



FACULTAD  
DE BIOLOGÍA

**GRADO EN BIOLOGÍA**  
**Curso Académico 2022-2023**

Trabajo de Fin  
de Grado

Ensayo de crecimiento de tres especies de *Santolina* en diferentes tipos de suelo para la identificación de ecotipos edáficos

Autor

Santiago Feijoó-Montenegro Dopazo

## ÍNDICE

Resumen .....	1
Introducción .....	1
Objetivos .....	2
Metodología .....	3
Resultados y discusión .....	8
Conclusiones .....	18
Bibliografía .....	19
Material suplementario.....	21

## RESUMEN

Este trabajo investiga la existencia de ecotipos edáficos para las especies de *Santolina rosmarinifolia* L., *Santolina semidentata* Hoffmanns. & Link. y *Santolina melidensis* Rodríguez-Oubiña & Ortiz., como resultado de las relaciones establecidas entre las diferentes plantas y el suelo en el que crecen. Para ello, se determinaron las características físico-químicas de los suelos en los que se desarrollan naturalmente 5 poblaciones de *Santolina* (Peña Retuerta, Alto do Couto, Ribadelago, Samil y Río Seco). Por otra parte, para evaluar el desarrollo vegetal de las tres especies de *Santolina*, se realizó un experimento de cultivo empleando los frutos extraídos de las plantas recogidas en las 5 poblaciones y los suelos de las poblaciones de Alto do Couto, Ribadelago y Samil, que fueron seleccionados por sus características diferenciadas. Se observó que las plantas que crecen naturalmente en los suelos más fértiles obtenían mejores valores de biomasa, viéndose reducida en suelos ácidos con altas concentraciones de  $Al^{3+}$ , y sin poder resistir los ambientes más restrictivos de los suelos serpentiniticos. Por otra parte, las plantas que crecían naturalmente en estos suelos mostraron un menor grado de desarrollo que el resto, pero una mayor capacidad de adaptación, siendo capaces de germinar en todos los suelos. Los resultados obtenidos confirmaron la existencia de ecotipos edáficos para las tres especies de *Santolina*, especialmente en el caso de *Santolina semidentata*, cuyo grado de desarrollo y plasticidad en los diferentes suelos se vio condicionado por las características de los suelos originales. Definir y caracterizar estos ecotipos permitirá elaborar estrategias de protección y conservación más eficaces.

## INTRODUCCIÓN

Un ecotipo es un conjunto de individuos diferenciados dentro una especie que surgen a partir de adaptaciones locales a un ambiente determinado (Hufford y Mazer, 2003). En el caso de un ecotipo edáfico, las adaptaciones surgen en función de las características del suelo en el que se desarrollan.

*Santolina* es un género de plantas de la familia de las Asteraceae, que incluye en torno a unas 25 especies distribuidas entre el sur de Europa y el noroeste de África. Se trata de pequeños arbustos perennes que presentan hojas simples o pinnadas con una coloración

verde grisácea y flores amarillentas organizadas en capítulos radiados (Sáez *et al.*, 2019). Las *Santolina* se organizan en dos grandes grupos: *Santolina rosmarinifolia* agg. y *Santolina chamaecyparissus* agg. Dentro del primer agregado, se distinguen varias especies presentes en la Península Ibérica. Por una parte, la *Santolina rosmarinifolia*, que presenta una morfología muy variable y se localiza principalmente en el centro y noroeste peninsular; en claros de matorral, pedregales y suelos con diferentes tipos de sustrato. Por otra parte, la *Santolina semidentata*, que se localiza en el noroeste peninsular, y se desarrolla en suelos de diversas características (Sáez *et al.*, 2019). Por último, la *Santolina melidensis*, que presenta una distribución muy reducida, localizándose exclusivamente en los límites entre las provincias de A Coruña y Lugo (Santiso y Palas de Rei), en afloramientos de rocas ultrabásicas (Ortiz y Rodríguez-Oubiña, 2019). *S. semidentata* y *S. melidensis* son taxones hermanos, muy próximos genéticamente (Carballal, 2022).

Debido a la elevada especificidad de hábitat que presenta *S. melidensis*, se llevaron a cabo una serie de experimentos de cultivo empleando suelos con altas concentraciones de calcio intercambiable (calcáreos) y  $Al^{3+}$  tóxico (silíceos). A pesar de que esta especie mantuvo sus características originales, su tasa de supervivencia resultó ser extremadamente baja en ambos suelos, lo que confirma su elevada afinidad por los ambientes ultramáficos (Rodríguez-Oubiña y Ortiz, 1997). Por ello, resulta interesante conocer las relaciones que se establecen entre las plantas y el suelo en el que se desarrollan. Estudios previos han puesto de manifiesto la existencia de una enorme plasticidad fenotípica entre individuos de una misma especie cuando son sometidos a diferentes ambientes, condicionando así su distribución ecológica (Anacker, 2014; Sultan, 1995). Se plantea, por tanto, la búsqueda e identificación de ecotipos edáficos para las poblaciones de *S. rosmarinifolia*, *S. semidentata* y *S. melidensis*, que surgirían fruto de las relaciones establecidas entre las diferentes plantas y el suelo en el que se desarrollan naturalmente, condicionando su capacidad de adaptación y distribución.

## **OBJETIVOS**

El objetivo general de este trabajo es el establecimiento de relaciones planta-suelo para las diferentes especies de *Santolina* objeto de estudio (*S. rosmarinifolia*, *S. semidentata* y *S. melidensis*). Los objetivos específicos consisten en:

1. Definir y caracterizar los suelos en los que se desarrollan naturalmente las tres especies de *Santolina*.
2. Evaluar el desarrollo vegetal de las tres especies al ser cultivadas en suelos de diversas características.
3. Establecer las relaciones entre las especies de estudio, sus características edáficas originales y su capacidad de adaptación a los suelos de cultivo.

## **METODOLOGÍA**

### **Poblaciones estudiadas**

Para este trabajo se estudiaron las características edáficas de cinco zonas en las que se desarrollan las especies de *S. rosmarinifolia*, *S. semidentata* y *S. melidensis* de forma natural (Anexo, Imagen 1). Para la *S. rosmarinifolia*, la zona de estudio escogida fue Peña Retuerta, situada en el municipio de Becerril de la Sierra, en la ladera sur de la sierra del Guadarrama (Madrid). Se trata de una zona sobre granitos que presenta suelos bastante desarrollados, con claros abiertos de matorrales y una vegetación caracterizada por la presencia de *Pinus pinaster* junto con una mezcla de coníferas y frondosas autóctonas, además de poblaciones de *S. rosmarinifolia*, localizadas en pendiente media-alta.

En el caso de *S. semidentata* fueron seleccionadas tres zonas de estudio diferentes. La primera de ellas fue Alto do Couto, próxima a Folgoso do Courel, perteneciente a la comarca de Quiroga (Lugo). Se sitúa sobre un afloramiento de roca caliza con suelos muy desarrollados, pastizales abiertos y una vegetación caracterizada por la presencia de *Poaceae*, *Erodium glandulosum*, *Helianthemum appeninum*, *S. semidentata*, *Glandora sp.*, *Dianthus sp.*; así como una importante corteza biológica de briófitos y líquenes. Las plantas de *Santolina* se localizaban en el lado sur/suroeste, con pendiente media a alta.

La segunda zona escogida fue Ribadelago, una localidad del municipio de Galende (Zamora). Se trata de un afloramiento de granodiorita en pendiente media/alta localmente cubierto por suelos muy poco desarrollados, con zonas que mostraban mayor desarrollo. La vegetación consiste en plantas de *S. semidentata* creciendo entre las grietas de la roca,

comunidades de briófitos, *Sedum* spp., diferentes gramíneas, *Lavandula stoechas* y *Cytisus* cf. *pungens*.

La tercera zona de estudio fue Samil, una aldea portuguesa del municipio de Bragança. Se trata de una zona sobre rocas ultrabásicas serpentinizadas, con suelos de escaso desarrollo, una ligera pendiente y vegetación arbustiva abierta de pequeño tamaño; entre la que destaca *S. semidentata* mezclada con *Genista* sp., diferentes gramíneas, *Armeria* sp., *Plantago* spp., *Scilla autumnalis*, *Seseli montanum* subsp. *peixotoanum*, *Odontarrhena serpyllifolia*, *Dianthus* sp. y *Centaurea* sp.

Por último, para la *S. melidensis* se seleccionó la única población existente, localizada en Río Seco, próxima a Santiso (A Coruña). Se trata de una zona sobre rocas ultrabásicas serpentinizadas, con suelos de escaso desarrollo y una suave pendiente cubierta por matorrales abiertos de altura media. En algunas zonas los brezales son densos y de mayor tamaño. Entre la vegetación destaca *Erica scoparia*, *Erica cinerea*, *Ulex europaeus* y *Pinus pinaster*. En algunos puntos, existe una importante corteza biológica (líquenes y musgos). En esta zona, *S. melidensis* crece preferentemente en las áreas más abiertas.

### **Toma de muestras**

Durante el mes de octubre del 2020 se recolectaron muestras de suelos en las poblaciones de Peña Retuerta, Alto do Couto, Ribadelago, Samil y Río Seco. En cada zona fueron extraídas cinco réplicas de suelo (10 cm de profundidad) al pie de las diferentes especies de *Santolina*. Además, se recolectaron capítulos de cada una de las poblaciones para obtener así los frutos maduros (cipselas) empleados en el experimento de cultivo en invernadero (Anexo, Imagen 1).

### **Caracterización de los suelos**

Las muestras de suelo extraídas de las cinco poblaciones fueron sometidas a diferentes análisis con el objetivo de determinar sus características físico-químicas. Las muestras se secaron al aire, se tamizaron por tamiz de 2mm y los análisis se realizaron en la fracción menor.

*Análisis granulométrico y textura.* El análisis granulométrico consiste en determinar las proporciones relativas de las partículas de arenas (50 $\mu$ m-2mm), limos (2 $\mu$ m-50 $\mu$ m) y arcillas (< 2 $\mu$ m) del suelo; a partir de los criterios establecidos por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (*USDA*). Este análisis permite determinar la plasticidad, permeabilidad, grado de porosidad y capacidad de filtración del suelo; elementos fundamentales que afectan a su fertilidad (Foth, 1990, 26; Singh *et al.*, 2014).

Para este análisis se empleó el método de la Pipeta de Robinson, que requiere eliminar previamente cualquier agente cementante del suelo. Para ello, se pesaron 20g de suelo y se añadió H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para eliminar la materia orgánica y HCl 1M para eliminar posibles carbonatos. Los suelos se lavaron posteriormente con agua destilada. La fracción arena se determinó mediante el tamizado de los suelos en húmedo por tamiz de 50  $\mu$ m, mientras que los limos y la arcilla se separaron mediante el método de la Pipeta de Robinson. Las fracciones de arena, limo y arcillas obtenidas de cada suelo se secaron posteriormente en una estufa a 105°C para su pesado. A partir de los resultados obtenidos se determinó la textura de los suelos empleando la clasificación *USDA*.

*Reacción del suelo: pH.* El pH en agua de los suelos se determinó a partir de una suspensión de muestra con agua, en proporción 1:2,5. Para ello se empleó un pH-metro con electrodo de vidrio calibrado con soluciones buffer comerciales de pH 4 y 7. Para determinar el pH en KCl, se añadió a cada muestra KCl sólido y se volvió a medir el pH después de 2h.

*Análisis de C y N.* En la muestra molida (< 250 $\mu$ m) se determinó el contenido total de C y N mediante absorción infrarroja y conductividad térmica respectivamente, en un autoanalizador LECO CN828.

*Cationes de cambio y capacidad de intercambio catiónico efectiva (CIC<sub>e</sub>).* La capacidad de intercambio catiónico permite conocer el grado de retención y suministro de cationes que presentan los suelos, lo cual es un importante indicador de su fertilidad.

En todas las muestras, se realizó un desplazamiento de los cationes empleando NH<sub>4</sub>Cl 1N, para determinar Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> intercambiables. En suelos que presentaban

pH ácido ( $\text{pH} < 4$ ), se realizó a mayores un desplazamiento de los cationes ácidos ( $\text{Al}^{3+}$ ) con  $\text{KCl}$   $1\text{N}$ , para determinar el contenido en  $\text{Al}^{3+}$  y protón  $\text{H}^+$ . A partir de las disoluciones, se determinó el contenido de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Al}^{3+}$  en los suelos mediante espectrometría de absorción atómica y el contenido de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  mediante espectrometría de emisión atómica de llama, empleando para ello un espectrofotómetro PerkinElmer PinAAcle 500. El protón  $\text{H}^+$  se determinó por valoración ácido-base. La capacidad de intercambio catiónica efectiva ( $\text{CIC}_e$ ) se determinó a partir del sumatorio de los cationes de cambio, expresados en  $\text{cmol}(+)/\text{kg}$ .

*Extracciones selectivas de Fe y Al.* Las extracciones selectivas de Fe y Al se realizaron siguiendo diferentes métodos. El ditionito-citrato sódico  $0.5\text{M}$  (Holmgren, 1967) permite conocer las formas de Fe y Al libres ( $\text{Fe}_D$  y  $\text{Al}_D$ ). Por otra parte, la extracción con oxalato amónico  $0.2\text{M}$  (Smith, 1994) permite conocer las fracciones no cristalinas o amorfas ( $\text{Fe}_O$  y  $\text{Al}_O$ ). Por último, la extracción mediante pirofosfato sódico  $0.1\text{M}$  (Smith, 1994) muestra las formas de estos metales que se encuentran ligadas a la materia orgánica ( $\text{Fe}_P$  y  $\text{Al}_P$ ).

Las concentraciones de Fe y Al de las diferentes extracciones se determinaron mediante espectrofotometría de absorbancia atómica, empleando para ello un espectrofotómetro PerkinElmer PinAAcle 500. Los resultados obtenidos se expresaron en  $\text{mg}/\text{kg}$ .

*Análisis total de elementos mayoritarios y minoritarios.* Para cuantificar el contenido total de elementos mayoritarios y minoritarios en los suelos, se realizó una digestión ácida de  $0,5\text{g}$  de muestra molida ( $< 250\mu\text{m}$ ), siguiendo el protocolo EPA-3051 y empleando un microondas Milestone ETHOS EASY. A partir de las disoluciones, se determinaron los valores de los diferentes elementos del análisis total (Ca, Mg, Na, K, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb y Zn) mediante espectrofotometría de absorbancia atómica, empleando para ello un espectrofotómetro PerkinElmer PinAAcle 500. Los resultados se expresaron en  $\text{mg}/\text{kg}$ .

### **Experimento de cultivo**

Para el experimento de cultivo, se emplearon frutos de *Santolina* extraídos de las plantas recogidas en las 5 poblaciones (Peña Retuerta, Alto do Couto, Ribadelago, Samil y Río Seco). En base a los resultados obtenidos en la caracterización de los suelos, se

seleccionaron los suelos de las poblaciones de Alto do Couto, Ribadelago y Samil como medio de cultivo debido a sus diferentes características.

*Preparación de los suelos.* Para los experimentos de cultivo, se utilizó el suelo tamizado por tamiz de 1cm. Para los suelos de las poblaciones de Alto do Couto y Samil, se añadió un 10% (en peso) de arena de mar lavada ( $\text{SiO}_2$ ), debido a que en los análisis granulométricos mostraban predominio de arcillas y limos (Figura 1).

Por otra parte, se calculó la capacidad de retención de agua de los suelos mediante gravimetría, para poder mantenerla constante durante el experimento de cultivo. Para ello, se prepararon recipientes con muestras de los tres suelos, las cuales fueron hidratadas mediante capilaridad, de tal forma que pudieran eliminar el exceso de agua. Tras 48h, se calculó el peso de los suelos (humedad 100%) y se dejaron secando a 55°C durante una semana (humedad 0%). La capacidad de retención de agua de los suelos se calculó mediante la siguiente fórmula:  $(\text{peso saturado del suelo} - \text{peso seco del suelo} = \text{agua}) / \text{peso seco del suelo} \times 100 = 100 \% \text{ water content}$ .

Para el experimento de cultivo, se prepararon un total de 6 bandejas (2 para cada tipo de suelo) con capacidad para albergar 35 plantas cada una (7 réplicas por cada una de las 5 poblaciones). En cada alvéolo, se introdujeron un total de 10 frutos, que estuvieron previamente 24h en imbibición con agua destilada. Los frutos se distribuyeron en las bandejas siguiendo dos condiciones: que cada columna presentase al menos una semilla de cada una de las 5 poblaciones y que su distribución permitiese que todas estuviesen presentes en 4 celdas del borde y 3 del interior.

El experimento de cultivo se realizó en el invernadero de la Facultad de Biología de la Universidad de Santiago de Compostela, con luz natural y durante los meses de marzo a julio de 2020 (18 semanas). Durante el proceso, los suelos fueron mantenidos a un 70% de su capacidad de campo, por lo que las bandejas se pesaron de 2 a 3 veces por semana, añadiendo agua por capilaridad hasta alcanzar el valor deseado. Así mismo, cada semana se aleatorizó la posición de las bandejas en el invernadero. Durante la semana 4, se realizó un primer aclarado, dejando en cada alvéolo un máximo de 2 plantas germinadas. Posteriormente, en la semana 6 se redujo a una única planta por alvéolo.

*Recolección y cálculo de la biomasa.* Al finalizar el experimento de cultivo, cada planta fue retirada de su alvéolo y lavada con agua a presión. Se eliminó cualquier resto de raíces muertas y se aclararon con agua destilada. Posteriormente, se separó la fracción aérea de la fracción radicular y se secaron a 60°C. Por último, se calculó el peso seco obtenido de ambas fracciones, así como la tasa de supervivencia de las 5 poblaciones en los diferentes suelos de cultivo.

### **Tratamiento estadístico de los datos**

Se comparó la supervivencia de las 5 poblaciones en los tres suelos a partir de un modelo lineal de distribución quasi-Poisson para el conteo de datos, empleando los paquetes “car”, “multicompView” y “emmeans” en R (v. 4.2.2) (R Core Team, 2022). Por otra parte, se aplicó un diseño *split-plot* para comparar los efectos del suelo, las poblaciones y sus interacciones en los índices de biomasa obtenidos; empleando el paquete “lmerTest” en R (v. 4.2.2). Debido a la escasa supervivencia de las poblaciones en los suelos serpentínicos de Samil, únicamente se consideraron los datos de biomasa obtenidos en los suelos de Alto do Couto y Ribadelago.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Caracterización de los suelos de origen**

En las Tablas 1-4 y Figuras 1-3, se presentan los resultados obtenidos en los diferentes análisis realizados a los suelos extraídos de las poblaciones de Peña Retuerta (*S. rosmarinifolia*), Alto do Couto (*S. semidentata*), Ribadelago (*S. semidentata*), Samil (*S. semidentata*) y Río Seco (*S. melidensis*).

Los resultados obtenidos en el análisis granulométrico muestran una predominancia de la fracción arena sobre las de limo y arcilla en los suelos de las poblaciones de Peña Retuerta y Ribadelago (Tabla 1), lo que los sitúa en una textura de tipo areno-francosa (Figura 1). Un mayor contenido de arenas confiere a estos suelos una excelente permeabilidad y aireación; sin embargo, su capacidad de retención de agua se ve afectada negativamente. Esto se debe a la presencia de macroporos, incapaces de retener las partículas de agua. Se

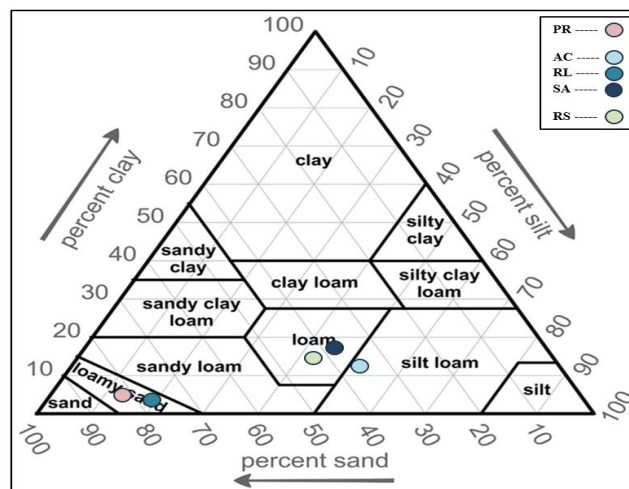
obtienen así suelos muy porosos, pero con bajo grado de apelmazamiento; que podrían resultar problemáticos para el enraizamiento y la absorción de agua de las plantas, especialmente en períodos de déficit hídrico (Foth, 1990, 35; Singh *et al.*, 2014).

En el suelo de Alto do Couto, la abundancia de limos lo sitúa en una textura ligeramente franco-limosa (Tabla 1 y Figura 1). Esto le confiere un mayor grado de apelmazamiento, que podría afectar negativamente a la aireación y circulación del agua. Sin embargo, presentan una mayor capacidad de retención de agua al contener más microporos capaces de atrapar las partículas de agua, lo que podría favorecer la supervivencia de las plantas en ambientes que presenten un mayor grado de sequía (Foth, 1990, 35; Singh *et al.*, 2014).

Los suelos de las poblaciones de Samil y Río Seco presentan una proporción equilibrada de arenas y limos, así como un menor contenido en arcillas (Tabla 1), lo que los sitúa en una textura franca (Figura 1). Esta textura favorece la aireación y la circulación de agua de los suelos, pero sin perjudicar su capacidad de retención, por lo que resultan ser los más adecuados para el desarrollo de las diferentes especies vegetales.

**Tabla 1.** Análisis granulométrico en suelos de las distintas poblaciones de *Santolina* (PR = Peña retuerta, AC = Alto do Couto, RL = Ribadelago, SA = Samil, RS = Río Seco). Valores medios y desviación típica (n=5).

	<i>S. rosmarinifolia</i>		<i>S. semidentata</i>				<i>S. melidensis</i>			
	PR		AC		RL		SA		RS	
	Media	Desvest	Media	Desvest	Media	Desvest	Media	Desvest	Media	Desvest
Arenas (%)	81,57	14,18	36,97	8,06	76,47	13,68	38,36	5,34	42,21	12,81
Limos (%)	14,31	3,59	51,25	8,4	19,7	8,22	43,23	2,87	42,45	16,54
Arcillas (%)	4,11	1,14	11,78	2,44	3,83	1,55	18,41	4,08	15,33	2,35



**Figura 1.** Clasificación textural *USDA* de los suelos de las poblaciones analizadas (PR = Peña retuerta, AC = Alto do Couto, RL = Ribadelago, SA = Samil, RS = Río Seco).

El pH obtenido en agua y cloruro de potasio (KCl) se mantuvo prácticamente neutro en todos los suelos, con valores comprendidos entre 6,3 y 6,8 (Tabla 2), a excepción del suelo de Ribadelago, que presentó un pH ácido en agua de 4,3 y en KCl de 3,8.

Por otra parte, los porcentajes obtenidos de C y N total variaron considerablemente entre los distintos suelos, con valores comprendidos entre 1,36 y 6,36% para el C y entre 0,54 y 0,08% para el N (Tabla 2). Las poblaciones con suelos serpentiniticos (Samil y Río Seco), junto con el suelo de Peña Retuerta, presentaron un bajo contenido de C y N; mientras que los suelos de Alto do Couto y Ribadelago mostraron los valores más elevados. El contenido de C del suelo es indicativo de la materia orgánica que posee. Esta contribuye a la formación de agregados y mejora su capacidad de infiltración y retención de agua (Singh *et al.*, 2014), por lo que los suelos con mayor contenido en C total resultarán más beneficiosos para el crecimiento y mantenimiento de las plantas.

Observando la relación C:N de los diferentes suelos, nos encontramos valores que oscilan entre 11,78 y 17,00. Esta relación se utiliza como indicador de la calidad de la materia orgánica de los suelos. Valores comprendidos entre 10-12 resultan ser los más adecuados, debido a que coinciden con la relación C:N de bacterias (5-10) y hongos (8-25) (Kirkby *et al.*, 2011), por lo que el suelo de Alto do Couto será más beneficioso para las plantas.

**Tabla 2.** Reacción del suelo (pH en H<sub>2</sub>O y KCl) y contenido total de C y N en los suelos de las distintas poblaciones de *Santolina* (PR = Peña retuerta, AC = Alto do Couto, RL = Ribadelago, SA = Samil, RS = Río Seco). Valores medios y desviación típica (n=5).

	<i>S. rosmarinifolia</i>		<i>S. semidentata</i>				<i>S. melidensis</i>			
	PR		AC		RL		SA		RS	
	Media	Desvest	Media	Desvest	Media	Desvest	Media	Desvest	Media	Desvest
pH (H <sub>2</sub> O)	6,8	0,3	6,3	0,4	4,3	0,4	6,5	0,1	6,5	0,2
pH (KCl)	6,3	0,4	6,0	0,3	3,8	0,4	5,9	0,1	5,9	0,2
C total (%)	1,36	0,49	6,36	0,04	6,20	2,17	2,49	0,43	3,70	1,15
N total (%)	0,08	0,04	0,54	0,02	0,44	0,15	0,18	0,04	0,19	0,09
Rel. C:N	17,00	-	11,78	-	14,09	-	13,83	-	19,47	-

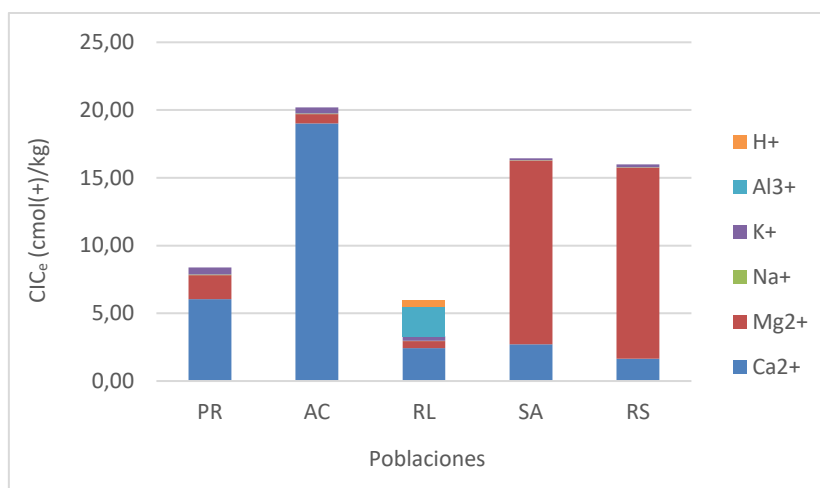
Los valores de CIC<sub>e</sub> obtenidos en los suelos oscilaron entre 5,95 y 20,19 cmol(+)/kg (Tabla 3). Los valores más bajos se corresponden con el suelo de Ribadelago, donde su textura areno-francosa y su carácter ácido afectan negativamente a su CIC<sub>e</sub>, por lo que la disponibilidad de cationes intercambiables se ve reducida (Foth, 1990, 176-178). Los bajos niveles de pH en H<sub>2</sub>O y KCl que presenta este suelo (Tabla 2) son indicativos de un alto contenido de Al<sup>3+</sup>, que llega a representar un 36% del total de su CIC<sub>e</sub>. Altas

concentraciones de  $Al^{3+}$  en el suelo pueden resultar especialmente tóxicas para un gran número de especies vegetales, afectando gravemente a su desarrollo (Rahman y Upadhyaya, 2020). Por otra parte, el suelo de Alto do Couto presentó los valores más altos en su  $CIC_e$ , lo que confiere a las plantas una gran disponibilidad de nutrientes.

En la mayoría de los suelos, el catión predominante fue el  $Ca^{2+}$ , a excepción de los suelos serpentínicos (Samil y Río Seco), donde el  $Mg^{2+}$  resultó ser el catión mayoritario (Figura 2). El calcio contribuye a multitud de procesos que afectan al desarrollo y mantenimiento de las plantas (White y Broadley, 2003), por lo que un descenso en la disponibilidad de este nutriente podría resultar perjudicial para un gran número de especies vegetales.

**Tabla 3.** Cationes de cambio y  $CIC_e$  en los suelos de las distintas poblaciones de *Santolina* (PR = Peña retuerta, AC = Alto do Couto, RL = Ribadelago, SA = Samil, RS = Río Seco). Valores medios y desviación típica (n=5).

		<i>S. rosmarinifolia</i>		<i>S. semidentata</i>						<i>S. melidensis</i>	
		PR		AC		RL		SA		RS	
		Media	Desvest	Media	Desvest	Media	Desvest	Media	Desvest	Media	Desvest
$cmol(+)/kg$	$Ca^{2+}$	6,04	2,69	19,02	1,91	2,42	1,73	2,72	0,53	1,64	0,40
	$Mg^{2+}$	1,77	0,55	0,68	0,42	0,52	0,24	13,55	1,87	14,11	3,44
	$Na^+$	0,05	0,01	0,04	0,01	0,03	0,01	0,02	0,00	0,03	0,01
	$K^+$	0,53	0,16	0,45	0,23	0,34	0,10	0,14	0,03	0,20	0,06
	$Al^{3+}$	-	-	-	-	2,15	1,43	-	-	-	-
	$H^+$	-	-	-	-	0,49	0,29	-	-	-	-
	$CIC_e$	8,39		20,19		5,95		16,43		15,98	



**Figura 2.** Valores medios de los cationes de cambio en los suelos de las distintas poblaciones de *Santolina* (PR = Peña retuerta, AC = Alto do Couto, RL = Ribadelago, SA = Samil, RS = Río Seco).

Los suelos de las distintas poblaciones mostraron variaciones significativas en las diferentes formas de Fe y Al (Tabla 4). En el caso del Fe predominó su forma libre ( $Fe_D$ )

en todos los suelos, con valores comprendidos entre 2745,77 y 40826,77 mg/kg. Las máximas concentraciones se obtuvieron en los suelos serpentínicos (Samil y Río Seco).

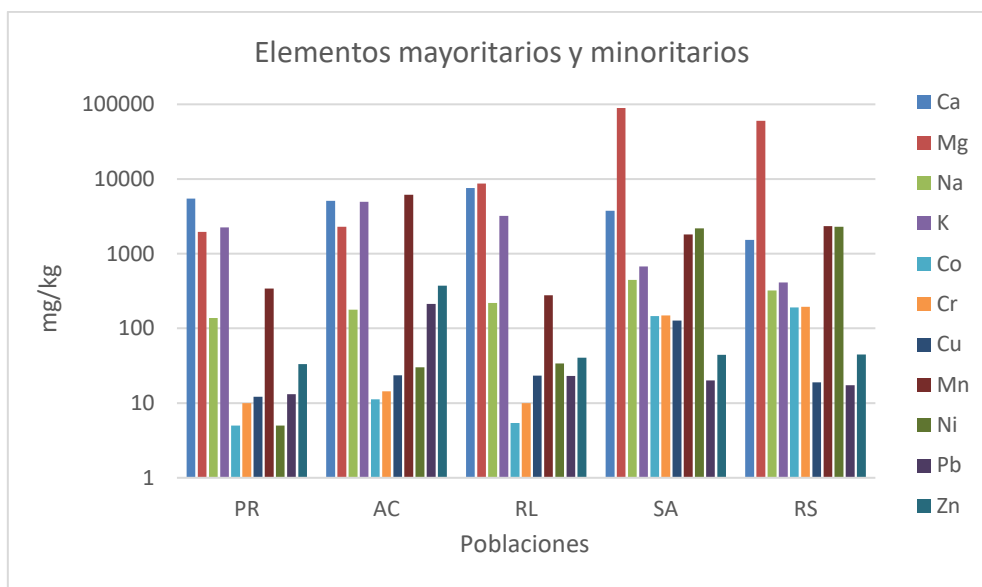
Por otra parte, las formas de hierro no cristalinas ( $Fe_O$ ) y ligadas a la materia orgánica ( $Fe_P$ ) mostraron valores significativamente más bajos, de entre 945,45 y 5370,51 mg/kg en el caso del  $Fe_O$  y de entre 322,23 y 1548,81 mg/kg en el caso del  $Fe_P$  (Tabla 4). En el suelo de Ribadelago, los valores de las tres formas de Fe llegaron a equipararse, siendo este suelo el que presentó la mayor proporción de  $Fe_P$ , de 1548,81 mg/kg.

En el caso del Al, en todos los suelos predominó su forma no cristalina ( $Al_O$ ), con valores comprendidos entre 430,61 y 3536,67 mg/kg (Tabla 4). Las máximas concentraciones se obtuvieron en el suelo de Alto do Couto. Por otra parte, en el caso del Al ligado a la materia orgánica ( $Al_P$ ), los valores más bajos se localizaron en los suelos serpentínicos (Samil y Río Seco), mientras que los suelos de Alto do Couto y Ribadelago mostraron una mayor abundancia de  $Al_P$ .

**Tabla 4.** Extracciones selectivas de Fe y Al con ditionito-citrato ( $Fe_D$  y  $Al_D$ ), oxalato ( $Fe_O$  y  $Al_O$ ) y pirofosfato ( $Fe_P$  y  $Al_P$ ) en los suelos de las distintas poblaciones de *Santolina* (PR = Peña retuerta, AC = Alto do Couto, RL = Ribadelago, SA = Samil, RS = Río Seco). Valores medios y desviación típica (n=5).

		<i>S. rosmarinifolia</i>		<i>S. semidentata</i>				<i>S. melidensis</i>			
		PR		AC		RL		SA		RS	
		Media	Desvest	Media	Desvest	Media	Desvest	Media	Desvest	Media	Desvest
mg/kg	$Fe_D$	2745,77	475,11	16458,81	6187,28	4050,37	1445,79	27847,60	3851,08	40826,77	7018,68
	$Al_D$	242,45	40,47	1982,54	796,68	1409,38	397,29	1099,13	147,25	1985,20	526,50
	$Fe_O$	945,45	463,36	4012,08	303,11	2223,67	811,26	5066,77	2352,33	5370,51	2111,12
	$Al_O$	430,61	92,80	3536,67	368,57	1999,70	698,01	2016,04	858,78	2107,87	784,56
	$Fe_P$	322,23	163,32	463,47	121,22	1548,81	522,22	499,67	207,75	666,50	319,00
	$Al_P$	376,40	169,31	1175,95	161,41	1922,07	643,47	347,82	80,49	292,64	79,10

El contenido total de elementos mayoritarios y minoritarios (Figura 3) mostró una predominancia del calcio en relación con el magnesio en los suelos de las poblaciones de Peña Retuerta y Alto do Couto. Sin embargo, en el caso de los suelos ácidos (Ribadelago) y especialmente en los suelos serpentínicos (Samil y Río Seco), la relación Ca:Mg se invirtió, siendo este último el catión predominante. Las altas concentraciones de Mg, junto con la presencia de elevados niveles de metales pesados (cobalto, cromo, níquel), hacen que los suelos serpentínicos presenten un carácter extremadamente selectivo; ya que solo las especies que sean tolerantes a estos factores serán capaces de desarrollarse en ellos (Palm y Van Volkenburgh, 2014).

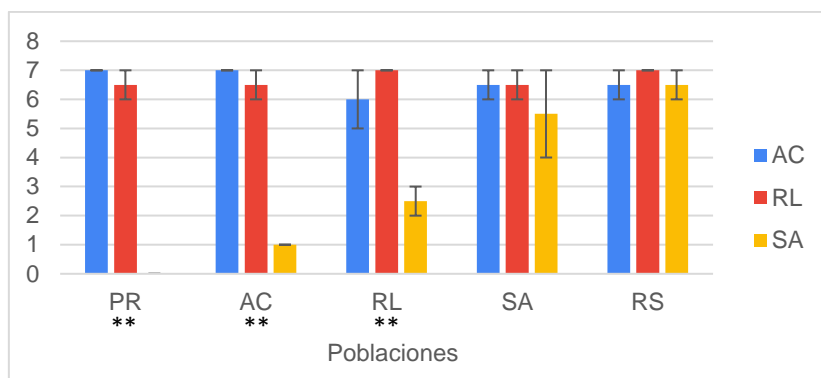


**Figura 3.** Valores medios del contenido total de elementos mayoritarios y minoritarios en los suelos de las distintas poblaciones de *Santolina* (PR = Peña retuerta, AC = Alto do Couto, RL = Ribadelago, SA = Samil, RS = Río Seco), representados en escala logarítmica en base 10.

### Análisis del experimento de cultivo

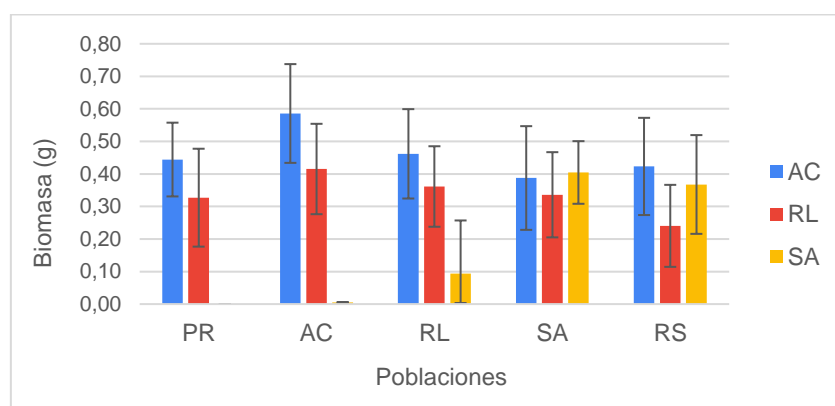
En las Figuras 4-7 se presentan los resultados obtenidos en el experimento de cultivo en invernadero de las poblaciones de *S. rosmarinifolia* (Peña Retuerta), *S. semidentata* (Alto do Couto, Ribadelago y Samil) y *S. melidensis* (Río Seco) sobre suelos de Alto do Couto, Ribadelago y Samil.

La supervivencia de las distintas poblaciones de *Santolina* se vio condicionada por el suelo de cultivo empleado (Figura 4). Las poblaciones de Peña Retuerta, Alto do Couto y Ribadelago mostraron valores constantes en los suelos de Alto do Couto y Ribadelago de entre 6 y 7 plantas. Sin embargo, el análisis estadístico mostró un descenso significativo en la supervivencia de estas poblaciones en el suelo serpentínico de Samil ( $p < 0,05$ ), llegando a sobrevivir 1 planta en el caso de Alto do Couto y 2-3 en el caso de Ribadelago. Por otra parte, las poblaciones de Samil y Río Seco, que se desarrollan naturalmente en suelos serpentínicos, mostraron una buena capacidad supervivencia en todos los cultivos, con valores medios comprendidos entre 5,5 y 7 plantas en el caso de Samil y entre 6,5 y 7 plantas en el caso de Río Seco.



**Figura 4.** Supervivencia de las poblaciones de *S. rosmarinifolia* (PR), *S. semidentata* (AC, RL y SA) y *S. melidensis* (RS) sobre suelos de Alto do Couto (AC), Ribadelago (RL) y Samil (SA). Valores medios y desviación típica (n=7). Se señalan aquellas que presentaron diferencias significativas en el análisis estadístico ( $p < 0,05$ ).

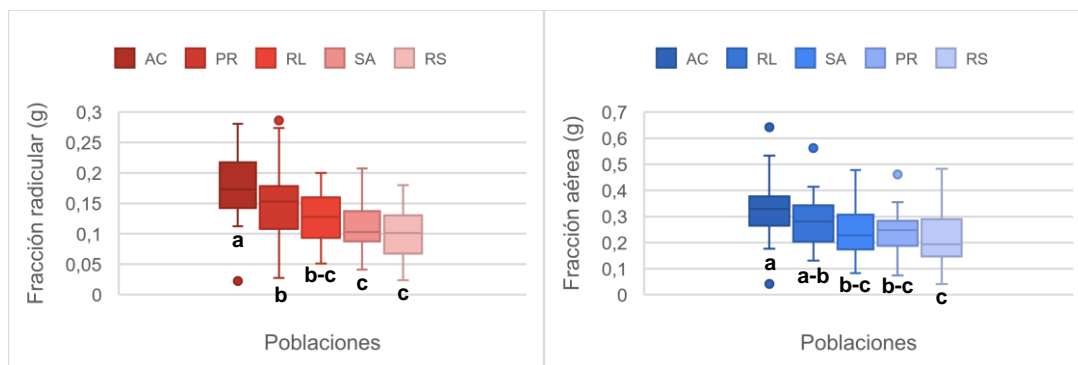
La biomasa obtenida para las diferentes especies de *Santolina* se vio también condicionada por el suelo de cultivo empleado, siguiendo un patrón similar al obtenido al evaluar la supervivencia (Figura 5). Las poblaciones de Peña Retuerta, Alto do Couto y Ribadelago obtuvieron elevados valores de biomasa en el cultivo sobre suelos de Alto do Couto, comprendidos entre 0,44 y 0,59 g; y Ribadelago, entre 0,33 y 0,42 g. Sin embargo, la biomasa se vio considerablemente reducida en el cultivo sobre suelos serpentínicos de Samil, con valores medios entre 0,01 y 0,09 g. Las plantas de la población de Peña Retuerta no fueron capaces de sobrevivir en este suelo, mientras que en las poblaciones de Samil y Río Seco se obtuvieron valores similares de biomasa en todos los suelos de cultivo. La evaluación de la supervivencia y biomasa total confirman el elevado carácter selectivo de los suelos serpentínicos, donde sólo las poblaciones adaptadas a estos ambientes son capaces de desarrollarse correctamente.



**Figura 5.** Biomasa total de las poblaciones de *S. rosmarinifolia* (PR), *S. semidentata* (AC, RL y SA) y *S. melidensis* (RS) cultivadas sobre suelos de Alto do Couto (AC), Ribadelago (RL) y Samil (SA). Valores medios y desviación típica (n=7).

El análisis estadístico de los cultivos en los suelos de Alto do Couto y Ribadelago puso de manifiesto la existencia de diferencias significativas entre la biomasa obtenida en las diferentes poblaciones ( $p < 0,001$ ), mientras que no se encontraron diferencias en la biomasa de cada población creciendo en cada uno de los suelos ( $p > 0,05$ ) (sin considerar el cultivo sobre el suelo de Samil). Los índices más bajos de las fracciones radiculares y aéreas se obtuvieron en la población de *S. melidensis* (Río Seco), con valores medios entre 0,06 y 0,13 g en la fracción radicular y entre 0,15 y 0,29 g en la fracción aérea (Figura 6). La población de *S. semidentata* de Alto do Couto mostró el mejor desarrollo, con valores entre 0,14 y 0,22 g en la fracción radicular y entre 0,18 y 0,38 g en la fracción aérea.

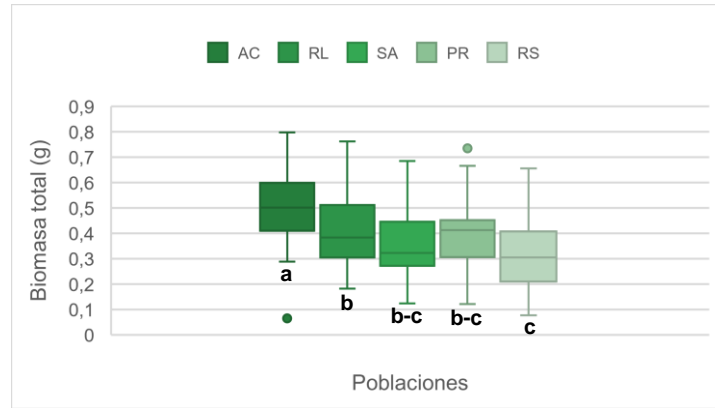
En todos los suelos de cultivo, la fracción predominante de la biomasa resultó ser la parte aérea; es decir, aquella comprendida por el tallo y las hojas. Un mayor desarrollo de la fracción aérea puede deberse a múltiples motivos. Un aumento en los niveles de radiación y CO<sub>2</sub> podrían incrementar la tasa fotosintética de las plantas, lo que aumentaría a su vez la demanda de nutrientes, estimulándose el desarrollo de la fracción radicular. Por otra parte, una baja disponibilidad de agua y nutrientes podría obstaculizar el crecimiento de la planta, por lo que se incrementará la fracción radicular (Poorter y Nagel, 2000). Los niveles controlados de estos factores en el cultivo en invernadero propiciaron por tanto un mayor desarrollo de la parte aérea de las plantas.



**Figura 6.** Distribución de la biomasa (fracción radicular y aérea) de las poblaciones de *S. rosmarinifolia* (PR), *S. semidentata* (AC, RL y SA) y *S. melidensis* (RS) considerando los cultivos sobre suelos de Alto do Couto y Ribadelago. Se señalan las variaciones significativas obtenidas en el análisis estadístico ( $p < 0,05$ ).

La biomasa total obtenida en las diferentes poblaciones siguió un patrón de distribución muy similar (Figura 7). Los índices más bajos se obtuvieron en la población de *S. melidensis* (Río Seco), con valores que oscilaron entre 0,21 y 0,41 g; mientras que la

población de *S. semidentata* de Alto do Couto mostró el mejor desarrollo, con valores comprendidos entre 0,41 y 0,59 g. Las plantas de *S. semidentata* de Samil mostraron mejores resultados en comparación con las de *S. melidensis* (RS), a pesar de que ambas poblaciones se desarrollan en ambientes prácticamente idénticos.



**Figura 7.** Distribución de la biomasa total de las poblaciones de *S. rosmarinifolia* (PR), *S. semidentata* (AC, RL y SA) y *S. melidensis* (RS) considerando los cultivos sobre suelos de Alto do Couto y Ribadelago. Se señalan las variaciones significativas obtenidas en el análisis estadístico ( $p < 0,05$ ).

### Establecimiento de relaciones planta-suelo

La caracterización de los suelos en los que se desarrollan naturalmente las tres especies de *Santolina* (Tablas 1-4 y Figuras 1-3) y los resultados obtenidos en el experimento de cultivo (Figuras 4-7) permiten evaluar la existencia de ecotipos edáficos para las poblaciones de *S. rosmarinifolia*, *S. semidentata* y *S. melidensis*:

*S. rosmarinifolia* (Peña Retuerta) se desarrolla naturalmente en suelos de textura arenofrancosa, con pH neutro y una CIC<sub>e</sub> moderada (donde el Ca<sup>2+</sup> es el catión predominante). Estas plantas mostraron una alta tasa de supervivencia en los suelos fértiles de Alto do Couto, que presentan una gran disponibilidad de nutrientes; y en los suelos ácidos de Ribadelago, que presentan altas concentraciones de Al<sup>3+</sup>. Diversos mecanismos, como la regulación hormonal a través de auxinas o la absorción de diferentes macro y micro nutrientes, podrían mitigar la toxicidad de estos ambientes ácidos (Rahman y Upadhyaya, 2020). Sin embargo, estas plantas fueron incapaces de sobrevivir en suelos serpentínicos, debido a las altas concentraciones de Mg y metales pesados tóxicos que presentan, lo cual hace que estos suelos sean inhabitables para un gran número de especies vegetales (Palm y Van Volkenburgh, 2014).

*S. semidentata* mostró capacidades de adaptación y desarrollo diferentes en base a las características de los suelos donde se desarrollaron naturalmente:

Las *S. semidentata* de Alto do Couto crecen naturalmente en suelos muy fértiles, que presentan un alto contenido en materia orgánica y amplia disponibilidad de nutrientes (en los que el  $\text{Ca}^{2+}$  es el catión predominante). Como en el caso anterior, estas plantas mostraron una alta supervivencia en los suelos de Alto do Couto y Ribadelago, pero cedieron ante los suelos serpentínicos, donde su supervivencia fue extremadamente baja. Las plantas de esta población mostraron los mejores valores de biomasa en sus fracciones radicular y aérea, fruto de desarrollarse de forma natural en suelos con una elevada fertilidad y ausencia de contaminantes tóxicos.

Las *S. semidentata* de Ribadelago crecen naturalmente en suelos con un fuerte carácter ácido, que presentan elevadas concentraciones de  $\text{Al}^{3+}$  tóxico. Estas plantas mostraron también una alta supervivencia en los suelos de Alto do Couto y Ribadelago. Sin embargo, al contrario que las *S. semidentata* de Alto do Couto, estas sí fueron capaces de germinar en los suelos serpentínicos, aunque su desarrollo se vio especialmente mermado. Su capacidad de adaptación a estos suelos podría explicarse por el alto contenido en Mg que presentan los suelos de Ribadelago, que si bien no llega a equipararse con los valores de los suelos serpentínicos, podría incrementar su tolerancia a estos ambientes tan restrictivos (Taylor y Levy, 2002). Este fenómeno se conoce como “conditional neutrality”, donde las adaptaciones locales previas de una especie favorecen su plasticidad (Anderson *et al.*, 2012).

Las *S. semidentata* de Samil se desarrollan naturalmente en suelos serpentínicos con elevadas concentraciones de Mg y metales pesados tóxicos (donde el catión predominante es el  $\text{Mg}^{2+}$ ). En el caso de esta población, se obtuvieron elevados valores de supervivencia y biomasa en los tres suelos de cultivo. Resulta interesante el hecho de que estas plantas sean capaces de desarrollarse correctamente en los suelos más favorables de Alto do Couto y Ribadelago. Esto podría resultar contradictorio, ya que los suelos serpentínicos constituyen una importante fuente de endemismos. Una explicación a este fenómeno puede encontrarse en que estos suelos actúan como refugio frente a la competición, por lo que estas plantas no estarían restringidas por una cuestión de disponibilidad de nutrientes, sino por una cuestión de supervivencia (Anacker, 2014).

*S. melidensis*, que surge exclusivamente en suelos serpentínicos (Río Seco), mostró características muy similares a las de la población de *S. semidentata* extraída de Samil. Fue capaz de desarrollarse perfectamente en los suelos de Alto do Couto y Samil. Sin embargo, se observó un notable descenso en la biomasa obtenida en el suelo de Ribadelago y en su biomasa total, en comparación con su homóloga *S. semidentata* que crece en suelos serpentínicos de Samil. Esto podría ser fruto de un proceso evolutivo, en el que los ecotipos de una especie se acaban convirtiendo en endemismos (Anacker, 2014; Rajakaruna, 2018). Así, *S. melidensis* se habría originado como resultado del aislamiento geográfico en suelos serpentínicos de poblaciones de *S. semidentata*, desarrollando estrategias fisiológicas para poder adaptarse mejor a estos suelos. En este caso, las plantas de *S. melidensis* adquirirían un carácter excluyente, limitando la absorción de los diferentes macro y micro nutrientes, lo que se traduciría en un menor desarrollo de las fracciones radicular y aérea (Mengoni *et al.*, 2012).

## CONCLUSIONES

Este trabajo puso de manifiesto la existencia de ecotipos edáficos para las diferentes especies de *Santolina* objeto de estudio, especialmente en el caso de *S. semidentata*, en el que el suelo original de las poblaciones estudiadas condicionó su plasticidad ante diferentes ambientes. Se comprobó cómo las plantas de *S. semidentata* que surgen en suelos fértiles desarrollan una mayor biomasa que aquellas cuyo suelo de origen es ácido y presenta toxicidad por  $Al^{3+}$ , o bien se trata de un suelo serpentínico con altas concentraciones de Mg y metales pesados. Sin embargo, se comprobó también que las poblaciones que crecen naturalmente en estos suelos adversos presentan un mayor grado de adaptabilidad; especialmente las poblaciones que surgen de suelos serpentínicos.

La identificación de estos ecotipos permite comprender mejor la distribución que adoptan las especies de *Santolina* en la zona del noroeste peninsular. Definir y caracterizar las relaciones que se establecen entre las plantas y el suelo donde se originan resultan claves a la hora de entender los procesos evolutivos que dan lugar a endemismos, como podría ser el caso de *S. melidensis*. Conocer los ecotipos de estas especies permitirá elaborar estrategias de conservación más eficaces que garanticen su supervivencia.

## BIBLIOGRAFÍA

Anacker, B.L. (2014). “The nature of serpentine endemism”, *American Journal of Botany*, 101(2), pp. 219–224.

Anderson, J.T. *et al.* (2013). “Genetic trade-offs and conditional neutrality contribute to local adaptation”, *Molecular Ecology*, 22(3), pp. 699–708.

Carballal, R. (2022) *Sistemática, filoxenia e bioxeografía do xénero Santolina l. (compositae)*. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela.

Foth, H.D. (1990). *Fundamentals of Soil Science*. 8ª edición. New York, Michigan State University, John Wiley & Sons.

Holmgren, G.S. (1967). “A Rapid Citrate-Dithionate Extractable Iron Procedure”, *Soil Science society of America Proceedings*, 31, pp. 210-221.

Hufford, K.M. y Mazer, S.J. (2003). “Plant ecotypes: genetic differentiation in the age of ecological restoration”, *Trends in Ecology & Evolution*, 18(3), pp. 147–155.

Kirkby, C.A. *et al.* (2011) “Stable soil organic matter: A comparison of C:N:P:S ratios in Australian and other world soils”, *Geoderma*, 163(3), pp. 197–208.

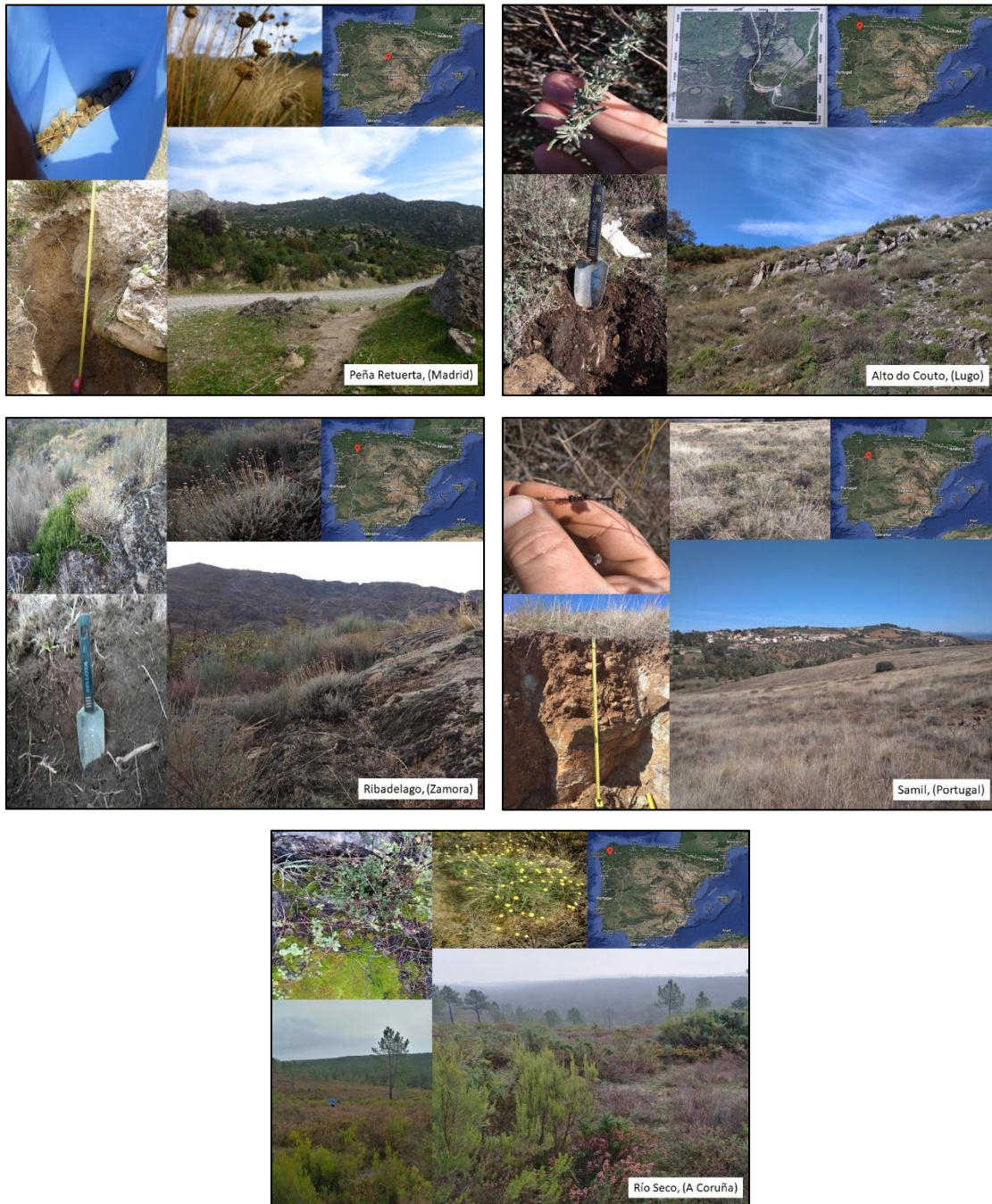
Mengoni, A., Cecchi, L. y Gonnelli, C. (2012). “Nickel Hyperaccumulating Plants and *Alyssum bertolonii*: Model Systems for Studying Biogeochemical Interactions in Serpentine Soils”, en E. Kothe y A. Varma *Bio-Geo Interactions in Metal-Contaminated Soils*. Berlin, Heidelberg: Springer (Soil Biology), pp. 279–296.

Ortiz, S y Rodríguez-Oubiña, J (2019). “*Santolina melidensis*”, en *Atlas y Libro Rojo de la Flora Vasculare Amenazada de España*. Madrid, Ministerio para la Transición Ecológica (MITECO).

Palm, E.R. y Van Volkenburgh, E. (2014). “Physiological adaptations of plants to serpentine soil”, en N. Rajakaruna, R. Boyd, y T. Harris *Plant Ecology and Evolution in Harsh Environments*. New York, Nova Science Publishers, Inc., pp. 129–147.

- Poorter, H. y Nagel, O.W. (2000). “The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO<sub>2</sub>, nutrients and water: A quantitative review”, *Functional Plant Biology*, 27.
- R Core Team (2022): *R: A language and environment for statistical computing*. Disponible en: <https://www.R-project.org/>. [Consulta: 30 de Junio de 2023].
- Rahman, R. y Upadhyaya, H. (2020). “Aluminium Toxicity and Its Tolerance in Plant: A Review”, *Journal of Plant Biology*, 64(2), pp. 101–121.
- Rajakaruna, N. (2018). “Lessons on Evolution from the Study of Edaphic Specialization”, *The Botanical Review*, 84(1), pp. 39–78.
- Rodríguez Oubiña, J. y Ortiz, S. (1997). “Unha nova combinación en Santolina L. (Compositae)”, *Nova Acta Científica Compostelana (Biología)*, 8, pp. 299–300.
- Sáez, L., Ortiz, S. y Carbajal, R. (2019). “Santolina”, en *Flora Iberica. Vol. XVI (III)*. Madrid, Real Jardín Botánico, CISIC, pp. 1938–1962.
- Singh, B., Cattle, S.R. y Field, D.J. (2014). “Edaphic Soil Science, Introduction to”, en N.K. Van Alfen *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems, Volume 3*, Oxford, Academic Press, pp. 35–58.
- Smith, B.F. (1994). “Characterization of poorly ordered minerals by selective chemical methods”, en M. J. Wilson, *Clay mineralogy spectroscopic and chemical determinative methods*, London, Chapman & Hall, pp. 333-357.
- Sultan, S.E. (1995). “Phenotypic plasticity and plant adaptation”, *Acta Botanica Neerlandica*, 44(4), pp. 363–383.
- Taylor, S.I. y Levy, F. (2002). “Responses to soils and a test for preadaptation to serpentine in *Phacelia dubia* (Hydrophyllaceae)”, *The New Phytologist*, 155(3), pp. 437–447.
- White, P.J. y Broadley, M.R. (2003). ‘Calcium in Plants’, *Annals of Botany*, 92(4), pp. 487–511.

## MATERIAL SUPLEMENTARIO



**Imagen 1.** Muestreo de suelos y recolección de los frutos de las poblaciones estudiadas de *Santolina rosmarinifolia* (Peña retuerta), *Santolina semidentata* (Alto do Couto, Ribadelago y Samil) y *Santolina melidensis* (Río Seco).