

Lagascalía 15 (Extra): 221-232 (1988).

DIANTHUS PYRENAICUS POURR. SUBSP.
PYRENAICUS Y D. MULTICEPS COSTA EX WILLK.
EN EL PREPIRINEO ORIENTAL.
UTILIZACION DE METODOS DE ANALISIS
MULTIVARIANTE EN LA IDENTIFICACION
DE HIBRIDOS

M. BERNAL CID

Departamento de Biología Vegetal, Unidad Botánica, Facultad de Biología,
Universidad de Barcelona.

Resumen. En el presente trabajo se expone el estudio de ciertas poblaciones prepirenaicas del género *Dianthus* L. que presentan características morfológicas intermedias entre los taxones *D. pyrenaicus* Pourr. subsp. *pyrenaicus* y *D. multiceps* Costa ex Willk. El autor trata de establecer el origen así como de caracterizar dichas poblaciones. Para llevar a cabo este propósito se han aplicado dos métodos distintos de taxonomía numérica, el análisis de componentes principales y el análisis discriminante confirmatorio. Como resultado de su aplicación se obtiene un grupo bien definido de individuos, con características morfológicas más próximas a *D. multiceps* que a *D. pyrenaicus* subsp. *pyrenaicus*. Dicho grupo corresponde al taxón subespecífico *Dianthus multiceps* Costa ex Willk. subsp. *praepyrenaicus* Bernal, recientemente descrito.

Summary. Some Pyrenean foothill population of *Dianthus* which show an intermediate morphology between *D. pyrenaicus* Pourr. subsp. *pyrenaicus* and *D. multiceps* Costa ex Willk. have been studied with regard to their characters and possible origin. A numerical taxonomic study by means of principal components analysis and discriminant analysis has revealed that these populations forms a well-defined group which is nearer to *D. multiceps* than to *D. pyrenaicus*. As a consequence, a new subspecies, *D. multiceps* subsp. *praepyrenaicus* Bernal has been recently described.

INTRODUCCION

Puede decirse que *Dianthus multiceps* Costa ex Willk. y *D. pyrenaicus* Pourr. subsp. *pyrenaicus* son dos especies taxonómicamente bien diferen-

ciadas, cuyas áreas de distribución no se solapan y que ocupan hábitats distintos.

Dianthus pyrenaicus Pourr. subsp. *pyrenaicus* es un endemismo pirenaico que se encuentra sobre todo en el piso montano de la vertiente meridional del Pirineo Oriental, sobre terrenos pedregosos silícicos cubiertos por prados secos de la Al. *Xerobromion*. Se encuentra desde el Pallars Jussà al Capcir y al Conflent.

Dianthus multiceps Costa ex Willk. en cambio, se extiende desde los altiplanos de las comarcas de la Segarra, el Bages y l'Anoia y de los Prepirineos (Alt Urgell, Solsonès, Berguedà, Ripollès) hasta los Catalánides (Vallès Occidental, Baix Llobregat y Alt Penedès). Se le encuentra sobre terrenos calcáreos en comunidades de *Asplenietalia petrarchae* y *Ononido-Rosmarinetea*.

Sin embargo, en el Prepireneo Oriental, se han hallado poblaciones que presentan características morfológicas, en muchos casos intermedias entre ambos taxones. Este hecho, nos plantea el problema del origen de tales poblaciones. ¿Son poblaciones de origen híbrido? ¿Se han formado por procesos de introgresión? O bien ¿son simplemente una muestra más de la extrema variabilidad de las especies del género *Dianthus* L.?

Estas son las preguntas que nos formulamos al iniciar el trabajo, y el objeto del mismo es el estudio y la caracterización de las citadas poblaciones intermedias.

MATERIAL Y METODO

Se han estudiado un total de 50 individuos pertenecientes a 24 poblaciones. Once de ellos pertenecen a poblaciones típicas de *Dianthus pyrenaicus* Pourr. subsp. *pyrenaicus*, (individuos nº 1 al 11); catorce pertenecen a poblaciones típicas de *D. multiceps* Costa in Willk., (individuos 38 al 51), los 25 individuos restantes, (individuos 12 al 37), pertenecen a poblaciones con características intermedias a las de las poblaciones típicas.

Dichas poblaciones se indican a continuación:

Poblaciones de *Dianthus pyrenaicus* Pourr. subsp. *pyrenaicus*. 1, Bellver (Cerdanya). 2, Castell (Conflent). 3, Cortàs (Cerdanya). 4, Fillol (Conflent). 5, Llívia (Cerdanya). 6, St. Miquel de Cuixà (Conflent).

Poblaciones de *Dianthus multiceps* Costa ex Willk. 7, Aixovall (Andorra). 8, Boadella (Berguedà). 9, Manresa (Bàges). 10, Montserrat (Bàges). 11, Olesa de Montserrat (Baix Llobregat). 12, Puig de Xeriveja (Baix

Llobregat). 13, Sta. Eulàlia de Puigmal (Berguedà). 14, St. Llorenç de Morunys (Solsonès). 15, St. Llorenç del Munt (Vallès). 16, Vallirana (Baix Llobregat).

Poblaciones con características intermedias entre los dos grupos anteriores. 17, Berga (Berguedà). 18, Campdevàrol (Ripollès). 19, Cap de la Devesa (Berguedà). 20, Gombreny (Ripollès). 21, Gréixer (Berguedà). 22, L'Hospitalet (Berguedà). 23, Riguréixer (Berguedà). 24, St. Llorenç de Morunys (Solsonès).

El estudio de las poblaciones con un origen supuestamente híbrido y su posterior tratamiento taxonómico, constituye siempre un reto interesante para el botánico.

Se han desarrollado diversos métodos de análisis para el reconocimiento de los híbridos. En general se basan en la expectativa de que los híbridos presenten características morfológicas intermedias respecto a las de los supuestos padres. Los más simples de los métodos desarrollados son los índices de hibridación (ANDERSON, 1949, MORTON, 1956) y los metroglifos (MÜLLER, 1961). Estos métodos resultan muy útiles como una primera aproximación, pero los resultados obtenidos, dependen extraordinariamente de los caracteres seleccionados para su cálculo; son, pues, métodos muy subjetivos.

Más recientemente, en el estudio de poblaciones de origen híbrido, se han utilizado diversos métodos de análisis multivariante, que intentan eliminar, o al menos minimizar, la subjetividad a que nos hemos referido, como por ejemplo, el análisis discriminante (PRITCHARD, 1961), el análisis de componentes principales combinado con el cluster (RUSHTON, 1978) y el análisis canónico (HATHEWAY, 1962) entre otros.

La elección de uno u otro método, es función de los objetivos que se pretenden conseguir y del tipo de datos de que se dispone. En nuestro caso, los análisis seleccionados fueron, el análisis de componentes principales (ACP) y el análisis discriminante (AD).

Mediante el ACP se obtiene un número más reducido de variables, que son combinación lineal de las originales, las llamadas «componentes principales», las cuales, al resumir la mayor parte de la variabilidad, pueden sustituir a las variables primitivas. Esta reducción, permite además, la representación gráfica en un plano tanto de los individuos respecto a las nuevas variables como de las variables originales (CUADRAS 1981).

Para poder aplicar el análisis discriminante confirmatorio, debemos partir de la hipótesis de la existencia de una serie de grupos en el conjunto de los casos estudiados; el objetivo del análisis es; a) confirmar la coherencia de

los grupos definidos a priori en base a la información existente en los datos y b) clasificar a los individuos en los grupos empíricos.

La técnica por nosotros utilizada, el «Stepwise discriminant analysis» (DIXON 1981), selecciona únicamente las variables que mejor discriminan los grupos predeterminados y genera con ellas la llamada función discriminante, a partir de la cual se podrá predecir la adscripción de los sujetos a uno u otro grupo.

RESULTADOS

Como ya apuntamos en la introducción, la diferenciación entre poblaciones típicas de *Dianthus pyrenaicus* subsp. *pyrenaicus* y de *D. multiceps* no ofrece dificultad alguna, pero no ocurre lo mismo con las poblaciones con características intermedias a que nos hemos referido. Para poder caracterizar estas poblaciones, elaboramos una lista de variables lo más exhaustiva posible, constituida por 95 caracteres morfológicos ya que a priori desconocíamos cuales serían las más significativas. Dichas variables fueron estudiadas en muestras representativas de los tres grupos a que nos hemos referido.

A partir de la matriz de correlaciones entre las variables, pudimos comprobar que muchas de ellas estaban correlacionadas, y por lo tanto, no aportaban información significativa en cuanto a la diferenciación de grupos. De entre las 95 variables iniciales, se seleccionaron 21, que han sido las que se han utilizado en los análisis posteriores.

Los 21 caracteres seleccionados son: 30, Altura de la planta; 31, Diámetro del tallo; 45, Longitud de las hojas de los tallos floríferos; 46, Anchura de las hojas de los tallos floríferos; 48, Longitud de las hojas basales; 49, Anchura de las hojas basales; 76, Longitud total de las brácteas externas; 77, Anchura total de las brácteas externas; 79, Longitud total de las brácteas internas; 80, Anchura total de las brácteas internas; 88, Longitud del cáliz; 89, Anchura máxima del cáliz; 90, Anchura mínima del cáliz; 94, Longitud de los dientes del cáliz; 99, Margen de los dientes del cáliz (entero, ciliado); 102, Tipo de inflorescencia (solitarias, geminadas, ternadas, cimoso-paniculadas); 103, Número de flores por tallo; 106, Diámetro de la corola; 107, Longitud total del pétalo; 108, Longitud del limbo del pétalo; 109, Longitud de la uña del pétalo.

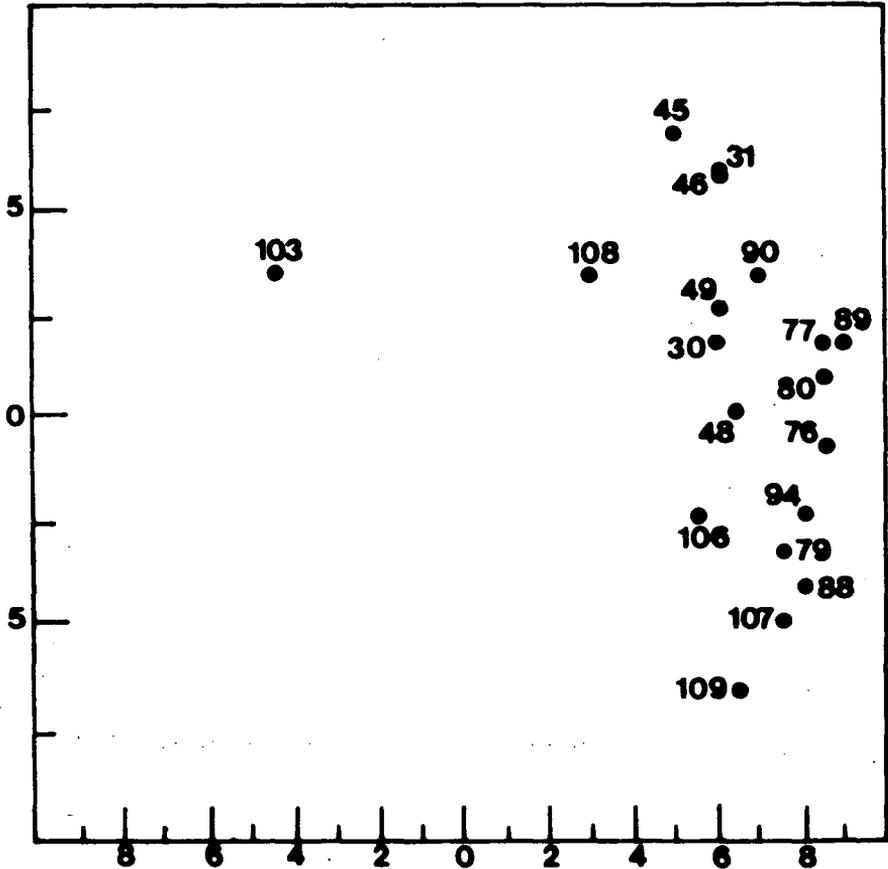


Fig. 1. Análisis de componentes principales. Proyección de las variables.

Análisis de Componentes Principales

Al llevar a cabo este análisis perseguíamos un doble objetivo; por un lado, un estudio más detallado del comportamiento de las 21 variables seleccionadas, y por otro, el estudio del comportamiento de los individuos en función de dichas variables.

La figura 1 presenta la proyección de las variables respecto a la primera y segunda componentes principales. La varianza explicada entre ambas es el 77%, valor considerado como altamente satisfactorio.

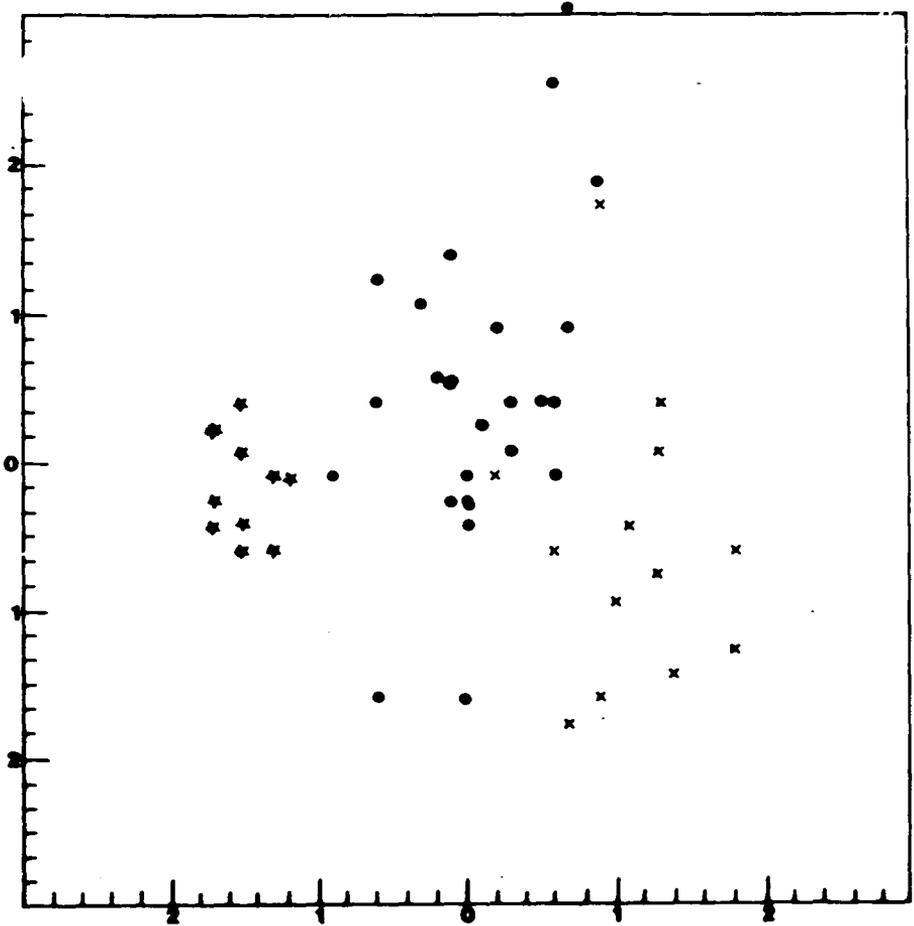


Fig. 2. Análisis de componentes principales. Proyección de los casos. ★ Individuos n° 1-11. *Dianthus pyrenaicus* Pourr. subsp. *pyrenaicus*. ● Individuos n° 12-37. Fenotipo intermedio. × Individuos n° 38-51. *Dianthus multiceps* Costa ex Willk.

Es posible interpretar el significado de las mismas en función de la ordenación que toman las variables. En nuestro caso, la primera componente (eje de las X) nos separa la variable 103 (n° de flores del tallo) del resto, que son variables relacionadas con el tamaño de los individuos, lo que nos permite interpretar que la primera componente es un indicador de la magnitud o tamaño general de la planta.

La segunda componente (eje de las Y), no es de tan simple interpretación; se trata de un factor complejo, relacionado con caracteres de la flor.

La figura 2 representa la proyección de los 50 casos estudiados respecto a las citadas componentes. El estudio de la distribución de los casos nos revela la existencia de dos grupos de individuos bien definidos. El primero está constituido por los casos números 1 al 11, pertenecientes todos ellos a poblaciones típicas de *Dianthus pyrenaicus subsp. pyrenaicus*. Estos individuos constituyen un grupo homogéneo y bien delimitado.

El segundo grupo está constituido por los casos números 38 al 51, pertenecientes todos ellos a poblaciones típicas de *Dianthus multiceps*. La ordenación que toman estos casos en la gráfica, nos da idea de que se trata de un grupo más disperso, menos homogéneo, o dicho en otros términos, que presenta mayor variabilidad morfológica.

El resto de los casos ocupa posiciones intermedias entre los dos grupos anteriores, sin que se observen afinidades concretas entre ellos ni se formen subgrupos. Queda de manifiesto la existencia de individuos más próximos a uno u otro de los grupos definidos como típicos.

Análisis Discriminante

Mediante el análisis discriminante nuestra pretensión es profundizar en la estructura y las posibles afinidades existentes entre los individuos que presentan características intermedias.

En un primer análisis basado en los resultados obtenidos en el análisis de componentes principales, establecimos como hipótesis de partida la existencia de tres grupos; el constituido por los individuos típicos de *Dianthus pyrenaicus subsp. pyrenaicus*, (casos números 1 al 11), el constituido por los individuos típicos de *D. multiceps*, (casos números 38 al 51), y el constituido por los individuos con características morfológicas intermedias a las de los dos grupos anteriores, (casos números 12 al 37).

De entre las 21 variables con que trabajábamos en un principio el programa seleccionó únicamente las cuatro siguientes: 46, Anchura de las hojas caulinares; 49, Anchura de las hojas basales; 88, Longitud del cáliz; 89, Anchura máxima del cáliz.

La matriz de clasificación de los individuos generada a partir de la función discriminante fue la reseñada en el Cuadro 1.

Grupo	% Clasificaciones correctas	Número de casos clasificados en cada grupo		
		Pyrenaicus	Intermedios	Multiceps
Pyrenaicus	100%	11	0	0
Intermedios	88%	1	22	2
Multiceps	85,7%	0	2	12
Total	90%	12	24	14

Cuadro 1. Matriz de clasificación obtenida a partir de la función discriminante.

A la vista de estos resultados podemos concluir que los tres grupos están bien definidos, con un 90% en total de clasificaciones correctas. El grupo pyrenaicus es el más consistente, puesto que presenta un 100% de clasificaciones correctas. Los límites de los otros dos grupos no son tan precisos.

En la figura 3 presentamos la distribución espacial de los individuos pertenecientes a cada uno de los tres grupos. Esta representación está basada

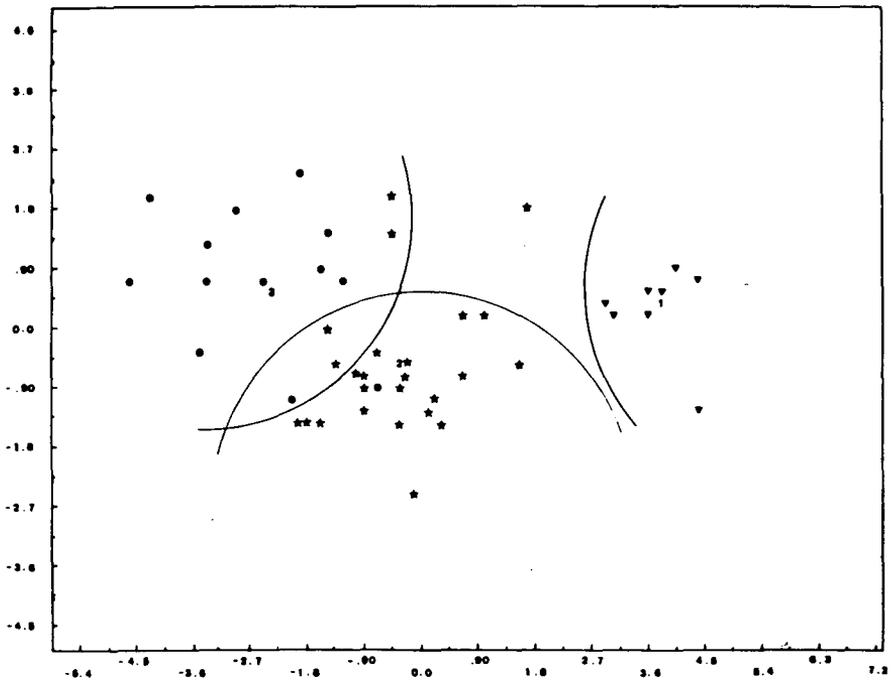


Fig. 3. Análisis Discriminante. (3 grupos) ▼ Individuos del grupo «pyrenaicus» ★ Individuos del grupo «intermedio» ● Individuos del grupo «multiceps».

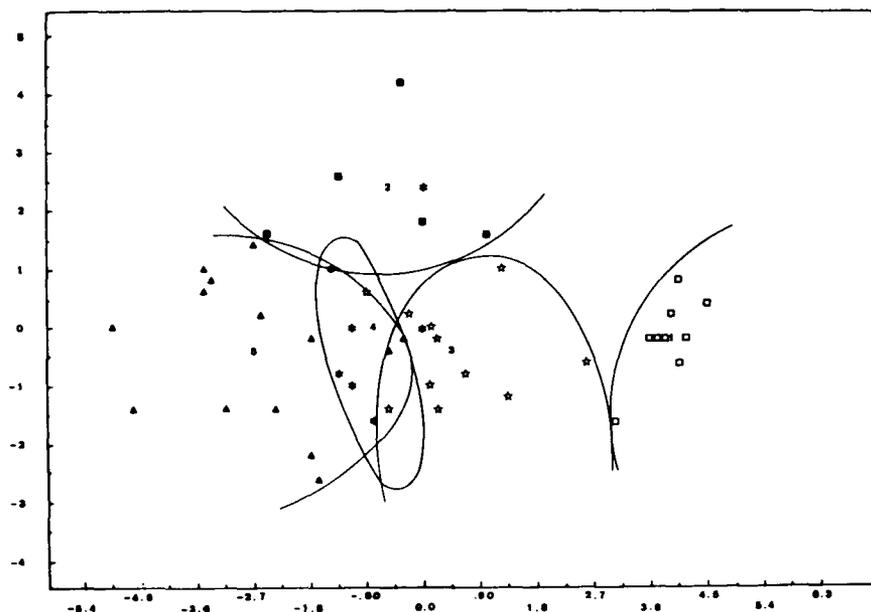


Fig. 4. Análisis Discriminante. (5 grupos) □ Individuos del grupo «pyrenaicus» ■ Individuos del grupo «pyrenaicus prepirenaico» ☆ Individuos del grupo «intermedio» * Individuos del grupo «multiceps prepirenaico» ▲ Individuos del grupo «multiceps».

en la distancia de Mahalanobis entre un caso dado y el centroide (o individuo medio) del grupo a que pertenece.

El grupo «pyrenaicus» está bien delimitado y separado de los otros dos. Los individuos del grupo «multiceps» aparecen más dispersos (presentan mayor variabilidad), pero el grupo también está bien delimitado. Los individuos del grupo «intermedio» se sitúan entre los dos grupos anteriores, pero no constituyen un grupo tan coherente como los otros dos, ya que los casos están más dispersos y se distribuyen irregularmente en el espacio, lo cual nos puede indicar la existencia de subgrupos en su interior. Para analizar esta posibilidad, realizamos un nuevo análisis discriminante utilizando esta vez como hipótesis de partida la existencia de los cinco grupos siguientes:

Pyrenaicus: constituido por los individuos pertenecientes a poblaciones típicas de *D. pyrenaicus* subsp. *pyrenaicus*, (casos n° 1-11).

Pyrenaicus prepirenaico: constituido por el subgrupo de individuos intermedios con características morfológicas más próximas a *D. pyrenaicus* subsp. *pyrenaicus*, (casos n° 12 al 16).

Grupo	% Clasificaciones correctas	Número de casos clasificados en cada grupo				
		pyrenaicus	pyrenaicus prepirenaico	intermedio	multiceps prepirenaico	multiceps
pyrenaicus	100%	11	0	0	0	0
pyrenaicus prepirenaico	80%	0	4	0	1	0
intermedio	72,7%	1	0	8	2	0
multiceps prepirenaico	88,9%	0	1	0	8	0
multiceps	85,7%	0	0	0	2	12

Cuadro 2. Matriz de clasificación obtenida por el análisis discriminante.

Intermedio: constituido por el subgrupo de individuos que podríamos considerar equidistantes de los dos grupos de referencia, (casos n° 17 al 28).

Multiceps prepirenaico: grupo constituido por individuos que se asocian claramente a *D. multiceps* y que sin embargo presentan una serie de caracteres morfológicos que permiten diferenciarlos de los ejemplares típicos de *D. multiceps*, (casos n° 29 al 37).

Multiceps: grupo constituido por los individuos pertenecientes a poblaciones típicas de *D. multiceps*, (casos n° 38 al 51).

Las variables seleccionadas por el análisis discriminante fueron las mismas que en el caso anterior, (46, 49, 88 y 89).

La matriz de clasificación de los individuos fue la indicada en el Cuadro 2.

La figura número 4 es la representación gráfica de los resultados obtenidos con el AD partiendo de la hipótesis de la existencia de cinco grupos. Al igual que en los análisis anteriores, el grupo «pyrenaicus» aparece como un conjunto muy homogéneo y diferenciado del resto. Los individuos del grupo «multiceps», presentan una mayor variabilidad, pero aún así el grupo está bien delimitado respecto a los otros cuatro. El grupo «multiceps prepirenaico» está superpuesto en su práctica totalidad a un extremo del área ocupada por los individuos del grupo «multiceps», con lo cual su entidad queda muy desdibujada. Los individuos pertenecientes al grupo «pyrenaicus prepirenaico» ocupan posiciones muy dispersas y dado el reducido número de casos estudiados, no nos es posible llegar a ninguna conclusión respecto a su entidad. Por último, los individuos pertenecientes al grupo «intermedio» en la gráfica se sitúan entre los dos grupos de referencia («multiceps» y

«pyrenaicus»), con un cierto desplazamiento hacia el grupo «multiceps». El grupo «intermedio», presenta una variabilidad considerable, pero aparece bien definido.

DISCUSION

Los resultados obtenidos tanto con el ACP como con el AD, nos indican claramente que se pueden reconocer grupos de individuos con características morfológicas intermedias entre las de los dos taxones utilizados como grupos de referencia: *Dianthus pyrenaicus* Pourr. subsp. *pyrenaicus* y *D. multiceps* Costa ex Willk. Dichos individuos no constituyen un grupo definido y perfectamente aislado del resto como sería de esperar en el caso de que fueran de origen híbrido, sino que presentan entre sí una gradación fenotípica continua. Esta situación parece reflejar un origen introgresivo de los individuos con fenotipo intermedio.

Un problema clásico en la evolución vegetal, es determinar el papel que juega la hibridación en la formación de especies. Existen diversos autores como STEBBINS (1950), STACE (1978 y 1980), y GRANT (1981) entre otros, que apoyan la opinión de que la hibridación introgresiva juega un papel importante en la formación de taxones, sobre todo de rango infraespecífico, en especies con reproducción cruzada. STACE (1978) añade además, que el tratamiento de los híbridos como taxones separados está justificado en el caso de que estos, hayan desarrollado un conjunto de características morfológicas, genéticas o de distribución que se aparten de las de los progenitores.

Esta es exactamente la situación del que hemos denominado grupo «intermedio», y que recientemente (BERNAL, 1987) propusimos como la subespecie nueva *Dianthus multiceps* Costa ex Willk. subsp. *praepyrenaicus* Bernal.

CONCLUSIONES

De los taxones tratados en este estudio, pueden considerarse válidos los siguientes:

Dianthus pyrenaicus Pourr. subsp. *pyrenaicus*, constituye un taxón homogéneo y bien delimitado.

D. multiceps Costa ex Willk. subsp. *multiceps*, es un taxón que presenta una gran variabilidad morfológica, especialmente en el límite Norte de su

área de distribución. Dentro de esta zona, hemos reconocido un grupo de individuos pertenecientes a diversas poblaciones, denominado por nosotros «multiceps prepirenaico», que corresponde a formas extremas de la variabilidad propia de la especie, sin entidad taxonómica.

El grupo de individuos denominado por nosotros «intermedio», corresponde a *Dianthus multiceps* Costa ex Willk. *praepyrenaicus*, descrito recientemente. Se trata de un taxón originado por introgresión a partir de *D. pyrenaicus* subsp. *pyrenaicus* y *D. multiceps* subsp. *multiceps*.

Respecto al grupo de individuos «pyrenaicus prepirenaico», dado el reducido número de casos estudiados, no nos es posible extraer ninguna conclusión.

Agradecimientos: Deseo expresar mi más sincera gratitud a las personas que de una u otra manera han contribuido a la realización de este trabajo, especialmente a I. Soriano, que nos acompañó en algunas de las campañas de recolección, a F. Riba, que nos ayudó en gran medida en los trabajos de biometría y a J. Carreras, J. M^a Ninot y J. Vigo por su gentileza en la lectura del texto y la traducción al inglés del resumen.

BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON, E. (1949) *Introgressive hybridization*. Wiley. New York.
- BERNAL, M. (1987) Notas sobre algunas especies del género *Dianthus* L. del NE de la península ibérica. In *Notulae in Opus Flora Iberica Intendentes. Anales Jard. Bot. Madrid* **44**(2): 568-571.
- CUADRAS, C. M. (1981) *Métodos de análisis multivariante*. Eunibar. Barcelona.
- DIXON, W. J. (1981) *BMDP Statistical Software*. Univ. of California Press. Berkeley.
- GRANT, V. (1981) *Plant Speciation*. Columbia University Press. New York.
- HATHEWAY, W. H. (1962) A weithed hybrid index. *Evolution* **16**: 1-10.
- PRITCHARD, N. M. (1961) *Gentianella* in Britain III. *Gentianella germanica* (Willd.) Börner. *Watsonia* **4**: 290-303.
- RUSHTON, B. S. (1978) *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.: a multivariate approach to the hybrid problem, I. Data acquisition, analysis and interpretation. *Watsonia* **12**: 81-101.
- STACE, C. A. (1978) *Breeding systems, variation patterns and species delimitation in Essays in Plant Taxonomy*. H. E. Street (Ed.): 57-78. Academic Press. London.
- ____ (1980) *Plant taxonomy and Byosystematics*. Contemporary Biology. Arnold. London.
- STEBBINS, G. L. (1950) *Variation and Evolution in Plants*. Columbia University Press. New York.
- ____ (1959) The role of hybridization in evolution. *Proc. Amer. Philosoph. Soc.* **103**: 231-251.