



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Estudiando las invasiones biológicas: un trabajo experimental con *Carpobrotus edulis*

Estudando as invasións biolóxicas: un traballo experimental con
Carpobrotus edulis

Understanding biological invasions: an experimental
study with *Carpobrotus edulis*



GRADO EN
BIOLOGÍA

TRABAJO FIN DE GRADO

SANDRA ABALDE GRAÑA

CURSO 2013/2014

Tutor: Sergio Rodríguez Roiloa

DR. SERGIO RODRÍGUEZ ROILoa, PROFESOR AYUDANTE DOCTOR DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA ANIMAL, BIOLOGÍA VEGETAL Y ECOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE A CORUÑA

INFORMA:

Que la presente memoria de Trabajo de Fin de Grado (TFG) titulada “Estudiando las invasiones biológicas: Un trabajo experimental con *Carpobrotus edulis*.” presentada por **Dña. SANDRA ABALDE GRAÑA** ha sido realizada bajo mi dirección, y considerando que cumple con las condiciones exigidas autorizo su presentación ante el Tribunal correspondiente.

Y para que así conste, firmo la presente en A Coruña, a 21 de julio de 2014.

Fdo. Sergio Rodríguez Roiloa



Agradecimientos

Deseo expresar mi sincero agradecimiento a mi tutor, Sergio R. Roiloa, sin el cual no sería posible la realización de este trabajo. Muchas gracias por tu ayuda, paciencia, dedicación, comprensión y sobre todo por haberme ayudado a aprender y compartir tus conocimientos conmigo.

De la misma forma, agradezco a todo el personal del Laboratorio de Ecología haberme ofrecido una mano en todo momento y haber hecho las horas de laboratorio más entretenidas.

Aprovecho para dar las gracias a todas esas personas que son un apoyo constante: a mis amigos y compañeros de facultad con los que he compartido estos cuatro años, y sin los cuales nada hubiese sido lo mismo; a esos amigos que a pesar de no ver todos los días me han animado en todo momento y, especialmente a mi familia, por confiar en mí, haberme brindado esta oportunidad y darme fuerzas siempre que fue necesario.

ÍNDICE

Resumen	2
1. LAS INVASIONES BIOLÓGICAS	4
1.1 Definiciones	4
1.2 Proceso invasor	5
1.3 Impactos	6
1.4 Invasiones biológicas en Galicia	7
2. CASO DE ESTUDIO: <i>Carpobrotus edulis</i>	8
2.1 Biología y carácter invasor	8
2.2 Trabajo experimental 1: “Importancia del crecimiento clonal en la capacidad invasora de <i>C. edulis</i>”	9
Introducción	9
Material y Métodos	10
<i>Material vegetal</i>	10
<i>Diseño experimental</i>	10
<i>Medidas</i>	10
<i>Tratamiento estadístico</i>	11
Resultados	12
Discusión	14
2.3 Trabajo experimental 2: “Potencial alelopático de <i>C. edulis</i> y su implicación en el proceso invasor”	16
Introducción	16
Material y Métodos	17
<i>Material vegetal</i>	17
<i>Diseño experimental</i>	17
<i>Medidas</i>	18
<i>Tratamiento estadístico</i>	19
Resultados	19
Discusión	21
3. BIBLIOGRAFÍA	23

RESUMEN

Las invasiones biológicas representan una de las amenazas más importantes para la conservación de la biodiversidad; sin embargo, los mecanismos que subyacen al éxito de los invasores continúan sin resolverse. Muchas de las plantas invasoras más agresivas muestran características como el crecimiento clonal o alelopatías que podrían contribuir a su capacidad invasora. El objetivo de este trabajo ha sido determinar el papel de dos características potencialmente importantes para el crecimiento y la habilidad competitiva de la especie invasora *Carpobrotus edulis*. En concreto, se determinó (i) la importancia del estolón como órgano de reserva en la supervivencia y crecimiento de *C. edulis* tras un proceso de perturbación que fragmenta el clon. Por otra parte, el trabajo ahonda en (ii) el potencial alelopático de *C. edulis* y su impacto sobre la germinación y crecimiento de otras especies con las que pudiera competir.

Los resultados muestran que el estolón actúa como un reservorio de recursos, y que permite a aquellos fragmentos de mayor tamaño invertir una mayor proporción de biomasa en el desarrollo de parte aérea, y por lo tanto facilitando su expansión horizontal y capacidad invasora. Por otra parte, los resultados mostraron un efecto fitotóxico de las hojas de *C. edulis* sugiriendo que este podría ser un mecanismo facilitador en el desplazamiento de las especies con las que compete. Sin embargo, la ausencia de diferencias en potencial fitotóxico entre *C. edulis* (invasor agresivo) y su congénere *Carpobrotus acinaciformis* (exótico considerado menos agresivo) parecen indicar que la capacidad alelopática no sería en este caso un atributo clave en el proceso de invasión.

El estudio de aquellas características que pudieran estar contribuyendo al éxito de las especies invasoras resulta una pieza clave a la hora de entender el proceso invasor, y por lo tanto necesario para establecer programas de prevención y recuperación de áreas invadidas.

RESUMO

As invasións biolóxicas representan unha das ameazas máis importantes para a conservación da biodiversidade; non obstante, os mecanismos subxacentes ao éxito dos invasores continúan sen resolverse. Moitas das plantas invasoras máis agresivas mostran características como o crecemento clonal ou alelopatías que poderían contribuír á súa capacidade invasora. O obxectivo deste traballo foi determinar o papel de dúas características potencialmente importantes para o crecemento e a habilidade competitiva da especie invasora *Carpobrotus edulis*. En concreto, determinouse (i) a importancia do estolón como órgano de reserva na supervivencia e crecemento de *C. edulis* tras un proceso de perturbación que fragmenta o clon. Por outra parte, o traballo afonda (ii) no potencial alelopático de *C. edulis* e o seu impacto sobre a xerminación e crecemento doutras especies coas que puidese competir.

Os resultados amosan que o estolón actúa como un reservorio de recursos, e que permite a aqueles fragmentos de maior tamaño investir unha maior proporción de biomasa no desenvolvemento da parte aérea, e polo tanto facilitan a súa expansión horizontal e capacidade invasora. Por outra banda, os resultados amosaron un efecto fitotóxico das follas de *C. edulis* suxerindo que este podería ser un mecanismo facilitador para o desprazamento das especies coas que compite. Non obstante, a ausencia de diferenzas no potencial fitotóxico entre *C. edulis* (invasor agresivo) e o seu conxénere *C. acinaciformis* (exótico, considerado menos agresivo) parecen indicar que a capacidade alelopática non sería neste caso un atributo clave no proceso de invasión.

O estudo daquelas características que puidesen estar a contribuír ao éxito das especies invasoras resulta unha peza clave á hora de entender o proceso invasor, e polo tanto necesario para establecer programas de prevención e recuperación de áreas invadidas.

1. LAS INVASIONES BIOLÓGICAS

Las invasiones biológicas representan una de las mayores amenazas para la conservación de las especies (CBD, 2006) siendo consideradas como la segunda causa de pérdida de biodiversidad y provocando un gran impacto en la composición, estructura y funcionamiento de los ecosistemas naturales de todo el mundo (Simberloff *et al.*, 2005).

Ya desde la antigüedad los desplazamientos del ser humano han llevado consigo también los de plantas y animales. Las mejoras en las comunicaciones y su accesibilidad han sido las claves para que, durante los últimos siglos, la dispersión de especies por el ser humano haya aumentado de forma exponencial. Así, por ejemplo, una especie que por medios propios necesitaría 5000 años para alcanzar una nueva región biogeográfica, hoy solo tardaría un día (Vilà *et al.*, 2008). La introducción de especies exóticas invasoras puede alterar el equilibrio de los ecosistemas locales e incluso llevar a su destrucción, provocando la extinción de las especies nativas. Además, la problemática de estas invasiones podría verse incrementada con el cambio climático (Dukes y Mooney, 1999).

1.1 Definiciones

Para poder abordar de manera acertada el problema de las especies invasoras, es importante definir los siguientes conceptos claves:

- Una **especie exótica** (no nativa, introducida, foránea) es aquella especie, subespecie o taxón inferior introducido fuera de su distribución natural. Incluye cualquier parte, gameto o propágulo de dicha especie que pueda sobrevivir y reproducirse. Su presencia en una determinada región es atribuible, directa o indirectamente, a la acción humana, la cual le permitió superar barreras geográficas que estarían por encima de su rango de dispersión natural.

- Las especies **subespontáneas o adventicias** son aquellas que llegan a los espacios naturales, se establecen y dan lugar a poblaciones pequeñas y poco viables cuya persistencia depende de la proximidad a zonas antropizadas o de la entrada continuada de nuevos individuos, por lo tanto, no tienen capacidad de perdurar en los nuevos territorios ocupados y desaparecen al cabo de poco tiempo.

- Las **especies naturalizadas** son las que son capaces de formar poblaciones estables (vivir y reproducirse) en espacios naturales o seminaturales y que se mantienen sin necesidad de nuevas introducciones, tal como lo hacen las plantas nativas.

- Las **especies invasoras** son especies naturalizadas que se expanden rápidamente lejos del foco de introducción, su crecimiento poblacional se descontrola y colonizan el

nuevo territorio desplazando a las poblaciones locales, normalmente por la ausencia o reducción de enemigos naturales, alterando la estructura y funcionamiento del ecosistema receptor y causando daños ecológicos y socioeconómicos. Una especie vegetal se considera invasora si en menos de 50 años se ha establecido a 100 metros del foco de entrada (si su reproducción es mediante semillas) o a más de 6 metros en 3 años (si su reproducción es vegetativa a través de rizomas o estolones) (Vilà *et al.*, 2008). Las características que favorecen la capacidad de una planta de convertirse en invasora están directamente relacionadas con su habilidad de reproducirse sexual y asexualmente, de crecer rápidamente desde su germinación hasta la etapa reproductora y, particularmente de su plasticidad fenotípica que le permitirá adaptarse a las condiciones ambientales del nuevo espacio (Lorenzo, 2010).

1.2 Proceso invasor

En cada proceso de invasión pueden reconocerse tres fases: introducción, establecimiento y expansión. En la primera, la especie es transportada, de forma intencionada o no, a una zona en la que no es nativa. En la segunda, también conocida como aclimatación, la especie se naturaliza aunque no experimenta ninguna expansión. La tercera fase representa la propagación y colonización de nuevas zonas por parte de la planta invasora.

A pesar de que hay cientos de miles de especies vegetales, relativamente pocas tienen la capacidad de invadir nuevos territorios. La razón de esta especificidad geográfica la podemos entender en función de los diferentes filtros evolutivos (Lambers *et al.*, 2008). Las plantas exóticas deberían superar estos filtros para llegar a ser invasoras (Lorenzo *et al.*, 2010). Las especies vegetales están presentes en un área determinada por razones históricas, **filtro histórico**. Algunas especies están ausentes en un espacio porque no tienen los rasgos fisiológicos apropiados para sobrevivir, **filtro fisiológico**. Por último, las interacciones que se puedan producir entre las especies exóticas y autóctonas en el nuevo ambiente determinarán la composición vegetal del área invadida, **filtro biótico**.

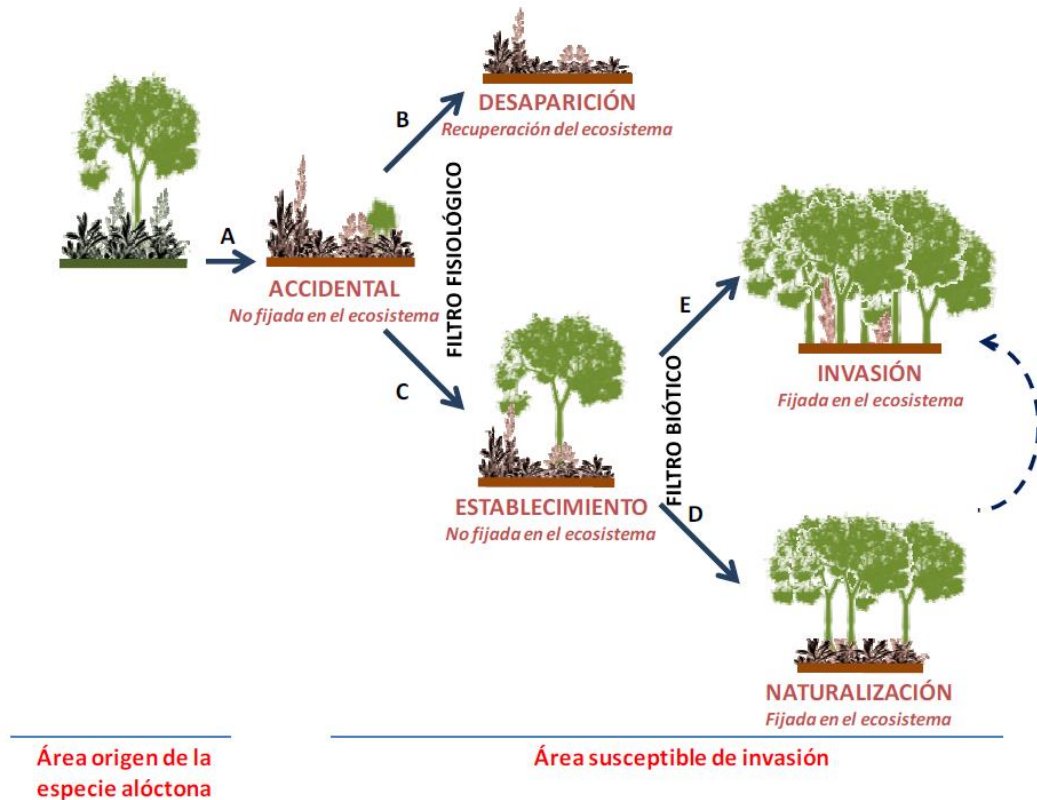


Figura 1. Esquema del proceso de invasión incluyendo los filtros evolutivos que actúan como barreras. A: introducción de propágulos, B: desaparición, C: factores que influyen en el establecimiento, D: factores que influyen en la naturalización, E: factores que influyen en la invasión. (Modificado de Lorenzo, 2010).

1.3 Impactos

Las plantas invasoras representan tanto un problema ambiental como económico. Así, tienen un impacto sobre los ecosistemas, ya que pueden afectar a las condiciones ambientales (insolación, alteración del régimen de fuegos, cantidad y riqueza de humus en el suelo...) provocando la destrucción o alteración profunda de los ecosistemas; a la cadena trófica (pueden ejercer una presión negativa o impedir el acceso a los recursos de las poblaciones de especies nativas) y/o a los ciclos de nutrientes. Las especies invasoras conducen a una pérdida de biodiversidad y de resiliencia en los ecosistemas, tanto a nivel regional como global, siendo las especies más afectadas por las invasiones aquellas sensibles a pequeños cambios ambientales, coincidiendo muchas veces con especies endémicas. Son, por lo tanto, una de las causas más importantes de amenaza para las especies autóctonas y en consecuencia para la conservación de la biodiversidad.

Por otra parte, también tienen un efecto claro sobre los medios antrópicos, los daños derivados de las invasiones son innumerables y el coste económico de estos es creciente, y dependen tanto de la localización de la zona afectada como de la especie

invasora (aparición de malas hierbas en campos de cultivo o especies tóxicas para el ganado, especies que causan daños estructurales...). Otros impactos sobre los humanos se deben a que algunas especies tienen efectos alergógenos o producen sustancias tóxicas.

1.4 Invasiones biológicas en Galicia

Se considera que un buen número de especies en Galicia tienen por amenaza principal a su viabilidad la presencia de especies invasoras (Bañares *et al.*, 2004). A pesar de esto, el problema derivado de las especies invasoras en Galicia no ha sido hasta el momento estudiado en detalle y, por lo tanto, su verdadero alcance, las especies y superficies naturales afectadas y el coste económico derivado son aún poco conocidos (Fagúndez y Barrada, 2007).

El área geográfica con mayor presencia de invasoras es la zona costera de Pontevedra y sur de A Coruña, las Rías Baixas y la zona de Ferrol y A Coruña ciudad; siendo más afectadas las que presentan una mayor presión antrópica. La relevancia de la presencia de especies invasoras en la Red Natura 2000 es evidente, siendo las áreas protegidas de estas zonas las más afectadas (caso de los LIC del Baixo Miño, Costa da Vela o Cabo Udra, que presentan numerosas invasoras en sus sistemas costeros dunares, zonas arenosas e incluso en las zonas forestales) (Fagúndez y Barrada, 2007). En este sentido, los hábitats naturales más sensibles son los sistemas dunares y los márgenes de marisma, dónde se encuentran especies invasoras muy agresivas como *Stenotaphrum secundatum*, *Carpobrotus edulis* o *Spartina patens* (Fagúndez y Barrada, 2007).

2. CASO DE ESTUDIO: *Carpobrotus edulis*

2.1 Biología y carácter invasor

Carpobrotus edulis (L.) N.E. Br. (Aizoaceae) (comúnmente conocida como “Uña de gato” o “Herba do coitelo”), es una planta clonal, herbácea, suculenta, perenne y con tallos enraizantes y ramificados, nativa de Sudáfrica (Albert, 1995).

C. edulis invade los hábitats costeros en los ambientes mediterráneos del planeta como Australia, Nueva Zelanda, California, Chile o el sur de Europa, donde fue introducida por el hombre alrededor del S. XIX, principalmente en las dunas costeras debido a su capacidad de estabilizar el terreno (Moragues, 2005).

Su crecimiento clonal le permite formar un tapiz continuo que recubre el sustrato, modificando las condiciones de luz y nutrientes. Es considerada por el GEIB (Grupo Especialista en Invasiones Biológicas) como una de las 20 especies invasoras más agresivas (Novoa, 2012). *C. edulis* puede tener fuertes efectos negativos en la germinación, supervivencia, crecimiento y reproducción de otras especies (Novoa, 2012).

En Galicia está distribuida a lo largo de toda la zona costera. Aparece en comunidades psamófilas costeras y también en comunidades casmofíticas de acantilado, afectando, por lo tanto, a un buen número de especies vegetales raras o amenazadas presentes en dichos hábitats (Fagúndez y Barrada, 2007).

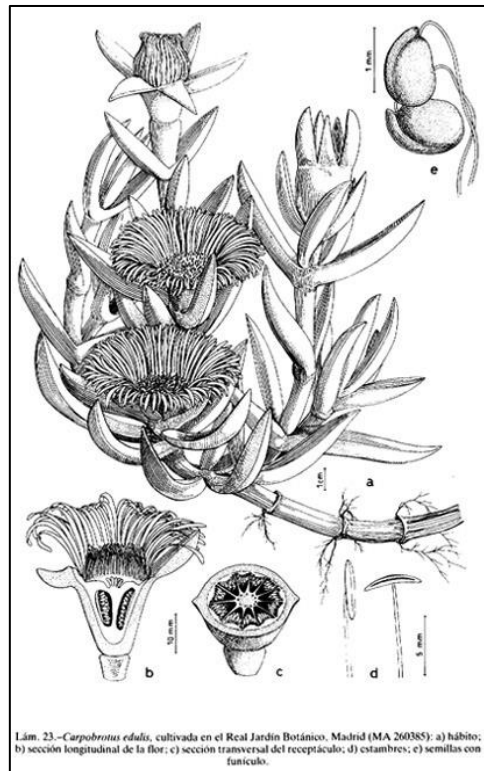


Figura 2. Reproducción de lámina de *Carpobrotus edulis*. Real Jardín Botánico de Madrid.

2.2 “Importancia del crecimiento clonal en la capacidad invasora de *C. edulis*”**INTRODUCCIÓN**

Las perturbaciones (tales como el pastoreo animal, el pisoteo, el fuego, las inundaciones o los desprendimientos) son, tanto a escala espacial como temporal, un componente importante de los ecosistemas. Su origen reside en la acción antropogénica o en los propios fenómenos naturales y sus consecuencias pueden ser modificaciones en los hábitats o en las estructuras de las plantas, como es el caso del fraccionamiento de los estolones en las plantas clonales.

La capacidad de los fragmentos formados para sobrevivir y regenerarse puede ser importante para el éxito en el establecimiento y mantenimiento de poblaciones de especies vegetales en hábitats perturbados, ya que puede modificar su capacidad de supervivencia y crecimiento (Dong *et al.*, 2011).

Muchas plantas invasoras presentan reproducción vegetativa, y recientemente, se ha sugerido que la clonalidad podría ser un atributo determinante para explicar su potencial invasor (Song *et al.*, 2013). Sin embargo, la mayoría de estos trabajos se han basado en los beneficios derivados de la capacidad que las especies clonales tienen para intercambiar recursos a través de sus conexiones (estolones o rizomas) (Roiloa *et al.*, 2010, 2013, 2014). Por otra parte, la capacidad de utilización de las reservas almacenadas en los estolones o rizomas ha sido escasamente explorada, a pesar de su potencial importancia para la supervivencia y crecimiento de los fragmentos tras un proceso de perturbación (Dong *et al.*, 2010).

Estudios previos han mostrado que existe una correlación positiva entre la longitud de los estolones y la cantidad de reservas almacenadas en ellos (Dong *et al.*, 2010). En este estudio, realizamos un experimento de campo en el que utilizamos fragmentos de la clonal *Carpobrotus edulis* de distintas longitudes de estolón con el objetivo de contestar a las siguientes preguntas:

- (i) ¿Existe un efecto de la longitud del estolón sobre la capacidad de supervivencia y crecimiento? Se espera una mayor supervivencia y crecimiento en las plantas con un estolón de mayor tamaño, al contener una mayor cantidad de recursos.
- (ii) ¿Existe un cambio en el patrón de distribución de recursos en función de la longitud del estolón? Dado que los fragmentos de menor longitud podrían almacenar una menor cantidad de recursos, esperamos una mayor inversión

proporcional en biomasa radicular por parte de los fragmentos cortos respecto a los de estolones de un mayor tamaño.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Para el experimento se recogieron un total de 30 fragmentos de la estolonífera *Carpobrotus edulis* en Cabo Estai (Pontevedra, España; 42°11.2'N, 8°48.9'O) el 21 de marzo de 2014. Con el objetivo de incrementar la variabilidad genética del material vegetal utilizado en el experimento, los fragmentos fueron recogidos en 5 manchas diferentes, separadas al menos 50 m entre ellas, asumiendo que cada mancha podría representar un genotipo distinto.

Diseño experimental

El diseño experimental consistió en un único factor, longitud del estolón, con dos niveles: corto (Media \pm Error: 2.52 \pm 0.12 cm) y largo (Media \pm Error: 9.59 \pm 0.30 cm) (ver Figura 1). Los estolones de diferentes longitudes fueron cortados de los fragmentos originales. No se observó ningún trauma inicial (como muerte repentina o enfermedad) derivado del corte del estolón. Cada estolón sostenía un único individuo de tamaño similar. Un análisis preliminar descartó diferencias en el tamaño inicial (biomasa total en peso fresco) entre los tratamientos (ANOVA: $F_{1,28} = 0.812$, p -valor = 0.375). Cada uno de los dos tratamientos se replicó 15 veces.

Los 30 fragmentos (15 de estolón largo y 15 de estolón corto) fueron trasplantados al complejo dunar de la playa de Barra (Pontevedra, España; 42°15'N, 8°51'O) donde se desarrolló el experimento. Los 30 rametos fueron plantados en 5 sub-parcelas del complejo dunar, en grupos de 6 individuos. Cada grupo de 6 rametos (con 3 representantes de cada uno de los dos tratamientos) fue distribuido en un área de 10 m² en cada una de estas cinco sub-parcelas (ver Figura 2 para más detalles). El experimento comenzó el 21 de marzo y tuvo una duración de 3 meses.

Medidas

Al final del experimento, el 23 de junio 2014, fueron recogidos individualmente cada uno de los rametos. Se realizó una medida de la biomasa total en peso fresco de cada uno de los individuos y posteriormente, para cada uno de los rametos, se pesó separadamente: la biomasa de la raíz, el estolón y el resto de biomasa aérea. La distribución proporcional de biomasa de raíz fue calculada como el ratio entre la biomasa

de raíz y la biomasa total (raíz + estolón + hojas), y la distribución proporcional de biomasa aérea como el ratio entre la suma del total de biomasa aérea (estolón y hojas) entre la biomasa total.

Tratamiento estadístico

Previamente, se verificó la normalidad de los datos mediante el test de Kolmogórov-Smirnov y la homogeneidad de varianzas mediante el test de Levene. Todos los datos cumplieron los requisitos para test paramétricos y por lo tanto no fue necesaria ninguna transformación.

Las diferencias en función del tamaño del estolón en biomasa de raíz, aérea y total, así como la biomasa proporcional de raíz y biomasa aérea se analizaron mediante análisis de varianza de una vía (ANOVA) con tamaño de estolón como factor principal. Diferencias en supervivencia se analizaron mediante el test Chi-cuadrado.

El nivel de significación aceptado fue $p\text{-valor} < 0.05$. Los datos fueron analizados con el programa estadístico IBM SPSS Statistic 19.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, EEUU).

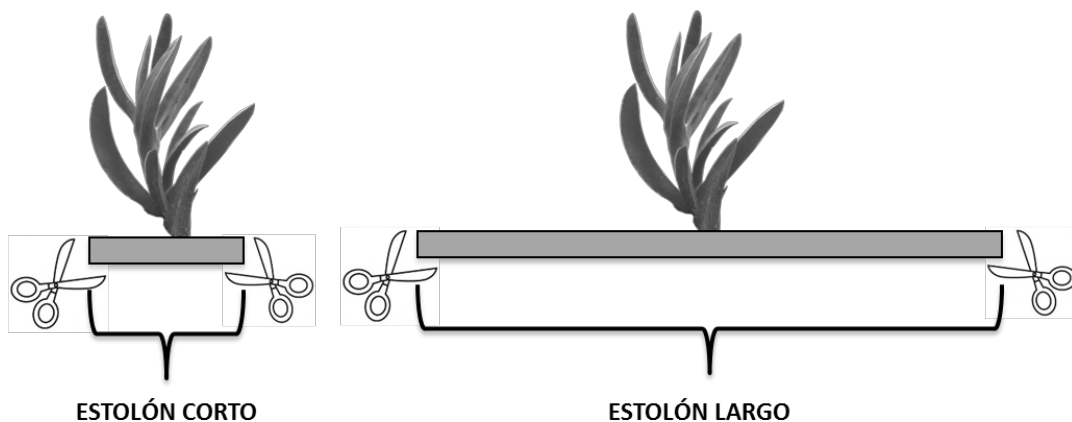


Figura 1. Representación esquemática de los tratamientos experimentales: estolón corto (Media \pm Error: 2.52 ± 0.12 cm) y estolón largo (Media \pm Error: 9.59 ± 0.30 cm). Cada tratamiento fue replicado 15 veces.

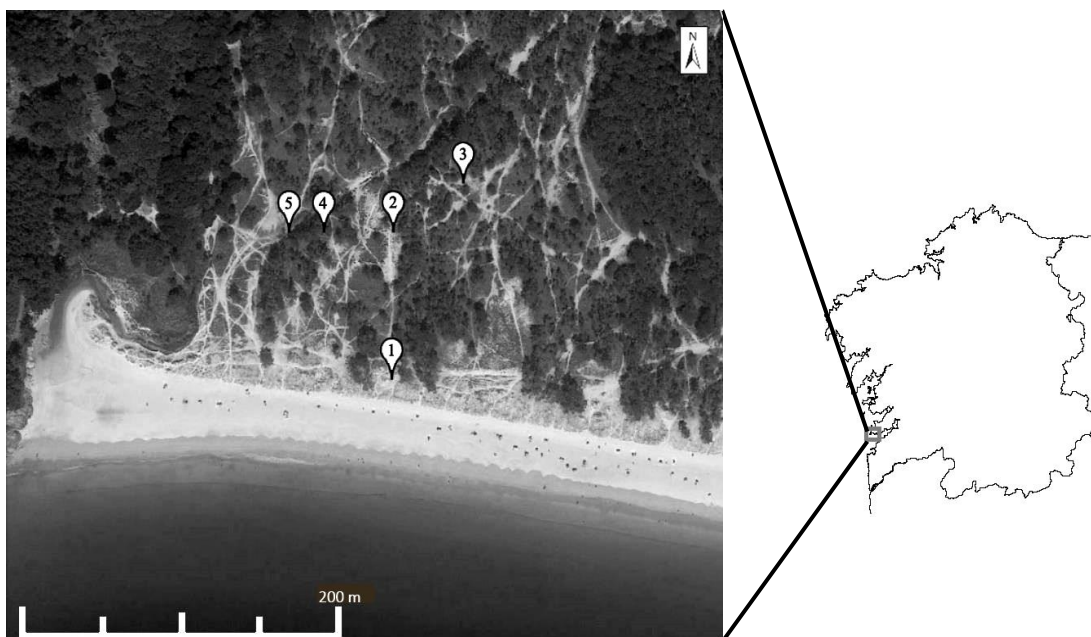


Figura 2. Situación de la zona experimental y de las 5 sub-parcelas donde fueron trasplantados los individuos de *C. edulis* (numeradas del 1 al 5).

RESULTADOS

Al finalizar el experimento, tres individuos (uno en el tratamiento de estolón corto y dos en el de estolón largo) fueron computados como muertas. Sin embargo, no se detectaron diferencias significativas en la supervivencia entre ambos tratamientos ($\chi^2_{1, 0.05} = 0.37$, *p*-valor = 0.543).

La longitud del estolón no afectó significativamente a la biomasa de la raíz, a la biomasa aérea o a la biomasa total de *C. edulis* (Tabla 1, Figura 3). Aunque las diferencias no fueron significativas, el crecimiento, en términos de biomasa total, fue mayor en el tratamiento de estolón largo.

Encontramos diferencias significativas del efecto de la longitud del estolón en las proporciones de biomasa de raíz y biomasa aérea (Tabla 2, Figura 4). Así, los individuos con estolones cortos incrementaron significativamente la biomasa proporcional destinada a raíces, mientras que los individuos de estolones largos incrementaron significativamente la biomasa proporcional invertida en parte aérea.

Efecto	Biomasa raíz			Biomasa aérea			Biomasa total		
	g.l.	<i>F</i>	<i>P</i>	g.l.	<i>F</i>	<i>P</i>	g.l.	<i>F</i>	<i>P</i>
Longitud estolón	1	0.501	0.485	1	0.028	0.869	1	0.257	0.617
Error	25			25			25		

Tabla 1. ANOVA para biomasa de raíz, biomasa aérea y biomasa total con longitud de estolón como factor principal. Las diferencias significativas (*p*-valor < 0.05) se destacan en negrita. Datos en Fig. 3.

Efecto	Proporción biomasa raíz			Proporción biomasa aérea		
	g.l.	F	P	g.l.	F	P
Longitud estolón	1	6.361	0.018	1	6.361	0.018
Error	25			25		

Tabla 2. ANOVA para proporción de biomasa de raíz y proporción de biomasa aérea con longitud de estolón como factor principal. Las diferencias significativas (p -valor < 0.05) se destacan en negrita. Datos en Fig. 4.

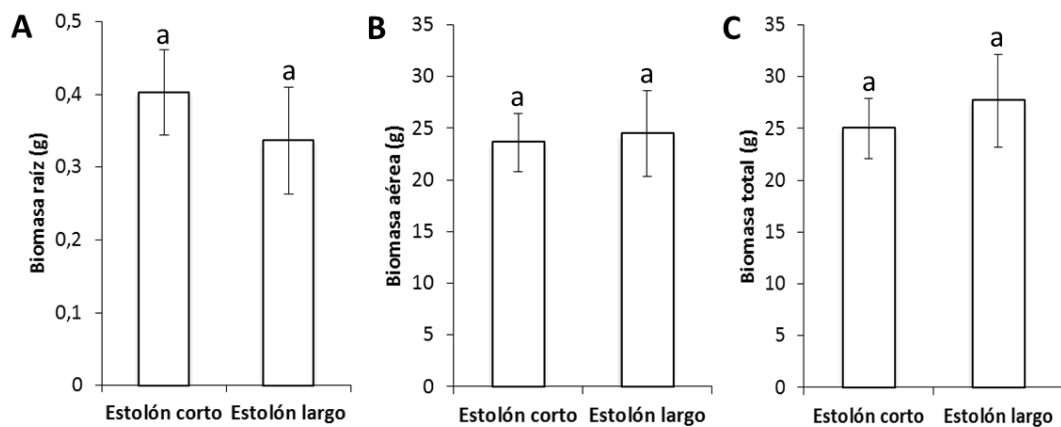


Figura 3. Media \pm Error de biomasa de raíz (A), biomasa aérea (B) y biomasa total (C) para los tratamientos de estolón corto y estolón largo. Las letras distintas sobre las barras indican diferencias significativas (p -valor < 0.05, ver Tabla 1 para ANOVAs).

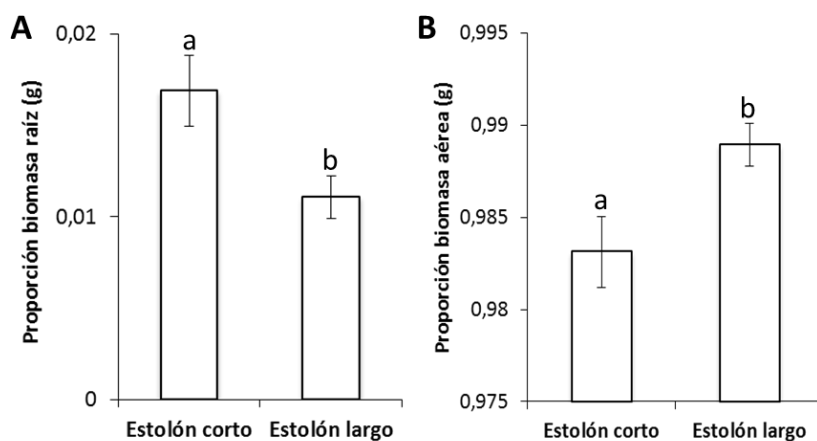


Figura 4. Media \pm Error de la proporción de biomasa de raíz (A) y proporción de biomasa aérea (B) para los tratamientos de estolón corto y estolón largo. Las letras distintas sobre las barras indican diferencias significativas (p -valor < 0.05, ver Tabla 2 para ANOVAs).

DISCUSIÓN

En contra de lo que preveíamos en nuestra primera hipótesis, de que una mayor longitud de estolón incrementaría la supervivencia y el crecimiento de los rametos tras un proceso de perturbación, nuestros resultados mostraron que no existían diferencias significativas para ninguna de estas variables en función de la longitud del estolón. Estudios previos han encontrado un efecto positivo de la longitud del estolón en la supervivencia y crecimiento en la especie invasora *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. (Amaranthaceae) (Dong *et al.*, 2011). En este sentido, los estolones representan un importante órgano de almacenamiento de recursos, por lo tanto, podrían estar jugando un papel importante en el restablecimiento de especies clonales tras un proceso de fragmentación. De manera similar, en nuestro estudio, encontramos un mayor incremento en la biomasa total en los individuos de estolón largo respecto a los de estolón corto, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Los resultados apoyan nuestra segunda hipótesis. Así, hemos encontrado diferencias significativas en la proporción de biomasa destinada a parte aérea y subterránea en función de la longitud del estolón. Como preveíamos, aquellos individuos con un tamaño de estolón menor incrementaron significativamente la cantidad de biomasa destinada a raíces. Este resultado concuerda con la teoría de partición óptima, que sugiere que las plantas destinarán proporcionalmente más biomasa a aquellas estructuras encargadas de la adquisición del recurso más limitante (Hilbert, 1990). La cantidad de recursos aportados por un estolón corto es escasa (Dong *et al.*, 2010) por lo que estos individuos necesitarán invertir más biomasa en la producción de raíces y obtener los recursos del suelo.

Paralelamente, nuestros resultados mostraron que aquellos individuos de estolón largo incrementaban significativamente la biomasa destinada a parte aérea. Debido a la mayor cantidad de recursos almacenados en el estolón largo estos individuos necesitarán invertir menos biomasa en raíces para obtener los recursos del suelo y podrán destinar una mayor cantidad de biomasa a la parte aérea. Esta respuesta, podría fomentar su expansión horizontal sobre la superficie dunar, y por lo tanto incrementar su potencial invasor. De manera similar, estudios previos han mostrado que los cambios en los patrones de distribución de biomasa favorecen la capacidad invasora de *C. edulis* (Roiloa *et al.*, 2013, 2014). Sin embargo, nuestro estudio es el primero que muestra que los cambios en la asignación de biomasa en esta especie pueden asociarse a la cantidad de recursos almacenada en su estolón.

En conclusión, nuestros resultados muestran que la longitud del estolón tras un proceso de perturbación, como lo es la fragmentación, provoca un cambio en el patrón de distribución y asignación de la biomasa. A pesar de que la biomasa total no se vio afectada significativamente por el proceso de fragmentación, el hecho de que los individuos de estolón largo invirtieran una mayor biomasa en crecimiento de la parte aérea indica una mayor capacidad de expansión horizontal y, por lo tanto, de colonización de la duna de este invasor agresivo. La plasticidad morfológica en respuesta a la disponibilidad de recursos en base a la longitud del estolón podría representar un mecanismo efectivo favoreciendo la capacidad invasora de *C. edulis*.

2.3 “Potencial alelopático de *C. edulis* y su implicación en el proceso invasor”**INTRODUCCIÓN**

El filtro biótico, es decir, las interacciones que se puedan producir entre las especies exóticas y autóctonas en el nuevo ambiente, serán las que determinen la composición vegetal de un área invadida. Uno de los componentes de este filtro biótico son las relaciones alelopáticas que se pueden producir entre las especies vegetales en el espacio naturalizado (Lorenzo, 2010). En este contexto y basándonos en la definición dada por la *International Allelopathy Society* (Torres *et al.*, 1996), entendemos por alelopatía “cualquier proceso que implica metabolitos secundarios producidos por especies exóticas que influyen en el crecimiento y desarrollo de especies nativas (excluyendo a los animales), comprendiendo efectos positivos y negativos”. Desde la perspectiva de la competencia entre especies el proceso alelopático constituye un proceso pasivo de interacción.

Los aleloquímicos de la especie exótica tienen múltiples funciones en el área de distribución original: alelopática, defensa frente a herbívoros, agentes transportadores de metales o agentes de simbiosis entre microorganismos del suelo y la planta. En el nuevo área la función alelopática de la potencial invasora se vería incrementada al escapar de sus enemigos naturales y perder, los aleloquímicos, parte de sus funciones originales (Sinkkonen, 2006). Así, Rabotnov (1974) emitió una hipótesis en la que indica que, probablemente, la alelopatía es menos significativa en comunidades vegetales que hayan coevolucionado que en el caso de especies nativas y alóctonas que evolucionaron en áreas biogeográficas diferentes (Lorenzo, 2010).

El objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad fitotóxica del invasor *Carpobrotus edulis* sobre la germinación y crecimiento de *Lactuca sativa* L. (Compositae). Esta actividad fitotóxica podría favorecer la capacidad invasora de *C. edulis* y reportarle una ventaja competitiva en la colonización de nuevos hábitats. Además, para evaluar la importancia que podría representar la alelopatía en el proceso invasor de *C. edulis*, comparamos su capacidad fitotóxica con la de su congénere *Carpobrotus acinaciformis*, que es considerado un invasor menos agresivo (Suehs *et al.*, 2004). En concreto, nuestro trabajo plantea las siguientes preguntas específicas:

- (i) ¿Existe un efecto alelopático de *C. edulis* sobre *L. sativa*? Esperamos que, al igual que otras especies invasoras, *C. edulis* tenga un efecto fitotóxico y reduzca la germinación y crecimiento de *L. sativa*.

(ii) ¿Existen diferencias entre la capacidad fitotóxica de *C. edulis* y *C. acinaciformis*? Dado que *C. edulis* es reconocida como una especie invasora más agresiva que *C. acinaciformis*, esperamos que su impacto en la germinación y crecimiento de *L. sativa* sea más negativo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Ejemplares de *C. edulis* fueron recogidos en Cabo Estai (Pontevedra, España; 42°11.2'N, 8°48.9'O) y los de *C. acinaciformis* en Vigo (Pontevedra, España; 42°13.2'N, 8°46.2'O) el 3 de junio de 2014. En ambos casos, y con el objeto de recoger una mayor variabilidad genética, se recogieron ejemplares de 5 manchas separadas al menos 50 m. Se asume que cada mancha podría representar un genotipo distinto, aunque no fue confirmado.

L. sativa fue escogida como especie objetivo por su amplio uso en estudios de fitotoxicidad, permitiendo así la comparación de resultados entre los diferentes estudios (Lorenzo *et al.* 2010). Las semillas de *L. sativa* fueron obtenidas de Semillas Fitó, S.A. Barcelona, España.

Diseño experimental

Para testar las hipótesis propuestas se llevaron a cabo dos experimentos en cámara de crecimiento. Para comprobar la capacidad fitotóxica de *C. edulis* (hipótesis 1) en un primer experimento se incubaron las semillas de *L. sativa*, con hojas de *C. edulis*, con *material en descomposición* de *C. edulis*, y sin presencia de *C. edulis* (control). Por otra parte, y con el objeto de testar diferencias entre la fitotoxicidad de un invasor agresivo y uno menos agresivo (hipótesis 2), se realizó un segundo experimento en el que se incubaron semillas de *L. sativa* con hojas de *C. edulis*, con hojas de *C. acinaciformis*, y sin presencia de *Carpobrotus* (control).

En ambos experimentos se utilizaron placas Petri donde se dispusieron (de abajo-arriba) para el tratamiento control tres capas de papel de filtro superpuestas, semillas de *L. sativa* y dos capas más de papel de filtro (Figura 1.A). Por otra parte, cada una de las placas de los tratamientos con *Carpobrotus* estaban compuestas (de abajo-arriba) por: una capa de papel de filtro, el material vegetal fitotóxico (*Carpobrotus*), dos capas de papel de filtro, semillas de *L. sativa* y dos capas más de papel de filtro (Figura 1.B). En ambos experimentos se añadieron 300 mg de material vegetal de *Carpobrotus*, que después de ser pesado en

una balanza de precisión, se troceó con un bisturí en fragmentos de aproximadamente 2 mm³ para ser homogéneamente distribuido sobre el papel de filtro en la placa Petri. En todos los casos la cantidad de semillas de *L. sativa* por placa fue de 50 unidades (regularmente distribuidas sobre el papel de filtro para minimizar la competencia) (ver Figura 2.A). En ambos experimentos los tratamientos fueron replicados 4 veces. Por lo tanto, cada ensayo, formado por 4 réplicas, contó con un total de 200 semillas.

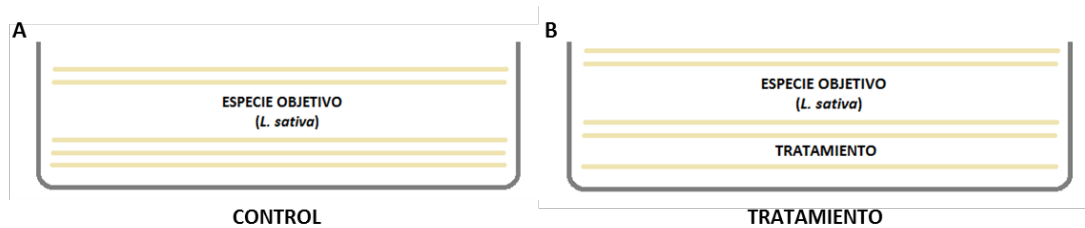


Figura 1. Esquema del diseño experimental mostrando, para las placas control y las placas con tratamiento, la colocación de las capas de papel de filtro, el tratamiento (sólo en B; 300 mg de material vegetal) y las 50 semillas de *L. sativa*.

Las incubaciones tuvieron lugar en una cámara de crecimiento con un fotoperiodo de 12 h y una temperatura de 27 °C. La duración total de la incubación para cada uno de los dos experimentos fue de un total de 6 días. Las placas se mantuvieron en condiciones de humedad durante todo el periodo de incubación. Los experimentos fueron desarrollados en el Laboratorio de Ecología de la Facultad de Ciencias de la UDC.

Medidas

En cada uno de los dos experimentos se registraron porcentajes de germinación y se realizaron medidas de crecimiento radicular en *L. sativa*. Así, al tercer día del comienzo de cada incubación se realizó el conteo de semillas germinadas y no germinadas (50 semillas x 4 réplicas = 200 semillas; 200 semillas x 3 tratamientos = 600 semillas en cada uno de los dos ensayos) (ver Figura 2.A). Por otra parte, se determinaron la longitud de la radícula en cada una de las semillas germinadas. Dicho dato fue tomado con una regla al sexto día del comienzo de cada una de las dos incubaciones (ver Figura 2.B).

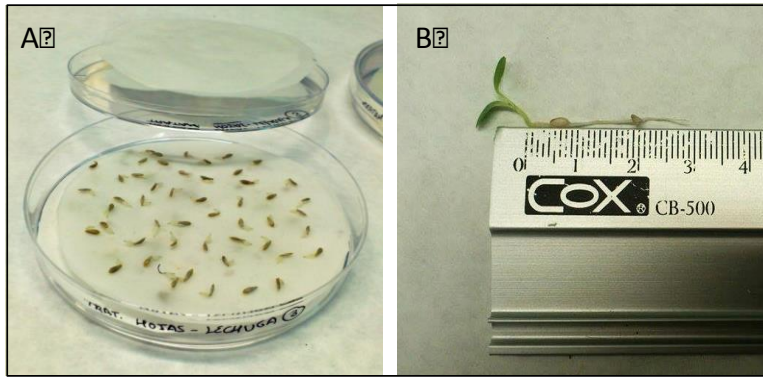


Figura 2. Estado de germinación de las semillas de *L. sativa* al tercer día para el tratamiento con hojas de *C. edulis* (A) y medida de la longitud de la radícula de *L. sativa* (B).

Tratamiento estadístico

Previamente al análisis estadístico, y como requisito para aplicar test paramétricos, se verificó la normalidad de los datos mediante el test de Kolmogórov-Smirnov y la homogeneidad de varianzas mediante el test de Levene.

En el primer ensayo (hojas vs. material en descomposición) los datos y sus sucesivas transformaciones no cumplieron los requisitos del test paramétrico y por lo tanto se aplicó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis (equivalente ANOVA de una vía). Posteriormente, al comprobar que existían diferencias significativas en función del tratamiento, se aplicó el test *a-posteriori* de Tukey (HSD) de comparaciones múltiples para detectar que niveles dentro del tratamiento se diferencian significativamente.

En el segundo ensayo (*C. acinaciformis* vs. *C. edulis*), todos los datos cumplieron los requisitos para test paramétricos y por lo tanto no fue necesaria ninguna transformación. En este ensayo, las diferencias en la longitud de la radícula en función del tratamiento se analizaron mediante análisis de varianza de una vía (ANOVA). Cuando el efecto del tratamiento fue significativo, se aplicó el test *a-posteriori* de Tukey (HSD) para localizar diferencias entre los diferentes niveles del factor.

En ambos experimentos el efecto de los tratamientos en la germinación se analizó mediante un test Chi-cuadrado.

El nivel de significación aceptado fue *p-valor* < 0.05. Para el tratamiento estadístico de los datos se empleó el programa estadístico IBM SPSS Statistic 19.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, EEUU).

RESULTADOS

En el primer ensayo no se detectaron diferencias significativas en la germinación entre los 3 tratamientos (control, hojas y material en descomposición) ($\chi^2_{0.05, 2} = 5.493$, *p-valor* = 0.064). Sin embargo, sí se detectaron diferencias significativas en la longitud de la

radícula de *L. sativa* en función del tratamiento utilizado (Tabla 1, Figura 3). En este sentido el test de Kruskal-Wallis mostró una reducción significativa en el crecimiento en aquellas plántulas expuestas a hojas de *C. edulis* (Test de Tukey: *p*-valor siempre menor de 0.001). La presencia de material en descomposición de *C. edulis* también redujo el crecimiento radicular con respecto al control, sin embargo estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Test de Tukey: *p*-valor = 0.069).

En el segundo ensayo no se detectaron diferencias significativas en la germinación entre los 3 tratamientos (control, *C. acinaciformis* y *C. edulis*) ($\chi^2_{0.05, 2} = 3.390$, *p*-valor = 0.180). Sin embargo el ANOVA detectó diferencias significativas en la longitud de la radícula de *L. sativa* en función del tratamiento aplicado (Tabla 2, Figura 4). La presencia de las dos especies de *Carpobrotus* (*C. acinaciformis* y *C. edulis*) redujeron significativamente el crecimiento de *L. sativa* (Figura 9) (Test de Tukey: *p*-valor siempre menor de 0.001). El impacto en el crecimiento de *L. sativa* fue significativamente similar en el caso de *C. edulis* y *C. acinaciformis* (Test de Tukey: *p*-valor = 0.261).

Variable de agrupación	g.l.	χ^2	<i>P</i>
Tratamiento	2	126.061	< 0.001

Tabla 1. Test de Kruskal-Wallis del primer ensayo (control, material en descomposición y hojas de *C. edulis*) para el efecto del tratamiento sobre la longitud de la radícula de *L. sativa*. Las diferencias significativas (*p*-valor < 0.05) se destacan en negrita. Datos en Fig. 3.

Efecto	g.l.	F	<i>P</i>
Tratamiento	2	28.747	< 0.001
Error	587		

Tabla 2. ANOVA del segundo ensayo (control, *C. edulis* y *C. acinaciformis*) para el efecto del tratamiento sobre la longitud de radícula de *L. sativa*. Las diferencias significativas (*p*-valor < 0.05) se destacan en negrita. Datos en Fig. 4.

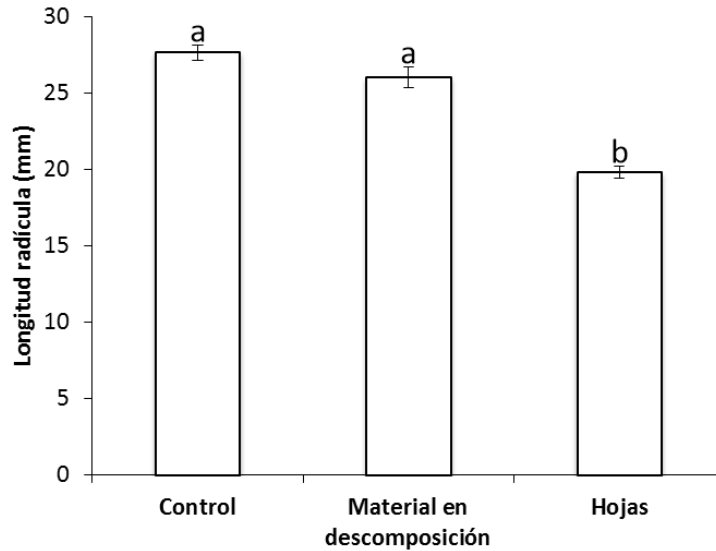


Figura 3. Media \pm Error de longitud de raíz para el primer ensayo (tratamientos: control, material en descomposición y hojas de *C. edulis*). Las letras distintas sobre las barras indican diferencias significativas (p -valor $<$ 0.001). Ver Kruskal-Wallis en Tabla 1.

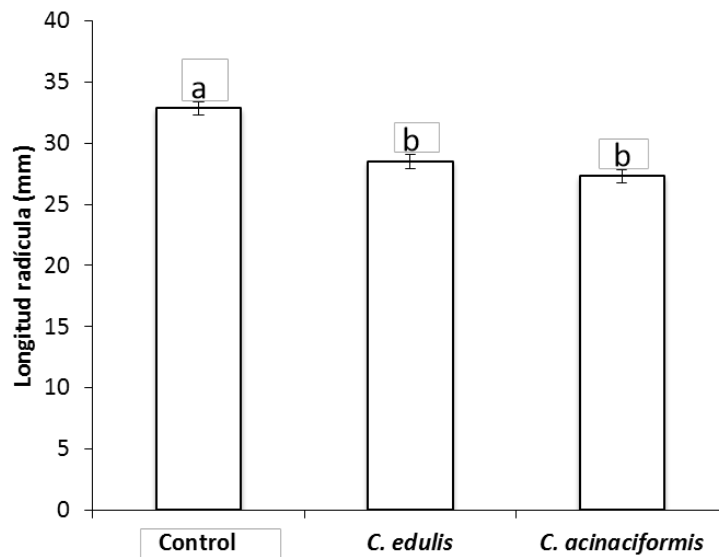


Figura 4. Media \pm Error de longitud de raíz para el segundo ensayo (tratamientos: control, *C. edulis* y *C. acinaciformis*). Las letras distintas sobre las barras indican diferencias significativas (p -valor $<$ 0.001). Ver ANOVA en Tabla 2.

DISCUSIÓN

Como preveíamos en nuestra primera hipótesis, y basándonos en los resultados del primer ensayo, se puede afirmar que existe un efecto alelopático de *Carpobrotus* sobre el desarrollo radicular de *L. sativa*. Por lo tanto, este resultado nos indica que *C. edulis*, al igual que otros invasores (Lorenzo, 2010) podría estar utilizando la aleopatía como un mecanismo para desplazar a otras especies del ecosistema, y por lo tanto favoreciendo su capacidad invasora. Por otra parte, nuestro estudio ha encontrado diferencias significativas

en el efecto fitotóxico entre diferentes partes de la planta. El material vivo, en este caso las hojas, sí muestran efecto fitotóxico, en cambio, el material en descomposición, aunque redujo el crecimiento radicular, no presentó diferencias significativas respecto al control. Los aleloquímicos son metabolitos secundarios presentes en las plantas que, probablemente, cuando partes de ellas mueran sean lavados al suelo. Así, un estudio anterior (Novoa, 2012) ha visto un efecto negativo de *C. edulis* sobre la germinación y crecimiento de *Malcolmia littorea* (L.) R. Br. (Cruciferae). Dicho estudio incluye ensayos con soluciones obtenidas del sustrato donde había estado presente *Carpobrotus* y apoya, por tanto, la idea de que los metabolitos secundarios, una vez la planta muere, son lavados al suelo. En este sentido, la probable presencia de aleloquímicos en el suelo, una vez han sido retiradas las plantas invasoras, debe tenerse especialmente en cuenta de cara a proyectos de restauración (Novoa, 2012).

En contra de lo que preveíamos en nuestra segunda hipótesis, no hemos encontrado diferencias significativas entre el efecto alelopático de *C. edulis* y *C. acinaciformis*. En nuestro trabajo se observa un efecto alelopático de *Carpobrotus* sobre *L. sativa*, pero no existen evidencias estadísticas de que exista un mayor impacto fitotóxico de *C. edulis* que de *C. acinaciformis*. Este resultado parece apuntar que la mayor capacidad invasora reportada para *C. edulis* en comparación con su congénere *C. acinaciformis* (Suehs *et al.*, 2004) no está provocada por su mayor actividad fitotóxica. En este sentido la mayor agresividad de *C. edulis* podría deberse a una mayor capacidad de integración fisiológica (esto, es una mayor capacidad de intercambio de recursos entre individuos del sistema clonal), aunque este aspecto no ha sido abordado todavía (Roiloa *et al.*, 2013).

En conclusión, este trabajo refleja que existe un efecto alelopático de *Carpobrotus* que es más evidente en el material vivo que en el muerto. El trabajo también muestra que el potencial fitotóxico no difiere entre *C. edulis* y *C. acinaciformis*, descartando que la mayor capacidad invasora de *C. edulis* sea motivada por su mayor capacidad fitotóxica con respecto a *C. acinaciformis*. Sin embargo debemos reconocer que esta interpretación debe ser tomada con cautela, en tanto en cuanto nuestros resultados deben ceñirse al efecto sobre *L. sativa*, y su extrapolación a otras especies nativas y afectadas por las invasiones de *Carpobrotus* debería ser testada en sucesivos estudios.

3. BIBLIOGRAFÍA

- Albert ME (1995). Morphological variation and habitat associations within the *Carpobrotus* species complex in coastal California. Trabajo Fin de Máster, Universidad de California en Berkeley, California.
- Bañares A, Blanca G, Güemes J, Moreno JC & Ortiz E, Eds. (2004). *Atlas y Libro Rojo de la Flora Vasculare Amenazada de España*. Consultado el 19 de Junio de 2014, en http://floresdeordesa.files.wordpress.com/2014/04/afa_2004.pdf
- Dong BC, Liu RH, Zhang Q, Li HL, Zhang MX, Lei GC, Yu FH (2011). Burial depth and stolon internode length independently affect survival of small clonal fragments. *PLoS ONE* 6(9).
- Dong BC, Yu GL, Guo W, Zhang MX, Dong M, Yu FH (2010). How internode length, position and presence of leaves affect survival and growth of *Alternanthera philoxeroides* after fragmentation?. *Evolutionary Ecology*, 24(6), 1447-1461.
- Dukes JS, Mooney HA (1999). Does global change increase the success of biological invaders?. *Trends in Ecology and Evolution*, 14(4), 135-139.
- Fagúndez J y Barrada M (2007). *Plantas Invasoras de Galicia: Biología, Distribución e Métodos de Control*. Santiago de Compostela: Xunta de Galicia, Dirección Xeral de Conservación da Natureza.
- Hilbert DW (1990). Optimization of plant root:shoot ratios and internal nitrogen concentrations. *Annals of Botany*, 66, 91-99.
- Lambers H, Chapin III FS, Pons TL (2008). *Plant Physiological Ecology*. New York: Springer.
- Lorenzo P (2010). Invasión de *Acacia dealbata* Link: new perspectives on allelopathic process. Tesis Doctoral, Universidad de Vigo, España.
- Lorenzo P, González L, Reigosa MJ (2010). The genus *Acacia* as invader: the characteristic case of *Acacia dealbata* Link in Europe. *Annals of Forest Science*, 67, 101.
- Moragues E (2005). Flora alóctona de las Islas Baleares. Ecología de dos especies invasoras: *Carpobrotus edulis* & *Carpobrotus* aff. *acinaciformis*. Tesis Doctoral, Universidad de las Islas Baleares, España.
- Novoa A (2012). *Carpobrotus edulis* (L.) N. E. Br.: una amenaza para la conservación de los ecosistemas dunares costeros. Tesis Doctoral, Universidad de Vigo, España.
- Roiloa SR, Rodríguez-Echeverría S, de la Peña E, Freitas H, (2010). Physiological integration increases the survival and growth of the clonal invader *Carpobrotus edulis*. *Biological Invasions*, 12, 1815-1823.

- Roiloa SR, Rodríguez-Echeverría S, Freitas H, Retuerto R (2013). Developmentally-programmed division of labour in the clonal invader *Carpobrotus edulis*. *Biological Invasions*, 15, 1895-1905.
- Roiloa SR, Rodríguez-Echeverría S, Freitas H (2014). Effect of physiological integration in self/non-self genotype recognition on the clonal invader *Carpobrotus edulis*. *Journal of Plant Ecology* (En Prensa, doi:10.1093/jpe/rtt045).
- Secretariat of the Convention on Biological Diversity (2006). *Global Biodiversity Outlook 2*. Consultado el 19 de Junio de 2014, en <http://www.cbd.int/doc/gbo/gbo2/cbd-gbo2-en.pdf>
- Simberloff D, Parker IM, Windle PN (2005). Introduced species policy, management, and future research needs. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 3(1), 12-20.
- Sinkkonen A (2006). Ecological relationships and allelopathy. En: Reigosa MJ, Pedrol N, González L (Eds). *Allelopathy: A Physiological Process with Ecological Implications* (373-393). Holanda: Kluwer Academic Publishers.
- Song YB, Yu FH, Keser LH, Dawson W, Fischer M, Dong M, van Kleunen M (2013). United we stand, divided we fall: a meta-analysis of experiments on clonal integration and its relationship to invasiveness. *Oecologia*, 171, 317-327.
- Suehs CM, Affre L, Médail F (2004). Invasion dynamics of two alien *Carpobrotus* (Aizoaceae) taxa on a Mediterranean island: I. Genetic diversity and introgression. *Heredity*, 92, 31-40.
- Torres A, Oliva RM, Castellano D, Cross P (1996). *First World Congress on Allelopathy: A Science of the Future: Book of Abstracts*. SAI (Universidad de Cádiz). Cádiz: España.
- Vilà M, Valladares F, Traveset A, Santamaría L, Castro P (2008). *Invasiones Biológicas*. Madrid: Cyan, Proyectos y Producciones Editoriales, SA.

