreas de su distribución natural con el fin de conocer su dinámica espacio-temporal y su adaptación al cambio climático y de proponer medidas de conservación y gestión. Mediante marcadores nucleares microsatélites (SSR) y secuencias plastídicas (cpDNA) se ha analizado la diversidad y la estructura genética de las poblaciones, sus patrones filogeográficos, la naturaleza y el origen de los híbridos, así como el número y la distribución de los grupos genético-paisajísticos de cada especie. Los datos SSR muestran una mayor diversidad genética en las poblaciones de las tres especies del PNOMP, una menor diversidad pero mayor estructuración en las del PNPE, y una mayor endogamia en las del PNAESM. Las redes de haplotipos cpDNA sugieren una alta tasa de flujo génico interespecífico y una cierta estructura geográfica entre el este ibérico y pirenaico-oriental, los Pirineos centrales y las montañas cantábricas. Los análisis bayesianos de estructura genética por hibridogénesis han corroborado la naturaleza híbrida homoploide de *F. x picoeuropeana* y han detectado gene-

<sup>1</sup> Universidad de Zaragoza, Escuela Politécnica Superior de Huesca, Ctra Cuarte km 1, 22071 Huesca, Spain. pcatalan@unizar.es, isabel.ic@gmail.com, ernextop@unizar.es, viruel@unizar.es manso@unizar.es.

<sup>2</sup> Universidad de León, Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales, Campus de Vegazana s. n., 24071 León, Spain. c.acedo@unileon.es, f.llamas@unileon.es, alicia.alonso@unileon.es.

<sup>3</sup> Universidade da Coruña, Facultade de Ciencias, Campus da Zapateira sn. 15071 A Coruña, Spain. elvira@udc.es

<sup>4</sup> Instituto Pirenaico de Ecología, CSIC, Av. N<sup>a</sup> S<sup>a</sup> de la Victoria s. n., 22700 Jaca, Huesca, Spain. csancho@ipe.csic.es, lvi-llar@ipe.csic.es.

<sup>5</sup> CENMA - Institut d'Estudis Andorrans, Av. Rocafort, 21-23, AD600 Sant Julià de Lòria, Andorra. benjamin@komac.fr

<sup>6</sup> Centro de Investigaciones sobre Desertificación (CIDE-CSIC-UV-GV), Ctra Moncada-Náquera Km 4.5, 46113 Moncada, Valencia, Spain. J.Gabriel.Segarra@uv.es.

<sup>7</sup> Universidad Técnica Particular de Loja, Instituto de Ecología, San Cayetano Alto s. n., 1101608 Loja, Ecuador. ddmunt@gmail.com.

raciones híbridas F1 y F2 tanto en el PNOMP como en el PNPE pero con origen polifilético. Los análisis bayesianos genético-paisajísticos han detectado un total de 39 grupos genéticos distintos para las tres especies en los tres Parques, siendo el PNPE el que presenta un mayor número de ellos aislados. Los análisis de modelización de nicho ecológico en escenarios climáticos pretéritos (último máximo glacial, LGM), actuales y futuros predicen una disminución en la ocupación de nicho de *F. eskia* y *F. gautieri*, más un aumento de la de *F. x picoeuropeana* si se cumplen las predicciones del modelo futuro. Se proponen la conservación *in situ* y la gestión individualizada de los 39 grupos genéticos actualmente detectados para preservar la singularidad genética de estas comunidades y la conservación *ex situ* de sus respectivos germoplasmas para su posible empleo en programas de restauración vegetal.

**Palabres clave:** *Festuca*, genética del paisaje, hibridación, marcadores moleculares (haplotipos cpDNA, SSRs), modelización de nicho ecológico, pastos subalpinos y oromediterráneos.

## SUMMARY

The subalpine and oromediterranean pastures dominated by the mountain spiny fescues (*Festuca* gr. *eskia*, Gramineae) are among the largest and more diverse ecosystems of the National Parks of Ordesa - Monte Perdido (PNOMP), Aigüestortes i Estany de Sant Maurici (PNAESM) and Picos de Europa (PNPE). In this study we have investigated the landscape genetics and the ecology of individuals of *F. eskia* Ramond ex DC, *F. gautieri* (Hack.) K. Richt. and their hybrid *F. x picoeuropeana* Nava. The analyses have covered their respective distributions in the three aforementioned National Parks and in other native areas aiming to decipher their space-temporal dynamics and adaptation to climatic change and to address conservation and management strategies for them. Through the use of nuclear microsatellite (SSR) and plastid DNA sequence (cpDNA) markers we have analysed the populations genetic diversity and structure, their phylogeographic patterns, the nature and origin of the hybrids, and the number and distribution of the landscape-genetic groups of each species. The SSR data show higher population genetic diversity values of the three taxa in the PNOMP, lower diversity but higher structure values in the PNPE and higher inbreeding values in the PNAESM. The cpDNA haplotypic networks suggest high rates of interspecific gene flow and some geographical structure among the eastern Iberia and eastern Pyrenees, the central Pyrenees and the Cantabrian mountains. The bayesian genetic structure - hybridization analyses have confirmed the homoploid hybrid nature of *F. x picoeuropeana* through the detection of both F1 y F2 hybrid generations in the PNOMP and the PNPE but with polyphyletic origins. The bayesian landscape-genetics analyses have detected a total of 39 genetic groups for the three taxa along the three Parks, being the PNPE the one with a higher number of isolated groups. Ecological niche modeling analyses conducted on past (Last Glacial Maximum, LGM), present and future climatic scenarios predict a decreasing niche occupancy of *F. eskia* and *F. gautieri* and an increasing occupancy of *F. x picoeuropeana* if the conditions of the future scenario are met. We propose the *in situ* conservation and a separate management of the 39 detected genetic groups to preserve the genetic singularity of these grassland communities, as well as *ex situ* conservation for their respective germplasms to be used in future landscape restoration plans.

**Key words:** ecological niche modelling, *Festuca*, hybridization, landscape genetics, molecular markers (cpDNA haplotypes, SSRs), subalpine and oromediterranean pastures.

## INTRODUCCIÓN

En los Pirineos y la Cordillera Cantábrica, al igual que en el resto de las montañas del sur de Europa, los pisos subalpino y oromediterráneo más parte

del alpino se hallan dominados por comunidades vegetales herbáceas y arbustivas que tienen su óptimo ecológico actual entre 1600 y 2500 (3000) m de altitud. Esta zona bioclimática se caracteriza por presentar la mayor riqueza florística de la región

septentrional ibérica y formar parte de uno de los principales puntos calientes de diversidad vegetal mundial (MÉDAIL & QUÉZEL, 1997). Ello es consecuencia de su variable y multiecosistémico paisaje y de su historia biogeográfica, que albergó zonas refugio para múltiples linajes y poblaciones durante las oscilaciones climáticas del Pleistoceno (MONTSERRAT & VILLAR, 1973; VILLAR, 1977; PAULI, *et al.*, 2003; KADEREIT, *et al.* 2004). La exclusividad de esta flora ha promovido la investigación de su biodiversidad y ha puesto en marcha programas de conservación y estimación de sus riesgos actuales y futuros a escala europea, nacional y regional.

Los pastos subalpinos y oromediterráneos pirenaico-cantábricos, así como otros ecosistemas de montaña, se encuentran entre los biomas más frágiles del planeta ante los cambios ambientales y ecológicos debidos al calentamiento paulatino de la tierra y a la progresiva actividad antrópica (PARMESAN & YOHE 2003; PARMESAN 2006). Investigaciones recientes han documentado el retroceso de los glaciares y las migraciones altitudinales experimentadas por plantas y animales boreo-ártico-alpinos, adaptados a hábitats fríos, empujados por el aumento térmico en sus actuales pisos zonales hacia cotas más elevadas (PAULI *et al.* 1996; GOTTFRIED *et al.*, 2012; PAULI *et al.*, 2012). Las especies herbáceas subalpinas y alpinas pirenaico-cantábricas se ven sometidas a similares efectos sobre su viabilidad (GOTTFRIED *et al.*, 2012; PAULI *et al.*, 2012), aunando el problema de la drástica reducción de su hábitat en las cimas. Aunque las consecuencias todavía se muestran inciertas, resulta imprescindible conocer los índices de diversidad genética y de adaptación ecológica actual de las especies subalpinas y alpinas a sus hábitats, ya que estos datos permitirán establecer los factores que determinaron el establecimiento y el desarrollo de estas especies en su nicho ecológico actual (GONZALO-TURPIN *et al.*, 2009a, b) y asimismo predecir los posibles cambios que experimentarían ante diversos escenarios de cambio climático.

Las gramíneas investigadas en este estudio corresponden a dos especies del género *Festuca* dominantes en los pastos subalpinos pirenaico-cantábricos, *F. eskia* Ramond ex DC y *F. gautieri* (Hac-

kel) K. Richter, caracterizadas por presentar hojas plegadas con el ápice punzante y glumas y lemas con amplio margen escarioso (*Festuca* subgen. *Festuca* sect. *Eskia* Willkomm) (TORRECILLA, *et al.*, 2003). *F. eskia* es endémica de los Pirineos y de la Cordillera Cantábrica, y crece en pastos desarrollados sobre suelos ácidos, dando nombre a la alianza *Festucion eskiae* (BRAUN-BLANQUET, 1948), catalogada entre los hábitats de interés comunitario europeo (Directiva 92/43/CEE, de 21 de mayo de 1992, Anexo I). Su congénere *F. gautieri*, a su vez endémica de las montañas calcáreas de la mitad oriental de la Península Ibérica, caracteriza a los pastos instalados sobre suelos básicos (*Festucion scopariae*; BRAUN-BLANQUET, 1948; MONTSERRAT & VILLAR, 1975). Ambas especies presentan un enorme interés ecológico, la primera por constituir amplias comunidades pascícolas subalpinas que sustentan a una importante cadena trófica (invertebrados, ungulados silvestres y ganado) y la segunda por ser una especie pionera especializada en la colonización de suelos desnudos, crioturbados, contribuyendo a la fijación del sustrato y al establecimiento del pasto (BRAUN-BLANQUET, 1948; MONTSERRAT & VILLAR, 1987). Un tercer taxón, *F. x piceoeuropeana* Nava, originalmente descrito como especie (NAVA 1985, pro specie), ha sido considerado un híbrido interespecífico, resultado del cruzamiento entre *F. eskia* y *F. gautieri* (GUTIÉRREZ-VILLARIAS & HOMET 1985a; FUENTE & ORTUÑEZ, 2001; CATALÁN, 2006; TORRECILLA *et al.*, 2013). Este taxón está ampliamente distribuido en los tres macizos de los Picos de Europa, donde vive sobre suelos calizos (GUTIÉRREZ-VILLARIAS & HOMET 1985a, b; NAVA 1988), en general en ausencia de sus progenitores o esporádicamente en presencia de sólo uno de ellos (CATALÁN 2006), mientras que es raro y habita siempre en el ecotono edáfico ácido-básico, en presencia de ambos progenitores, en el Pirineo central (CATALÁN 2006; TORRECILLA *et al.* 2013). Distintas comunidades pascícolas dominadas por estas festucas se extienden por los tres Parques estudiados, dependiendo del tipo de suelo y de la historia evolutiva de estas plantas (*F. gautieri* predomina en el PNOMP, *F. eskia* en el PNAESM, y *F. x piceoeuropeana* en PNPE).

Los estudios filogenéticos de CATALÁN *et al.* (2004) e INDA *et al.* (2008) han demostrado el es-

trecho y sólido parentesco de las especies hermanas *Festuca eskia* y *F. gautieri*, pertenecientes a uno de los linajes basales de las festucas de hojas finas y sobrevivientes de las glaciaciones en los refugios del norte y del oriente peninsular. Estas plantas mayoritariamente diploides muestran un origen reciente, al haberse estimado su divergencia del ancestro común en el Pleistoceno (aproximadamente 1,87 Mya; TORRECILLA *et al.* 2013), lo que apoya su ocasional capacidad de hibridación. El área de distribución de *F. x piceoalpina* es, sin embargo, sorprendente. Pese a la rareza de sus dos especies progenitoras en el PNPE, donde nunca viven en simpatía, la planta es muy común en la zona presentando numerosas poblaciones huérfanas; por el contrario, pese a la amplia distribución de los progenitores en los Pirineos y la abundancia de zonas de contacto donde ambos coexisten, el híbrido es raro y siempre convive con sus padres (CATALÁN 2006; TORRECILLA *et al.*, 2013). El conocimiento de los posibles distintos orígenes de *F. x piceoalpina* en el PNPE y el PNOMP es de gran interés, no solo para determinar el impacto y la extensión potencial de estas poblaciones híbridas en ambos territorios, sino también para vislumbrar sus capacidades adaptativa en comparación a las de sus progenitores, y sus posibilidades de éxito ante potenciales escenarios de cambio climático.

El objetivo principal del proyecto de investigación 059/2009 (Ministerio de Medio Ambiente, O. A. Parques Nacionales) fue desarrollar estudios de genética del paisaje y de ecología en comunidades

subalpinas de pastos de *Festuca eskia*, *F. gautieri* y *F. x piceoalpina* en los tres Parques Nacionales pirenaico-cantábricos donde crecen estas plantas [P. N. de Ordesa - Monte Perdido (PNOMP), P. N. de Aigüestortes i Estany de Sant Maurici (PNAESM), P. N. de Picos de Europa (PNPE)] con el fin de promover medidas de conservación y de gestión de su diversidad y de seleccionar germoplasma local para futuras actividades de restauración ecológica. Para ello se investigaron aspectos morfológicos y moleculares, porcentajes de viabilidad polínica, fecundación y germinación, y análisis de hibridación, genético-paisajísticos, filogeográficos y de modelización de nicho ecológico con el fin de conocer la biología y la ecología de las tres especies, e interpretar la influencia de los procesos históricos y ecológicos en el modelado genético del paisaje, la obtención de modelos predictivos ante escenarios de cambio climático futuro, y la propuesta de medidas de conservación de los grupos genético-paisajísticos detectados.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Toma de muestras y de datos geoambientales y ecológicos

Se tomaron muestras individuales de las tres especies en estudio [*Festuca eskia* (FE), *F. gautieri* (FG) y *F. x piceoalpina* (FP)] en los tres Parques Nacionales (Tabla 1, Figura 1). Se prospectaron todas las cuadrículas UTM de 1×1 km en las que se

Taxón Códigos	Localidades	Estudios genéticos		Estudios Morfológicos	Estudios reproductivos
		cpDNA	SSR		
<i>Festuca eskia</i>					
FE01-108 FE169-185	PNOMP: Huesca. Valle de Ordesa ( <u>Custodia</u> , <u>Cuta</u> , Goritz, Mondicieto). PNOMP: Huesca. Gargantas de Escuin. PNOMP: Huesca. Valle de Pineta (Pineta, La Estiva).	60	177	13	7
FE1201-1280 FE1501-1635 FE2000-2150	PNAESM: Lleida. <u>Bof</u> , <u>Espot</u> , Capdella, <u>Bonaigua*</u> , <u>Baqueira*</u> , <u>San Maurici*</u>	80	157	12	3
FE 2151-2155	W Pirineos: Huesca. <u>Portalet</u> , <u>Canfranc*</u> , <u>Somport*</u>	5	5	-	4
	C Pirineos: Huesca ( <u>Valle Benasque*</u> , <u>Bielsa*</u> , <u>Valle Tena*</u> , <u>Plan*</u> , <u>Sin*</u> )				11

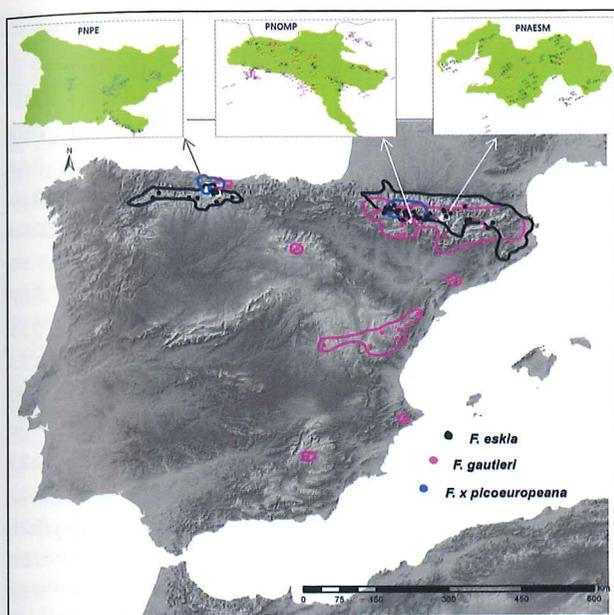
(continúa)

Taxón Códigos	Localidades	Estudios genéticos		Estudios Morfológicos	Estudios reproductivos
		cpDNA	SSR		
FE4001-4230	E Pirineos: Girona. <u>Nuria</u> , <u>Tosses</u> . E Pirineos: Andorra y Francia. <u>Envalira</u> , <u>Tristaina*</u> , <u>Auge*</u> , <u>Col de Aubesque*</u> , <u>Gavarnie*</u> , <u>Hautes Pyrenees*</u> , <u>Ossau*</u> ,	9 3	59 29	-	13
FE201-306, FE321-350 FE501-505, FE510-1050	PNPE: Asturias. Llago Moñetas PNPE: León. <u>Coriscao</u> , <u>Glorio</u> , <u>Pandetrave</u> , <u>Colladinas</u> , <u>Valdeón</u> , <u>Mahón*</u> , <u>Collado</u> <u>Jermoso*</u> PNPE: Cantabria: <u>Campoo</u> , <u>Espinama*</u> PNPE: Palencia: <u>Tres Mares*</u> , <u>Espigüete*</u>	30	110	90	14
FE351-410	W Cordillera Cantábrica: Asturias. <u>Somiedo</u> , <u>Leitariegos</u> . Lugo: <u>Cuiña</u>	18	72	-	3
	S Cordillera Cantábrica: Palencia: <u>Cervera</u> <u>de Pisuerga*</u>	-	-	-	1
FET-T	Holotypus <i>F. eskia</i> var. <i>tenuifolia</i> : Spain León: <u>Espigüete</u> : <u>Collado de las Arras</u>	-	-	-	JACA 614072
FE-T	Lectotypus <i>F. eskia</i> var. <i>eskia</i> : G00169255: France: Pyrenées: without locality	-	-	-	G00169255
<i>Festuca gautieri</i>					
FG1 -380.	PNOMP: Huesca. Valle de Ordesa ( <u>Custodia</u> , <u>Cuta</u> , <u>Goritz</u> , <u>Mondicieto</u> , <u>Ordesa</u> ) PNOMP: Huesca. Gargantas de Escuin ( <u>Sesa</u> ) PNOMP: Huesca. Valle de Pineta ( <u>Pineta</u> , <u>La</u> <u>Estíva</u> , <u>Llanos de Larri</u> ) PNOMP: Huesca. Valle de Añisclo	100	357	10	5
FG1201-1245, FG1501-1505, FG 2000-2029	PNAESM: Lleida: <u>Boí</u> , <u>Espot</u> , <u>San Maurici*</u> , <u>Salárs de Pallars*</u> , <u>Ruda*</u>	29	40	8	5
FG2030-2034	W Pirineos: Huesca. <u>Formigal</u> , <u>Acher*</u> , <u>Ansó*</u> , <u>Astún*</u> , <u>Bisaurín*</u> , <u>Hecho*</u> , <u>San Juan</u> <u>Peña*</u>	5	5	-	12
	C Pirineos: Huesca ( <u>Valle Benasque*</u> , <u>Bielsa*</u> , <u>Valle Tena*</u> , <u>Plan*</u> , <u>Laspuña*</u> , <u>Broto*</u> , <u>Torla*</u> , <u>Tella*</u> , <u>Fiscal*</u> )	-	-	-	21
FG3201-3230, FG3301-3330	E Pirineos: Girona. <u>Nuria</u> , <u>Tosses</u> , <u>Cerdagna*</u> , <u>La Molina*</u>	11	60	-	7
FG3401-3430	E Pirineos: Andorra y Francia: <u>Escamp</u> , <u>Sta</u> <u>Coloma*</u> , <u>Ariège*</u> , <u>Aude*</u> , <u>PasEscale*</u>	8	15	-	8
FG3701-3730	Prepirineo: Huesca. Nocito. <u>Tozal de Guara*</u> , <u>Guara*</u>	6	15	-	3

(continuación)

Taxón Códigos	Localidades	Estudios genéticos		Estudios Morfológicos	Estudios reproductivos
		cpDNA	SSR		
FG380-460	PNPE: Cantabria: Escalera, <u>Traviesas</u> , Vallejucos, <u>Andara</u>	7	60	6	3
FG3000-3030	Sistema Bético: Granada: <u>La Sagra</u> .	18	43	-	1
FG3731-3747	Sistema Diánico: Alicante: Sierra de Aitana	8	30	-	7
FG3101-3130	Sistema Ibérico: Teruel. <u>Javalambre</u> , <u>Alcala de la Selva*</u> , <u>Sta Inés*</u> , Castellón: <u>Peñaolosa*</u> , <u>Villafranca*</u> , <u>Fredas*</u>	8	30	-	7
FGG-T	Lectotypus <i>F. gautieri</i> subsp. <i>gautieri</i> : W 14728: France: Eastern Pyrenees: Coll de Nourry, Valle del Maulet	-	-	-	W 14728
FGS-T	Lectotypus <i>F. gautieri</i> subsp. <i>scoparia</i> : Lectotypus: W-Rchb. 1889-0104051: France. Pyrenees: Hautes Pyrenées: Gavarnie	-	-	-	W-Rchb. 1889-0104051
<i>Festuca x picoeuropeana</i>					
FP1-100	PNOMP: Huesca. Valle Ordesa ( <u>Custodia</u> , <u>Cuta</u> , Mondiceto, Goriz). PNOMP: Huesca. Gargantas Escuin ( <u>Sesa</u> ) PNOMP: Huesca. Valle Pineta ( <u>La Estiva</u> )	61	110	13	6
FP1201-1215	PNAESM: Lleida. Val de Boí. <u>Boí</u>	11	4	12	-
	<u>C</u> , <u>W Pirineos</u> : <u>Benasque*</u> , <u>Canfranc*</u> , <u>Somport*</u> , <u>Bucuesa*</u>				6
FP201-343, FP501-585, FP591-620, FP651-770, FP791-840	PNPE: W Picos (Mazada, Perro, Burro, Lobatin, Llastra, Llago, Carbanal, <u>Porrubolu*</u> , <u>La Fragua*</u> ) PNPE: C Picos (Liordes, Sedo, Sengros, Canalona, Garmona, Mogu, Moñetes, Veronica, Blanca, Llambren, Rojo, Boches, SinTerre, Naranca, <u>Valdeón*</u> , <u>Colladinas*</u> ) PNPE: E Picos ( <u>Andara</u> , <u>Mojón</u> , <u>Jierru</u> , <u>Lechugales</u> , <u>San Carlos</u> , <u>Samelar</u> , <u>Espinama*</u> )	110	263	88	18
FxJ-T	Holotypus <i>F. x jierru</i> Nava FCO 10877: Spain: Cantabrian Mnts: Cantabria: Picos de Europa Eastern massif: Samelar	-	-	-	FCO 10877
FP-T	Holotypus <i>F. picoeuropeana</i> Nava : FCO10880: Spain: Cantabrian Mnts: Cantabria: Picos de Europa Western massif: Torre de los Traviesos	-	-	-	FCO 10880
FxP-T	Holotypus <i>F. x picoeuropeana</i> Gutiérrez-Villarías & Homet: FCO10875: Picos de Europa: Collada las Nieves	-	-	-	FCO10875

**Tabla 1.** Relación y número de muestras de *Festuca eskia*, *F. gautieri* y *F. x picoeuropeana* utilizadas en los estudios genéticos, morfológicos y de biología de la reproducción de los Parques Nacionales de Ordesa – Monte Perdido (PNOMP), Aigüestortes i Estany de Sant Maurici (PNAESM) y Picos de Europa (PNPE). Para cada taxón se indican los códigos de las muestras analizadas y sus localidades de origen. En caracteres estándar, negrita y subrayado se indican las localidades de las muestras empleadas, respectivamente, en los estudios moleculares, morfoanatómicos y reproductivos. La mayor parte de las muestras se colectaron entre los años 2009-2012; un asterisco indica las procedencias de las muestras colectadas anteriormente.



**Figura 1.** Distribución geográfica de las festucas subalpinas estudiadas en sus áreas nativas pirenaica e ibérica. Los contornos negro, rosa y azul representan las áreas de distribución respectivas de *F. eskia*, *F. gautieri*, y *F. x picoeuropeana*. Los puntos coloreados indican, respectivamente, las localizaciones de las poblaciones estudiadas de cada taxón. Los contornos blancos muestran la ubicación de los PNOMP, PNEASM y PNPE donde se desarrollaron los estudios genético-paisajísticos de estos taxones. Las subfiguras indican la distribución geográfica de las poblaciones estudiadas de cada taxón en cada Parque.

**Figure 1.** Geographic distribution of the studied subalpine spiny fescues in their native Pyrenean and Iberian areas. The black, pink and blue outlines show the respective distribution areas of *F. eskia*, *F. gautieri*, and *F. x picoeuropeana*. The colored dots map the geographical locations of the studied populations of each taxon. The white outlines indicate the locations of the three National Parks where the landscape genetic studies of these taxa were developed. The subfigures show the geographical distribution of the studied populations of each taxon in each Park.

habían cartografiado o citado las especies, utilizándose los mapas SIG generados previamente. Se muestrearon entre 5 y 10 individuos por cuadrícula, separados 10 m entre sí. Se colectaron un total de 747 individuos en el PNOMP (207 FE, 398 FG, 142 FP), 461 en el PNAESM (385 FE, 61 FG, 15 FP), y 537 en el PNPE (85 FE, 30 FG, 422 FP). Los números de muestras de cada especie en cada Parque reflejan las abundancias relativas de éstas en cada zona. Adicionalmente se muestrearon poblaciones de estos taxones en otras localidades pirenaicas e ibéricas, cubriendo las áreas de distribución totales de cada especie (Tabla 1; Fi-

gura 1). El número total de muestras colectadas fue de 2.316 (962 FE, 775 FG, 579 FP). Para cada individuo muestreado se tomaron los datos de campo de sus coordenadas geográficas y de otros parámetros geoambientales (altitud, orientación, pendiente, sustrato litológico, pH edáfico) y ecológicos (porcentaje de cobertura vegetal, especies florísticas acompañantes) que fueron utilizados en los análisis ecológicos y de genética del paisaje, y para la obtención de la GeoDataBase (GDB).

### Análisis morfoanatómicos

Los análisis morfométricos se basaron en una selección de 31 caracteres fenotípicos potencialmente informativos para detectar variabilidad inter e intraespecífica y para discriminar a los tres taxones en estudio (Tabla 2) (cf. GUTIÉRREZ-VILLARÍAS & HOMET 1985a, b; TORRECILLA *et al.* 2003, 2013). Veintiuno de los caracteres eran cuantitativos y 10 eran cualitativos. Se midieron 5 individuos por población, en una selección de 58 poblaciones de *F. eskia*, 67 de *F. gautieri* y 37 de *F. x picoeuropeana* y los especímenes tipo de los taxones reconocidos en este grupo.

Se calcularon estadísticos descriptivos simples (media, rango, desviación estándar) de las 26 variables que mostraban diferencias significativas entre los taxones, utilizando pruebas de significación de diferencias ANOVA de chi-cuadrado. Se clasificaron las muestras mediante análisis discriminante (*Discriminant Analysis*, DA) utilizando todas las variables estudiadas para determinar la probabilidad de pertenencia de las muestras a cada uno de los tres grupos asignados previamente (FE, FG, FP) (LEGENDRE & LEGENDRE 1998), utilizando los correspondientes tipos como referencias. Todos los análisis estadísticos se desarrollaron con SPSS 19.0.T.

	F. gautieri						F. piceo-europeana						F. eskia					
	N	min	MA	media	SD	var	N	min	MA	media	SD	var	N	min	MA	media	SD	var
CH	71	9.54	45.07	24.88	7.92	62.68	31	10.92	39.23	21.43	6.56	42.97	58	14.7	64.45	26.669	8.2949	68.805
CW	71	0.36	0.85	0.67	0.11	0.01	31	0.48	0.97	0.70	0.10	0.01	58	0.53	1.18	0.81	0.12	0.02
LiL	71	0.35	1.73	0.82	0.28	0.08	31	0.57	2.68	1.74	0.58	0.34	58	2.71	6.58	4.28	0.80	0.64
InLL	71	1.16	10.19	4.77	1.86	3.46	31	3.30	10.49	6.08	1.87	3.49	58	4.10	24.65	8.91	3.67	13.50
ILD	71	0.30	0.60	0.50	0.06	0.00	31	0.40	0.90	0.61	0.12	0.01	58	0.60	2.00	1.02	0.21	0.04
IL	71	2.80	6.98	4.84	0.98	0.95	31	3.40	7.83	5.47	1.01	1.02	58	3.00	11.05	6.82	1.39	1.95
IW	71	0.50	2.52	1.05	0.30	0.09	31	0.78	1.80	1.12	0.23	0.05	58	0.93	1.98	1.36	0.26	0.07
LBL	71	0.80	4.10	2.51	0.64	0.42	30	2.10	6.90	3.17	0.88	0.77	58	2.20	5.50	3.42	0.74	0.55
LINL	71	0.93	2.64	1.61	0.43	0.18	31	1.00	2.25	1.62	0.31	0.10	58	0.75	3.11	1.65	0.48	0.23
SL	71	5.03	11.00	8.65	1.08	1.17	31	7.24	11.00	8.91	0.84	0.71	58	5.50	10.96	8.74	1.14	1.30
PeL	71	0.93	5.62	3.42	1.04	1.07	28	1.72	5.61	3.36	1.12	1.26	57	1.01	5.71	3.07	1.02	1.04
LGL	71	2.14	5.50	3.91	0.63	0.39	31	3.21	5.16	4.03	0.53	0.28	58	3.24	5.61	4.04	0.50	0.25
LGW	70	0.60	1.33	0.81	0.13	0.02	31	0.67	1.50	0.85	0.16	0.03	57	0.60	1.21	0.85	0.13	0.02
UGL	71	3.10	6.00	4.80	0.53	0.28	31	4.13	6.00	5.04	0.53	0.28	58	3.50	6.38	4.90	0.56	0.31
UGW	70	0.73	1.91	1.43	0.20	0.04	31	1.19	2.14	1.49	0.22	0.05	57	1.01	2.12	1.47	0.20	0.04
LmL	71	4.55	7.25	6.07	0.58	0.34	31	5.44	7.55	6.43	0.50	0.25	58	3.75	7.69	6.10	0.72	0.52
LmW	70	1.21	3.00	1.74	0.29	0.09	28	1.48	2.30	1.83	0.24	0.06	58	1.30	2.41	1.89	0.28	0.08
AL	71	0.00	1.26	0.34	0.33	0.11	31	0.00	1.50	0.59	0.40	0.16	58	0.00	1.19	0.67	0.28	0.08
PaL	71	3.18	6.57	5.34	0.64	0.41	29	4.18	6.56	5.57	0.59	0.35	58	3.12	7.31	5.39	0.72	0.52
PaW	69	0.43	1.37	0.86	0.14	0.02	28	0.64	1.52	0.89	0.19	0.04	57	0.39	1.50	0.89	0.18	0.03
AnL	63	0.45	4.96	2.84	0.59	0.34	28	1.74	3.53	2.76	0.41	0.17	44	1.50	3.53	2.72	0.48	0.23
NNC	71	1	2	1	0	0	31	1	3	2	1	0	58	1	4	2	1	0
NNR	71	3	7	5	1	0	31	3	7	5	1	1	58	4	7	6	1	0
NLB	71	1	3	2	1	0	31	1	2	2	1	0	58	1	5	1	1	1
NSI	71	6	19	11	3	6	31	7	22	13	3	9	58	10	56	19	8	62
NSLB	71	2	7	3	1	1	31	1	6	4	1	1	58	2	12	5	2	3
NFS	71	3	6	5	1	1	31	3	6	5	1	1	58	2	7	5	1	0
NLR	71	1	3	1	0	0	31	3	7	5	1	1	58	5	13	9	1	2
NLV	71	2	4	2	0	0	31	2	8	6	1	2	58	8	14	10	1	2
NLN	71	5	7	6	1	1	31	7	11	7	1	1	58	9	18	13	2	3
ALS	71	0	1	0	0	0	31	1	1	1	0	0	58	1	1	1	0	0
N val.	61							26						43				

**Abreviaturas de los caracteres:** CH: altura del tallo (cm); CW: anchura del tallo (mm); LiL: longitud ligula (mm); InLL: longitud lamina de innovación (cm); ILD: Diámetro lamina de innovación (mm); IL: longitud inflorescencia (cm); IW: anchura inflorescencia (cm); LBL: longitud rama inferior (cm); LINL: longitud internudo inferior inflorescencia (cm); SL: : longitud de la espiguilla desde la base hasta el ápice de la 4ª flor sin aristas; (mm); PeL: longitud pedicelo (mm); LGL: longitud gluma inferior (mm); LGW: anchura gluma inferior (mm); UGL: longitud gluma superior (mm); UGW: anchura gluma superior (mm); LmL: longitud 2ª flor, (mm); LmW: anchura Lemma (mm); AL: longitud arista (mm); PaL: longitud Palea (mm); PaW: anchura Palea (mm); AnL: longitud Antera (mm); NNC: número de nudos del tallo; NNR: número de nudos del raquis; NLB: número de ramas en nudo inferior; NSI: número de espiguillas de la Inflorescencia; NSLB: número de espiguillas de la rama inferior; NFS: número de flores por espiguilla; NLR: número de costillas de la hoja; NLV: número de valles de la hoja; NLN: número de nervios de la hoja; ALS: esclerénquima abaxial (en un anillo continuo: 1, en bloques separados; 0)

**Tabla 2. A)** Descriptores estadísticos de 31 caracteres morfoanatómicos analizados en muestras de *F. eskia*, *F. gautieri* y *F. xpiceo-europeana*. N: número de individuos estudiados; min: valor mínimo; MA: valor máximo; media; SD: desviación estandar; var: varianza.

### Análisis de tasas de viabilidad polínica y de fecundidad y de porcentajes de germinación de semillas

Se desarrollaron análisis de biología de la reproducción de los tres taxones con el fin de determinar sus parámetros básicos y de establecer la posible existencia de barreras reproductoras pre- o postzigóticas, en especial del híbrido *F. x picoeuropeana*. Para ello se calcularon las tasas de viabilidad polínica (porcentaje de polen viable) y de fecundidad (número y porcentaje de flores fértiles que producen frutos viables) y los porcentajes de germinación de semillas en representantes de diversas poblaciones de FE, FG y FP de los Pirineos y de la cordillera Cantábrica (Tabla 1). Se estimaron las tasas de viabilidad polínica analizando los porcentajes de granos de polen viable, frente a los no viables, tras aplicar la técnica de tinción diferencial citoplasma-pared polínica (ALEXANDER 1969, 1980) a 500 granos de polen por individuo de 5 individuos de cada población. Durante los recuentos polínicos se observó la presencia de insectos tisanópteros en el interior de las flores de FE, FG y FP por lo que se procedió a la estimación de los porcentajes de presencia de los insectos para su posterior comparación contrastada con las tasas de viabilidad polínica. Se estimaron las tasas de fecundidad de cada especie mediante un análisis comparado de la relación entre la producción de frutos viables por espiguilla y totales, con respecto a la producción de flores potencialmente fértiles, en un total de 5-10 individuos por población. Se estimó la viabilidad de las semillas calculando los porcentajes de germinación de las semillas sembradas en placas de Petri con papel de filtro humedecido durante 30 días, en cuatro replicas de 25 semillas de cada población (FE: 4 poblaciones; FG: 3; FP: 1). Se analizaron las diferencias en los porcentajes de germinación entre los tres taxones mediante pruebas *t* y ANOVA con SPSS 11.0.

### Análisis genéticos: microsatélites nucleares SSR y haplotipos plásticos.

Se extrajo el DNA total de las muestras siguiendo el protocolo descrito en SEGARRA-MORAGUES

& CATALÁN (2011). Se elaboró una genoteca de marcadores microsatélites nucleares SSR para *F. gautieri* (GIS, Custom Genetic Markers). Se detectaron 121 regiones SSR, con unidades de repetición di- y trinucleotídicas, diseñándose y probándose cebadores para 40 de ellas en un estudio piloto. De éstas se seleccionaron las 10 regiones que mostraron una total amplificación y transferibilidad entre las tres especies y que detectaron mayores niveles de polimorfismo (SEGARRA-MORAGUES & CATALÁN, 2011). Se obtuvieron los genotipos SSR de las muestras colectadas en los tres parques y de individuos procedentes de otras poblaciones de los tres taxones. Se genotiparon un total de 1.732 individuos (17.320 genotipos multilocus SSR) y los fragmento SSR fueron asignados a sus correspondientes alelos usando GENEMARKER v. 1.85.

Se estimaron los valores promedio de riqueza alélica ( $A$ ), heterocigosidad observada ( $H_O$ ), diversidad genética media en las poblaciones ( $H_S$ ), el coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ) y el índice de fijación ( $F_{ST}$ ) para cada especie en cada Parque con FSTAT v. 2.9.3.2 (GOUDET 2001). Se compararon los valores de estos índices para las distintas especies y áreas geográficas mediante pruebas de significación para las diferencias basada en 1000 permutaciones. Se obtuvieron las relaciones genéticas entre las poblaciones de los tres taxones (FE, FG y los distintos tipos de híbridos de FP: F1, F2) utilizando distancias genéticas entre pares de poblaciones ( $D_A$ ; NEI *et al.*, 1983) calculadas con POPULATIONS 1.2.3 (LANGELLA 2000), que fueron visualizadas mediante la proyección bidimensional del análisis de coordenadas principales (*Principal Coordinate Analysis*, PCO) utilizando NTSYSpC 2.11 (ROHLF 2002).

Se obtuvieron secuencias de DNA de las regiones plásticas *trnT-L* y *trnL-F* en representantes de las tres especies en estudio en sus respectivas áreas, siguiendo el protocolo indicado en INDA *et al.* (2008). Se obtuvieron 316 secuencias *trnT-L* (816 posiciones alineadas) y 324 secuencias *trnL-F* (846 posiciones alineadas). La matriz concatenada *trnT-F* de secuencias comunes consistió en 219 secuencias de 1588 posiciones. Esta matriz fue utilizada en análisis de redes haplotípicas mediante parsimonia estadística con TCS (CLEMENT *et al.* 2000).

### Análisis de patrones de hibridación

Se emplearon dos métodos de análisis bayesianos complementarios para estudiar los patrones de hibridación de *F. x picoeuropeana*. Se utilizó STRUCTURE v. 2.2 (PRITCHARD *et al.*, 2000) para corroborar la naturaleza híbrida de sus poblaciones, estimando la probabilidad posterior ( $q$ ) de que cada genotipo particular correspondiese a un determinado grupo genético. Se asumió un máximo de dos grupos genéticos ( $K=2$ ) para el conjunto de las muestras de los tres taxones, de forma que los individuos se clasificasen en tres categorías según sus valores  $q$ : *F. eskia*,  $q > 0.90$ ; *F. gautieri*,  $q < 0.10$ ; *F. x picoeuropeana*,  $0.10 < q < 0.90$ . Los análisis se desarrollaron con periodos de burnin y MCMC de  $5 \times 10^4$  y  $5 \times 10^5$  iteraciones, respectivamente. Se utilizó posteriormente NEWHYBRIDS v. 1.1.beta (ANDERSON & THOMPSON, 2002) para clasificar a las muestras híbridas detectadas según un valor umbral ( $q = 0.75$ ) de forma que cada individuo estudiado fuese clasificado en uno de los seis posibles grupos genéticos determinados (progenitores puros FE o FG, generaciones híbridas F1 o F2, retrocruzamientos hacia uno (B1) u otro (B2) progenitor). Puesto que la extensión de la hibridación es desconocida, se usaron como muestras de referencia para las especies progenitoras puras (FE, FG) aquellas procedentes de poblaciones alopátricas geográficamente aisladas. Se emplearon los mismos parámetros de búsqueda que los utilizados con STRUCTURE.

### Análisis de genética del paisaje

Para la caracterización y el mapeo de los distintos grupos genéticos de cada especie en cada Parque se procedió a la detección de las unidades genéticas de FE, FG y FP en cada territorio, mediante análisis bayesianos, y a su posterior proyección cartográfica, mediante teselado espacial, en los mapas SIG de los PNOMP, PNAESM y PNPE. El muestreo estandarizado de individuos de cada taxón en todas las cuadrículas UTM 1x1 km en las que se hallaba presente en las tres zonas permitió una correcta inferencia de los diversos grupos genético-paisajísticos. Se infirieron los grupos genéticos de cada especie presente en cada Parque (excepto para FP

en PNAESM, cuya presencia es esporádica), mediante asignación probabilística de los genotipos SSR individuales a un número óptimo de grupos genéticos ( $K$ ) utilizando BAPS v. 6 (CORANDER *et al.*, 2004). Se analizó un número de grupos definido *a priori* que oscilaba entre  $K=1$  y el número de poblaciones muestreadas más 1 en cada caso, empleando modelos basados en frecuencias alélicas correlacionadas y ancestralidad común para cada especie, con periodos respectivos de burnin y MCMC de  $10^5$  y  $10^6$  iteraciones, y 20 repeticiones para cada valor de  $K$ .

La proyección espacial de los grupos genéticos se realizó mediante teselado Voronoi con BAPS v. 6.0, empleando correlaciones de distancias genéticas y geográficas y donde cada tesela representa el polígono que engloba a individuos del mismo grupo genético, caracterizados por un determinado color, que se hallan más próximos espacialmente entre sí. El mapeo cartográfico de las teselas de cada especie en cada Parque se llevó a cabo con ARCGIS 9.1.

### Análisis de modelización de nicho ecológico de *F. eskia*, *F. gautieri* y *F. x picoeuropeana*

Se generaron modelos de predicción de nicho ecológico de las dos especies progenitoras (FE, FG) y de la especie híbrida (FP) en distintas distribuciones ambientales temporales, empleando coberturas bioclimáticas actuales (WorldClim; www.worldclim.org), pretéritas (del último máximo glacial, LGM, escenario CCSM), y futuras (escenario climático CCCMA-CGCM3.1 SRES-A1B, periodo 2070-2099). Se utilizaron un total de 5144 datos georeferenciados de presencia de las plantas (1873 de FE, 2852 de FG, 419 de FP) obtenidos del presente estudio, de materiales de herbario y de registros contrastados de las bases de datos GBIF (data.gbif.org) y SIVIM (www.sivim.info). Las coberturas SIG utilizadas en la construcción de los modelos incluyeron 19 variables climáticas propuestas por HIJMANS *et al.* (2005) basadas en variables derivadas de los valores mensuales de temperatura y precipitación. A estas variables se añadieron las componentes geográficas de altitud, inclinación y exposición obtenidas de la Base Cartográfica Numérica 1: 25.000 (BCN25, Instituto Ge-

ográfico Nacional, España). Todas las variables fueron ajustadas a una resolución espacial de 150 m. Se seleccionó el algoritmo de máxima entropía Maxent (PHILLIPS *et al.*, 2006), implementado en IDRISI SELVA 17.01, para determinar el modelo de adecuación de hábitat al disponer de eventos de presencia en todas las especies y generar resultados satisfactorios aún en los casos en los que se dispone de un bajo número de presencias (<30) (ELITH *et al.*, 2006), como ocurre con FP. Se evaluó la aportación de cada una de las variables predictivas a los

modelos mediante análisis Jackknife. La eficacia de cada modelo fue estimada utilizando el área bajo la curva (AUC) de la proyección de las características operativas (ROC) (MILNE *et al.*, 2006). Para generar mapas binarios se empleó como umbral de los modelos resultantes el valor mínimo predictivo (MPV) que incluía todos los registros de cada especie (SÉRGIO *et al.*, 2007). Los mapas resultantes ilustran el área mínima predicha (MPA) para el 100% de las presencias (GUISAN *et al.*, 2006; JIMÉNEZ-ALFARO *et al.*, 2012). El escenario paleoclimático del

**Variables que discriminan significativamente *F. eskia* vs *F. gautieri* vs *F. x piceoalpina***

	lil (mm)	lnLL (cm)	ILD (mm)	IL (mm)	NLR	NLV	NLN
FG	,8165 ± ,27653 <sup>a</sup>	4,7699 ± 1,85935 <sup>a</sup>	,5049 ± ,06272 <sup>a</sup>	4,8413 ± ,97524 <sup>a</sup>	1,127 ± ,4760 <sup>a</sup>	2,127 ± ,4760 <sup>a</sup>	6,219 ± ,9403 <sup>a</sup>
FP	1,7441 ± ,57975 <sup>b</sup>	6,0761 ± 1,86896 <sup>b</sup>	,6148 ± ,11584 <sup>b</sup>	5,4740 ± 1,01083 <sup>b</sup>	5,258 ± ,8551 <sup>b</sup>	5,806 ± 1,4473 <sup>b</sup>	7,452 ± 1,1500 <sup>b</sup>
FE	4,2812 ± ,79887 <sup>c</sup>	8,9096 ± 3,67412 <sup>c</sup>	1,0166 ± ,20599 <sup>c</sup>	68190 ± 1,39449 <sup>c</sup>	9,369 ± 1,4989 <sup>c</sup>	10,401 ± 1,3876 <sup>c</sup>	12,592 ± 1,8635 <sup>c</sup>
χ <sup>2</sup>	4.527	39.0135	220.965	47.729	1028.537	910.421	357.242

**Variables que discriminan significativamente *F. eskia* vs *F. gautieri* + *F. piceoalpina***

	CW (mm)	IW(mm)	NSI	NSLB
FG	,6690 ± ,11335 <sup>a</sup>	1,0465 ± ,29512 <sup>a</sup>	10,710 ± 2,5283 <sup>a</sup>	3,394 ± ,8735 <sup>a</sup>
FP	,6950 ± ,09978 <sup>a</sup>	1,1228 ± ,23328 <sup>a</sup>	2,806 ± 2,9935 <sup>a</sup>	3,698 ± ,9258 <sup>a</sup>
FE	,8122 ± ,12242 <sup>b</sup>	1,3617 ± ,25932 <sup>b</sup>	18,631 ± 7,881 <sup>b</sup>	5,023 ± 1,7232 <sup>b</sup>
χ <sup>2</sup>	26.450	22.264	38.191	28.230

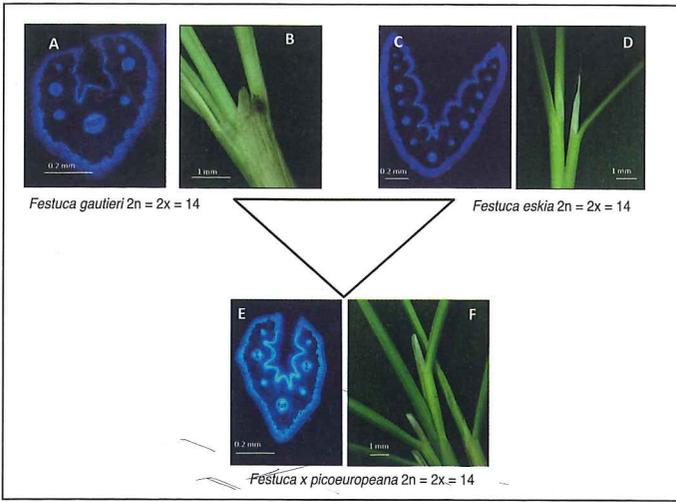
**Variables que discriminan significativamente *F. gautieri* vs *F. eskia* + *F. piceoalpina***

	LBL	AL (mm)	NNR	ALS
FG	2,507 ± ,6449 <sup>a</sup>	,3447 ± ,03881 <sup>a</sup>	4,845 ± ,5769 <sup>a</sup>	,37 ± ,485 <sup>a</sup>
FP	3,167 ± ,8761 <sup>b</sup>	,5874 ± ,07168 <sup>b</sup>	5,226 ± ,9560 <sup>b</sup>	1,00 ± ,000 <sup>b</sup>
FE	3,455 ± ,7388 <sup>b</sup>	,415 ± ,03662 <sup>b</sup>	5,517 ± ,6554 <sup>b</sup>	1,00 ± ,000 <sup>b</sup>
χ <sup>2</sup>	26.364	17.199	15.217	75.575

**Variables que discriminan significativamente *F. piceoalpina* vs *F. eskia* + *F. gautieri***

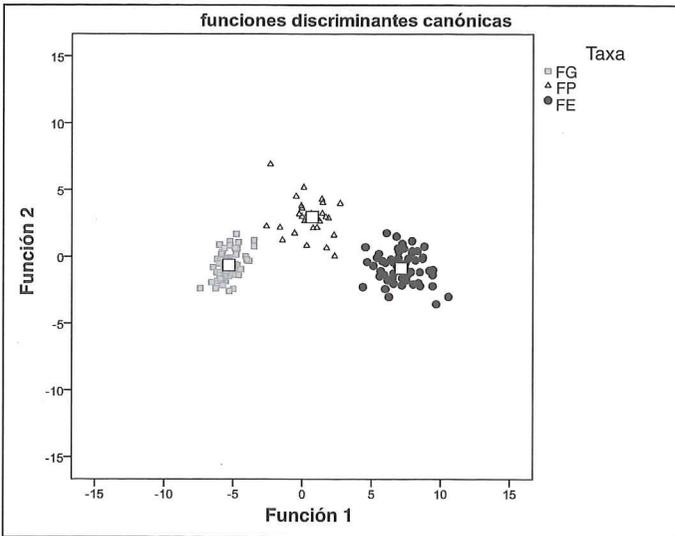
	LmL (mm)
FG	6,0656 ± ,58052 <sup>a</sup>
FP	6,4341 ± ,50350 <sup>b</sup>
FE	6,0989 ± ,72386 <sup>b</sup>
χ <sup>2</sup>	4.060

**Tabla 2. B)** Diferencias significativas entre las especies en estudio en los valores promedio de variables analizadas. Medias ± SD y pruebas χ<sup>2</sup> ANOVA (d. f. 2). Los superíndices denotan comparaciones entre pares de especies; los valores con la misma letra no difieren significativamente (P < 0.05). FE: *F. eskia*; FG: *F. gautieri*; FP: *F. x piceoalpina*.



**Figura 2.** Diferenciación morfoanatómica de las tres especies del complejo triangular, *F. eskia*, *F. gautieri*, y *F. xpiceoeuropeana*: sección transversal de la hoja (A, C, E) y detalle de la lígula (B, D, F). El taxón híbrido muestra caracteres intermedios entre los de sus progenitores en el tamaño de la lígula y en la anatomía foliar.

**Figure 2.** Morphoanatomic differentiation among the three species of the triangle complex, *F. eskia*, *F. gautieri*, and *F. xpiceoeuropeana*: transversal leaf-section (A, C, E) and details of the ligule (B, D, F). The hybrid taxon shows intermediacy in ligule size and leaf anatomy traits between those of its parental taxa.



**Figura 3.** Proyección bidimensional del análisis de clasificación discriminante (DA) para la diferenciación fenética de *F. eskia* (FE), *F. gautieri* (FG) y *F. xpiceoeuropeana* (FP). La primera y segunda función discriminante explican un 93,2% y 6,8% de la variación taxonómica, respectivamente. Los cuadrados blancos indican el centroide de cada grupo.

**Figure 3.** Two-dimensional scatterplot of classification Discriminant Analysis (DA) for the phenetic differentiation of *F. eskia* (FE), *F. gautieri* (FG) and *F. xpiceoeuropeana* (FP). The first and second discriminant functions explain 93.2% and 6.8% of the taxonomic variation, respectively. The white squares correspond to the centroids of each group.

último máximo glacial (LGM: ~21,000 ya (CLARK *et al.*, 2009), corresponde a la máxima extensión de la capa de hielo durante la última glaciación, mientras que el escenario climático futuro (CCCMA-CGCM3.1 SRES-A1B) supone uno de los peores escenarios de calentamiento global predicho para las décadas 2070-2099. Los MPV actuales se utilizaron para determinar las MPAs pretéritas y futuras, asumiendo que los requerimientos ambientales de las plantas permanecen constantes a lo largo del tiempo.

## RESULTADOS

### Morfoanatomía de *F. eskia*, *F. gautieri* y *F. x piceoeuropeana*

Los 31 caracteres morfoanatómicos estudiados mostraron diversidad tanto inter como intraespecífica (Tabla 2A). Dieciséis caracteres (CW, LiL, InLL, ILD, IL, IW, LBL, LmL, AL, NNR, NSL, NSLB, NLR, NLV, NLN, ALS), relacionados con la longitud de la lígula y la anatomía de la sección transversal de la hoja (Figura 2), resultaron útiles para identificar y diferenciar a los tres taxones entre sí o a grupos de ellos (Tabla 2B). Para la mayor parte de las variables los valores medios eran más elevados en la más robusta *F. eskia* y más bajos en la más grácil *F. gautieri*, mientras que *F. x piceoeuropeana* mostraba valores intermedios. Estos resultados indican que los tres taxones del complejo pueden ser diferenciados morfológicamente unos de otros.

El análisis discriminante basado en el total de los caracteres estudiados (31) resultó en una clasificación correcta del 100% de las muestras de *F. eskia*, *F. gautieri* y *F. x piceoamericana*. En la proyección bidimensional DA (Figura 3) las muestras de *F. eskia* y *F. gautieri* se agrupaban en los extremos opuestos de la primera función discriminante, que acumula el 93,2% de la variación total, mientras que las de *F. x piceoamericana* se agrupaban en una posición intermedia. Esta diferenciación está apoyada en los 16 caracteres discriminantes mencionados; el bajo valor del coeficiente lambda de Wilk's obtenido para esta primera función (0,010), apoya la clara separación fenética entre los tres taxones. Los fenotipos de FP, intermedios entre los de sus presuntos

progenitores FE y FG, sugieren su posible origen híbrido.

### Viabilidades polínicas y tasas de fecundación y de germinación de *F. eskia*, *F. gautieri* y *F. x piceoamericana* y presencia de insectos tisanópteros ocupantes de flores

Las dos especies progenitoras mostraron unos elevados porcentajes promedio de polen viable (*F. eskia*: 89,09%; *F. gautieri*: 87,23%), mientras que éstos fueron muy bajos en *F. x piceoamericana* (3,65%) (Tabla 3A; Figuras 4A y B. Los rangos de viabilidades en FE y FG fueron de (75) 80-100% y

Taxón		Viabilidad polínica (%)	Longitud Anteras (mm)	Diámetro Polen (µm)	Presencia Tisanópteros (%)
FE	Promedio	89,09	2,74	30,15	26,70
	SD	19,40	0,44	2,77	0,44
	N	368	786	461	382
FG	Promedio	87,23	2,75	30,46	20,18
	SD	20,23	0,415	1,60	0,40
	N	114	243	131	114
FP	Promedio	3,65	2,12	26,83	17,11
	SD	7,47	0,45	5,14	0,38
	N	71	197	100	76

Tabla 3. A) Porcentajes de viabilidad polínica y de presencia de tisanópteros, y otros caracteres del androceo y del polen analizados en muestras de *F. eskia* (FE), *F. gautieri* (FG) y *F. x piceoamericana* (FP). N: número de individuos estudiados; promedio; SD: desviación estándar.

Taxón		Espiguillas/Panicula (Nº)	Flores/Espiguilla (Nº)	Flores fértiles/Espiguilla (Nº)	Flores Fecundadas/Espiguilla (Nº)	Flores Fecundadas/Espiguilla (%)	Peso Cariópside (mg)	Germinación semillas (%)
FE	Promedio	26	5,80	5,00	3	51,70	0,546	91,50
	SD	36,78	0,94	1,03	0,96	0,96	0,19	0,82
	N	450	372	328	11693	11693	3000	400
FG	Promedio	40	5,46	4,43	3	54,90	0,464	55,80
	SD	27,02	0,75	0,90	0,69	0,69	0,12	3,51
	N	350	114	111	7086	7086	1541	300
FP	Promedio	16	4,83	3,86	3	62,10	0,550	81,50
	SD	9,22	0,79	0,86	0,80	0,80	0,17	9,61
	N	78	75	74	1210	1210	4000	100

Tabla 3. B) Caracteres florales y porcentajes de fecundidad (flores fecundadas/flores fértiles en espiguillas) y de germinación de semillas analizados en muestras de *F. eskia* (FE), *F. gautieri* (FG) y *F. x piceoamericana* (FP). N: número de muestras estudiados; promedio; SD: desviación estándar.

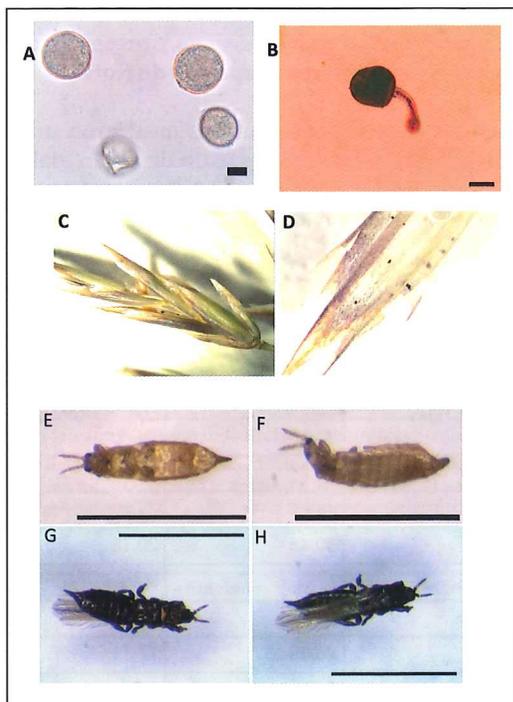
(44) 80-100%, respectivamente, mientras que los de FP fueron de 0-10(38)%. Estos resultados indican el probable origen híbrido de *F. x piceoeuro-*

*peana*. Nuestros datos concuerdan con los de GUTIERREZ-VILLARIAS & HOMET (1985a, b), quienes también hallaron bajos porcentajes de polen viable en FP y altos en FE y FG. No obstante, pese a mostrar bajos porcentajes promedio de viabilidad polínica, diversos individuos de FP mostraban polen viable, lo que indica la posible ocurrencia esporádica de polinizaciones.

Las tasas de fecundación estimadas, tanto en las especies progenitoras como en el híbrido fueron bajas, obteniéndose porcentajes inferiores a 63%, lo que indica el bajo éxito reproductivo de estas gramíneas. Pese a la existencia de varias flores fértiles por espiguilla en los tres taxones (valores promedio: FE:  $5 \pm 1,03$ ; FG:  $4,43 \pm 0,90$ ; FP:  $3,86 \pm 0,86$ ) (Tabla 3A), las producciones de carióspsides potencialmente viables fueron bajas [FE: 3 (51,7%); FG: 3 (54,9%); FP: 3 (62,1%)] (Tabla 3B). Estos resultados apuntan a la existencia de posibles barreras de esterilidad prezigótica en todos los taxones, al escaso éxito polinizador de estas gramíneas fundamentalmente anemófilas, a la potencial predación por insectos fitófagos (véanse comentarios más abajo), o a factores desconocidos.

Los porcentajes de germinación de semillas, calculados a partir de la germinación de carióspsides visualmente bien desarrolladas, fueron, por el contrario, altos en *F. esкия* ( $91.5 \pm 0.82\%$ ) y en *F. xpiceouropeana* ( $81.50 \pm 9.61\%$ ), y medios en *F. gautieri* ( $55.8 \pm 3.51\%$ ) (Tabla 3B). Estos resultados indicaban que FP produce semillas fértiles que muestran unas tasas de germinación similares a las de FE ( $t = 1.970$ ,  $P = 0.096$ ) e incluso mayores de las de FG ( $t = 5.669$ ,  $P = 0.0001$ ). Nuestros datos concuerdan con las observaciones de bajos porcentajes de germinación de semillas de FG (5-20%) en el Pirineo francés (S. MALAVAL, com. pers.). Estos resultados sugieren que, una vez el híbrido se ha formado, las barreras de esterilidad postzigóticas no son exitosas, ya que en ocasiones puede reproducirse sexualmente.

Se detectó la presencia de insectos tisanópteros en el interior de las flores de las tres especies, desde el estado larvario al maduro, o de sus rastros (Tabla 3A; Figuras 4C-H). Los porcentajes de flores ocu-



**Figura 4.** A) Granos de polen de *Festuca esquia* observados al microscopio óptico (60x; escala = 10  $\mu$ m). Los granos de polen viables son esféricos, turgidos y con cierta opacidad en todo el contenido citoplasmático, los no viables están arrugados y sin contenido citoplasmático. B) Emisión de tubo polínico en grano de polen viable de *Festuca esquia* (100x; escala = 100  $\mu$ m). Depositiones de tisanópteros observadas en la segunda flor de una espiguilla de *Festuca esquia* (C) y en la superficie adaxial de la lema (D). Tisanópteros encontrados en *Festuca esquia* (FE) y *Festuca gautieri* (FG): Imagen ventral (E) y dorso-lateral (F) de una ninfa de *Aptinothrips* Haliday (hembra) hallada en flores de FE; vista ventral (G) y dorsal (H) de un adulto de *Chirothrips* Haliday hallado en flores de FG (escala = 1 mm).

**Figure 4.** A) Pollen grains of *Festuca esquia* observed at light microscope (60x; bar scale = 10  $\mu$ m). The viable pollen grains are spherical, turgid and show some opaqueness in the cytoplasm content, the non-viable ones are crumpled and lack cytoplasm content. B) Emission of pollen tube in a viable pollen grain in *Festuca esquia* (100x; bar scale = 100  $\mu$ m). Thysanoptera droppings observed in the second floret of the spikelet in *Festuca esquia* (C) and in the adaxial side of the lemma (D). Thysanoptera found in *Festuca esquia* (FE) and *Festuca gautieri* (FG): Ventral (E) and lateral back (F) views of a nymph of *Aptinothrips* Haliday (female) found in florets of FE; ventral (G) and dorsal (H) views of an adult of *Chirothrips* Haliday found in florets of FG (bar scale = 1 mm).

grupos	Festuca eskia <sup>1</sup>					Festuca x picoeuropeana <sup>1</sup>					Festuca gautieri <sup>1</sup>				
	A <sup>2</sup>	H <sub>O</sub> <sup>2</sup>	H <sub>S</sub> <sup>2</sup>	F <sub>IS</sub>	F <sub>ST</sub>	A <sup>2</sup>	H <sub>O</sub> <sup>2</sup>	H <sub>S</sub> <sup>2</sup>	F <sub>IS</sub>	F <sub>ST</sub>	A <sup>2</sup>	H <sub>O</sub> <sup>2</sup>	H <sub>S</sub> <sup>2</sup>	F <sub>IS</sub>	F <sub>ST</sub>
PNOMP	3.365	0.628	0.685	0.083	0.050	1.731	0.595	0.763	0.220	0.097	1.761	0.611	0.790	0.227	0.057
PNAESM	3.224	0.453	0.645	0.298	0.029	na	na	na	na	na	1.754	0.492	0.788	0.376	0.096
PNPE	2.826	0.475	0.581	0.183	0.226	1.449	0.461	0.403	0.144	0.474	1.581	0.769	0.586	0.313	0.088
<b>p-value</b>	<b>0.001</b>	<b>0.019</b>	<b>0.017</b>	0.062	<b>0.004</b>	<b>0.001</b>	0.188	<b>0.001</b>	<b>0.004</b>	<b>0.001</b>	<b>0.001</b>	<b>0.001</b>	<b>0.001</b>	<b>0.001</b>	0.951

<sup>1</sup> Tamaños muestrales: *F. eskia*: PNOMP, N=19; PNAESM, N=11; PNPE, N=4. *F. xpicoeuropeana*: PNOMP, N=14; PNAESM, N=0; PNPE, N=26. *F. gautieri*: PNOMP, N=33; PNAESM, N=6; PNPE, N=3 poblaciones.

<sup>2</sup> H<sub>O</sub>, H<sub>S</sub> valores promedio de números de alelos por locus, heterozigosidad observada y diversidad genética intrapoblacional, respectivamente.

Los valores significativos (p < 0.05), basados en 1000 permutaciones, se indican en letra negra.

**Tabla 4.** Comparación de valores promedio de índices de diversidad y estructura genéticas entre grupos poblacionales de *Festuca eskia*, *Festuca gautieri*, y *Festuca x picoeuropeana* en los tres Parques Nacionales.

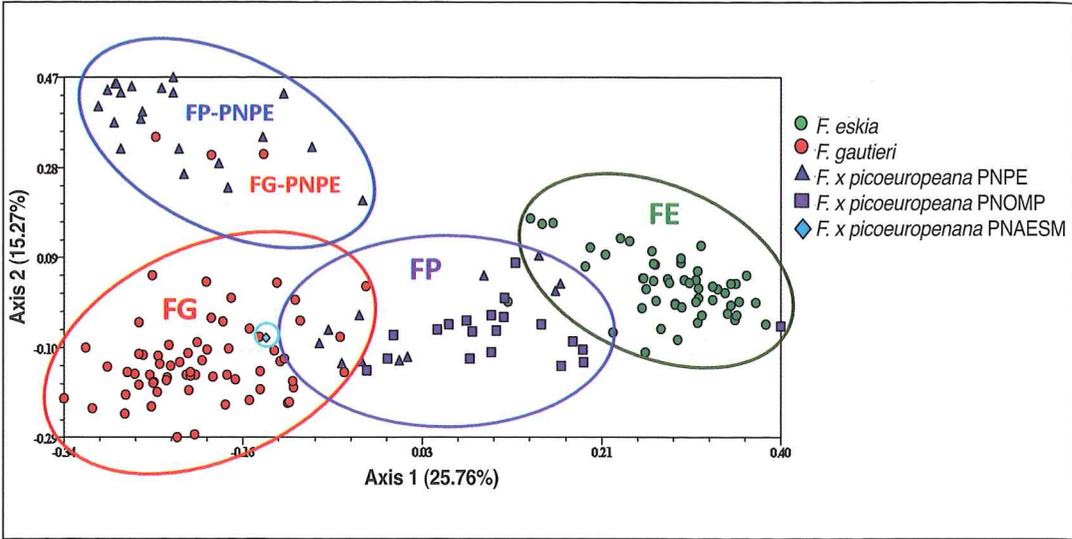
padas fueron similares en los tres taxones [*F. eskia* (26.7 ± 0.44%), *F. gautieri* (20.18 ± 0.40%), *F. xpicoeuropeana* (17.11 ± 0.34%)]. Los tisanópteros detectados pertenecen a los géneros *Aptinothrips* y *Chirothrips* (J. BERZOSA, pers. com.), habiéndose identificado ejemplares de *Aptinothrips rufus* Haliday, un tisanóptero comúnmente hallado en gramíneas, en flores de las tres especies estudiadas, tanto en los Pirineos como en la Cordillera Cantábrica. Se desconocen las causas de la frecuente presencia de estos insectos en el interior de las flores y, aunque son fitófagos que se alimentan aparentemente de órganos florales, no parecen afectar a las tasas de viabilidad polínica de estas especies y se desconoce su posible impacto en las tasas de fecundidad.

#### Diversidad y estructura genéticas de *F. eskia*, *F. gautieri* y *F. x picoeuropeana*

Los análisis de diversidad genética poblacional basados en genotipos SSR mostraron diferencias significativas, a nivel de especie y para los valores promedio de distintos parámetros genéticos, entre los tres Parques (Tabla 4). *Festuca eskia* presentó un mayor número promedio de alelos por locus (A = 3,36) y mayores índices de heterozigosidad observada (H<sub>O</sub> = 0,63) y de diversidad genética dentro de población (H<sub>S</sub> = 0,68) en el PNOMP que en los otros Parques, mientras que

el coeficiente de endogamia (F<sub>IS</sub> = 0,30) fue mayor en el PNAESM, y el índice de fijación (F<sub>ST</sub> = 0,23) más elevado en el PNPE. Estos resultados indican que, pese a haber mayor diversidad genética en PNOMP (seguido del PNAESM), las poblaciones de FE están más estructuradas genéticamente en el PNPE. *Festuca gautieri* muestra un patrón similar, con valores de diversidad mayores en PNOMP (A = 1,76; H<sub>S</sub> = 0,79) y PNAESM (A = 1,75; H<sub>S</sub> = 0,79) que en PNPE (A = 1,58; H<sub>S</sub> = 0,58). *Festuca x picoeuropeana* (no analizada en PNAESM) es asimismo más variable, para todos los parámetros en PNOMP (A = 1,73; H<sub>O</sub> = 0,59; H<sub>S</sub> = 0,76), pero muestra una fuerte estructura en PNPE (F<sub>ST</sub> = 0,47).

Los análisis de relaciones genotípicas SSR entre poblaciones de las tres especies mediante proyecciones bidimensionales en el gráfico de coordenadas principales PCO basado en distancias genéticas (D<sub>A</sub>) entre pares de poblaciones mostraron distintas relaciones de *F. x picoeuropeana* con respecto a sus dos potenciales especies progenitoras (Figura 5). Las poblaciones de *F. eskia* y *F. gautieri* de los tres Parques y de otras localidades ibéricas se separaron en grupos opuestos a ambos extremos del eje 1 (25.76% varianza), indicando sus distintas composiciones genéticas. En una posición intermedia entre ambas se agruparon todas las poblaciones de *F. x picoeuropeana* del PNOMP y parte de las del



**Figura 5.** Análisis de Coordenadas Principales (PCO) de marcadores SSR basado en distancias genéticas (DA, Nei et al. 1983) entre pares de poblaciones, mostrando las relaciones entre poblaciones de *Festuca eskia* (N=53), *Festuca gautieri* (N=66) y *F. x picoeuropeana* (N=53).

**Figure 5.** Principal Coordinate Analysis (PCO) of SSR markers based on pairwise population genetic distances (DA, Nei et al. 1983), showing the relationships among populations of *Festuca eskia* (N=53), *Festuca gautieri* (N=66) and *F. x picoeuropeana* (N=53).

PNPE. La única población detectada de *F. x picoeuropeana* en el PNAESM muestra una relación de mayor afinidad con *F. gautieri*. A lo largo del segundo eje (15.27% de la varianza) se separó un grupo de poblaciones de *F. gautieri* del macizo oriental del PNPE junto con poblaciones de *F. x picoeuropeana* procedentes mayoritariamente de ese macizo oriental del PNPE. Este agrupamiento indica una distinta constitución genética de estas poblaciones FG del este de Picos de Europa, resultado probable de su aislamiento genético con respecto a las restantes poblaciones ibéricas, y de las de FP de esta misma zona, derivadas posiblemente de estas últimas o que podrían corresponder a un híbrido estabilizado o a una nueva microespecie.

El análisis de haplotipos cpDNA de la matriz combinada *trnT-F* detectó 42 haplotipos cloroplásticos. La red haplotípica mostró la existencia de varios haplotipos compartidos entre FE, FG y FP (2), entre FE y FG (2), y entre FG y FP (1) (Figura 6A). El haplotipo más común, h. III (64 individuos), que presentó mayor probabilidad de ancestralidad, estaba compartido entre

representantes de los tres taxones, seguido de los haplotipos h. XX (20 individuos), exclusivo de FG, y h. IX (17 individuos), compartido entre FE y FG. Además se observó la ausencia de estructura taxonómica cloroplástica en la red, indicativa de una alta tasa de hibridogénesis. La red haplotípica mostró una resolución ambigua en ciertas ramas ('bucles'), debido probablemente a unos niveles altos de homoplasia de los datos. La distribución de los haplotipos en la red mostró, sin embargo, una cierta estructura geográfica (Fig. 6B). Del haplotipo ancestral, distribuido en los Pirineos y PNPE, se deriva una ramificación principal y otras menores de haplotipos de FG distribuidos en los Pirineos centrales (PNOMP, PNAESM) y orientales (Girona, Andorra) y en el Prepirineo (Guara). Dos radiaciones satélites incluyen haplotipos distribuidos en los macizos central y occidental de Picos (PNPE). Otras ramificaciones establecen conexiones con haplotipos de FE + FG distribuidos en el PNAESM y el Pirineo Oriental (Andorra), que a su vez muestran ramificaciones hacia haplotipos de FE distribuidos en las montañas Cantábricas occidentales y centrales.

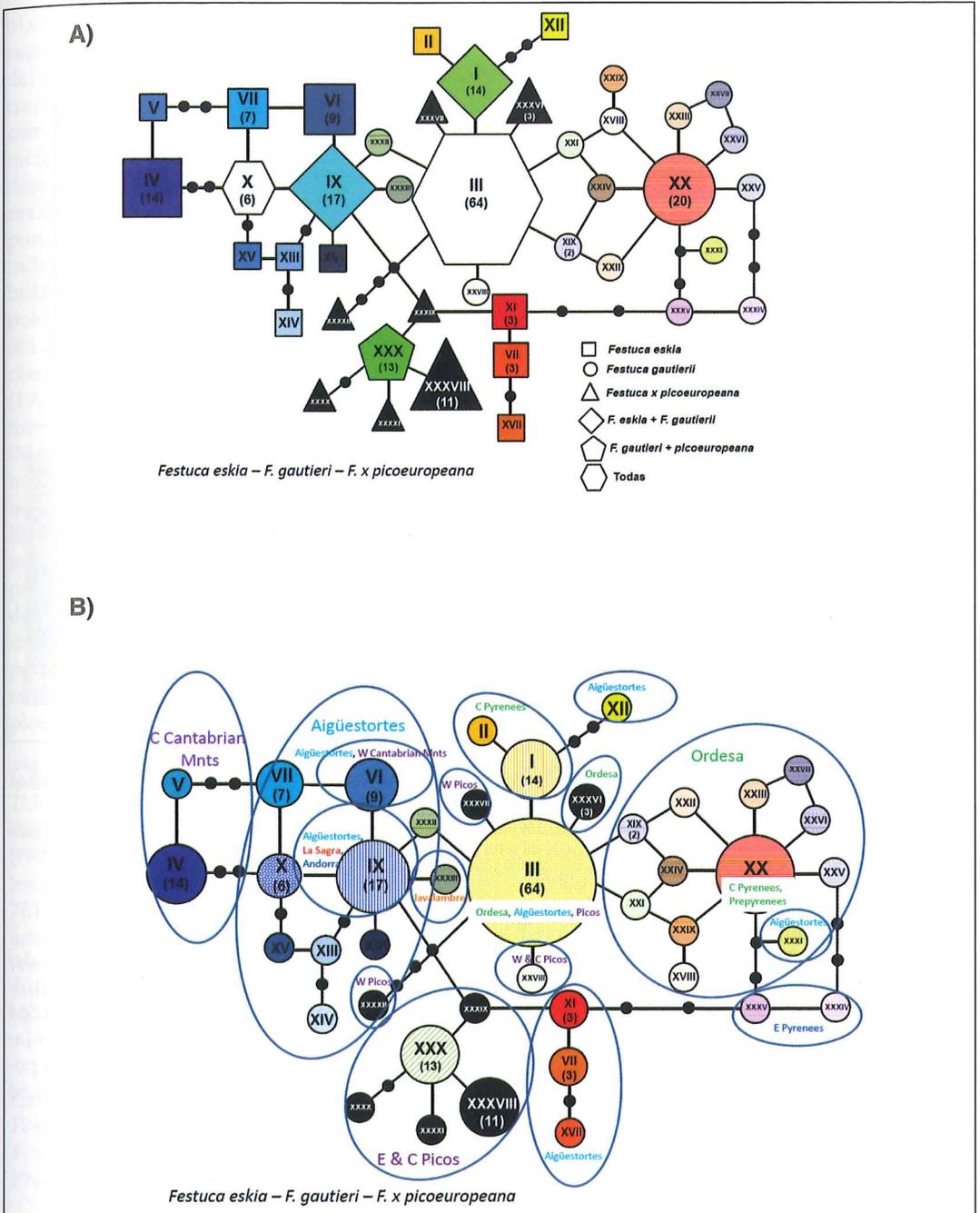
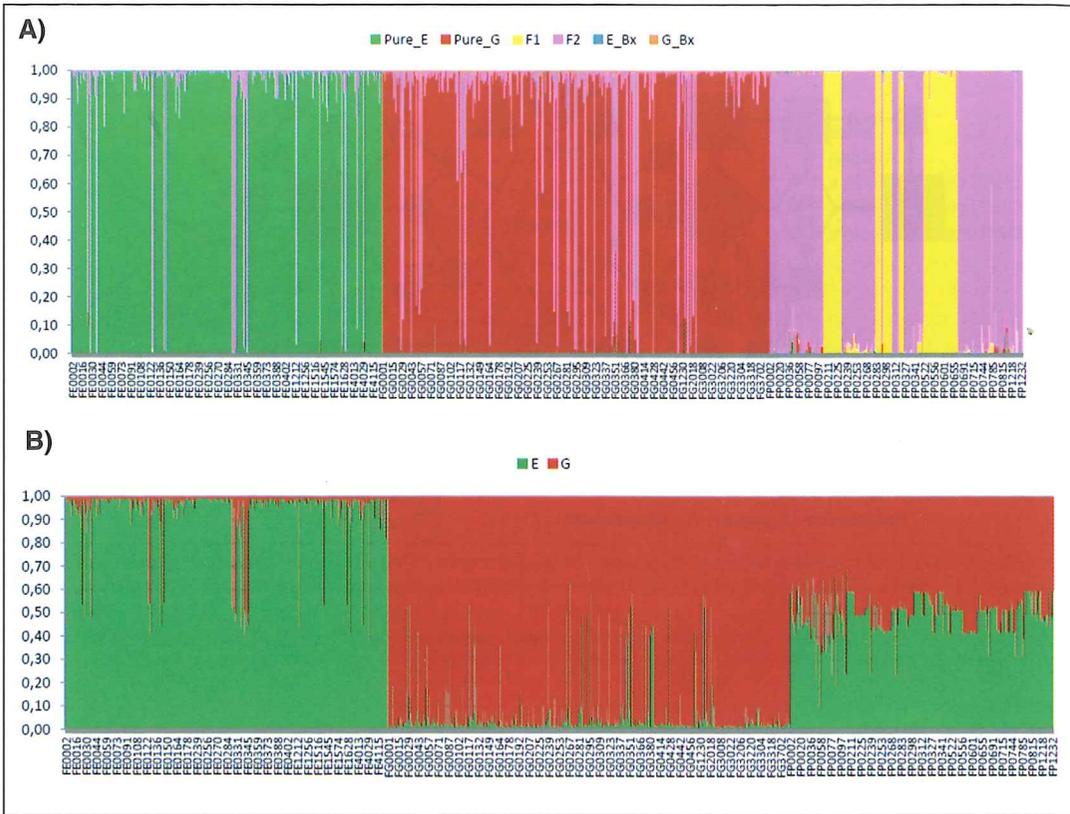


Figura 6. Red de parsimonia estadística de 42 haplotipos plástídicos trnT-F de *F. eskia*, *F. gautieri* y *F. x picoeuropeana*. A) circunscripción taxonómica; B) rangos geográficos.

Figure 6. Statistical parsimony network of 42 trnT-F cpDNA haplotypes of *F. eskia*, *F. gautieri* and *F. x picoeuropeana*. A) taxonomic circumscriptions; B) geographic ranges.



**Figura 7.** Análisis bayesianos de hibridación desarrollados en el complejo triangular de las especies progenitoras *F. eskia* y *F. gautieri* y su híbrido *Festuca x picoeuropeana*. A) Análisis con NEWHYBRIDS: FE (verde), FG (rojo), FP: híbridos F1 (amarillo), híbridos F2 (rosa). B) Análisis con STRUCTURE. FE (verde), FG (rojo): FP (verde + rojo).

**Figure 7.** Bayesian-based hybridization analyses conducted within the triangle complex of the parental species *F. eskia* and *F. gautieri* and their hybrid *Festuca x picoeuropeana*. A) Analysis with NEWHYBRIDS: FE (green), FG (red), FP: hybrids F1 (yellow), hybrids F2 (pink). B) Analysis with STRUCTURE: FE (green), FG (red): FP (green + red).

Los haplotipos de FG distribuidos en los sistemas bético (La Sagra) e ibérico (Javalambre) son comunes o muestran afinidad por este último grupo de haplotipos de PNAESM, mientras que los mayoritarios de FP de los macizos central y oriental de Picos, y un grupo del macizo occidental (PNPE), muestran conexiones con este grupo y otro grupo de haplotipos de FE de PNAESM (Figura 6B). El análisis de la red parece mostrar un patrón de divergencia general Oriental (Pirineos, Prepirineos) vs Occidental (PNPE, Cordillera Cantábrica) si bien los numerosos haplotipos del PNAESM aparecen distribuidos tanto en las agrupaciones del Este

como en las del Oeste. Los haplotipos de FG del sureste y este ibérico son iguales o están próximos a los haplotipos de FG + FE de PNAESM y de los Pirineos Orientales. La estrecha relación de estos plastomas (Fig. 6B) sugiere la posible existencia de una ruta de colonización en el este ibérico.

### Distintas generaciones híbridas de *F. x picoeuropeana*

Los resultados de los dos análisis independientes confirmaron la naturaleza híbrida de las po-

blaciones de *F. x picoeuropeana* de Picos de Europa y de los Pirineos (Figura 7). Los resultados del análisis bayesiano con NEWHYBRIDS mostraron que todos los individuos identificados como *F. x picoeuropeana* eran de origen híbrido, incluso los de las poblaciones cantábricas donde el híbrido no convive con sus progenitores (Figura 7A). La mayor parte de ellos correspondían a híbridos de generación F2 (81%), indicando la preponderancia de híbridos estabilizados y potencialmente fértiles tanto en las poblaciones de PNPE como en las de Pirineos. Sin embargo un cierto número de ellos fueron clasificados como híbridos de generación F1 (19%), implicando la existencia de potenciales híbridos interespecíficos recientes y estériles (MARQUES *et al.*, datos no publicados). Estos híbridos F1 se distribuían en poblaciones del Pirineo y de los macizos oriental y central de PNPE. El análisis no detectó ningún caso de retrocruzamiento del híbrido con ninguna de las especies progenitoras, lo que indica que el híbrido no es de origen reciente, ya que para producirse un cierto grado de aislamiento reproductor con respecto a sus progenitores sería necesario un cierto tiempo evolutivo en el caso de un híbrido homoploide.

Los resultados del análisis bayesiano con STRUCTURE confirmaron los obtenidos con NEWHYBRIDS. Todos los individuos clasificados como F1 ó F2 mostraban una ancestría mixta con respecto a los grupos genéticos de *F. eskia* y *F. gautieri* (Figura 7B). La combinación de ambos métodos permitió además confirmar la naturaleza híbrida de algunos individuos atribuidos inicialmente a una u otra especie progenitora y que revelaron ser híbridos F2 (Figuras 7A y B).

### Grupos genético-paisajísticos de

*Festuca eskia*, *F. gautieri* y  
*F. x picoeuropeana* en los PNOMP,  
PNAESM y PNPE.

Los grupos genéticos y sus respectivas teselas voronoi BAPS obtenidos para cada una de las tres especies en cada Parque fueron muy diversos. Las localizaciones teselares y las

proyecciones de esos grupos en los mapas cartográficos SIG mostraban las distribuciones espaciales de los 39 grupos genético-paisajísticos detectados en sus correspondientes territorios (Figuras 8-10).

### Genética del paisaje en el PNOMP

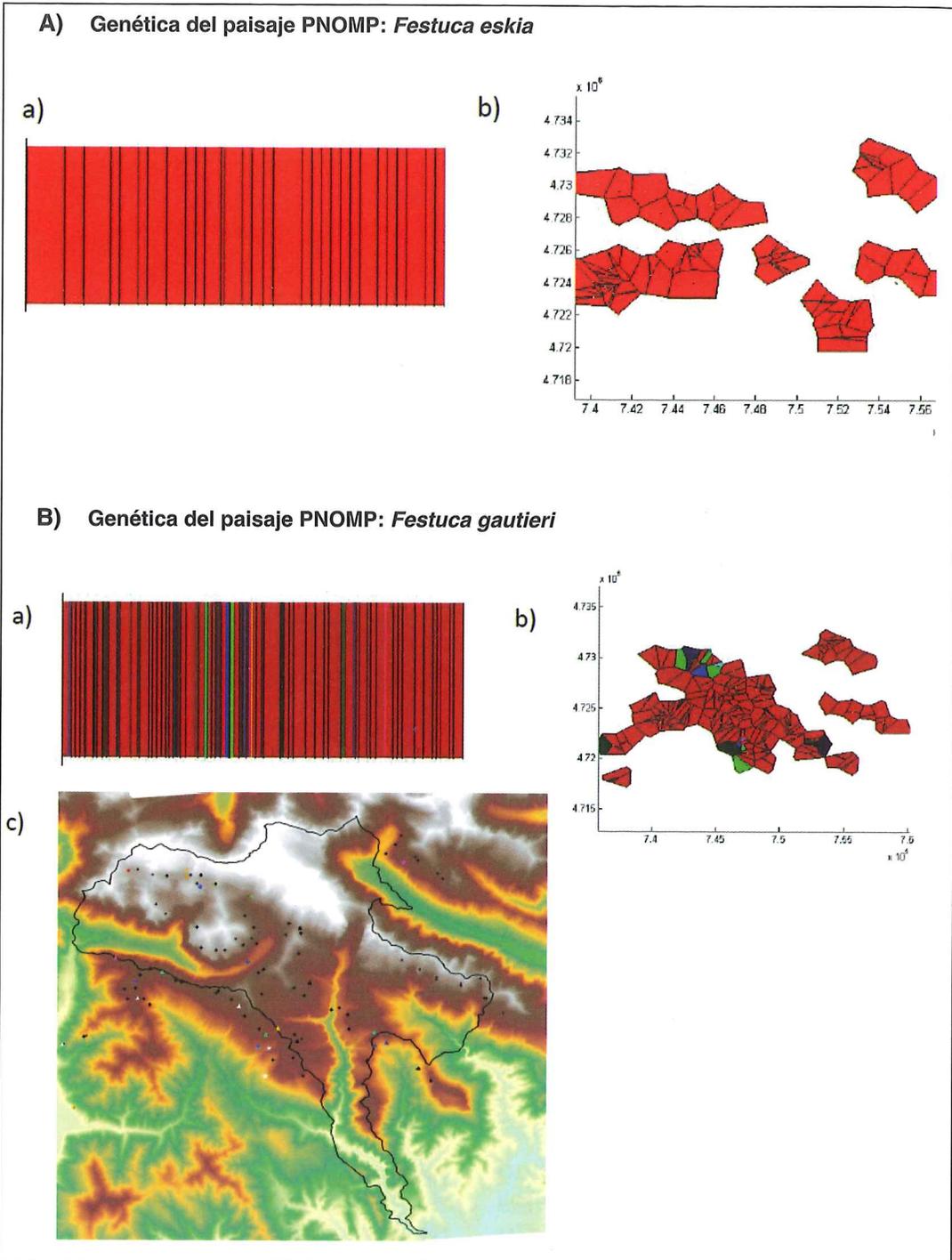
*Festuca eskia*: Los resultados BAPS indicaron la existencia de un único grupo genético que englobaba a las 32 poblaciones analizadas de esta especie en este Parque (Figura 8Aa); la teselación voronoi mostró su distribución en las diferentes áreas donde se muestreó la planta (Figura 8Ab). Debido a la homogeneidad genética no se proyectaron las teselas en el mapa SIG.

*Festuca gautieri*: Los resultados BAPS mostraron la existencia de 6 grupos genéticos para las 63 poblaciones analizadas de esta especie en este Parque (Figura 8Ba). Al proyectar las teselas voronoi (Figura 8Bb) en el mapa SIG (Figura 8Bc) se observó la preponderancia de uno de los grupos genéticos en la mayor parte de las poblaciones muestreadas en Ordesa, Añisclo y Pineta. Sin embargo, al menos dos grupos genéticos se distribuían en 'islas' altitudinales de la vertiente sur de Monte Perdido y en el resto en las estribaciones de Monte Perdido y de otros cordales montañosos aledaños.

*Festuca x picoeuropeana*: Los resultados BAPS mostraron la existencia de 6 grupos genéticos para las 28 poblaciones analizadas de esta especie en este Parque (Figura 8Ca). La proyección de las teselas voronoi (Figura 8Cb) en el mapa SIG (Figura 8Cc) mostró la existencia de grupos genéticos aislados en Pineta, Añisclo, Sierra Custodia y Sierra Acuta. Esta estructura y distribución podrían ser debidas a un origen híbrido distinto de las poblaciones de esta especie.

### Genética del paisaje en el PNAESM

*Festuca eskia*: Los resultados BAPS indicaron la existencia de un único grupo genético que englobaba a las 33 poblaciones analizadas de esta



Figuras 8A y 8B.

**C) Genética del paisaje PNQOMP: *Festuca x picoeuropeana***

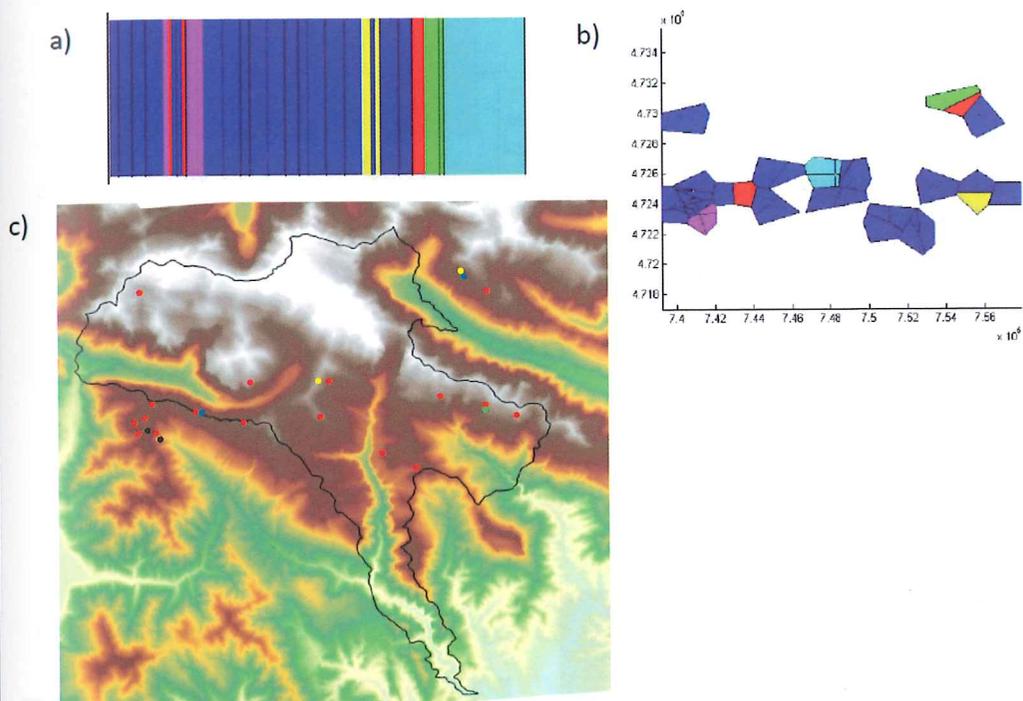


Figura 8C.

especie en este Parque (Figura 9Aa), y la teselación voronoi mostró su distribución en las diferentes áreas donde se muestreó la planta (Figura 9Ab). Debido a la homogeneidad genética no se proyectaron las teselas en el mapa SIG.

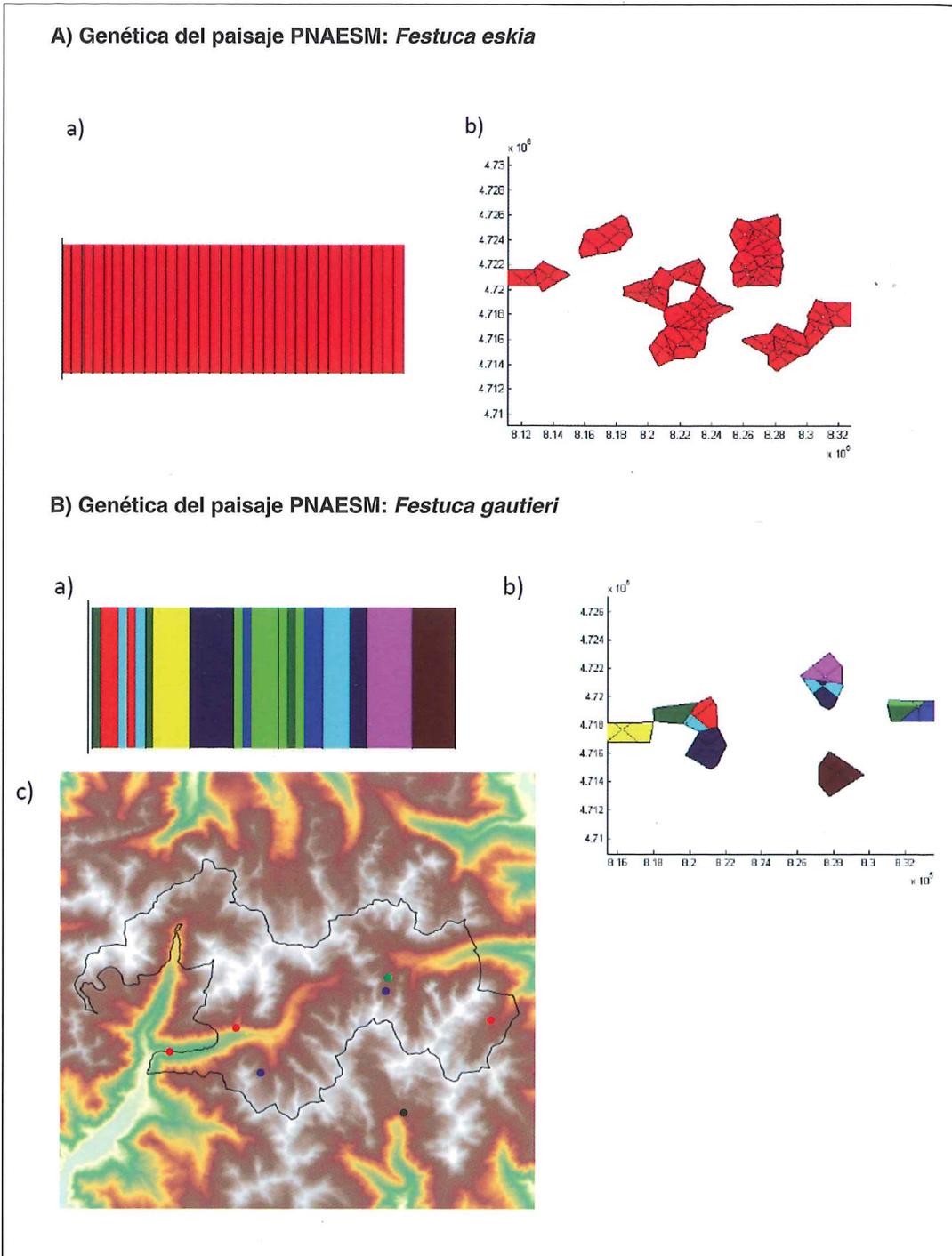
*Festuca gautieri*: Los resultados BAPS mostraron la existencia de 10 grupos genéticos para las 19 poblaciones analizadas de esta especie en este Parque (Figura 9Ba). La proyección de las teselas voronoi (Figura 9Bb) en el mapa SIG (Figura 9Bc) mostró la existencia de 2 grupos genéticos exclusivos del valle de Boí, de 3 en el valle de Estós y de 1 en Capdella.

*F. x picoeuropeana*: Los resultados BAPS mostraron la existencia de 4 grupos genéticos para las

5 poblaciones analizadas de esta especie en este Parque (Figura 9Ca). Sin embargo el limitado tamaño muestral hizo inviable la obtención del teselado voronoi (Figura 9Cb), que no pudo ser proyectado en el mapa SIG.

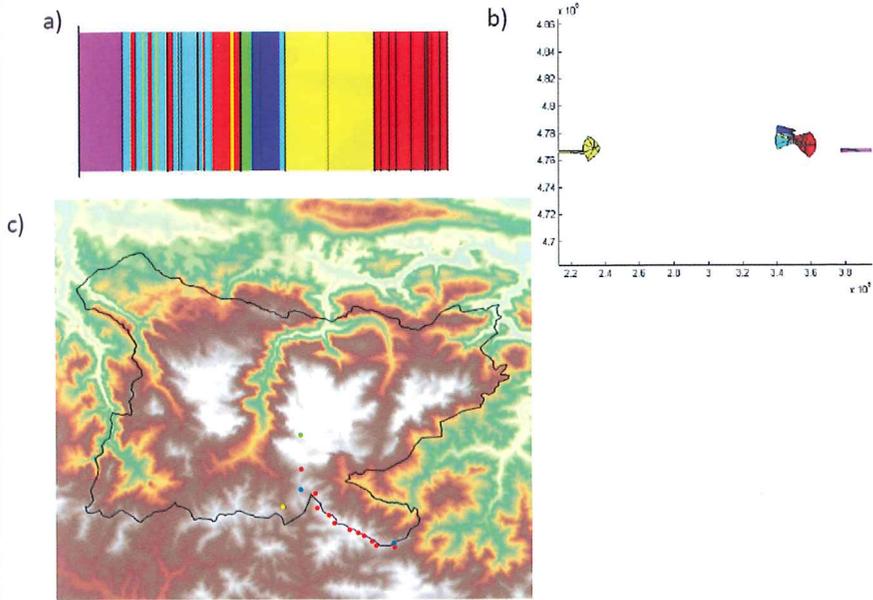
**Genética del paisaje en el PNPE:**

*Festuca eskia*: Los resultados BAPS indicaron la existencia de 6 grupos genéticos para las 35 poblaciones analizadas de esta especie en este Parque (Figura 10Aa), y la teselación voronoi mostró su distribución en las diferentes áreas donde se muestreó la planta (Figura 10Ab). La proyección de las teselas en el mapa SIG (Figura 10Ac) mostró la gran estructura espacial y el aislamiento genético existente entre las poblaciones del cordel del Co-

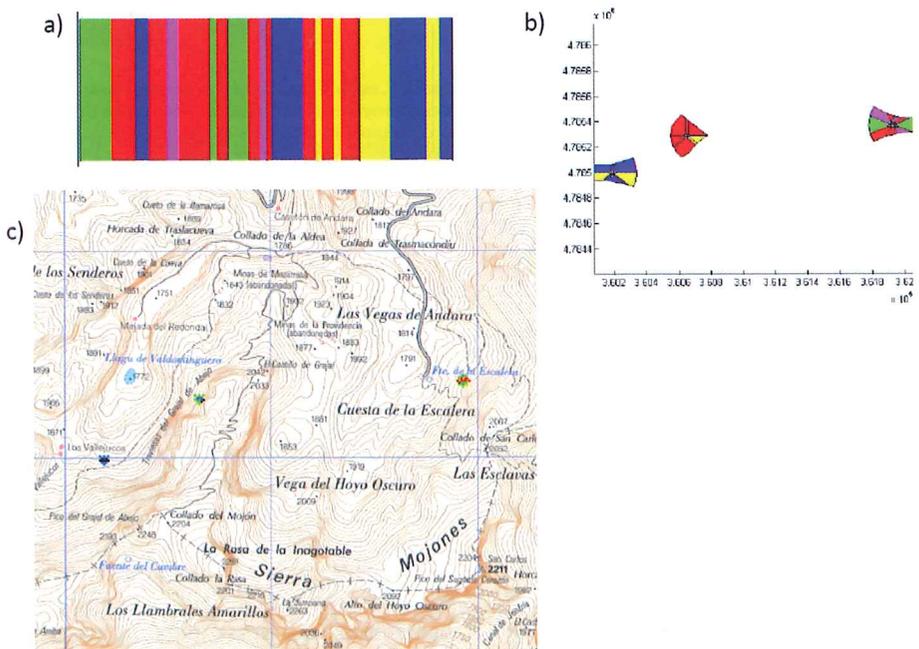


Figuras 9A y 9B.

**A) Genética del paisaje PNPE: *Festuca eskia***



**B) Genética del paisaje PNPE: *Festuca gautieri***



Figuras 10A y 10B.

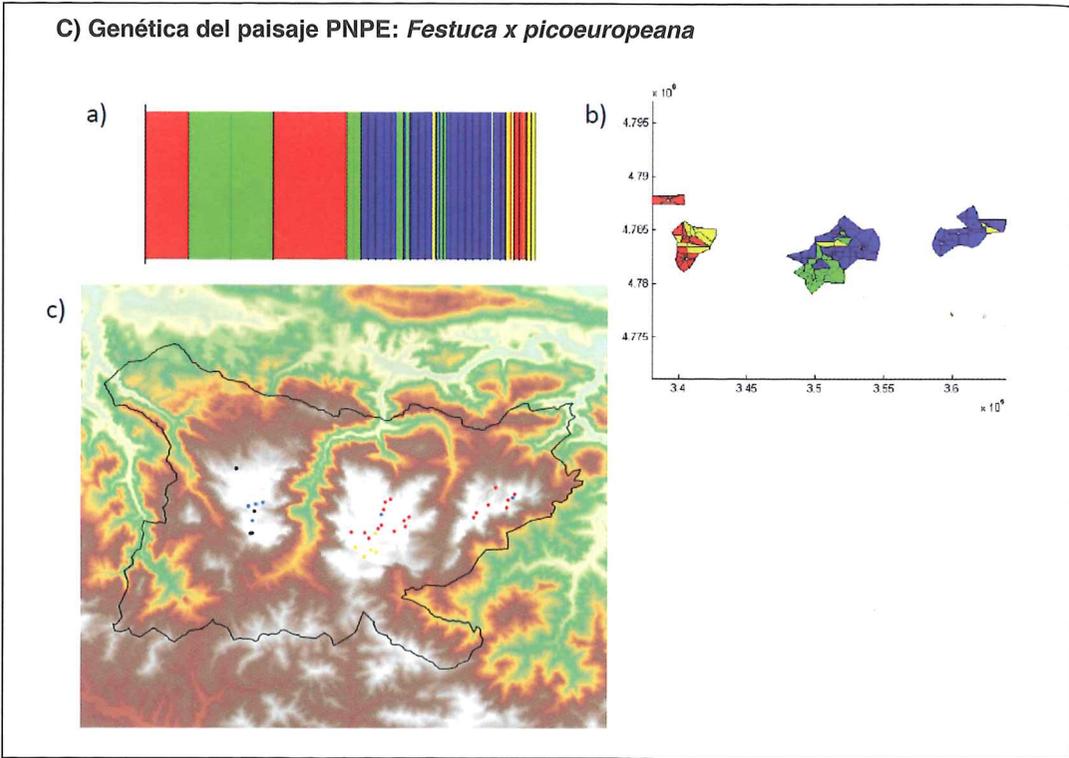


Figura 10C.

**Figuras 8-10.** Resultados preliminares de análisis de genética del paisaje de *F. eskia*, *F. gautieri* y *F. x picoeuropeana* en los PNOMP, PNAESM y PNPE basados en análisis bayesianos de estructura genética y proyecciones de teselas Voronoi con BAPS y mapeo cartográfico de los grupos genéticos mediante ARCGIS. Distintos colores corresponden a cada grupo genético en cada caso.

**Figures 8-10.** Preliminary results of the landscape genetics analysis of *F. eskia*, *F. gautieri* and *F. x picoeuropeana* in the PNOMP, PNAESM and PNPE based on genetic structure and Voronoi tessellation projections performed with BAPS and cartographic mapping of the genetic groups performed with ARCGIS. Different colors correspond to distinct genetic groups in each case.

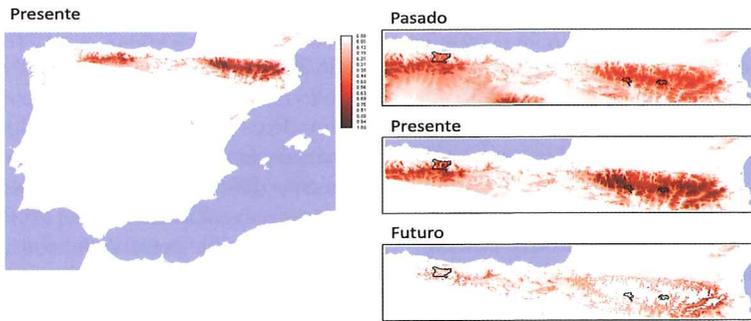
riscão, de los alrededores del macizo central (Pandetrave-Valdeón), de Las Colladinas (macizo central), y del macizo occidental.

*Festuca gautieri*: Los resultados BAPS mostraron la existencia de 5 grupos genéticos para las 21 poblaciones analizadas de esta especie en este Parque (Figura 10Ba). La proyección de las teselas voronoi (Figura 10Bb) en el mapa SIG (Figura 10Bc) mostró la existencia de 2 grupos genéticos exclusivos del macizo oriental de Picos, de 1 del macizo occidental, de 1 predominante en el macizo central y compartido con

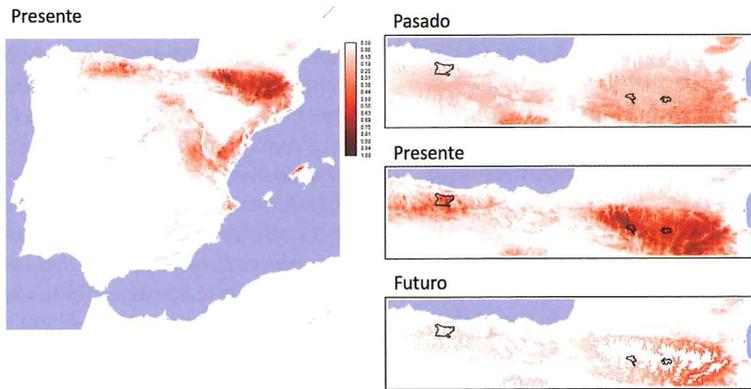
el oriental, y de 1 compartido entre los macizos occidental y central.

*F. x picoeuropeana*: Los resultados BAPS mostraron la existencia de 4 grupos genéticos para las 34 poblaciones analizadas de esta especie en este Parque (Figura 10Ca). La proyección del teselado voronoi (Figura 10Cb) en el mapa SIG (Figura 10Cc) mostró una alta estructura genética y un elevado aislamiento entre el macizo occidental, que presentaba un grupo genético exclusivo y otro grupo abundante y casi exclusivo, y los macizos central y oriental, que com-

### A) Modelos de nicho ecológico de *F. eskia*



### B) Modelos de nicho ecológico de *F. gautieri*



### C) Modelos de nicho ecológico de *F. x picoeuropeana*

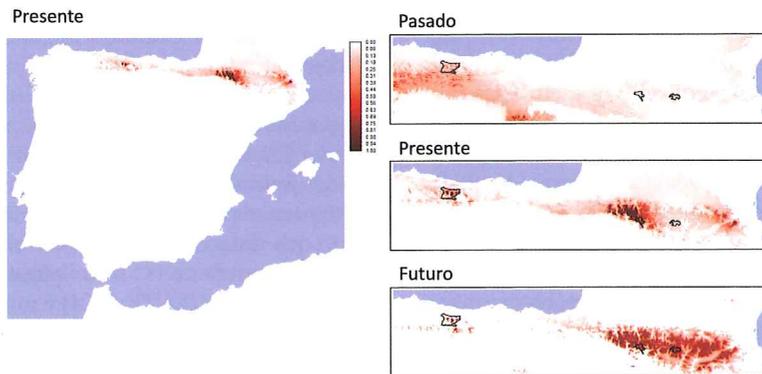


Figura 11. Modelos predictivos de distribución de nicho ecológico de *F. eskia* (A), *F. gautieri* (B) y *F. x picoeuropeana* (C) en escenarios de clima pretérito (LGM-CCSM), actual (WorldClim) y futuro (CCCMA-CGCM3.1 SRES-A1B, 2070-2099) basados en el algoritmo Maxent.

Figure 11. Predictive ecological niche distribution models of *F. eskia* (A), *F. gautieri* (B) and *F. x picoeuropeana* (C) in past (LGM-CCSM), current (WorldClim) and future (CCCMA-CGCM3.1 SRES-A1B, 2070-2099) scenarios based in the Maxent algorithm.

partían un grupo genético predominante en ambos. El macizo central presentaba además un grupo genético exclusivo.

### Modelos de nicho ecológico actual, pasado y futuro de *Festuca eskia*, *F. gautieri* y *F. x picoeuropeana*

Los resultados de los modelos ambientales predictivos actuales, pretéritos (LGM) y futuros obtenidos del análisis de datos globales de *F. eskia*, *F. gautieri* y *F. x picoeuropeana* se muestran en la Figura 11. Todos los modelos mostraron valores AUC elevados. Las variables que más contribuyeron a explicar los modelos de distribución potencial actual de las tres especies, y cuya presencia era relevante, fueron: la altitud, la precipitación del cuatrimestre más cálido, y la temperatura mínima del mes más frío (FE); la temperatura mínima del mes más frío, la temperatura del cuatrimestre más frío, y la precipitación del cuatrimestre más seco (FG); la altitud, la temperatura media del cuatrimestre más frío, y la precipitación del mes más seco (FP).

El modelo de nicho ecológico actual de *F. eskia* (Figura 11A) mostró una alta probabilidad de presencia del taxón en los Pirineos y en la Cordillera Cantábrica, si bien su distribución predicha en el LGM ocupaba un área mayor y, por el contrario, su proyección futura muestra una reducción de su área actual general y en concreto en los tres Parques. El modelo de nicho de *F. gautieri* (Figura 11B) mostró mayores probabilidades de distribución en los Pirineos y en los Picos de Europa, y una menor probabilidad de presencia en otras montañas ibéricas. Su distribución pretérita potencial también era más amplia e igualmente mostró una reducción de área en su proyección futura, tanto en su conjunto como en los tres Parques. El modelo de nicho futuro de *F. x picoeuropeana* (Figura 11C) mostró mayores probabilidades de presencia de la planta en los Picos de Europa y en el Pirineo central. Al contrario que las otras dos especies, su distribución pretérita potencial aparentemente fue más restringida pero sin embargo su proyección futura muestra una expansión en su área general de ocupación, incluyendo a los territorios de los

tres Parques. La evolución de idoneidad del nicho indica por tanto un escenario futuro favorable para *F. x picoeuropeana* si se diesen las condiciones del modelo CCCMA-CGCM3.1 SRES-A1B en el periodo 2070-2099.

Los modelos predictivos construidos con los datos climáticos actuales y pretéritos mostraron el solapamiento de las distribuciones potenciales de las tres especies en Pirineos y en el PNPE. Esto podría explicar la posible presencia ancestral de *F. gautieri* en Picos de Europa y su desplazamiento posterior por el híbrido.

## DISCUSIÓN

### Evidencias de distintos eventos de hibridación homoploide de las festucas punzantes subalpinas en los Pirineos y en las montañas Cantábricas.

Nuestros análisis morfoanatómicos y genéticos SSR han demostrado la existencia de divergencias fenotípicas y genotípicas entre las especies progenitoras *F. eskia* y *F. gautieri*, así como las características intermedias del taxón híbrido *F. x picoeuropeana* (Figuras 2, 3, 5; cf. TORRECILLA *et al.*, 2013). Los análisis de haplotipos plastídicos corroboran la existencia de amplias tasas de hibridación en este complejo triangular (Figura 6). No obstante, la variación molecular SSR y cpDNA detectada en *F. x picoeuropeana* sugiere la existencia de distintos eventos de hibridación tanto entre los híbridos de los Pirineos y del PNPE como en los de estas últimas montañas (Figuras 5, 6). *Festuca x picoeuropeana* es probablemente un híbrido homoploide (Figuras 2, 7) resultado de distintos cruzamientos de *F. eskia* y *F. gautieri* (CATALÁN 2006; presente estudio). Los datos citogenéticos indican que todas las muestras estudiadas de FE y FP, y la mayoría de FG son diploides ( $2n=2x=14$ ) (ORTÚÑEZ & FUENTE, 2004) y muestran similares tamaños genómicos en los Pirineos y en las montañas Cantábricas (T. GARNATJE, com. pers.). Este complejo triangular constituye un claro ejemplo de especiación híbrida homoploide donde los procesos de especiación pudieran estar causados por adaptación ecológica (GROSS & RIESEBERG 2005), tal como se observa en los Pirineos, donde

las poblaciones híbridas de *F. x picoeuropeana* se localizan en el ecotono edáfico de sus progenitores, viviendo siempre en simpatria con ellos. Sin embargo en el PNPE este taxón crece en suelos básicos, similares a los de FG, y en la mayor parte de los casos no convive con ninguno de los progenitores.

La disyunción geográfica de FP y su preponderancia en los tres macizos del PNPE, donde la mayor parte de las poblaciones son huérfanas, podría explicarse por los distintos eventos de hibridación que han tenido lugar en una y otra cordillera y por el éxito competitivo del híbrido en los macizos calcáreos de Picos. Pese a las bajas tasas de viabilidad polínica de FP (Tabla 3A), sus tasas de fecundidad y sus porcentajes de germinación de semillas son similares a los de FE, o incluso superiores a los de FG (Tabla 3B). Los estudios de hibridación indican que un alto porcentaje de los individuos híbridos pertenecen a una generación filial F2 (Figura 7A). Estos datos sugieren que la mayor parte de los individuos de *F. x picoeuropeana* son híbridos estabilizados (fértiles). Los modelos de nicho ecológico predicen que *F. gautieri* pudiera haber estado más ampliamente distribuida en el pasado, durante el LGM, en los macizos del PNPE (Figura 11B). Esta especie podría haber hibridado con FE (Figura 11A) originando los descendientes híbridos. El hábito más robusto de los híbridos y su adaptación a sustratos calcáreos podría haber resultado en individuos más competitivos que los de su progenitor basófilo. Su propagación clonal pseudorizomatosa, típica de las tres especies (cf. CATALÁN 2006), reforzada ocasionalmente mediante reproducción sexual, explicaría la amplia dispersión de las poblaciones huérfanas de FP en los tres macizos. Según esta hipótesis, el progenitor FG habría sido desplazado por parte del híbrido FP a zonas muy restringidas, principalmente del macizo oriental de Picos, donde actualmente vive.

### Genética del paisaje y modelización de nicho ecológico: herramientas para la gestión y la conservación.

Los análisis preliminares de genética del paisaje indican que el PNPE es el Parque que, pese a mostrar

menores índices de diversidad genética poblacional de los tres taxones (Tabla 4), muestra mayores índices de estructura genética (Tabla 4) y el mayor número de grupos genético-paisajísticos para las tres especies en estudio (Figura 10). El alto grado de estructuración genética se manifiesta en la existencia de grupos genéticos exclusivos de cada macizo para prácticamente cada especie. El macizo occidental es el más singular de todos, debido probablemente a su mayor aislamiento espacial y temporal, mientras que los macizos central y oriental comparten un mayor número de grupos genéticos comunes, resultado probable de una mayor dispersión entre sus cordales montañosos.

Tanto en el PNOMP como en el PNAESM se ha detectado un único grupo genético, respectivamente, para *F. eskia* (Figuras 8, 9). Esta elevada uniformidad puede ser debida a un rápido proceso de colonización postglacial en sus respectivos pisos subalpinos. Por el contrario, la estructura genética de *F. gautieri* fue mayor en ambos casos, y en especial en el PNAESM, donde se detectó la presencia de grupos genéticos exclusivos de cada valle (Boí, Espot, Capdella) (Figura 9). Esto puede ser debido al aislamiento genético provocado por la escasez de sustratos calcáreos en el área o por tratarse de una zona de sutura de distintas rutas de colonización postglacial.

Los modelos de predicción de nicho ecológico infieren un retroceso generalizado de las áreas de ocupación de FE y FG y un incremento del área de ocupación de FP en el futuro (décadas 2070-2099) si se cumpliesen las perspectivas catastrofistas de calentamiento global del modelo CCCMA-CGCM3.1 SRES-A1B (Figura 11). Sin embargo, las áreas de ocupación de las tres especies seguirían siendo similares a las inferidas con el modelo climático actual, con predominancia de FE y FG y distribución más restringida de FP (Figura 11) si las condiciones del clima no variasen sustancialmente a lo largo del siglo. Las predicciones de evolución de nicho ante futuros escenarios adversos representan situaciones hipotéticas límite, que podrían considerarse para la decisión de estrategias de conservación si la evolución del cambio global mostrase esas tendencias en las próximas décadas. Ante tales escenarios sería necesaria una mayor

protección de las poblaciones de FE y FG, mientras que si las condiciones climáticas no cambiaran drásticamente no se requerirían medidas de protección especial de estas plantas.

Los resultados del proyecto tienen importantes aplicaciones en los programas de conservación y gestión de las tres festucas caracterizadoras de los pastos subalpinos dominantes en los tres Parques estudiados (PNOMP, PNAESM, PNPE). En concreto proponemos las siguientes acciones a desarrollar en relación con la gestión de estos pastos y de sus especies 'bandera' (*F. eskia*, *F. gautieri*, *F. x picoeuropeana*):

1) Gestión individualizada de las unidades de pastos clasificadas como grupos genéticos independientes en los análisis de genética del paisaje y de filogeografía, y conservación *in situ* de los grupos de distribución restringida.

Los análisis filogeográficos han detectado divergencias genéticas entre las poblaciones de *F. eskia*, *F. gautieri*, *F. x picoeuropeana* del Pirineo Oriental (PNAESM), Pirineo Central (PNOMP) y Cordillera Cantábrica (PNPE). Los más pormenorizados análisis de genética del paisaje han permitido identificar distintos grupos genéticos para algunas especies en estos Parques. El análisis combinado de ambos estudios permite diferenciar los siguientes 39 grupos genético-paisajísticos de pastos:

Parque	<i>F. eskia</i>	<i>F. gautieri</i>	<i>F. x picoeuropeana</i>
PNAESM	1	10	-
PNOMP	1	6	6
PNPE	6	5	4

Se propone la toma de medidas de gestión individualizada y de conservación *in situ* para cada grupo genético, con el fin de preservar la singularidad genética de estas comunidades. Esta caracterización genética es resultado de sucesivos procesos históricos de aislamientos y posteriores contactos e hibridaciones.

Dada la abundancia general de estos grupos de pastos, no se requieren medidas especiales de conservación, excepto para aquellos grupos genéticos

de distribución restringida, tales como los de *F. gautieri* en los PNAESM y PNPE, los de *F. eskia* en el PNPE, y los de *F. x picoeuropeana* en el PNOMP para los que se proponen medidas de conservación especiales que garanticen su supervivencia.

2) Selección de genotipos locales para conservación y para restauración vegetal.

Dado el creciente impacto que están causando la fragmentación del paisaje y las posteriores labores de restauración vegetal de terrenos alterados de alta montaña debido al uso de germoplasma de procedencias diversas (cf. MALAVAL *et al.* 2010), se propone el uso de genotipos locales autóctonos de *F. eskia*, *F. gautieri*, *F. x picoeuropeana* en las siembras para la revegetación de pastos en los tres Parques. De ese modo se evitaría la contaminación genética del paisaje.

Como medidas previas de conservación *ex situ* recomendamos la creación de colecciones de germoplasma de semillas de *F. eskia*, *F. gautieri*, *F. x picoeuropeana* procedentes de los 39 grupos genético-paisajísticos identificados en los tres Parques, y el posterior uso de plantas obtenidas de esas semillas en los programas de restauración vegetal de cada zona. Iniciativas similares se están desarrollando en el Pirineo francés (Parc National des Pyrénées y valles pirenaicos con estaciones de esquí; cf. MALAVAL *et al.*, 2010) para *F. eskia* y *F. gautieri*, dentro del programa ECOVARS (<http://www.ecovars.fr/>), experiencia que podría ser incorporada a los Parques españoles.

## CONCLUSIONES

El proyecto desarrollado representa un ejemplo paradigmático de estudio transversal de las comunidades de pastos subalpinos dominados por estas festucas punzantes en los tres Parques Nacionales del norte de España, cubriendo las áreas de distribución natural de estas especies. El análisis comparado sobre genética del paisaje y ecología de los pastos de *F. eskia*, *F. gautieri* y *F. x picoeuropeana* en los PNOMP, PNAESM y PNPE ha permitido profundizar en el conocimiento de la historia evolutiva, los procesos de hibridación y las

adaptaciones ecológicas en cada territorio, obteniendo conclusiones sólidas y contrastadas que hubiesen quedado excesivamente sesgadas de haberse desarrollado de forma independiente en cualquiera de los tres Parques.

Los estudios genéticos con marcadores SSR han mostrado las divergencias habidas entre los distintos grupos geográficos intraespecíficos de *F. eskia* y *F. gautieri*, habiéndose detectado una clara estructuración geográfica en tres regiones (Pirineo Oriental, Pirineo central y Cordillera Cantábrica). Por el contrario los análisis con marcadores cloroplásticos parecen mostrar una elevada ocurrencia de flujo génico interespecífico, aunque con cierta estructuración geográfica similar. Ambos análisis corroboran la existencia de diversos procesos de hibridación homoploide entre estas especies los cuales dieron lugar a distintas generaciones híbridas de *F. x picoeuropeana* tanto en los Pirineos como en el PNPE. Los análisis sugieren la ocurrencia de hibridaciones más recientes en los Pirineos (PNOMP), donde el híbrido convive en simpatria con sus progenitores, y más ancestrales en el PNPE, donde la mayor parte de las poblaciones son huérfanas.

Los estudios ecológicos y de modelización de nicho han permitido caracterizar los hábitats y proyectar distribuciones potenciales de las tres especies. Los análisis de tendencia de uso del hábitat, mediante comparación de modelos pretéritos, actuales y futuros, permiten deducir la dinámica seguida por estas comunidades de pastos y predecir su evolución futura ante escenarios de cambio climático severo. Ante escenarios de calentamiento global, estas tendencias muestran una disminución del área de distribución de *F. eskia* y *F. gautieri* en

los tres Parques; por el contrario, los modelos de *F. x picoeuropeana* indican que su hábitat se vería favorecido en esas circunstancias.

Los análisis de genética del paisaje han permitido detectar 39 grupos genéticos distintos para las tres especies en los tres Parques. Estos resultados han servido de base para proponer medidas de conservación *in situ* y de gestión específica de estas unidades genéticas pascícolas y también para establecer programas de conservación *ex situ* de sus genotipos autóctonos. Todo ello sentará las bases para futuras acciones de restauración vegetal.

## AGRADECIMIENTOS

Queremos manifestar nuestro agradecimiento a las autoridades, técnicos y guardas de los Parques Nacionales de Ordesa - Monte Perdido, Aigüestortes i Estany de Sant Maurici, y Picos de Europa por los permisos y la ayuda proporcionados para los muestreos de materiales de *Festuca* en estas áreas protegidas, a los conservadores de los herbarios FCO, G, JACA, LEB, MA, W, Z y Sánchez-Pedraja (privado) por prestarnos especímenes de herbario para su estudio, a Jacinto Berzosa (UCM) por la identificación de los insectos tisanópteros encontrados en las flores de las festucas, y a Teresa Garnatje (IBB) por los análisis de tamaños genómicos de las festucas analizadas. Este estudio fue financiado por el proyecto de investigación 059/2009 del Organismo Autónomo Parques Nacionales (Ministerio de Medio Ambiente) (2010-2012) y por sendos proyectos de investigación del Gobierno de Aragón y de la Fundación La Caixa - Gobierno de Aragón para los estudios genético-paisajísticos y ecológicos en el PNOMP (2008-2010).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, M.P. 1969. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. *Stain Technology* 44: 117-122.
- ALEXANDER, M.P. 1980. A versatile stain for pollen fungi, yeast and bacteria. *Stain Technology* 55: 13-18.
- ANDERSON, E.C. & THOMPSON, E.A. 2002. A model-based method for identifying species hybrids using multilocus genetic data. *Genetics* 160: 1217-1229.
- BRAUN-BLANQUET, J. 1948. La végétation alpine des Pyrénées Orientales, étude de phytosociologie comparée. CSIC, Barcelona.

- CATALÁN, P. 2006. Phylogeny and evolution of *Festuca* L. and related genera of subtribe Loliinae (Poeae, Poaceae). En: A. K. Sharma & A. Sharma (eds.) Plant Genome: Biodiversity and evolution. Vol. 1D. Chapter 10. pp. 255-303. Enfield, New Hampshire (USA).
- CATALÁN, P., TORRECILLA, P., LÓPEZ-RODRÍGUEZ, J.A. & OLMSTEAD, R.G. 2004. Phylogeny of the festucoid grasses of subtribe Loliinae and allies (Poeae, Pooideae) inferred from ITS and *trnL-F* sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 31: 517-541.
- CLARK, P.U., DYKE, A.S., SHAKUN, J.D., CARLSON, A.E., CLARK, J., WOHLFARTH, B., MITROVICA, J.X., HOSTETLER, S.W. & MCCABE, A.M. 2009. The last glacial maximum. *Science* 325: 710-714.
- CLEMENT, M., POSADA, D. & CRANDALL, K.A. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9: 1657-1659.
- CORANDER, J., WALDMANN, P., MARTTINEN, P. & SILLANPÄÄ, M.J. 2004. BAPS 2: enhanced possibilities for the analysis of genetic population structure, *Bioinformatics* 20: 2363-2369.
- ELITH, J., GRAHAM, C.H., ANDERSON, R.P., DUDIK, M., FERRIER, S., GUISAN, A., HIJMANS, R.J., HUETTSMANN, F., LEATHWICK, J.R., LEHMANN, A., LI, J., LOHMANN, L.G., LOISELLE, B.A., MANION, G., MORITZ, C., NAKAMURA, M., NAKAZAWA, Y., OVERTON, J.M., PETERSON, A.T., PHILLIPS, S.J., RICHARDSON, K., SCACHETTI-PEREIRA, R., SCHAPIRE, R.E., SOBERON, J., WILLIAMS, S., WISZ, M.S. & ZIMMERMANN, N.E. 2006. Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. *Ecography* 29:129-151.
- FUENTE, V. & ORTUÑO, E. 2001. *Festuca* sect. *Eskia* (Poaceae) in the Iberian Peninsula. *Folia Geobotanica* 36: 385-421.
- GONZALO-TURPIN, H. & HAZARD, L. 2009a. Local adaptation occurs along altitudinal gradient despite the existence of gene flow in the alpine plant species *Festuca eskia*. *Journal of Ecology* 97: 742-751.
- GONZALO-TURPIN, H., BARRE, P., GILBERT, A., GRISARD, A., WEST, C.P. & HAZARD, L. 2009b. Co-occurring patterns of endophyte infection and genetic structure in the alpine grass *Festuca eskia*: implications for seed sourcing in ecological restoration. *Conservation Genetics* doi 10.1007/s10592-009-9927-8, Published on line.
- GOTTFRIED, M., PAULI, H., FUTSCHIK, A., AKHALKATSI, M., BARANCOK, P., ALONSO, J.L.B., COLDEA, G., DICK, J., ERSCHBAMER, B., CALZADO, M.R.F., KAZAKIS, G., KRAJCI, J., LARSON, P., MALLAUN, M., MICHELSEN, O., MOISEEV, D., MOISEEV, P., MOLAU, U., MERZOUKI, A., NAGY, L., NAKHUTSRISHVILI, G., PEDERSEN, B., PELINO, G., PUSCAS, M., ROSSI, G., STANISCI, A., THEURILLAT, J.P., TOMASELLI, M., VILLAR, L., VITTOZ, P., VOGIATZAKIS, I. & GRABHERR, G. 2012. Continent-wide response of mountain vegetation to climate change. *Nature Climate Change*. doi: 10.1038/nclimate1329.
- GOUDET, J. 2001. FSTAT v. 2.9.3.2, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Available from <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>
- GROSS, B.L. & RIESEBERG, L.H. 2005. The ecological genetics of homoploid hybrid speciation. *Journal of Heredity* 96: 241-252.
- GUISAN, A., BROENNIMANN, O., ENGLER, R., VUST, M., YOCCOZ, N.G., LEHMANN, A. & ZIMMERMANN, N.E. 2006. Using niche-based models to improve the sampling of rare species. *Conservation Biology* 20: 501-511.
- GUTIERREZ-VILLARIAS, M. & HOMET, J. 1985a. Estudio de un nuevo taxón del género *Festuca* L. sección *Variae* Hack. En los PNPE. *Boletín de Ciencias Naturales I.D.E.A.* 34: 131-153.
- GUTIÉRREZ-VILLARIAS, M.I. & HOMET, J. 1985b. Puntualizaciones sobre el grupo *Festuca varia* en los Picos de Europa. *Revista de Biología de la Universidad de Oviedo* 3: 85-90.
- HIJMANS, R.J., CAMERON, S.E., PARRA, J.L., JONES, P.G. & JARVIS, A. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 25: 1965-1978.
- INDA, L.A., SEGARRA-MORAGUES, J.G., MÜLLER, J., PETERSON, P.M. & CATALÁN, P. 2008. Dated historical biogeography of the temperate Loliinae (Poaceae, Pooideae) grasses in the northern and southern hemispheres. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 46: 932-957.

- JIMÉNEZ-ALFARO, B., DRAPER, D. & NOGUÉS-BRAVO, D. 2012. Modeling the potential area of occupancy at fine resolution may reduce uncertainty in species range estimates. *Biological Conservation* 147 : 190-196.
- KADEREIT, J.W., GRIEBELER, E.M. & COMES, H.P. 2004. Quaternary diversification in European alpine plants: pattern and process. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B* 359: 265-274.
- LANGELLA, O. 2000. Populations (Logiciel de génétique des populations). CNRS, Francia.
- LEGENDRE, P. & LEGENDRE, L. 1998. *Numerical Ecology*. second ed., Elsevier, Amsterdam.
- MALAVAL, S., LAUGA, B.C., REGNAULT-ROGER, C. & LARGIER, G. 2010. Combined definition of seed transfer guidelines for ecological restoration in the French Pyrenees. *Applied Vegetation Science* 13: 113-124.
- MÉDAIL, F. & QUÉZEL, P. 1997. Hot-spots analysis for conservation of plant biodiversity in the Mediterranean basin. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 84: 112-127.
- MILNE, D., FISHER, J.A. & PAVER, C.R. 2006. Models of the habitat associations and distributions of insectivorous bats of the Top End of the Northern Territory, Australia. *Biological Conservation* 130: 370-385.
- MONTSERRAT, P. & VILLAR L. 1973. El endemismo ibérico. Aspectos ecológicos y fitotopográficos. *Boletín da Sociedade Broteriana* 46: 503-527.
- MONTSERRAT, P. & VILLAR L. 1975. Les communautés á *Festuca scoparia* dans la moitié occidentale des Pyrénées. Notes préliminaires. *Documents Phytosociologiques* 9-14: 207-222.
- MONTSERRAT, P. & VILLAR L. 1987. Las comunidades de *Saponaria caespitosa* en el Pirineo. *Lazaroo* 7 : 9-24.
- NAVA, H.S. 1985. El grupo *Festuca varia* en Picos de Europa. *Fontqueria* 7: 21-24.
- NAVA, H.S. 1988. Flora y vegetación orófila de los Picos de Europa. *Ruizia* 6: 1-243.
- NEL, M., TAJIMA, F. & TATENO, Y. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *Journal of Molecular Evolution* 19: 153-170.
- ORTUÑEZ, E. & FUENTE, V. 2004. Chromosome counts in the genus *Festuca* section *Eskia* (Poaceae) in the Iberian Peninsula. *Botanical Journal of the Linnean Society* 146: 331-337.
- PARMESAN, C. 2006. Ecological and evolutionary responses to recent climatic change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 37:637-669.
- PARMESAN, C. & YOHE, G. 2003. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature* 421: 37-42.
- PAULI, H., GOTTFRIED, M. & GRABHERR, G. 1996. Effects of climate change on mountain ecosystems-upward shifting of alpine plants. *World Resource Reviews* 8: 382-390.
- PAULI, H., GOTTFRIED, M., DULLINGER, S. & GRABHERR, G. 2003. Assessing the long-term dynamics of endemic plants at summit habitats. En: L. Nagy, G. Grabherr, C. Körner & D.B.A. Thompson (eds.) *Alpine biodiversity in Europe*. Ecological studies, vol. 167. pp. 195-207. Springer Verlag, Heidelberg.
- PAULI, H., GOTTFRIED, M., DULLINGER, S., ABDALADZE, O., AKHALKATSI, M., ALONSO, J.L.B., COLDEA, G., DICK, J., ERSCHBAMER, B., CALZADO, R.F., GHOSH, D., HOLTEN, J.I., KANKA, R., KAZAKIS, G., KOLLAR, J., LARSSON, P., MOISEEV, P., MOISEEV, D., MOLAU, U., MESA, J.M., NAGY, L., PELINO, G., PUSCAS, M., ROSSI, G., STANISCI, A., SYVERHUSET, A.O., THEURILLAT, J.P., TOMASELLI, M., UNTERLUGGAUER, P., VILLAR, L., VITTOZ, P., & GRABHERR, G. 2012. Recent Plant Diversity Changes on Europe's Mountain Summits. *Science* 336: 353-355.
- PHILLIPS, S.J., ANDERSON, R.P. & SCHAPIRE, R.E. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* 190: 231-259.
- PRITCHARD, J.K., STEPHENS, M. & DONNELLI, P. 2000. Inference of population structure from multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- ROHLF, F.J. 2002. NtsYSpc, Numerical Taxonomy and Multivariate analysis System. Version 2.11a, User guide. New York: Exeter software.

- SEGARRA-MORAGUES, J.G. & CATALÁN, P. 2011. Characterization of microsatellite loci in *Festuca gautieri* (Poaceae) and transferability to *F. eskia* and *F. xpicoeuropeana*. *American Journal of Botany* 98: 360-362.
- SÉRGIO, C., FIGUEIRA, R., DRAPER, D., MENEZES, R. & SOUSA, J. 2007. The use of herbarium data for the assessment of red list categories: Modelling bryophyte distribution based on ecological information. *Biological Conservation* 135: 341-351.
- TORRECILLA, P., LÓPEZ-RODRÍGUEZ, J.A., STANCIK, D. & CATALÁN, P. 2003. Systematics of *Festuca* L. sects. *Eskia* Willk., *Pseudatropis* Kriv., *Amphigenes* (Janka) Tzvel., *Pseudoscariosa* Kriv. and *Scariosae* Hack. based on analysis of morphological characters and DNA sequences. *Plant Systematics and Evolution* 239: 113-139.
- TORRECILLA, P., ACEDO, C., MARQUES, I., DÍAZ-PÉREZ, A.J., LÓPEZ-RODRÍGUEZ, J.A., MIRO-NES, V., SUS, A., LLAMAS, F., ALONSO, A., PÉREZ-COLLAZOS, E., VIRUEL, J., SAHUQUILLO, E., SANCHO, M.C., KOMAC, B., MANSO, J.A., SEGARRA-MORAGUES, J.G., DRAPER, D., VILLAR, L. & CATALÁN, P. 2013. Morphometric and molecular variation in concert: taxonomy and genetics of the reticulate Iberian alpine spiny fescues (*Festuca eskia* complex, Poaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* (in rev).
- VILLAR, L. 1977. Una prueba biológica de la existencia de refugios glaciares («nunataks») en el Pirineo occidental. *Trabajos Neogeno-Cuaternario* 6: 287-297.

*Lucía Ramírez y Benigno Asensio*  
(editores)



## Proyectos de investigación en parques nacionales: 2009-2012

---

NATURALEZA Y PARQUES NACIONALES  
Serie investigación en la red

Las acciones prioritarias o medidas de conservación propuestas por los autores, no son necesariamente medidas avaladas por los gestores y técnicos de los Parques o del Organismo Autónomo. Las recomendaciones reflejan la opinión de los autores de los artículos.

Ilustración de portada: Parque Nacional de Aigüestortes i Estany de Sant Maurici; Sonia Rodado

Edita: ORGANISMO AUTÓNOMO PARQUES NACIONALES

Catálogo de Publicaciones de la Administración General del Estado en: <http://publicacionesoficiales.boe.es/>

NIPO: 293-13-022-4

ISBN: 978-84-8014-853-5

Depósito legal: M. 21505-2013

Imprime: EGRAF, S.A.