

Perfil metabolómico de la invasora *Carpobrotus* sp.pl.: influencia de la genética y del entorno

Metabolomic profile of the invasive species *Carpobrotus* sp.pl.: Genetics and environmental influence

Sara González-Orenga^{1,2,3,*}, David López-González^{2,3}, Fabrizio Araniti⁴,
Luís González² & Adela M. Sánchez-Moreiras^{2,3}

¹ Universitat Politècnica de València, Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana, Valencia, España

² Universidade de Vigo, Departamento de Biología Vegetal e Ciencias do Solo, Facultade de Biología, Campus Lagoas Vigo, España

³ Universidade de Vigo, Instituto de Agroecoloxía e Alimentación (IAA), Campus Auga, España

⁴ Università Statale di Milano, Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Produzione, Territorio, Agroenergia, Milano, Italia

(*E-mail: sagonor@doctor.upv.es)

<https://doi.org/10.19084/rca.35063>

Recibido/received: 2024.01.15

Aceptado/accepted: 2024.02.28

RESUMEN

Las especies invasoras representan un desafío para la conservación de la biodiversidad y la gestión sostenible de los recursos naturales, especialmente en el contexto del cambio climático. Uno de los ejemplos más peligrosos es el género *Carpobrotus* sp.pl., plantas suculentas originarias de Sudáfrica. Estas especies han demostrado una asombrosa capacidad de propagación y de aclimatación a condiciones adversas. *Carpobrotus* se ha naturalizado en numerosos hábitats más allá de su área de distribución. Suele encontrarse en hábitats extremos, como dunas y acantilados, que son ecosistemas caracterizados por condiciones ambientales hostiles. Dada la adaptación requerida, estos hábitats albergan comunidades de plantas endémicas de alto valor ecológico desplazadas por la presencia y proliferación de *Carpobrotus*. En el contexto del cambio climático, es esencial comprender los mecanismos de adaptación de estas plantas para una gestión efectiva. La metabolómica se presenta como una herramienta valiosa para este propósito, ya que permite estudiar los metabolitos producidos y acumulados por la planta en respuesta a condiciones ambientales cambiantes. Esto es importante para entender cómo se adapta a factores estresantes. Por esta razón se ha estudiado el perfil metabolómico de plántulas de *Carpobrotus* sp.pl. de cuatro poblaciones en España, pertenecientes a dos clústeres genéticos distintos y en dos áreas climáticas diferentes. El análisis se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Además, se evaluaron las características del clima y parámetros morfológicos. Este enfoque proporciona información sobre cómo los factores genéticos y ambientales influyen en la adaptación de las plantas pertenecientes a este género invasor.

Palabras-clave: Invasoras, metabolómica, genética, entorno, cambio climático

ABSTRACT

Invasive species pose a challenge for the conservation of biodiversity and the sustainable management of natural resources, especially in the context of climate change. One of the most dangerous examples is the genus *Carpobrotus* sp.pl., juicy plants native to South Africa. These species have demonstrated an astonishing ability to propagate and acclimate under adverse conditions. *Carpobrotus* has naturalized in numerous habitats beyond its area of distribution. It is often found in extreme habitats, such as dunes and cliffs, which are ecosystems characterized by hostile environmental conditions. Given the adaptation required, these habitats are home to communities of endemic plants of high ecological value displaced by the presence and proliferation of *Carpobrotus*. In the context of climate change, it is essential to understand the adaptation mechanisms of these plants for effective management. Metabolomics presents itself as a valuable tool for this purpose, as it allows to study the metabolites produced and accumulated by the plant in response to changing environmental conditions. This is important to understand how you adapt to stressors. For this reason, the metabolomic profile of *Carpobrotus* sp.pl seedlings from four populations in Spain, belonging to two different genetic clusters and from two different climatic areas, has been studied. The analysis was carried out using

gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS). In addition, climate characteristics and morphological parameters were evaluated. This approach provides information on how genetic and environmental factors influence the adaptation of plants belonging to this invasive genus.

Keywords: Invasive species, metabolomics, genetics, environment, climate change

INTRODUCCIÓN

Las especies invasoras son uno de los principales problemas medioambientales, suponiendo un reto para la conservación de la biodiversidad y la gestión sostenible de los recursos naturales (Rai *et al.*, 2020). Además, previsiblemente, el cambio climático aumentará la posibilidad de invasión favoreciendo a ciertas especies (Hulme, 2017). *Carpobrotus* sp.pl. destaca como una de las más peligrosas debido a su capacidad invasora (Battisti *et al.*, 2021). Es originaria de zonas costeras de Sudáfrica (Campoy *et al.*, 2018) y fue introducida fuera de su área de distribución a principios del siglo XX como medida para la estabilización de dunas, así como planta ornamental (Preston & Sell, 1988). Actualmente, se ha naturalizado ampliamente en numerosos hábitats costeros fuera de su área nativa (Campoy *et al.*, 2018).

Un estudio reciente (Novoa *et al.*, 2023), identificó tres clústeres genéticos distintos del género *Carpobrotus* sp.pl., presentes en áreas nativas y no nativas, los cuales no se pueden distinguir por sus características morfológicas. Así, sabemos que en la Península Ibérica habitan dos clústeres, el clúster A, originario de la provincia del Cabo Occidental (Sudáfrica) y presente en Punta de Rons (Pontevedra), A Lanzada (Pontevedra) y Cádiz (Cádiz) y el clúster B, poblaciones originarias de Mdumbi (Sudáfrica) y con presencia en La Marina (Alicante) y Samil (Pontevedra). Debido a la amenaza de invasión, es fundamental analizar y comprender los mecanismos de adaptación de *Carpobrotus* (Drenovsky *et al.*, 2012). En este contexto, la metabolómica ofrece una valiosa información sobre la influencia de la genética y del entorno en la producción de determinados compuestos en respuesta a condiciones ambientales cambiantes. Por esta razón, se examinaron los perfiles metabolómicos de plántulas de *Carpobrotus* sp.pl. de cuatro poblaciones de España. La cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas (GC-MS) se utilizó para llevar a cabo el análisis. Este método muestra cómo los factores genéticos y ambientales afectan la adaptación de las plantas de este género invasor.

MATERIALES Y MÉTODOS

Dos poblaciones de cada clúster genético presente en España, pero procedentes de diferentes regiones climáticas, fueron elegidas: A Lanzada (Pontevedra) y Cádiz (Cádiz) para el clúster A, y La Marina (Alicante) y Samil (Pontevedra) para el clúster B. Se recolectaron las plántulas, se tomaron los datos morfológicos iniciales y se cultivaron en invernadero durante cincuenta días con riego semanal. Después de los tratamientos, se evaluaron diversos parámetros de crecimiento.

Tabla 1 - Poblaciones incluidas en el estudio, indicando el clúster genético y la región climática

Origen	Clúster genético	Región climática
A Lanzada	A	Atlántica
Samil	B	Atlántica
Cádiz	A	Mediterránea
La Marina	B	Mediterránea

En el material vegetal de la parte aérea, se llevó a cabo un análisis metabolómico no dirigido. La identificación y la cuantificación se realizaron mediante cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas (GC-MS). Para encontrar diferencias significativas entre poblaciones, se utilizaron pruebas estadísticas como ANOVA, Kruskal-Wallis y análisis univariante (dependiendo de la normalidad y homogeneidad de los datos de origen). Por último, se empleó un análisis multivariante (PCA, PLS-DA) para mejorar la comprensión de la variación metabolómica y sus implicaciones biológicas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros morfológicos iniciales y de desarrollo

Las poblaciones de la región climática mediterránea (Cádiz y La Marina), presentaron un peso y longitud

inicial de la parte aérea significativamente más bajos en comparación con las poblaciones del área atlántica, especialmente en contraste con las plántulas de Samil (Figura 1A y 1B). Estas diferencias podrían atribuirse a la presencia de limitaciones hídricas en el área mediterránea. Mientras en las poblaciones atlánticas las precipitaciones superan los 1100 mm anuales (<https://www.meteogalicia.gal>), en la región mediterránea no llegan a la mitad con 492 mm en Cádiz y 360 mm en La Marina durante el año 2021 (año previo al ensayo). Estas alteraciones en los rasgos de respuesta a las condiciones ambientales permiten que las plantas puedan responder de forma adaptativa a una variedad de entornos más amplia que si los rasgos fueran “inalterables” (Sultan, 1995), lo que se conoce como plasticidad fenotípica. No obstante, las plántulas de Cádiz mostraron un número inicial de verticilos notablemente mayor en comparación con el resto de las poblaciones. En todos los parámetros iniciales, las plantas de La Marina mostraron los valores más bajos.

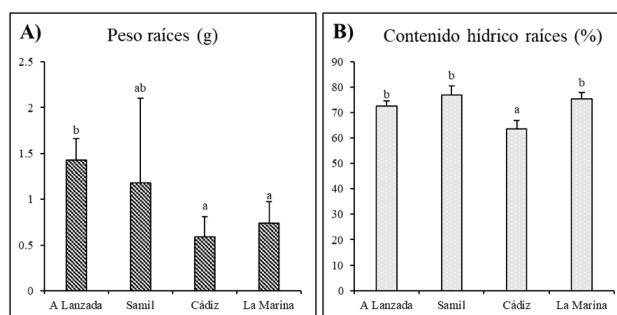


Figura 2 - Peso (g) contenido hídrico (%) de las raíces al final del periodo de cincuenta días de crecimiento de las plántulas de las cuatro poblaciones de *Carpobrotus* sp.pl. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre poblaciones ($p < 0.05$). N=7.

mediterráneas, el peso de la raíz fue un 50% menor que en A Lanzada, mientras que en Samil fue un 17% menor en comparación con A Lanzada. Las raíces de Cádiz mostraron una disminución del 10% en el contenido de agua en comparación con las otras tres poblaciones.

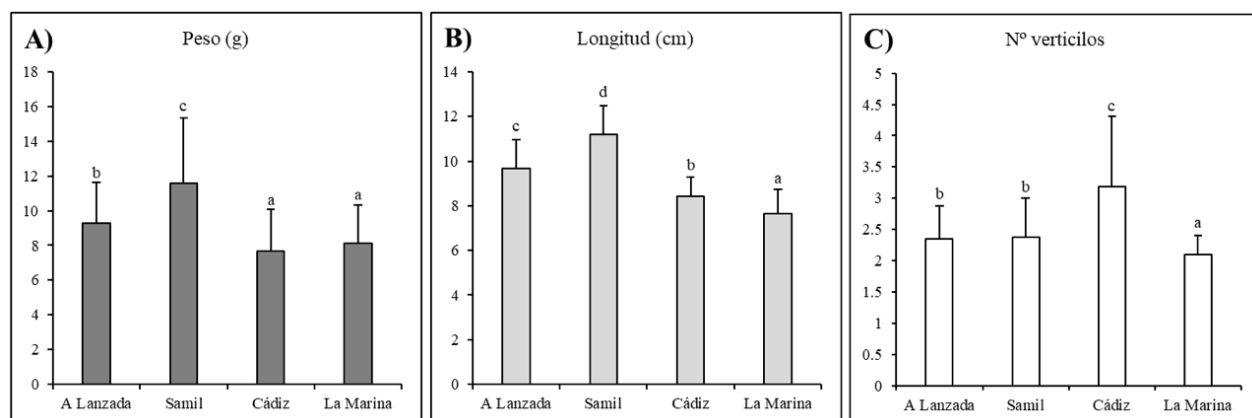


Figura 1 - Peso (g), longitud (cm) y número de verticilos al inicio (t=0), antes del trasplante, de las plántulas de las cuatro poblaciones de *Carpobrotus* sp.pl. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre poblaciones ($p < 0.05$). N=112.

Después de un período de crecimiento de cincuenta días se midieron los parámetros de crecimiento de las réplicas destinadas a metabolómica, revelando resultados similares, con excepción del peso y contenido de agua de las raíces (Figura 2). En particular, A Lanzada mostró los valores más altos de peso en raíces, mientras que las poblaciones mediterráneas mostraron generalmente valores más bajos en línea con los parámetros inicialmente registrados. En Cádiz y La Marina, las poblaciones

Análisis comparativo del perfil metabolómico

El software MS-DIAL identificó un total de 578 compuestos, de los cuales 389 eran desconocidos y 189 fueron anotados según la iniciativa de la Sociedad de Metabolómica, de estos, 158 metabolitos fueron finalmente identificados. Para evaluar la influencia de las poblaciones en los metabolitos en general se analizaron los datos mediante un análisis de componentes principales (PCA) (Figura 3a).

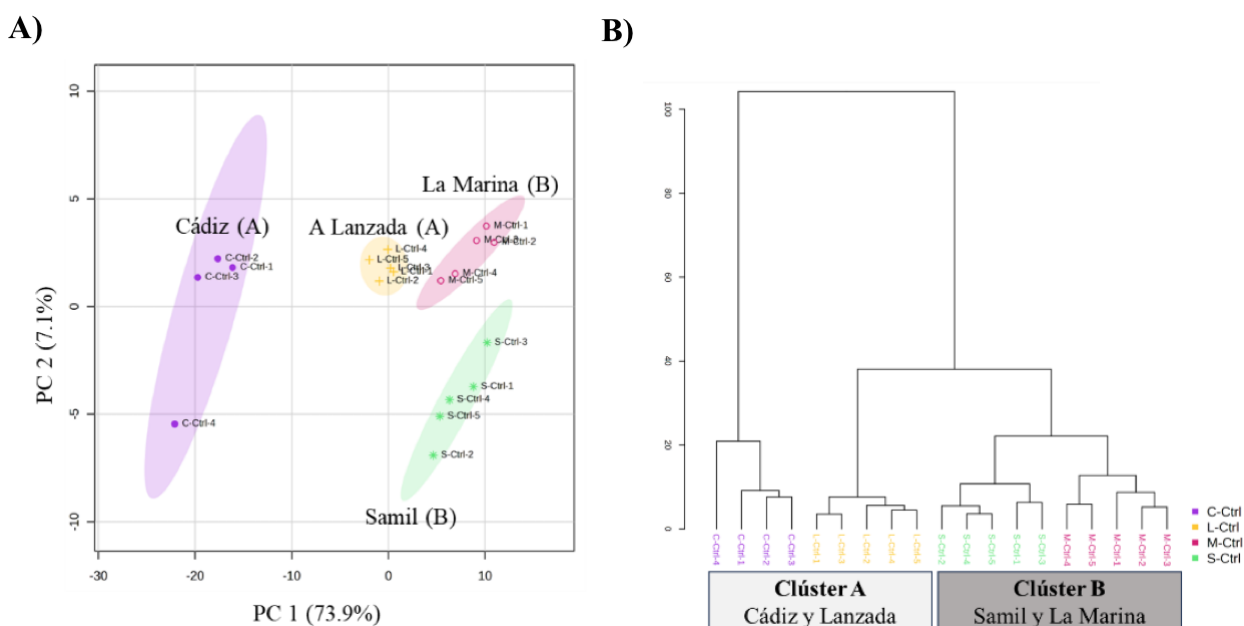


Figura 3 - a) Discriminación mediante análisis de componentes principales (PCA) entre las componentes seleccionadas (CP1 y CP2). b) Agrupación mediante dendrograma (distancia: euclidean, algoritmo: ward)

Los dos primeros componentes describieron el 81% de la variabilidad total, mostrando una clara distinción entre las cuatro poblaciones. El primer componente (CP1) representó la variación más alta con un 73,9% separando la población de Cádiz del resto, y agrupando las poblaciones del clúster B. En este componente los metabolitos que representaron un mayor peso fueron D-Arabitól, D-(+)-Ácido galacturónico, ácido hexanoico, 2-Hidroxipiridina y ácido nicotínico, que se acumularon de forma más significativa en las plantas de Cádiz seguidas de las de A Lanzada (perteneciente al mismo clúster genético).

Por otro lado, el componente 2 (CP2) representó un 7,1% de la variabilidad total, y está definido principalmente por el ácido glucónico, glicerol-3-galactósido-2, fosfato, lactulosa y glucoheptulosa, donde los cuatro últimos compuestos se acumulan de forma más significativa exclusivamente en plantas originarias de Samil y el ácido glucónico tanto en las de Samil como en las de Cádiz. CP2 separó claramente a Samil de las poblaciones de A Lanzada y Marina, mientras que las muestras de Cádiz mostraron una tendencia intermedia.

La agrupación observada durante el análisis de PCA se confirmó aún más mediante el análisis de clúster (Figura 3b), que confirmó la formación de cuatro grupos principales separados correspondientes a las cuatro poblaciones. El análisis agrupó en un mismo conjunto a las poblaciones por clúster, por un lado, Samil y La Marina, y en una unidad separada Cádiz y A Lanzada.

Además, el análisis de la importancia variable en las puntuaciones de proyección (VIP) (basado en los 15 metabolitos con la puntuación VIP más alta, superior a 1,4) señaló que varios ácidos orgánicos, en concreto ocho de los quince encontrados, correspondieron a este grupo, siendo las clases de compuestos que contribuían principalmente a la discriminación de grupos con especial influencia del D- Arabitól, el ácido quínico y el ácido shikímico.

CONCLUSIONES

Este enfoque integral permite el estudio de las variaciones a nivel morfológico y metabólico en especies del género *Carpobrotus* sp.pl. atendiendo

a diferentes condiciones climáticas, atlánticas o mediterráneas, y genéticas, clúster A o B. Por una parte, a nivel morfológico, las plántulas de regiones mediterráneas presentaron un tamaño inicial inferior, probablemente debido a adaptaciones a condiciones ambientales adversas como la sequía. Por otra, a nivel metabólico las cuatro poblaciones son distintas, con diferencias más notables entre las poblaciones del clúster A que entre las del clúster B. Estas variaciones están marcadas principalmente por la acumulación de metabolitos, en su mayor parte ácidos orgánicos, en las plántulas de la población de Cádiz seguido de las de A Lanzada, ambas pertenecientes al mismo clúster genético. Los resultados muestran cómo el factor climático tiene un menor peso en el clúster B, ya

que las diferencias entre poblaciones no son tan marcadas entre poblaciones. Finalmente, el factor genético tiene un mayor peso en el perfil metabólico de *Carpobrotus* que el climático, a diferencia de los parámetros morfológicos analizados, donde el entorno mostró una mayor influencia.

AGRADECIMIENTOS

S.G-O agradece a la ayuda para jóvenes doctores 'Margarita Salas' de la Universitat Politècnica de València y el Ministerio de Universidades de España, financiada por la Unión Europea - Next Generation EU.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Battisti, C.; Zullo, F. & Fanelli, G. (2021) - The road to invasion: fine-grained distribution and suitability model for *Carpobrotus* sp. pl., a plant invader on a small Mediterranean island. *Folia Geobotanica*, vol. 56, n. 1, p. 1-11. <https://doi.org/10.1007/s12224-021-09388-6>
- Campoy, J.G.; Acosta, A.T.; Affre, L.; Barreiro, R.; Brundu, G.; Buisson, E.; González, L.; Lema, M.; Novoa, A.; Retuerto, R.; Roiloa, S.R. & Fagúndez, J. (2018) - Monographs of invasive plants in Europe: *Carpobrotus*. *Botany Letters*, vol. 165, n. 3-4, p. 440-475. <https://doi.org/10.1080/23818107.2018.1487884>
- Drenovsky, R.E.; Grewell, B.J.; D'antonio, C.M.; Funk, J.L.; James, J.J.; Molinari, N., Parker, I.M. & Richards, C.L. (2012) - A functional trait perspective on plant invasion. *Annals of Botany*, vol. 110, n. 1, p. 141-153. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs100>
- Hulme, P.E. (2017) - Climate change and biological invasions: evidence, expectations, and response options. *Biological Reviews*, vol. 92, n. 3, p. 1297-1313. <https://doi.org/10.1111/brv.12282>
- Novoa, A.; Hirsch, H.; Castillo, M.L.; Canavan, S.; González, L.; Richardson, D.M.; Pyšek, P.; Rodríguez, J.; Silva, L.B.; Brundu, G.; D'Antonio, C.M.; Gutiérrez, J.L.; Mathese, M.; Levin, S.; Silva, L. & Le Roux, J.J. (2023) - Genetic and morphological insights into the *Carpobrotus* hybrid complex around the world. *Neobiota*, vol. 89, p. 135-160. <https://doi.org/10.3897/neobiota.89.109164>
- Preston, C.D. & Sell, R.D. (1988) - The Aizoaceae naturalized in the British Isles. *Watsonia*, vol. 17, n. 3, p. 217-245.
- Rai, P.K. & Singh, J.S. (2020) - Invasive alien plant species: Their impact on environment, ecosystem services and human health. *Ecological Indicators*, vol. 111, art. 106020. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.106020>
- Sultan, S.E. (1995) - Phenotypic plasticity and plant adaptation. *Acta Botanica Neerlandica*, vol. 44, n. 4, p. 363-383. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1995.tb00793.x>