

Lucía Ramírez y Benigno Asensio
(editores)



Proyectos de investigación en parques nacionales: 2005-2008

NATURALEZA Y PARQUES NACIONALES
Serie investigación en la red

**PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN
EN PARQUES NACIONALES: 2005-2008**

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.

Foto de portada: Fernando Valladares.

Edita: ORGANISMO AUTÓNOMO PARQUES NACIONALES

NIPO: 781-09-032-4

ISBN: 978-84-8014-765-1

Depósito legal: M. 51938-2009

Imprime: EGRAF, S.A.



BIODIVERSIDAD GENÉTICA DE ORGANISMOS MARINOS EN EL PARQUE NACIONAL DE CABRERA: APLICACIONES PARA LA CONSERVACIÓN

ENRIQUE MACPHERSON^{1*}, MIKEL BECERRO¹, RAFAEL COMA¹, CRUZ PALACIN², MARTA PASCUAL³, XAVIER TURON^{1, 2} Y IOSUNE URIZ¹

RESUMEN

Se estudió la diversidad genética de las poblaciones de varias especies representativas del bentos marino (esponjas, cnidarios, ascidias, equinodermos y peces) del Parque Nacional de Cabrera. Se utilizaron marcadores moleculares de tasa de mutación alta y evolutivamente neutros (microsatélites) y, en algunos casos, genes mitocondriales. Los muestreos se realizaron dentro del Parque y varias zonas de las islas de Mallorca e Ibiza y a lo largo de la costa peninsular. Nuestros resultados indican que numerosas especies de invertebrados sésiles y algunos peces, que forman una parte esencial de los ecosistemas rocosos del Parque, están genéticamente aislados de las zonas adyacentes. Ello implica que las fases larvarias o adultas de estas especies no provienen mayoritariamente de las zonas próximas al Parque (ni siquiera de la isla de Mallorca) sino del propio Parque. Es decir hay un elevado nivel de autoreclutamiento. Por lo tanto, la desaparición de estas poblaciones en el Parque tendría una lenta recuperación.

Palabras clave: microsatélites, autoreclutamiento, especies crípticas, aislamiento genético, bentos litoral.

SUMMARY

The presence and abundance of key and emblematic species is one of the main criteria for evaluation of natural parks success. Despite there have been a recent effort towards the study of functional aspects of the ecosystem, the capacity of the populations to survive unexpected changes either of natural and of anthropogenic origin has not been examined. This study has analyzed the genetic diversity of the populations of several representative species of the Cabrera National Park marine benthos, mainly invertebrates (sponges, cnidarians, crustaceans and echinoderms) and fishes using molecular markers (microsatellites and mitochondrial genes) that allow to distinguish at fine level (even at individual level) the different haplotypes present in a population. The samples have been carried out in the Park as in adjacent islands (Mallorca and Ibiza) and along the peninsular coast. We have found that numerous invertebrate species (sponges, ascidians and the gorgonian *Paramuricea clavata*) and some fishes (e.g. *Tripterygion delaisi*) are genetically isolated from adjacent areas, with a high level of self-recruitment. Thus study has assess the population capacity to withstand change in the ecosystems, such as those expected within the frame of global change. Therefore, the study will provide judgment elements to improve conservation and management policies of National Parks.

Key words: microsatellites, self-recruitment, cryptic species, genetic isolation, litoral benthos.

¹Centro de Estudios Avanzados de Blanes (CSIC). Acces Cala St Francesc, 14. 17300 Blanes (Gerona).

²Departamento de Biología Animal (Invertebrados), Facultad de Biología, Universidad de Barcelona. Avenida Diagonal 645. 08028 Barcelona.

³Departamento de Genética, Facultad de Biología, Universidad de Barcelona. Avenida Diagonal 645. 08028 Barcelona.

* e-mail: macpherson@ceab.csic.es

INTRODUCCIÓN

El buen o mal funcionamiento de un Parque Natural se ha venido evaluando tradicionalmente, en una primera fase, por la presencia y abundancia de especies clave o emblemáticas. Posteriormente los estudios se suelen dirigir hacia aspectos más funcionales, como por ejemplo el análisis de la capacidad reproductiva de estas especies y el reclutamiento o incorporación de individuos juveniles a las poblaciones, así como a la preservación integral del hábitat. Aunque estas aproximaciones son correctas y necesarias, no tienen en cuenta la capacidad de las poblaciones para sobrevivir a cambios imprevistos en los ecosistemas, tanto si son de origen antropogénico como natural. Por tanto, no permiten evaluar su vulnerabilidad de una manera realista.

El estado actual de desarrollo de las técnicas de marcaje molecular permite un análisis más exacto del estado de "salud" de las poblaciones, así como de su capacidad de asimilar cambios potenciales introducidos en sus hábitats. El estudio de marcadores moleculares permite responder a preguntas sobre la diversidad genética, la estructura y la conectividad de las poblaciones y el flujo génico, que dependen de la capacidad de dispersión y de la "historia" de las especies. Conocer el número de alelos intercambiados entre poblaciones –flujo génico– y sus efectos a nivel local y regional es una aproximación básica en muchos campos de investigación ecológica, particularmente en *biología de la conservación*. En condiciones óptimas, el flujo génico introduce nuevos polimorfismos en las poblaciones, aumentando el tamaño efectivo de las mismas. Es decir, su capacidad para resistir cambios azarosos en la frecuencia de alelos, disminuyendo la deriva genética por azar y generando nuevas combinaciones de genes sobre las cuales la selección puede actuar. El conocimiento de la estructura de las poblaciones proporciona, por tanto, directrices muy valiosas para las estrategias de conservación y la gestión de los espacios naturales (AVISE 1998; LOCKWOOD et al. 2002; RUGGIERO et al. 2002).

En ecosistemas marinos, sin embargo, los estudios de diversidad y flujo genéticos son todavía

poco frecuentes, especialmente en el caso de los invertebrados. Es, por lo tanto, especialmente interesante ir ampliando el banco de datos genético (poblacionales) del mayor número posible de especies. Ello es además muy recomendable en aquellas que resultan ser clave bien por su vulnerabilidad frente a presiones antropogénicas, bien por su papel determinante en el funcionamiento y en la estructura de los ecosistemas.

En este proyecto se ha analizado la diversidad genética de las poblaciones de diversas especies representativas del bentos marino del Parque Nacional de Cabrera, principalmente invertebrados (esponjas, nudarios, equinodermos y crustáceos) y peces. Se han utilizado para ello marcadores moleculares de tasa de mutación alta y evolutivamente neutros (microsatélites), que permiten discriminar a un nivel fino (incluso individual) los distintos haplotipos presentes en una población y el grado de conectividad con las poblaciones de áreas adyacentes. Asimismo, para estudiar la taxonomía de las especies consideradas y la detección de posibles especies crípticas se utilizaron marcadores mitocondriales. Todo ello permitirá determinar el aislamiento genético del Parque Nacional de Cabrera y, por lo tanto, la vulnerabilidad ante cambios imprevistos, ya sean naturales o de origen antropogénico. Asimismo, proporcionará una información valiosa sobre la taxonomía molecular de diversas especies.

MATERIAL Y METODOS

Muestreos

Los muestreos se realizaron en las épocas en que las diferentes especies no estaban en reproducción (principalmente en el caso de las especies incubadoras) para evitar la amplificación de ADN embrionario. Se recolectaron un mínimo de 50 ejemplares de cada especie a diferentes escalas espaciales para asegurar el muestreo correcto de las poblaciones. Las zonas elegidas dentro del Parque fueron: Cova Blava, Cap de Sa Carabassa, Illot l'Imperial, Els Estels, Cap de Llebeig, Na Foradada, L'Olla y Zona del Port. Igualmente se muestrearon varias zonas de "control" exteriores

al Parque situadas en las islas de Mallorca e Ibiza y a lo largo de la costa peninsular: Costa Brava (Gerona), Cabo de Palos (Murcia), Cabo de Gata (Almería), y la Herradura (Granada). Los muestreos se efectuaron durante los dos primeros años y en cada campaña de muestreo intervinieron un mínimo de tres buceadores.

Especies estudiadas

Se ha estudiado la estructura genética de poblaciones de las siguientes especies: ascidias (*Pycnoclavella communis*, *Pseudodistoma crucigaster*, *Cystodytes dellechiaiei*), esponjas (*Crambe crambe*, *Phorbas tenacior*, *Spongia agaricina*), equinodermos (*Paracentrotus lividus*, *Marthasterias glacialis*), cnidarios (*Paramuricea clavata*), crustáceos (*Palinurus elegans*) y peces (*Apogon imberbis*, *Diplodus vulgaris*, *Mullus surmuletus*, *Oblada melanura*, *Serranus cabrilla*, *Symphodus tinca*, *Tripptygion delnisi*).

Elaboración y análisis de las genotecas de microsatélites

Se obtuvieron genotecas enriquecidas en loci microsatélites para todas las especies seleccionadas, excepto en aquellas (por ejemplo, *Pycnoclavella communis*, *Apogon imberbis*, *Diplodus vulgaris*, *Mullus surmuletus*, *Oblada melanura*) ya obtenidas por el equipo investigador en otros proyectos. Posteriormente se identificaron los loci con el nivel de variabilidad adecuado, se diseñaron cebadores específicos para ellos, y se optimizaron las condiciones de amplificación de cada microsatélite para los posteriores ensayos.

Un ensayo de microsatélites consiste en una amplificación mediante PCR realizada sobre ADN genómico molde –la muestra problema– utilizando un par de cebadores específicos previamente identificados y de corta longitud (generalmente veinte bases). Los productos de la amplificación son fragmentos de ADN que, debido a la alta variación en la talla del microsatélite, producen bandas de distinto tamaño que se separan en un gel de agarosa. Para detectar los fragmentos, el gel se tiñe con bromuro de etidio. Sin embargo, para poder separar fragmentos cuya talla difiere solamente en una o dos bases

es necesario separarlos en geles de acrilamida o en un secuenciador automático.

Las bandas que constituyen el genotipo de cada individuo o "huella dactilar" (fingerprint) presentan generalmente herencia codominante (ya que tanto el alelo paterno como el materno son amplificables) y son reproducibles. Para asegurar la reproducibilidad es preciso que el ADN problema sea de alta calidad –sin impurezas– y que su concentración se estime con precisión.

En una electroforesis, se separan los productos de PCR correspondientes a cada individuo para un número de loci que puede variar entre 5 y 10 (dependiendo de los niveles de variabilidad presentes en cada loci). Así se obtienen genotipos multilocus para cada individuo, los cuales permiten establecer la frecuencia alélica de cada locus para cada población. Un análisis estándar de genética de poblaciones permite entonces determinar si las frecuencias alélicas de poblaciones colectadas en distintos puntos son estadísticamente diferentes.

Posteriormente se evalúa la magnitud de la diferenciación entre poblaciones mediante la estimación de índices de fijación alélica. Estos índices varían entre cero y uno y representan la probabilidad de que un alelo determinado se encuentre en el 100% (se ha fijado por deriva genética) de una población y en un 0% en otra. Ello indicaría que no existe flujo génico alguno entre estas poblaciones. Sin embargo, es muy poco probable que este sea el caso para cualquiera de las especies objeto de este estudio. Mediante microsatélites es más común encontrar índices de fijación del orden de 2-3%, estadísticamente distintos de cero, los cuales reflejan un flujo génico muy reducido o nulo (dependiendo del número de generaciones transcurridas desde la interrupción de dicho flujo). Un índice de fijación no distinto de cero refleja panmixia (flujo génico activo entre poblaciones/generaciones). Teóricamente, basta que un solo individuo por generación migre entre dos poblaciones (y se reproduzca con éxito en la población a la que migra) para impedir la divergencia genética entre ellas y producir mediante este análisis índices que no son diferentes de cero.

Con los datos de los distintos marcadores genéticos se analizará la estructura alélica, la estructura haplotípica y las secuencias nucleotídicas (según el marcador) y se obtendrán datos poblacionales (F_{ST} , Nm, etc.) para estudiar diversidad, diferenciación poblacional, flujo génico y estructura reproductora (diferenciación reproducción clonal/sexual en invertebrados mediante microsatélites).

Para el estudio de los parámetros poblacionales (NEI, 1987) se usarán los programas Sites (HEY & WAKELEY, 1997), y DnaSP (ROZAS & ROZAS, 1997). Para la partición de la variabilidad desde el nivel del individuo hasta el nivel de zona de estudio se usará un análisis molecular de la varianza (AMOVA) (EXCOFFIER *et al.*, 1992) con el programa Arlequin (SCHNEIDER *et al.*, 1997).

Para diferenciar entre historia de la población y estructura de la misma se realizará un análisis anidado de la distribución de la variación genética (TEMPLETON, 1998;) usando el programa GeoDis 2.0 (POSADA *et al.*, 2000).

Análisis de los datos poblacionales

La estructura genética de las poblaciones se analizó obteniendo el valor esperado de F_{ST} entre pares de poblaciones cuando no hay diferenciación genética calculado a partir de 10,000 permutaciones al azar y utilizando el programa GENETIX v. 4.02. Los valores de F_{ST} permutados se compararon con los observados para estimar la probabilidad de que el valor observado fuese mayor o igual al esperado si no hay diferencias poblacionales. En todos los casos se utilizó la corrección de Bonferroni.

Tasas de autoreclutamiento

El nivel de autoreclutamiento solo se estudió en una de las especies de peces (*Tripterygion delaisi*). Se muestrearon reclutas (n=50) en el Parque Nacional de Cabrera, y se utilizaron poblaciones de referencia de Mallorca, Menorca, Formentera, Cap de Creus, Tossa del Mar, Blanes, Columbretes, Cabo de Palos, Cabo de Gata, la Herradura y Tarifa (n=30-50 ejemplares de cada localidad). De

cada ejemplar se obtuvo un pequeño trozo de aleta que se conservó en alcohol absoluto. El DNA total se extrajo mediante el protocolo Chelex 10% (Estoup *et al.*, 1996).

Se utilizaron los 10 microsatélites obtenidos anteriormente por el equipo investigador (Carreras-Carbonell *et al.*, 2006). El material obtenido se analizó con un secuenciador automático ABI 3700 del Servicio Técnico de la Universidad de Barcelona. Los alelos se midieron mediante el software GENESCAN y GENOTYPER, con un marcador de tamaños CST Rox 70-500 (Bio-Ventures Inc.).

Las frecuencias alélicas, riqueza alélica media, y heterozigosis esperada (H_e) y observada (H_o) se calcularon utilizando el programa GENECLASS2. La diferenciación genética entre localidades se estimó utilizando el valor de F_{ST} (WRIGHT, 1969; WEIR & COCKERHAM, 1984). La significación de las diferencias entre frecuencias alélicas se calculó con el test exacto de Fisher (programa GENEPOP).

La asignación de los reclutas a cada población de referencia se realizó mediante el programa GENECLASS2 (PIRY *et al.*, 1999). Para detectar los individuos no asignados se utilizó el algoritmo de PAETKAU *et al.* (2004) tras 10^5 simulaciones. Los ejemplares fueron asignados a una determinada población cuando la probabilidad era inferior a 0,05 o cuando existía una probabilidad elevada de que un ejemplar se asignara a más de una población.

Detección de especies crípticas

En aquellos grupos de organismos (ascidias, esponjas y peces) donde se conocía la existencia de diferencias genéticas entre organismos de diferentes zonas del Mediterráneo, se secuenciaron diversos genes mitocondriales (COI, 16S, entre otros) con el fin de delimitar las diferencias y establecer la existencia de especies crípticas. Estos análisis se realizaron en especies de los géneros: Ascidias (*Pseudodistoma*, *Pycnoclavella*, *Cystodytes*), Esponjas (*Scopalina*), y Peces (*Tripterygion*).

RESULTADOS

Elaboración y análisis de las genotecas de microsatélites

Se obtuvieron genotecas enriquecidas de 5 especies. El número de loci polimórficos obtenidos fue diferente para cada especie: *Spongia agaricina* (8), *Paramuricea clavata* (8), *Paracentrotus lividus* (9), *Palinurus elephas* (15) y *Serranus cabrilla* (12). Asimismo, el número medio de alelos por locus y la heterozigosis media observada fue diferente para cada especie (Tabla 1). La composición de los loci se encuentra en los trabajos correspondientes

Especie	Loci micros.	Número medio de alelos por locus	Heterozigosis media observada
<i>Spongia agoricina</i>	8	4,25	0,364
<i>Paramuriceo clavata</i>	8	5,63	0,479
<i>Paracentrotus lividus</i>	8	210	0,469
<i>Palinurus elephos</i>	15	20,0	0,789
<i>Serranus cabrilla</i>	12	9,5	0,657

Tabla 1. Especies donde se obtuvieron genotecas enriquecidas, indicando el número de loci, número medio de alelos por locus y la heterozigosis observada.

Table 1. List of species with enriched genomic library, including number of loci, average number of alleles per locus and average observed heterozygosity.

Análisis de los datos poblacionales

Se observó una elevada variabilidad genética en las diferentes especies estudiadas, tanto en términos de polimorfismo por población y locus, como de heterozigosis observada y esperada. Asimismo se observaron valores significativos de falta de equilibrio Hardy-Winberg en algunas poblaciones. El análisis de los "cuellos de botella" mostró que no existían en ninguna población cuando se utilizó el modelo "two-phase mutation model (TPM)", pero si se detectaron "cuellos de botella" recientes en algunos casos (ej. *Serranus cabrilla*) cuando se utilizaron los modelos "infinite allele model (IAM)" o "stepwise mutation model (SMM)" (véanse las referencias indicadas anteriormente, para una información más detallada).

Las comparaciones entre pares de poblaciones (F_{ST}) para las diferentes poblaciones y especies analizadas oscilaron entre 0 y 0,131. En la Tabla 2

(CARRERAS-CARBONELL *et al.*, 2006; PALERO & PASCUAL, 2008; AGELL *et al.*, 2009; CALDERON *et al.*, 2009; NOYER *et al.*, 2009). Para otras especies consideradas en el proyecto se utilizaron las genotecas enriquecidas elaboradas en otros proyectos por miembros del equipo investigador: *Crambe crambe* (DURAN *et al.*, 2004), *Pycnoclavella communis* (PÉREZ-ORTELA & TURON, 2008), *Phorbas tenacior*, *Tripterygion delaisi* (CARRERAS-CARBONELL *et al.*, 2004), *Symphodus tinca* (GALARZA *et al.*, 2006), *Mullus surmuletus* (GALARZA *et al.*, 2006), *Apogon imberbis* (GALARZA *et al.*, 2007), *Diplodus vulgaris* y *Oblada melanura* (ROQUES *et al.*, 2007).

se indican algunas de las diferencias observadas entre las poblaciones de Cabrera y de algunas zonas adyacentes.

Se observó que la mayor parte de invertebrados sésiles (esponjas, cnidarios y ascidias) tenían una fuerte estructuración poblacional, siendo diferentes las poblaciones del Parque Nacional de las de la isla de Mallorca y costas de la Península. Esta estructuración no era tan marcada, sin embargo, en peces. No obstante, *Tripterygion delaisi* sí estaba muy diferenciado entre Cabrera y Mallorca, así como con el resto de localidades. Los demás peces mostraron una similitud entre las islas Baleares, pero siendo generalmente diferentes con las poblaciones Peninsulares. La langosta mostró un elevado flujo genético entre las diferentes poblaciones.

En peces, cuando se compararon las poblaciones de Cabrera con las de otras zonas de la costa pe-

Especie	Cabrera-Mallorca	Cabrera/Costa Brava-Blanes	Cabrera/Cabo de Gata
<i>Pseudodistoma crucigaster</i>	P<0,05	P<0,05	(2)
<i>Spongia agaricina</i>	(2)	P<0,05	P<0,05
<i>Crambe crambe</i>	P<0,05	P<0,05	P<0,05
<i>Phorbastenicior</i>	P<0,05	P<0,05	P<0,05
<i>Paramuricea clavata</i>	P<0,05*	P<0,05	P<0,05 (1)
<i>Paracentrotus lividus</i>	(2)	P<0,05	(2)
<i>Palinurus elephas</i>	ns	ns	ns (3)
<i>Serranus cabrilla</i>	ns	P<0,05	P<0,05
<i>Diplodus vulgaris</i>	ns	ns	ns
<i>Mullus surmuletus</i>	ns	P<0,05	P<0,05
<i>Oblada melanura</i>	ns	P<0,05	P<0,05
<i>Tripterygion delaisi</i>	P<0,05	P<0,05	P<0,05
<i>Apogon imberbis</i>	ns	P<0,05	P<0,05
<i>Symphodus tinca</i>	ns	ns	ns

Tabla 2. Significación de las diferencias entre poblaciones de distintas especies. Se indican los pares de comparaciones significativas ($P < 0,05$) y no significativas (ns). La significación de las comparaciones se evaluó tras aplicar la corrección de Bonferroni.

Table 2. Significant differences among populations of the studied species. Significant ($P < 0,05$) and non-significant (ns) pair-wise comparisons are shown after Bonferroni correction.

(1) En esta especie se compararon con poblaciones alternativas (Ibiza y Cabo de Palos).

(2) en proceso de análisis.

(3) Se comparó con una población de Valencia.

ninsular, se observó una clara diferenciación genética (Tabla 2), así como una fuerte influencia de los frentes oceánicos (1) Frente Almería-Orán, que separa las poblaciones de Herradura y Cabo de Gata, y (2) Frente Balear, que separa Cabrera de Blanes (véase GALARZA *et al.*, 2009).

Tasas de autoreclutamiento

La tasa de autoreclutamiento solo se estudió en *Tripterygion delaisi*. Como era esperable, al ser una especie con una fuerte estructuración poblacional, la tasa de autoreclutamiento fue próxima al 70%. Es decir, el porcentaje de reclutas asignado significativamente a la población del Parque es muy elevada. El resto de los reclutas fue asignado a poblaciones de Mallorca y costa Peninsular.

Detección de especies crípticas

Los estudios filogeográficos de los diferentes grupos estudiados indicaron la existencia de especies crípticas en ascidias, esponjas y peces. En peces, se detectó una especie gemela de *Tripterygion tripteronotus*, de forma que los ejemplares de las islas Baleares y sur de la península Ibérica pertenecen a una especie distinta (*T. tartessicum*), que se diferenció de *T. tripteronotus* hace unos 3 millones de años (CARRERAS-CARBONELL *et al.*, 2007).

Las diferencias morfológicas más evidentes son el tamaño del ojo y el tamaño de los radios dorsales en los machos (Figura 1).

En cuanto a las ascidias, en el caso de *Pseudodistoma crucigaster* se observó en Cabrera la existencia de dos variedades cromáticas, amarilla y gris, mientras que en Mallorca se encontraba una variedad naranja. Los estudios genéticos mostraron que la forma amarilla y gris pertenecían a la misma especie, mientras que la forma naranja estaba claramente diferenciada y constituía otra especie. Igualmente, se pudo constatar que la especie *Clavelina nana* citada previamente la isla de Cabrera era en realidad una mezcla de dos especies de otro género, *Pycnoclavella communis* (especie nueva que se ha descrito con material de Cabrera y otros puntos del Mediterráneo occidental) y *Pycnoclavella aurilucens*. También se pudo constatar que las variedades azul y verde de *Cystodytes dellechiaiei*, presentes ambas en Cabrera, son en realidad dos especies diferentes.

Asimismo, gracias al uso de marcadores moleculares se detectaron tres nuevas especies del género *Scopalina* (*S. blanensis*, *S. ceutensis*, y *S. canariensis*), que habían pasado inadvertidas en estudios morfológicos tradicionales (BLANQUER & URIZ,

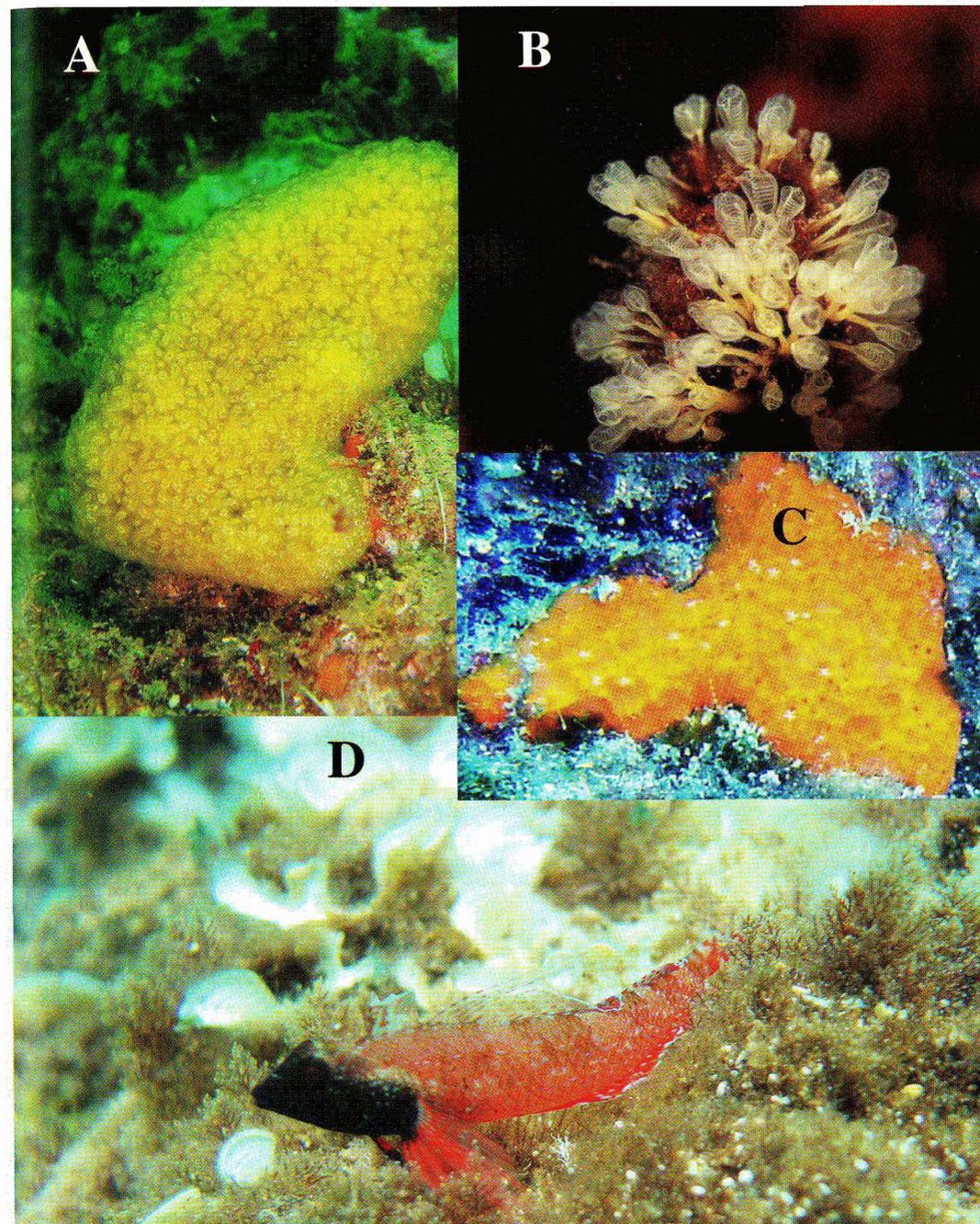


Figura 1. Especies crípticas nuevas descritas a lo largo del proyecto. A: *Pseudodistoma crucigaster*, B: *Pycnoclavella communis*, C: *Scopalina blanensis*, D: *Tripterygion tartessicum*.

Figure 1. Cryptic new species described during the present project. A: *Pseudodistoma crucigaster*, B: *Pycnoclavella communis*, C: *Scopalina blanensis*, D: *Tripterygion tartessicum*.

2007). Hasta la fecha se había considerado que la especie balear era *S. lophyropoda* Schmidt, pero los resultados encontrados indican que se trata de una especie nueva (*S. blanensis* BLANQUER & URIZ, 2007). El estudio de caracteres diagnósticos (morfológicos y esqueléticos) para diferenciar las especies muestra que los caracteres más relevantes en este grupo de especies son el color externo, la complejidad del esqueleto y el tamaño de las espículas. (BLANQUER & URIZ, 2007).

DISCUSION

El objetivo general del estudio ha sido determinar la diversidad genética en reclutas, juveniles y adultos de las poblaciones de especies representativas de esponjas, cnidarios, crustáceos, equinodermos, ascidias y peces del Parque Nacional de Cabrera. Ello ha contribuido a predecir la vulnerabilidad y capacidad de adaptación del Parque frente a cambios antropogénicos o naturales. En el proyecto se pretendía, además, responder a una serie de preguntas generales sobre la estructura genética y conectividad de las poblaciones de diferentes especies marinas del Parque, así como sobre la congruencia entre la capacidad de dispersión potencial (estimada a partir del tipo y duración de la vida larvaria) y real (estimada a partir de la estructura genética de las poblaciones).

Algunos invertebrados, con larvas lecitotróficas de corta vida planctónica (ej. *Crambe crambe*, *Paramuricea clavata*, *Pseudodistoma crucigaster*) muestran una fuerte estructuración, con poblaciones aisladas claramente de las existentes en las demás islas Baleares y la Península. Esta misma pauta se observa en algunos peces (*Tripterygion delaisi*), cuyas larvas están pocos días en el plankton (18-21 días, RAVENTOS & MACPHERSON, 2001) y muy próximas al litoral (lo que implicaría una menor capacidad de dispersión). Sin embargo, otros peces (*Symphodus tinca*) con características larvarias similares no presentan dicha diferenciación. Ello implica que la conectividad entre poblaciones no está relacionada solamente con la duración de la vida larvaria o de su proximidad al litoral. Existen otras características biológicas como la posición de las larvas en la columna de agua, que parecen tener un papel im-

portante en la conectividad entre poblaciones (MACPHERSON & RAVENTOS, 2006).

En general, esta falta de conectividad y las adaptaciones locales llevan a una divergencia genética entre las poblaciones de Cabrera y las demás islas Baleares y el continente. En otras palabras, Cabrera encierra un patrimonio genético propio en este tipo de especies. Si estos resultados son extrapolados a otras especies sésiles, con el mismo tipo de desarrollo larvario, por ejemplo, ascidias, esponjas, cnidarios, briozoos, numerosos moluscos y poliquetos, así como algunos peces, que tienen sus larvas muy próximas a la costa, puede considerarse que las poblaciones del Parque Nacional de Cabrera están significativamente aisladas y tienen un alto riesgo de desaparecer frente a perturbaciones masivas ya sean de tipo natural o antropogénico. Por el contrario, aquellas especies con larvas con una mayor capacidad de dispersión (langosta, muchos peces), no muestran diferenciación genética. Ello indica que están bien conectadas con las de otras islas y, por tanto, las especies gozan de una buena capacidad de supervivencia gracias a la posibilidad de recolonización a partir de larvas de otros lugares.

Como resultados adicionales, los estudios moleculares han permitido detectar la existencia de especies crípticas y nuevas para la Ciencia en los siguientes grupos: ascidias (*Pseudodistoma crucigaster*, *Pycnoclavella spp*, *Cystodytes dellechiaiei*), esponjas (*Scopalina spp*), y peces (*Tripterygion tartessicum*). Todo ello indica, no solo que en la taxonomía de estos grupos existen importantes lagunas, sino también que la elevada diversidad del Mediterráneo, considerado como uno de los "hot-spots" en biodiversidad del planeta (MACPHERSON, 2002), puede ser más elevada de lo que pensamos.

Conclusiones/recomendaciones: Estos resultados tienen importantes consecuencias en la gestión del Parque, así como en otras zonas de nuestro litoral. Nuestros resultados indican que numerosas especies de invertebrados sésiles y algunos peces, que forman una parte esencial de los ecosistemas rocosos del Parque Nacional de Cabrera, están genéticamente aislados de las zonas adyacentes. Ello implica que las fases lar-

varias o adultas de estas especies no provienen mayoritariamente de las zooidas próximas al Parque ("siquiera de la isla de Mallorca). Es decir hay un elevado nivel de autoreclutamiento. Por lo tanto, la desaparición de estas poblaciones en el Parque tendría una difícil recuperación por medios "naturales". En algunas especies, como la gorgonia *Paramuricea clavata*, con una sola población en Cabrera y con muy escasa representación en las islas Baleares, estas características genéticas pueden tener consecuencias graves, ya que un deterioro de su población implicaría su desaparición irreversible (a menos que se reali-

cen trasplantes artificiales). Esta situación podría darse también en otras especies con larvas lecitotróficas y con escasa abundancia en el Parque.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a todo el personal del Parque Nacional de Cabrera por su ayuda y cooperación en las campañas de muestreo. Asimismo, queremos agradecer a los mandos de la Base Naval de Pollensa por todo el apoyo logístico durante los muestreos realizados en la isla de Mallorca.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGELL G, RIUS M, PASCUAL M. 2009. Isolation and characterization of eight polymorphic microsatellite loci for the Mediterranean gorgonian *Paramuricea clavata*. *Conservation Genetics* (en prensa)
- AVISE JC. 1998. Conservation genetics in the marine realm. *The American Genetic Association* 89: 377-382.
- BLANQUER A, URIZ MJ. 2007. Cryptic speciation in marine sponges evidenced by mitochondrial and nuclear genes: A phylogenetic approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45: 392-397.
- CALDERON I, TURON X, PASCUAL M. 2009. Isolation of 9 nuclear microsatellites in the common Mediterranean sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck). *Molecular Ecology Resources* 9: 1145-1147.
- CARRERAS-CARBONELL J, MACPHERSON E, PASCUAL M. 2004. Isolation and Characterization of microsatellite loci in *Tripterygion delaisi*. *Molecular Ecology Notes* 4: 438-439.
- CARRERAS-CARBONELL J, MACPHERSON E, PASCUAL M. 2006. Characterization of twelve microsatellite markers in *Serranus cabrilla* (Pisces: Serranidae). *Molecular Ecology Notes* 6: 204-206.
- CARRERAS-CARBONELL J, PASCUAL M, MACPHERSON E. 2007. Use of molecular and morphological data to identify one new sibling species of the genus *Tripterygion* Risso, 1826 (Pisces, Blennioidei, Tripterygiidae) from the Mediterranean Sea. *Scientia Marina* 71: 75-86.
- DURAN S, PASCUAL M, ESTOUP A, TURON X. 2004. Strong population structure in the inarine sponge *Crambe crambe* (Poecilosclerida) as revealed by microsatellite markers. *Molecular Ecology* 13: 511-522.
- ESTOUP A, LARGIADER CR, PERROT E, CHOURROUT C D. 1996. Rapid one-tube DNA extraction for reliable PCR detection of fish polymorphic markers and transgenes. *Mol Mar Biol Biotechnol* 5: 295-298
- EXCOFFIER L. 1992. Analysis of molecular variance inferred from genetic distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- GALARZA JA, CARRERAS-CARBONELL J, MACPHERSON E, TURNER GF, RICO C. 2006. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers for peacock wrasse (*Symphodus tinca*). *Molecular Ecology Notes* 6: 747-749.
- GALARZA JA, ROQUES S, CARRERAS-CARBONELL J, MACPHERSON E, TURNER GF, RICO C. 2007. Polymorphic microsatellite loci for the cardinal fish (*Apogon imberbis*). *Conservation Genetics* 8: 1251-1253.
- GALARZA JA., TURNER GF., MACPHERSON E, CARRERAS-CARBONELL J., RICO C. 2007. Cross-amplification of ten new isolated polymorphic microsatellite loci for red mullet (*Mullus barbatus*) in striped red mullet (*Mullus surmuletus*). *Molecular Ecology Notes* 7: 230-232.

- GALARZAJA., TURNER G. F., MACPHERSON E., RICO C. 2009. Patterns of genetic differentiation between two co-occurring demersal species; the Red mullet (*Mullus barbatus*) and the Striped red mullet (*Mullus surmuletus*) from the Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea. *Canadian Journal of Aquatic Sciences* 66: 1478-1490.
- HEY J, WAKELEY J. 1997. A coalescent estimator of the population recombination rate. *Genetics* 145: 833-846.
- LOCKWOODDR, HASTINGS A, BOTSFORDLW. 2002. The effects of dispersal patterns on marine reserves: does the tail wag the dog? *Theoretical Population Biology* 61, 297-309.
- MACPHERSON E. 2002. Large scale gradients of species richness in the Atlantic Ocean. *Proceedings of the Royal Society of London, B* 269: 1715-1720.
- MACPHERSON E, RAVENTOS N. 2006. Relationship between pelagic larval duration and geographic distribution in Mediterranean littoral fishes. *Marine Ecology Progress Series* 327: 257-265.
- NEI M (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- NOYER C, AGELL G, PASCUAL M, BECERRO MA. 2009. Isolation and characterization of microsatellite loci from the endangered Mediterranean sponge *Spongia agaricina* (Deinospongiae: Dictyoceratida). *Molecular Ecology Resources* (en prensa).
- PAETKAU D, SLADE R, BURDEN M, ESTOUP A. 2004. Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power. *Molecular Ecology* 13: 55-65.
- PALERO F, PASCUAL M. 2008. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Palinurus elephas*. *Molecular Ecology Resources* 8: 1477-1479.
- PEREZ-PORTELA R, TURON X. 2008. Phylogenetic relationships of the Clavelinidae and Pycnoclavellidae (Asciacea) inferred from mtDNA data. *Invertebrate Biology*, 127: 108-120.
- PIRY S, LUKART G, CORNUET JM. 1999. Bottleneck: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *Journal of Heredity*, 90,502-503.
- POSADA D, CRANDALL KA, TEMPLETON AR. 2000. Geodis: a program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes. *Molecular Ecology* 9: 487-488.
- RAVENTOS N, MACPHERSON E. 2001. Planktonic larval duration and settlement marks on the otoliths of Mediterranean littoral fishes. *Marine Biology* 138: 1115-1120.
- ROQUES S, GALARZAJA, MACPHERSON E, TURNER GF, CARRERAS-CARBONELLJ, RICO C. 2007. Isolation and characterization of nine polymorphic microsatellite markers in the two-banded bream (*Diplodus vulgaris*) and cross-species amplification in the white bream (*Diplodus sargus*) and the saddled bream (*Oblada melanura*). *Molecular Ecology Notes* 7: 661-663.
- ROZAS J, ROZAS R. 1997. DnaSP version 2.0: a novel software package for extensive molecular population genetics analysis. *CABIOS* 13: 85-95.
- RUGGIERO MW, TURK R, PROCACCINI G. 2002. Genetic identity and homozygosity in North-Adriatic populations of *Posidonia oceanica*: an ancient, post-glacial clone? *Conservation Genetics* 3, 71-74.
- SCHNEIDER S, KUEFFER JM, ROESSLI D, EXCOFFIER L. 1997. Arlequin: a software for population genetic data analysis. I. I. Genetics and Biometry Lab, Dept. of Anthropology, University of Geneva, Geneva.
- TEMPLETON AR. 1998. Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and population history. *Molecular Ecology* 7: 381-397.
- WEIR BS, COCKERHAM A. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38,1358-1370.
- WRIGHT S. 1969. *Evolution and the Genetics of Populations, Vol. 2: The Theory of Gene Frequencies*. University of Chicago Press, Chicago.