

Evolución temporal de la estructura poblacional de *Fusarium circinatum*

David Fariña-Flores^{1,2}; Mónica Berbegal³; M. Teresa Morales Clemente¹; Eugenia Iturriza⁴; Nebai Mesanza⁴; Elena Landeras⁵; Cristina Pintos-Valera⁶;

Olga Aguin-Casal⁶; Rosa Raposo¹.



¹Instituto de Ciencias Forestales, INIA, CSIC, Ctra. Coruña km 7.5, 28040 Madrid, Spain

²Departamento de Biotecnología-Biología Vegetal, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, 28040-Madrid, Universidad Politécnica de Madrid, Spain

³Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, Camino Vera s/n 46022 Valencia

⁴NEIKER, Granja Modelo-Arkaute, 01080 Vitoria-Gasteiz, Spain

⁵Laboratorio de Sanidad Vegetal, Consejería de Medio Rural y Pesca del Principado de Asturias, 33011 Oviedo

⁶Estación Fitopatológica Areiro, Diputación de Pontevedra, 36153 Pontevedra

Introducción

Fusarium circinatum es un patógeno invasivo en Europa, causante de la enfermedad del chancho resinoso del pino. Su introducción fue oficialmente descrita en España en 2005, quedando su área de ocurrencia limitada a la costa atlántica. Un análisis de la estructura genética de la población inicial de *Fusarium circinatum* después de su introducción reveló dos grupos de haplotipos, compatibles con dos introducciones independientes del patógeno.

El objetivo de este trabajo es analizar la estructura de la población actual, para conocer la evolución temporal de la estructura de la población

Materiales y Métodos

Para este trabajo se obtuvieron 29 aislados a partir de plantaciones y masas forestales en Galicia, Asturias y País Vasco (muestreo 2020). Esta población actual se comparó con la inicial (muestro 2008) representativa de la diversidad de haplotipos identificados en aquel momento incluyendo aislados provenientes de vivero (Berbegal *et al.*, 2013).

Muestreo 2008

Aislados totales: 36

- Galicia: 7
- Asturias: 4
- País Vasco: 15
- Vivero: 10



Muestreo 2020

Aislados totales: 29

- Galicia: 5
- Asturias: 9
- País Vasco: 15

Se estudió la diversidad genética de las poblaciones mediante los siguientes marcadores:

- Grupos de compatibilidad vegetativa (VCGs)
- Grupos de apareamiento (MAT)
- Microsatélites (SRR) en 8 loci descritos en Berbegal *et al.*, 2013

Resultados

Tabla 1. Índices de diversidad asociados al origen geográfico de los aislados y fecha de muestreo.

	Pop	N	MLG	H	G	lambda	E.S	Ia	rbarD
Muestreo 2008	1_Nursery	10	9	2,164	8,33	0,880	0,952	0,859	0,227
	1_Ast	4	2	0,562	1,60	0,375	0,795	1,000	1,000
	1_Gal	7	6	1,748	5,44	0,816	0,937	1,556	0,392
	1_PV	15	1	0,000	1,00	0,000	-	-	-
Muestreo 2020	2_Ast	9	3	0,849	1,98	0,494	0,730	3,832	0,958
	2_Gal	5	3	0,950	2,27	0,560	0,802	3,282	0,821
	2_PV	15	1	0,000	1,00	0,000	-	-	-
Total	65	16	1,626	2,71	0,631	0,419	3,272	0,714	

Pop: Nombre de la población
 H: Índice de Shannon-Wiener (Shannon, 2001)
 Lambda: Índice de Simpson (Simpson, 1949)
 rbarD: Índice estandarizado de asociación
 MLG: Nº de haplotipos
 G: Índice de Stoddart y Taylor (Stoddart & Taylor, 1988)
 E.S: Índice de Evenness (Pielou, 1975; Ludwig & Reynolds, 1988; Grünwald *et al.*, 2005)
 Ia: Índice de asociación (Brown, Feldman & Nevo, 1980; Smith *et al.*, 1993)

Tabla 2. Índices de diversidad calculados por fecha de muestreo después de realizar la corrección clonal

	Pop	N	MLG	H	G	lambda	E.S	Ia	rbarD
Muestreo 2008 (1)	18	14	2,55	11,57	0,914	0,892	1,23	0,254	
Muestreo 2020 (2)	27	5	1,48	3,77	0,735	0,821	3,26	0,831	

Figura 1. Resultados del test de "Linkage disequilibrium" para los muestreos de 2008 y 2020, incluyendo los valores del índice estandarizado de asociación (rd) y el valor de probabilidad (p) asociados.

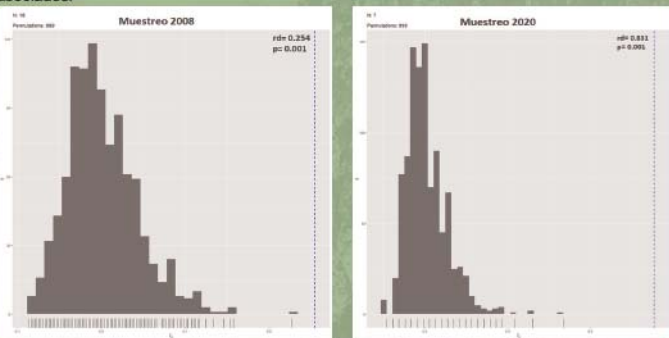


Tabla 3. Valores de G_{ST} estandarizado de Hendrick (Hendrick, 2005)

	1 Vivero	1 Ast	2 Ast	1 Gal	2 Gal
1_Ast	0,172				
2_Ast	0,199	0,500			
1_Gal	0,030	0,169	0,111		
2_Gal	0,235	0,527	0,466	0,301	
1_PV	0,852	0,965	0,280	0,790	1,000

En la población de 2020 hay una reducción de la diversidad respecto de la de 2008, debido a la disminución de MLGs en Galicia y a la ausencia de aislados provenientes de vivero (Tablas 1 y 2). Los valores de G_{ST} indican que en el muestreo de 2020 aumenta la diferenciación entre las poblaciones de Galicia y Asturias, y se diferencian menos las poblaciones de Asturias y País Vasco (Tabla 3).

En el muestreo de 2020 siguen sin haber evidencias de reproducción sexual (Figura 1). Las poblaciones continúan separadas en dos grandes grupos. Un grupo incluye únicamente aislados con MLG 32, el MAT-2 y VCGs 1 y 3. El segundo grupo es más diverso, presenta el MAT-1, varios VCGs y varios MLGs, de los cuales dos nuevos se identifican por primera vez en el muestro de 2020 (en Asturias y Galicia). El País Vasco mantiene un único MLG (MLG32) en ambos muestreos (Figura 2 y 3).

Conclusiones

Los datos muestran que la población actual del País Vasco sigue incluyendo un único haplotipo y un solo MAT. Sin embargo, en la población actual de Galicia y Asturias se identificaron los dos MAT y dos haplotipos que no habían sido identificados previamente, muy relacionados genéticamente con los mayoritarios identificados en la población inicial. El número de VCG pasó de los 4 iniciales a 7. Este estudio demuestra que la diversidad genética de *F. circinatum* ha aumentado en Galicia y Asturias, pero el análisis de los datos indica que la reproducción sexual del patógeno continúa siendo improbable. El riesgo de nuevas introducciones ha disminuido fruto de la nueva legislación.

Referencias

- Berbegal M., Pérez-Sierra A., Armengol J., Grünwald N.J. 2013. Evidence for multiple introductions and clonality in spanish populations of *Fusarium circinatum*. *Phytopathology*, 103(6): 851-861.
- Brown A.H.D., Feldman M.W., Nevo E. 1980. Multilocus structure of natural populations of hordeum spontaneum. *Genetics* 96:523-530.
- Bruvo R., Michalek N.K., D'Souza T.G., Schuenberg H. 2004. A simple method for the calculation of microsatellite genotype distances irrespective of ploidy level. *Molecular Ecology* 13:2101-2106.
- Grünwald N.J., Gocivini S.B., Milgrom M.G., Fry W.E. 2003. Analysis of genotype diversity data for populations of microorganisms. *Phytopathology* 93:738-746.
- Hedrick P.W. 2005. A standardized genetic differentiation measure. *Evolution* 59:1633-1638.
- Ludwig J.A., Reynolds J.F. 1988. *Statistical ecology: A primer in methods and computing*.
- Pielou E.C. 1975. *Ecological diversity*. Wiley, New York.
- Shannon C.E. 2001. A mathematical theory of communication. *ACM SIGMOBILE Mobile Computing and Communications Review* 5:3-55.
- Simpson E.H. 1949. Measurement of diversity. *Nature* 163:688.
- Smith J.M., Smith N.H., O'Rourke M., Spratt B.G. 1993. How clonal are bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90:4384-4388.
- Stoddart J.A., Taylor J.F. 1988. Genotypic diversity: Estimation and prediction in samples. *Genetica* 118:705-711.

Figura 2. Dendrograma basado en la distancia genética de Bruvo (Bruvo *et al.*, 2004) generado mediante neighbor-joining. Se incluye el VCG y el MAT de cada aislado

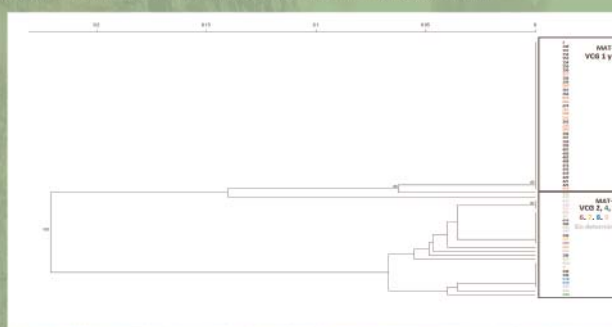


Figura 3. "Minimum spanning networks" basado en la distancia genética de Bruvo que muestra los haplotipos identificados en las poblaciones y su frecuencia (proporcional al tamaño del diagrama circular)

