

Actualización del Estado de Conservación de la Ashpa Cebolla (*Phaedranassa schizantha*), una Especie Endémica de la Sierra Central del Ecuador

Nora Helena OLEAS GALLO

Centro de Investigación de la Biodiversidad y
el Cambio Climático
Universidad Tecnológica Indoamérica
Av. Machala y Sabanilla; Quito, Ecuador
noraoleas@gmail.com

RESUMEN

Phaedranassa schizantha (Amaryllidaceae), conocida como “ashpa cebolla” o “falsa cebolla”, es una especie de planta bulbosa endémica de la sierra central del Ecuador. Debido a su distribución geográfica restringida y al reducido número de poblaciones, *P. schizantha* se encuentra categorizada como *En Peligro de Extinción* según los criterios de la lista roja para especies en peligro de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. La variedad *ignea*, localizada alrededor de Ambato, está clasificada como *En Peligro Crítico*, según los mismos estándares. El objetivo de esta investigación es actualizar el estado de conservación de *P. schizantha*. Tras analizar la estructura genética en doce localidades, utilizando microsatélites, no se encontraron diferencias genéticas que justifiquen la separación de la especie en dos variedades. Se sugiere que las variedades *schizantha* e *ignea* sean consideradas sinónimos y se clasifique el grado de amenaza de la especie como un solo taxón. Basada en la extensión de presencia de la especie, recomiendo mantener la categoría de “*En Peligro*” para *P. schizantha*, según los criterios de la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza.

PALABRAS CLAVE

Conservación, Criterios UICN, genética de paisaje, modelos distribución de especies, *Phaedranassa schizantha*.

ABSTRACT

Phaedranassa schizantha (Amaryllidaceae), known as “ashpa cebolla” or “fake onion”, is a bulbous plant species endemic to the central Andes of Ecuador. With a restricted geographic distribution and few populations, *P. schizantha* is classified as *Endangered* under the International Union for the Conservation of Nature red list of threatened species criteria. The variety *ignea*, limited to the area close to Ambato city, is categorized as *Critically Endangered* following the same standards. The objective of this research is to update the conservation status of *P. schizantha*. After analyzing the population genetic structure of twelve localities using microsatellite loci, I did not find genetic evidence to separate genetically the species into two varieties. Therefore, I suggest that the varieties *schizantha* and *ignea* are synonyms and their degree of threatened need to be assessed as one taxon. Based on the extension of presence of the species, I recommend maintaining the category “*Endangered*” for *P. schizantha*, under the International Union for the Conservation of Nature red list criteria.

KEYWORDS

Conservation, IUCN criteria, landscape genetics, *Phaedranassa schizantha*, species distribution models.



1. Introducción

La conservación de especies en Ecuador es urgente, no solo porque es un país megadiverso [1], sino también porque se calcula que el país tiene el mayor porcentaje de deforestación en América del Sur [2]. La mayoría de especies de plantas endémicas del Ecuador se distribuyen en los Andes, entre los 1500 y 3500 m [3]. Los bosques andinos han sido afectados por las actividades humanas y en la actualidad solo existe una pequeña fracción de este ecosistema [4]. Por lo tanto, hay una necesidad de conocer el estado de conservación de las especies andinas del Ecuador para diseñar planes que aseguren su persistencia a largo plazo.

Phaedranassa schizantha (Amaryllidaceae) es una planta bulbosa, endémica de la Sierra central del Ecuador (Figura 1 y 2). Originalmente, *P. schizantha* fue descrita por Baker en 1880 [5]. Un siglo después, Meerow separó a la especie en dos variedades: *P. schizantha* var. *schizantha* (Figura 1) y *P. schizantha* var. *ignea* (Figura 2) [6]. Ambas variedades se diferencian principalmente por el color de las flores (rosa y salmón-rosa, respectivamente) y su distribución geográfica. *Phaedranassa schizantha* es una especie que solo habita la zona central del callejón interandino en el Ecuador. Es conocida por diez poblaciones [7], dos de las cuales se encuentran como remanentes en la ciudad de Ambato (Figura 3). Debido a su distribución geográfica restringida y al reducido número de poblaciones, esta especie se encuentra categorizada como En Peligro de Extinción bajo los criterios de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) [8]. Además, la variedad *P. schizantha* var. *ignea* está clasificada como En Peligro Crítico [8].

El presente estudio tiene como finalidad actualizar el estado de conservación de *P. schizantha*, utilizando herramientas moleculares y sistemas de información geográfica. Los objetivos específicos de esta investigación son: 1) determinar si existen diferencias genéticas entre las variedades de *P. schizantha*, 2) reportar el número de localidades donde esta especie ha sido colectada, 3) calcular la extensión de pre-

sencia de la especie y 4) clasificar el grado de amenaza de *P. schizantha* siguiendo los criterios del a UICN. Esta información es necesaria como fundamento para definir prioridades en planes de conservación de la especie.



Figura 1. Inflorescencia de *P. schizantha* var. *schizantha*.

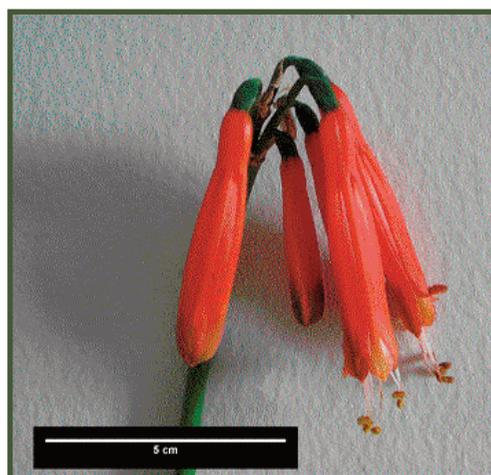


Figura 2. Inflorescencia de *P. schizantha* var. *ignea*.

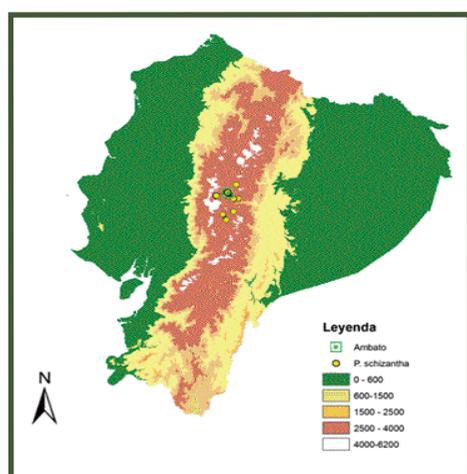


Figura 3. Distribución geográfica de *P. schizantha*. Los círculos amarillos representan las localidades donde se han colectado individuos de la especie.

2. Métodos

2.1 Análisis genético

Se colectaron aproximadamente 2 g de hojas frescas de 334 individuos en 12 localidades identificadas por letras de la A–L (Figura 3). Cada muestra fue secada rápidamente en fundas plásticas con silica gel, para preservar el ADN. La extracción de ADN se realizó con el kit FastDNA kit (QBIogene). Se amplificaron 13 loci de microsatélites, utilizando cebadores diseñados para el género [7]. Los protocolos para las reacciones de cadena de la polimerasa y para el análisis de fragmentos siguieron los métodos de Oleas [7], Oleas et al. [9] y Oleas et al. [10].

Las relaciones genéticas entre poblaciones de ambas variedades fueron estimadas con tres métodos. Primero, se realizó un análisis de agrupamiento utilizando la distancia Chord [11] con el método del vecino más cercano NJ (*Neighbor Joining*) en el programa POPULATIONS 1.2.30 [12] y cuyo resultado fue visualizado en MEGA 4 [13]. Luego, se generó un análisis de componentes principales en el programa GENALEX 6.3 [14]. Por último, se realizó un análisis Bayesiano para asignar individuos en grupos genéticos con el programa STRUCTURE 2.2. [15], en BIOPORTAL [16]. El número

de grupos genéticos K se estimó con 20 corridas de 1 millón de repeticiones, descartando las primeras 500.000 repeticiones. El valor K se calculó en STRUCTURE HARVESTER [17], con el método de Evanno et al. [18]. El resultado final es un consenso de los 20 análisis independientes con el K óptimo en CLUMPP 1.1.2 [19], y visualizados en DISTRUCT 1.1 [20].

2.2. Distribución geográfica

Los registros geo-referenciados de *P. schizantha* fueron obtenidos de la base de datos TROPICOS del Missouri Botanical Garden (<http://www.tropicos.org>) [21] y de salidas de campo [7]. Además se revisaron los especímenes depositados en los Herbarios QCA y QCNE de Quito, Ecuador y MOBOT en St. Louis, Missouri, USA. El modelo de distribución de la especie se realizó con el método de la Entropía Máxima en el programa MAXENT ver. 3.3.3a [22]. El método de la Entropía Máxima es apropiado cuando se dispone de datos de presencia [23] y es menos sensible al número de muestra que otros métodos [24, 25, 26, 27], lo cual es importante en el caso de especies en peligro, ya que por lo general son conocidas por pocos registros. Para el modelo se usaron las 19 variables bioclimáticas a resolución ~ 1 km², disponibles a través de WorldClim (www.worldclim.org) [28, 29]. El modelo resultante fue evaluado con el valor AUC (área bajo la curva, siglas en inglés) a través de análisis ROC (curva operacional) que estima la relación entre los falsos y los verdaderos positivos [30].

Tabla 1. Colecciones de *Phaedranassa schizantha*

ID	Localidad	Altitud (m)	Coordenadas Lat/Long
A	Hacienda Yanayacu	2850	-1.0/-78.4
B	Ambato, frente a Jardín Botánico Atocha	2516	-1.4/-78.4
C	Ambato	2500	-1.2/-78.6
D	Santa Rosa	2872	-1.2/-78.6
E	Tilulun	2693	-1.5/-78.4
F	Carretera antigua Ambato-Guaranda	3000	-1.2/-78.7
G	Pelileo	2600	-1.3/-78.5
H	Salasaca	2800	-1.3/-78.4
I	Penipe	2511	-1.5/-78.5
K	Afuera Riobamba	2790	-1.6/-78.6
J	Carretera Riobamba-Ambato	2759	-1.5/-78.6
L	Cerca de Punin	2500	-1.7/-78.6

2.3. Criterios UICN

Para definir el grado de amenaza de *P. schizantha*, se utilizaron los criterios de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza [31]. La UICN emplea cinco criterios: A) reducción de la población, B) tamaño de la distribución geográfica y fragmentación, reducción o fluctuación, C) tamaño pequeño de población y fragmentación, reducción o fluctuación, D) poblaciones muy pequeñas y con distribución muy restringida y E) análisis cuantitativo del riesgo de extinción. Se aplicaron los criterios A, B, C, D para definir el grado de amenaza de *P. schizantha*. No se utilizaron las categorías C, D y E porque no se contaba con estudios cuantitativos del número de individuos por población, ni del riesgo de extinción para esta especie.

Para los criterios A y B, se calculó la extensión de presencia (EOP extent of occurrence, siglas en inglés). La EOP es definida por la UICN como el área que contiene todos los sitios donde se ha encontrado a un taxón [31]. Esta extensión corresponde al polígono mínimo que encerraba los registros geo-referenciados de *P. schizantha* en ArcMap 9.2 (ESRI).

3. Resultados y Discusión

3.1 Análisis genético

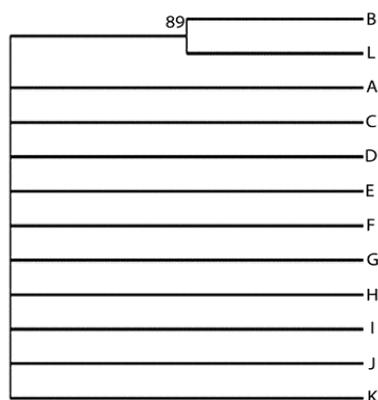


Figura 4. Análisis de agrupamiento de *P. schizantha*, con la distancia Chord [11] mediante NJ. Las letras indican la localidad de colección (A-L). El número corresponde al porcentaje de aleatorización muestral (*bootstrap value*) calculado sobre 10000 repeticiones: no se incluyeron valores <50%.

Todos los loci de microsatélites fueron polimórficos a nivel de poblaciones. Tanto el análisis de agrupamiento por el método del vecino más cercano (Figura 4), como el análisis de componentes principales (Figura 5), mostraron similitud genética de los sitios colectados de *P. schizantha*. No se evidenció estructura genética en la muestra. Estos resultados no respaldan la diferenciación de *P. schizantha* en dos variedades.

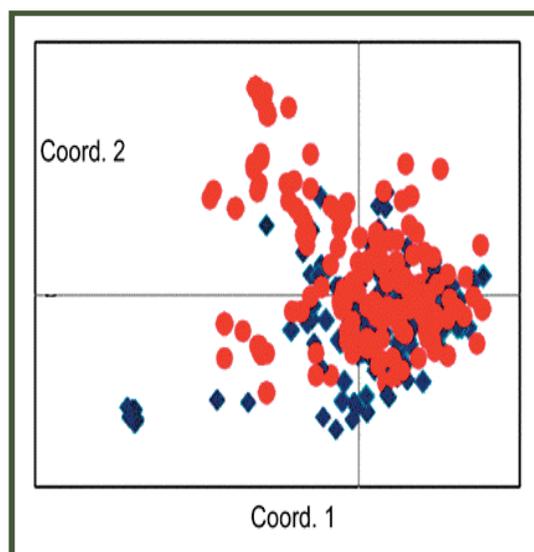


Figura 5. Análisis de componentes principales de *P. schizantha*. Los círculos rojos son individuos de *P. schizantha* var. *schizantha* y los rombos azules corresponden a *P. schizantha* var. *ignea*.

El análisis Bayesiano identificó tres grupos genéticos en la muestra de *P. schizantha* (Figura 6). Estos grupos no corresponden a ninguna de las variedades descritas (Figura 6). Además, en la localidad I (Penipe) se encontraron individuos de ambas variedades (morfológicamente). Sin embargo, genéticamente no se identificaron diferencias genéticas en los individuos de esta localidad, como se hubiera esperado si correspondían a grupos genéticos distintos (Figura 6).

Los resultados de los tres análisis no confirman la diferenciación genética de *P. schizantha* en dos variedades. Por lo tanto ambas variedades son sinónimos y deberían ser consideradas una sola especie.

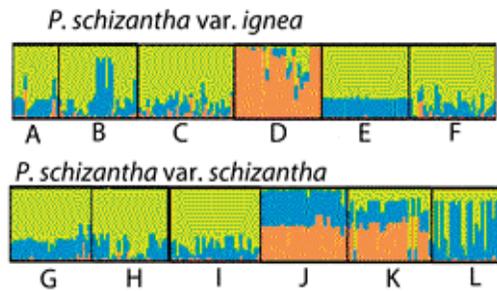


Figura 6. Análisis Bayesiano de *P. schizantha* ($K = 3$). Cada línea vertical representa un individuo de la muestra. El color corresponde a un grupo genético K. Los individuos fueron colectados en 12 localidades (letras A-L).

3.2 Distribución geográfica

Se obtuvo un total de 23 registros de *P. schizantha*, los mismos que están localizados entre los 2000 y los 3500 m (Figura 3). La extensión de presencia (EOO) fue estimada en 1353 km² (Figura 7a). Esta área corresponde al tamaño del polígono que agrupa a las localidades donde se ha encontrado la especie.

El modelo de distribución de *P. schizantha* muestra un área de 1891 km² limitada en su mayor parte a la sierra central del Ecuador (Figura 7b). El valor AUC del modelo de distribución fue de 0,99, el cual corresponde a un ajuste del modelo casi perfecto. Los modelos de distribución estiman el rango de las especies calculando la probabilidad de ocurrencia relacionado a factores ambientales [30]. Estos modelos pueden corresponder al hábitat potencial de la especie, sin embargo, una fracción de esta superficie puede estar efectivamente ocupada por la especie. Esta es una de las razones por las que el modelo de distribución tiene un área mayor que la extensión de presencia.

3.3. Criterios UICN

3.3.1. Criterio A: Tamaño de la población. No se cuenta con estudios específicos acerca del tamaño de las poblaciones de *P. schizantha*. Sin embargo, varias de las poblaciones de la espe-

cie se encuentran en ciudades (Ambato y Riobamba) o en las afueras de dichas ciudades. El avance urbanístico es uno de los factores a los que esta especie se encuentra expuesta. Además, algunas de las poblaciones se encuentran en áreas con potencial uso minero, específicamente de arena para construcción. De hecho, una de las poblaciones en las afueras de Riobamba se encontraba adyacente a una mina de arena. En las afueras de Guaranda, también se encontró un pequeño grupo de esta especie muy cerca de una mina de arena. Por estas razones sugerimos categorizar a *P. schizantha* como “En Peligro” bajo el criterio A2 (a) (c) [31].



Figura 7. Distribución *P. schizantha*. Los círculos azules son los registros de la especie; a) el área en rosa corresponde al modelo de distribución calculado en MAXENT; b) el área celeste corresponde a la extensión de presencia de la especie.

3.3.1. Criterio B: Tamaño de la distribución geográfica y fragmentación, reducción o fluctuación. La extensión de presencia e incluso el área potencial de presencia (modelo de distribución) es menor a 5000 km², sus poblaciones están severamente fragmentadas, y se espera una reducción tanto de su extensión de presencia, como de su área de ocupación y calidad de hábitat. Por lo tanto, *P. schizantha* estaría “En Peligro”, bajo el criterio B1 (a) (b iii) [31].

4. Conclusiones

Dado que no se encontró evidencia genética que confirme la validez de las variedades descritas en *P. schizantha*, se sugiere que las variedades sean eliminadas y se considere a *P. schizantha* como una especie que muestra polimorfismo intrapoblacional en sus inflorescencias.

En base a la extensión de presencia de la especie, se recomienda mantener la categoría “En Peligro” para *P. schizantha*, según los criterios A2 (a) (c) y B1 (a) (b iii).

5. Agradecimientos

Al Dr. Alan Meerow, Dr. Javier Francisco-Ortega, a los técnicos del laboratorio del USDA-ARS en Miami, por su asesoramiento. A Lou Jost, Angel y Susana Oleas y Susana Gallo por su ayuda en el campo, y a Juan Guayasamin y Elisa Bonaccorso por sus comentarios en el manuscrito. Al Jardín Botánico Missouri por el acceso a su Herbario y a la base de datos TROPICOS. Al Herbario QCNA y QCNE por permitir la revisión de sus colecciones botánicas. Al Herbario QCA y al Ministerio del Ambiente por permisos de colección y exportación. También, agradezco a la Universidad Tecnológica Indoamérica por el financiamiento brindado a través del proyecto “Patrones de diversidad genética de *Phaedranassa schizantha* (Amaryllidaceae), una especie de planta endémica de la región central del Ecuador”.

6. Referencias

[1] Mittermeier, R. A., Myers, N., and Mittermeier, C. G. 1999. *Hotspots—Earth’s Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecore-*

gions. Mexico City, Mexico: CEMEX and Conservation International, 432 pp.

[2] FAO. *Global Forest Resources Assessment 2000*. Rome, Italy: FAO, 2000. Disponible en <http://www.fao.org/DOCREP/004/Y1997E/Y1997E00.HTM>

[3] León-Yáñez, S., Valencia, R., Pitman, N., Endara, L., Ulloa Ulloa, C. and Navarrete, H. (eds.). 2011. *Libro rojo de las plantas endémicas del Ecuador, 2da edición*. Quito, Ecuador: Publicaciones del Herbario QCA, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

[4] Valencia, R., Cerón, C., Palacios, W. and Sierra, R. 1999. *Las formaciones Naturales de la Sierra del Ecuador*. En: Sierra (ed) Propuesta Preliminar de un Sistema de Clasificación de Vegetación para el Ecuador Continental. Quito, Ecuador: Proyecto INEFAN/GEF-BIRF y Eco-Ciencia.

[5] Baker, J. 1880. *Phaedranassa schizantha*. *The Gardeners' Chronicle & Agricultural Gazette* 14, pp. 556.

[6] Meerow, A. W. 1990. *Amaryllidaceae*. En: G. Harling and L. Andersson, (eds). *Flora of Ecuador*, Vol. 41. Goteborg, Stockholm, Quito: University of Gotenborg; Riksmuseum, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

[7] Oleas, N. 2011. *Landscape genetics of Phaedranassa Herb. (Amaryllidaceae) in Ecuador*. PhD Thesis. Miami, EEUU: Florida International University.

[8] Oleas, N. 2011. *Amaryllidaceae*. En León-Yáñez, S., Valencia, R., Pitman, N., Endara, L., Ulloa Ulloa, C. and Navarrete, H. (eds.) *Libro rojo de las plantas endémicas del Ecuador, 2da edición*. Quito, Ecuador: Publicaciones del Herbario QCA, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

[9] Oleas, N., Meerow, A. W., and Francisco-Ortega, J. 2009. Eight microsatellite loci in *Phaedranassa schizantha* Baker (Amaryllidaceae) and cross-amplification in other *Phaedranassa* species. *Conservation Genetics* 10:1887–1889.

- [10] Oleas, N. H., Meerow, A. W., and Francisco-Ortega, J. 2005. Isolation and characterization of eight microsatellite loci from *Phaedranassa tunguraguae* (Amaryllidaceae). *Molecular Ecology Notes* 5:791–793.
- [11] Cavalli-Sforza, L. L., and Edwards, A. W. F. 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *American Journal of Human Genetics* 19:233–257.
- [12] Langella, O. Populations 1.2.30. 4 de enero del 2010. Disponible en <http://www.pge.cnrs-gif.fr/bioinfo/populations/index.php>
- [13] Kumar, S., Tamura, K., and Nei, M. 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5:150–163.
- [14] Peakall, R., and Smouse, P. E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6:288–295.
- [15] Pritchard, J. K., Stephens, M., and Donnelly, P. 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* 155: 945–959.
- [16] Kumar, S. A., Skjaeveland, A., Orr, R.J., Enger, P., Ruden, T., Mevik, B.H., Burki, F., Botnen, A., and Shalchian-Tabrizi, K. 2009. AIR: batch-oriented web program package for construction of supermatrices ready for phylogenomic analyses. *BMC Bioinformatics* 10:357.
- [17] Earl, D. A. 2001. Structure harvester version 0.6.1. Marzo 2011. Disponible en http://taylor0.biology.ucla.edu/structure_harvester
- [18] Evanno, G., Regnaut, S., and Goudet, J. 2005. Detecting the number of cluster of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14: 2611–2620.
- [19] Jakobsson, M., and Rosenberg, N. A. 2007. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics* 23:1801–1806.
- [20] Rosenberg, N. A. 2004. DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes* 4:137–138.
- [21] Missouri Botanical Garden. 2011. TROPICOS, 4 de enero de 2010. Disponible en <http://www.tropicos.org>
- [22] Phillips, S. J., Anderson, R. P., and Schapire, R. E. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* 190:231–259.
- [23] Newbold, T., Reader, T., El-Gabbas, A., Berg, W., Shohdi, W. M., Zalat, S., Baha El Din, S., and Gilbert, F. 2010. Testing the accuracy of species distribution models using species records from a new field survey. *Oikos* 119:1326–1334.
- [24] Hernandez, P. A., Graham, C. H., Master, L. L., and Albert, D. L. 2006. The effect of sample size and species characteristics on performance of different species distribution modeling methods. *Ecography* 29:773–785.
- [25] Pearson, R. G., Raxworthy, C. J., Nakamura, M., and Peterson, A. T. 2007. Predicting species distributions from small numbers of occurrence records: a test case using cryptic geckos in Madagascar. *Journal of Biogeography* 34:102–117.
- [26] Hernandez, P. A., Franke, I., Herzog, S. K., Pacheco, V., Paniagua, L., Quintana, H. L., Soto, A., Swenson, J. J., Tovar, C., Valqui, T. H., Vargas, J., and Young, B. E. 2008. Predicting species distributions in poorly-studied landscapes. *Biodiversity and Conservation* 17:1353–1366.
- [27] Wisz, M. S., Hijmans, R. J., Li, J., Peterson, A. T., Graham, C. H., Guisan, A., and Group NPSDW. 2008. Effects of sample size on the performance of species distribution models. *Diversity and Distributions* 14:763–773.
- [28] Worldclim. 4 de enero 2010. Disponible en <http://www.worldclim.org>
- [29] Hijmans, R. J., Cameron, J. D., Parra, J. L., Jones, P. G., Jarvis, A. 2005. Very high resolution interpolated climate surface for global land areas. *International Journal of Climatology*

25:1965–1978.

[30] Franklin, J. 2009. *Mapping species distributions: spatial inference and prediction*. Cambridge and New York, EEUU: Cambridge University Press.

[31] IUCN. 2010. Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria, version 8.1.