

Máster Universitario en
Biodiversidad en Áreas Tropicales y su
Conservación

**EFFECTOS DE LA
FRAGMENTACIÓN SOBRE REDES
DE INTERACCIÓN HONGO-ALGA**

Trabajo de Fin de Máster presentado por:

Alejandro Berlinches de Gea

Para optar al título de Máster

Tutor: Sergio Pérez-Ortega

Real Jardín Botánico, RJB-CSIC, Plaza de Murillo, 2, 28014 Madrid
alexberlinches@gmail.com

Curso académico 2016 – 2018

Agradecimientos

En primer lugar, al máster en Biodiversidad en Áreas tropicales y su conservación y a las instituciones implicadas en él (Consejo Superior de Investigaciones Científicas y Universidad Internacional Menéndez Pelayo) por permitir la realización de este maravilloso máster.

A profesores, compañeros y todas las personas con las que he compartido vivencias durante estos dos insuperables años.

A todos los integrantes del laboratorio del Real Jardín Botánico, en especial a Emilio Cano Cabezas y Alberto Herrero Nieto, por guiarme entre PCRs y geles de agarosa con tan buen humor todos los días.

Por supuesto, a mi tutor Sergio Pérez-Ortega por darme la oportunidad de trabajar junto a él en un proyecto tan ambicioso a la vez que bonito e introducirme en la ciencia de esta manera. No tengo palabras para agradecerle el tan buen trato que me has dado.

Por último, a mi familia por estar siempre apoyando en los momentos más difíciles y ayudarme a avanzar tanto en mi vida como en mi carrera.

Resumen

La fragmentación del hábitat es una de las principales causas de la pérdida de biodiversidad actual. Identificar el efecto de esta perturbación en las redes de interacción entre organismos puede ayudar a conocer con antelación el grado de amenaza que sufren las especies en los ecosistemas. En este trabajo se estudian las redes de interacción hongo-alga que ocurren en simbiosis líquénicas en un bosque mediterráneo fragmentado y ubicado en una matriz agrícola cerealista. Usando secuenciación de nueva generación y *metabarcoding* de la región ITS2 se han identificado los fotobiontes que interactúan con los micobiontes en líquenes epífitos sobre *Quercus rotundifolia*. Las redes de interacción estudiadas en un gradiente de 10 fragmentos de tamaño creciente (de 0.002 ha a 250 ha) mostraban un patrón de baja conectancia, anti anidamiento, alta modularidad y alta especificidad. Además, estas propiedades seguían tendencias significativas a lo largo del gradiente. A medida que el área del fragmento se hace más pequeña, la modularidad, el número de fotobiontes y micobiontes, el índice de Shannon, y la especificidad disminuyen. Por el contrario, anidamiento, conectancia y solapamiento de nicho aumentan cuanto más pequeño es el fragmento. Rasgos funcionales como el biotipo y el tipo de reproducción son responsables de diferencias significativas en cuanto al grado medio y a la especialización en las especies encontradas en el estudio. El análisis del particionamiento del recambio de interacciones entre parcelas (beta diversidad) reveló que la diferencia principal entre fragmentos en cuanto a interacciones se debe a aquellas que no ocurren pese a la presencia de las especies, más que a la falta de la interacción por la ausencia de alguna de ellas. Estos resultados abren una nueva línea en el campo del estudio de la simbiosis líquénica y su coevolución, así como de los efectos del cambio global sobre los líquenes.

Palabras clave: Amplicon sequence variance, bosque mediterráneo, fotobionte, interacción íntima, líquen, micobionte, simbiosis

Introducción

El cambio global, el conjunto de cambios y transformaciones de los ecosistemas del planeta de origen antrópico, representa la mayor amenaza presente y futura de la biodiversidad (Sala et al. 2000). Entre las transformaciones más notables destacan los cambios en el uso del suelo y pérdida de hábitat (Brook et al. 2008; Cox et al. 2000; Tilman et al. 2001; Vitousek et al. 1997b), siendo los factores con mayor impacto en la biodiversidad en zonas mediterráneas (Fahrig 2003; Sala et al. 2000). Estos cambios conllevan normalmente la fragmentación del hábitat, que se puede definir como un proceso de origen antrópico cuya escala se establece a nivel de paisaje, de manera que un hábitat natural homogéneo se transforma en fragmentos más pequeños embebidos en una matriz distinta a la original (Wilcove et al. 1986).

La fragmentación del hábitat puede conducir a la extinción de los organismos que viven en él, derivada de la alteración de las condiciones abióticas, lo que lleva a una disminución progresiva de las poblaciones hasta llegar a una extinción regional o total de la especie (Santos and Tellería 2006). Sin embargo, la pérdida de especies no es inmediata tras la perturbación, sino que existe un lapso de tiempo en el que las especies resisten el estrés derivado del cambio de condiciones, aunque más tarde empiezan a desaparecer. Este período de tiempo es denominado “deuda de extinción” (Kuussaari et al. 2009).

Las especies no viven aisladas en los ecosistemas sino que interactúan entre sí a través de interacciones ecológicas de diversa índole, desde positivas como el mutualismo hasta antagonista como la depredación (Mougi and Kondoh 2012). Estas interacciones son representadas a menudo a modo de una compleja red en que los nodos son las especies y las aristas son las conexiones entre sí (Bascompte 2007). La desaparición de un nodo de la red puede acarrear la disminución en el número de individuos de una especie conectada a ella y de las funciones que realizaba, o directamente a su desaparición,

dependiendo del grado de especialización de la interacción, y esa extinción puede generar un efecto en cadena que derive en una desestabilización total en el funcionamiento del ecosistema (Memmott et al. 2004; Pockock et al. 2012), llegando a un punto de no retorno (Scheffer et al. 2012; Tylianakis et al. 2010). Conocer la arquitectura de la red de interacciones ecológicas y su respuesta a cambios abióticos puede permitir conocer con antelación los efectos de la pérdida de especies y poder actuar para prevenir extinciones en cascada (Memmott et al. 2004; Scheffer et al. 2009).

El estudio del efecto de la pérdida del hábitat y la fragmentación en la pérdida de interacciones ecológicas ha quedado, a menudo, relegado en la literatura, aunque esta tendencia está cambiando en los últimos años (Aizen et al. 2012; Grass et al. 2018; Valiente-Banuet et al. 2015). Estos estudios recientes han demostrado que la pérdida de interacciones en paisajes fragmentados se produce de manera no aleatoria, con una desaparición gradual de las especies más especialistas a medida que el hábitat se reduce (Aizen et al. 2012) si no son capaces de cambiar sus conexiones a otras especies más generalistas (Grass et al. 2018).

Los líquenes son asociaciones simbióticas entre un hongo (micobionte) y un alga y/o una cianobacteria (fotobionte) (Grube and Hawksworth 2007) que muestran una gran sensibilidad a las condiciones abióticas del medio en el que viven (McCune 2000; Nascimbene and Marini 2015). Han sido tradicionalmente utilizados como organismos bioindicadores de la continuidad ecológica de los ecosistemas y del grado de impacto de las perturbaciones de origen antrópico (Conti and Cecchetti 2001; Matos et al. 2017; McCune 2000; Szczepaniak and Biziuk 2003; Whittet and Ellis 2013).

A pesar de que los líquenes aparecen en la literatura como paradigma del mutualismo (Douglas 2010), la naturaleza de esta relación aún ofrece numerosas interrogaciones (Lücking et al. 2009). Se ha sugerido que esta relación simbiote puede

llegar a ser asimétrica, debido a que el micobionte depende totalmente del fotobionte (Wedin et al. 2004), mientras que el fotobionte puede tener vida libre (Lutzoni and Miadlikowska 2009). Otros estudios hablan de una interacción simétrica en la que ambos simbiontes comparten un esfuerzo de interacción parecido (Chagnon et al. 2018). La mayoría de estudios que se han realizado sobre la interacción hongo-alga en simbiosis líquénicas se han centrado en estudiar la variabilidad de fotobiontes compatibles para una especie a lo largo de su rango de distribución (p.ej. (Blaha et al. 2006; Guzow-Krzeminska 2006; Muggia et al. 2014)), en cierto número de especies dentro de un género o una familia (Chagnon et al. 2018; Leavitt et al. 2015; Lindgren et al. 2014), y rara vez se han estudiado a nivel de comunidad (Beck 1999; Beck et al. 1998; Pérez-Ortega et al. 2012), probablemente por los retos que conlleva identificar a nivel de especie todos los individuos de una comunidad.

En este trabajo planteamos el estudio del efecto de la fragmentación de una masa forestal mediterránea, debido a su transformación a uso agrícola, en las interacciones hongo-alga. A diferencia de otros estudios anteriores (Aragón et al. 2015; Concostrina-Zubiri et al. 2018; Matos et al. 2017) en que se utilizan las comunidades de hongos liquenizados como indicadores de la fragmentación del hábitat, aquí se plantea el estudio conjunto de los micobiontes y fotobiontes, así como de sus interacciones en un gradiente de fragmentos de distintos tamaño. El objetivo general es conocer cómo cambia la arquitectura de las redes de interacción a lo largo de dicho gradiente, además de su uso potencial para detectar cambios en las comunidades líquénicas presentes en paisajes fragmentados previas a la desaparición de las especies. Así, nuestra hipótesis de partida es que detectaremos diferencias más acusadas en la estructura de las redes de interacción hongo-alga entre fragmentos de diferentes tamaños, que en el número de especies de ambos simbiontes en el mismo gradiente.

Utilizando secuenciación de nueva generación se identificarán los fotobiontes utilizados por las distintas especies de hongos liquenizados epífitos, en un gradiente de tamaño de fragmentos de bosque mediterráneo de *Quercus rotundifolia* inmerso en una matriz agrícola cerealista. Las redes de interacciones hongo-alga generadas nos servirán para arrojar luz sobre los efectos de la fragmentación en las interacciones hongo-alga en una simbiosis altamente sensible a los cambios ambientales. Nuestro objetivo es contestar a las siguientes preguntas: 1. ¿Cómo afecta la fragmentación a la arquitectura de las redes de interacción hongo-alga?; 2. ¿Cómo se produce el recambio de interacciones a lo largo del gradiente y cuál es su causa?; 3. ¿Cómo afectan los rasgos funcionales como el biotipo o el modo de reproducción en la especialización de las especies de micobionte?

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó en un área de bosque fragmentado perteneciente a los términos municipales de Torrecilla del Monte, Villamayor de los Montes y Tordable, provincia de Burgos, comunidad autónoma de Castilla y León (42°5'N, 3°45'W; 946.8 m a.s.l.) (Fig. 1). La especie predominante en los fragmentos estudiados es *Quercus rotundifolia*, aunque en la zona también existen fragmentos con predominio de *Quercus pyrenaica* y *Quercus faginea*. Estas especies, y *Juniperus oxycedrus*, pueden aparecer de manera puntual en las zonas de estudio. Desde el punto de vista bioclimatológico, la zona pertenece al piso supramediterráneo de la región mediterránea con inviernos fríos y un tipo de ombroclima seco (Rivas-Martínez 1983). La temperatura media es de aproximadamente 11 °C (Rivas-Martínez 1980). El sustrato es fundamentalmente básico en el que predominan las calizas (Valladares et al. 2014).

La matriz que rodea los fragmentos de bosque es de carácter agrícola, siendo el cereal (trigo, cebada) el cultivo más común (Valladares et al. 2014).

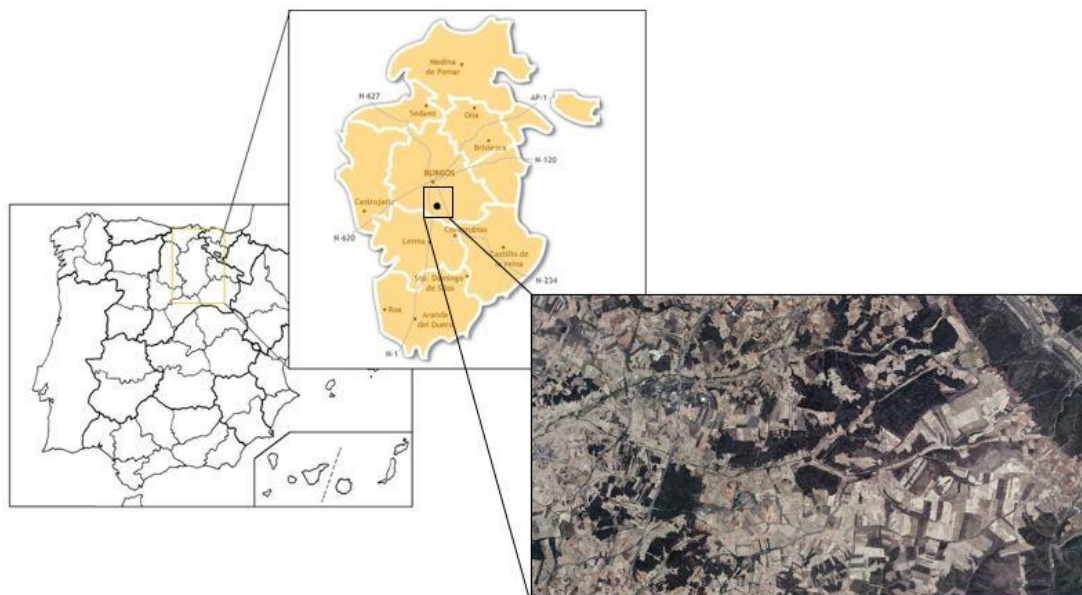


Fig 1. Mapa que detalla la localización geográfica de la zona de estudio.

Recogida de datos y diseño experimental

La elección de las parcelas dentro del área de estudio se realizó de acuerdo a la siguiente metodología. Se descargaron fotografías ortorectificadas del Centro Nacional de Información Geográfica (<http://centrodedescargas.cnig.es/CentroDescargas/-index.jsp>) correspondientes al año 2017, y mediante el software de Google Earth Pro (disponible en: <https://www.google.com/earth/download/gep/agree.html>) se identificaron todos los fragmentos forestales presentes en la zona, eliminando aquellos que pertenecían a plantaciones o que mostraban claros efectos de actividad antrópica intensa (aclarado). Para cada fragmento se midió el perímetro y área. Los fragmentos con geometrías altamente irregulares, los cuales poseían una relación área/perímetro muy baja, fueron descartados en una primera fase. El resto fueron visitados durante el otoño de 2017 para comprobar la homogeneidad de la composición arbórea de las parcelas. El estudio se

centró en fragmentos con una abundancia de encina superior al c. 75 % respecto a otras especies arbóreas. Finalmente se seleccionaron un total de 10 parcelas en un gradiente de tamaños que varía entre las 0.002 ha y las 250 ha. Los datos relativos a cada fragmento se encuentran en la tabla 1.

Tabla 1. Mediciones realizadas para cada fragmento. Las coordenadas, aproximadamente del centro geográfico de cada parcela, corresponden al lugar donde se realizaron los inventarios.

<u>Fragmento</u>	<u>Área (ha)</u>	<u>Altitud (m)</u>	<u>Perímetro(m)</u>	<u>Coordenadas</u>
Árbol	0.002	933	5	42°05'30.04 N 3°43'57.50 W
31	0.1	924	132.34	42° 5' 45.60 N 3° 44' 45.21 W
601	0.3	923	247.17	42° 4' 13.8 N 3° 43' 16.6 W
28	1.02	923	428.56	42° 5' 52.87 N 3° 44' 45.95 W
502	4.23	948	1098.09	42° 4' 19.18 N 3° 42' 38.48 W
505	12.21	926	2,128.19	42° 4' 41.38 N 3° 43' 38.61 W
54	16.13	925	2,146.47	42° 5' 7.51 N 3° 44' 36.54 W
500	35.85	944	4,034.44	42° 4' 29.6 N 3° 42' 54.72 W
159	48.01	929	5,000.98	42° 4' 54.65 N 3° 43' 30.037 W
200	250	1093	10,386.14	42° 6' 55.49 N 3° 33' 45.67 W

En cada fragmento se muestrearon las comunidades de líquenes epífitas lo más cercano al centro geográfico de los mismos, estudiando un total de 10 individuos del forófito, el cual debía tener un mínimo de 12 cm de diámetro. Este muestreo se llevó a cabo de acuerdo a los métodos descritos por (Asta et al. 2002). Brevemente, el método se basa en la utilización de una gradilla de 50 x 10 cm, dividida en 5 cuadrados de 10 x 10 cm. Dicha gradilla se dispone a lo largo del eje principal del árbol entre una altura de 1.3 y 1.8 m en las orientaciones norte y sur. En cada orientación se anota el número de especies presentes y el número de cuadrados de 10 x 10 m en los que está presente la especie.

Una vez realizado el inventario, se trató de recolectar un total 10 individuos de todas las especies identificadas para el fragmento. Esta búsqueda se prolongó hasta un máximo de 4 horas por parcela. En general, se completó el total de individuos para un 98.2 % de los casos. Las muestras fueron secadas a temperatura ambiente y almacenadas hasta su posterior procesado.

Extracción de ADN, amplificación y preparación de librerías para metabarcoding

Las muestras recolectadas fueron examinadas bajo la lupa binocular, seleccionando un área de c. 4 mm² con la ayuda de una cuchilla y una aguja estériles. Se seleccionaron áreas de los talos sin síntomas visibles de necrosis, colonización de hongos liquenícolas o biofilms de organismos fotosintéticos. Siempre que fue posible se eliminó el córtex del talo previamente a la extracción de la capa algal. Los diez individuos de cada combinación especie×fragmento fueron depositados en un tubo de 1.5 ml estéril. La extracción de ADN se realizó utilizando el E.Z.N.A.® Forensic DNA Kit (Omega Bio-Tek, Norcross, Georgia) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Se amplificó la segunda parte del espaciador transcribible interno (ITS2) del fotobionte del operón del

rARN, región que se utiliza habitualmente como *barcode* universal en numerosos grupos de eucariotas (Coleman 2009). Los cebadores utilizados para amplificar esta región fueron la pareja FDGITS2-f y FDGITS2-r (Dal Grande et al. 2018) unidos a los adaptadores de Illumina CS1 y CS2 (disponibles en: <https://rtsf.natsci.msu.edu/-genomics/sequencing-services/sample-requirements-for-illumina-sequencing/>). Las reacciones de PCR de 25µl contenían 0.625U PrimeSTAR GXL DNA Polymerase (Takara BioInc, Japan), 5µl de Buffer, 2µl de dNTP Mixture (2.5 mM), 3 µl de ADN, 0.5 µl de cada primer a 10 mM y 13.5 µl de agua. Las reacciones de PCR fueron realizadas con las siguientes condiciones: una temperatura inicial de desnaturalización de 94°C durante 1 min seguido de 30 ciclos de 95°C durante 15 seg, 52°C durante 15 seg y 72 °C durante 30 seg, para acabar con una elongación de 72°C durante 1 min.

Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa teñidos con SYBR safe™ (Invitrogen, California, Estados Unidos) y cuantificados mediante Qubit® Fluorometer (Life Technologies, Darmstadt, Alemania). Finalmente, los amplicones fueron normalizados y enviados a secuenciar mediante secuenciación paired-end (2x300 bp) en un secuenciador MiSeq de Illumina en el servicio de genómica de la Universidad de Michigan (USA).

Confirmación de la identidad de los micobiontes mediante análisis comparativo de la región ITS (*barcoding*)

Dado que la identidad de algunas especies encontradas en la zona de estudio planteaba problemas de identificación, particularmente aquellas que presentaban talos estériles, aunque también algunas muestras fértiles con afinidades ambiguas con taxones conocidos, se propuso el uso de la región ITS del micobionte como *barcoding* para ayudar en la identificación de algunas muestras y, además, confirmar la identificación preliminar

realizada en campo para el resto. Para ello, después de seleccionar pequeñas secciones del talo (c. 4 mm²) que no mostrasen signos claros de necrosis u hongos liquenícolas, se utilizó el método de extracción mediante el uso de la resina de intercambio iónico Chelex 100 (BioRad, Madrid) según Ferencova et al. (2017). La reacción de PCR se llevó a cabo utilizando los cebadores ITS1f-Kyo2 y el ITS4-Kyo2 (Toju et al. 2012). Las reacciones de PCR incluían: 6.5 µl de MyTaq Red Mix (BioLine, Reino Unido), 2 µl de ADN (diluido en 1:10), 0.5 µl (10uM) de cada primer y 5.5 µl de agua y fueron realizadas con las siguientes condiciones: una temperatura inicial de desnaturalización de 94°C durante 5 min seguido de 35 ciclos de 94°C durante 30 seg, 57°C durante 30 seg y 72 °C durante 1 min, para acabar con una elongación de 72°C durante 7 min. Los amplicones fueron secuenciados en Macrogen (Madrid, España) utilizando los mismos primers que en la reacción de secuenciación. El programa Geneious v 11.0.5 (<http://www.geneious.com>) (Kearse et al. 2012) se utilizó para inspeccionar la calidad de las secuencias obtenidas y realizar los *contigs* correspondientes. La asignación o aproximación taxonómica se llevó a cabo comparando nuestras secuencias obtenidas con las disponibles en la base de datos del Gen Bank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) mediante el algoritmo BLAST (Altschul et al. 1997).

Tratamiento bioinformático

Los datos obtenidos del análisis mediante MiSeq de la librerías de amplicones se trataron con el paquete “DADA2” (<https://benjjneb.github.io/dada2/index.html>) del programa R (v 3.4.3 <https://cran.r-project.org/bin/windows/base/old/3.4.3/>) que implementa todas las funciones necesarias para trabajar con estudios de *metabarcoding*: eliminación de primers, unión de las lecturas paired-end, alineamiento de las secuencias, derreplicación e identificación de quimeras. Este paquete incluye algoritmos que

producen un modelo de errores *ad hoc* que tiene en cuenta la calidad de las secuencias, las abundancias cuantitativas y parametriza una tasa de error basándose en el propio conjunto de datos (Callahan et al. 2016).

DADA2 basa su filosofía en la creación de variantes génicas o ASV (Amplicon Sequence Variance) (Callahan et al. 2017), eliminando la fase final de creación de OTU's (Operational Taxonomic Units) mediante medidas de similitud y otros métodos, habitual en estudios de *metabarcoding* hasta hace poco. Este método permite trabajar a una mayor resolución, a nivel de haplotipo, es decir, distinguiendo secuencias que difieren en un único nucleótido. En el caso de los fotobiontes liquénicos, la mayor parte de los estudios han trabajado a nivel de OTU (Dal Grande et al. 2018; Leavitt et al. 2015), sin embargo se desconocen los límites reales entre especies de fotobiontes y los resultados obtenidos por varios trabajos recientes apuntan a que cepas aisladas de la misma especie que difieren en una o pocas bases, se comportan de manera muy distinta desde el punto de vista ecofisiológico (Sadowsky et al. 2016). Por esta razón, se ha elegido trabajar a nivel de ASV (o haplotipo) en este trabajo.

A pesar de las precauciones tomadas, no se puede descartar la presencia de contaminaciones, ya que en la superficie de los líquenes se asientan comunidades de algas, e incluso alguna de ellas pueden vivir de manera ocasional de forma parasimbiote dentro del talo, aunque que no tengan ningún papel determinante en la simbiosis. Para evitar este problema y el posible ruido añadido a análisis posteriores, se realizó un filtrado doble de los resultados obtenidos. Por un lado, nos basamos en literatura previa sobre fotobiontes presentes en las especies encontradas en este estudio o en especies del mismo género (Blaha et al. 2006; Muggia et al. 2014; Tschermak-Woess 1988; Wornik and Grube 2010). Por otro lado, se estableció un límite de lecturas (100) por debajo del cual

se consideraba que el ASV no pertenecía a la simbiosis líquénica y era probable un origen externo.

Finalmente, se construyó una matriz de datos para cada fragmento en la que las filas representan a la especie de micobionte, las columnas a los ASV del fotobionte y las celdas contienen el número de lecturas de cada ASV en esa especie de líquen.

Arquitectura de redes de interacción

La interacción entre micobionte y fotobionte fue determinada como la presencia de un determinado ASV asociado a un micobionte en una determinada parcela. La fuerza de la interacción fue estimada como el número de lecturas rarefaccionadas obtenidos para cada ASV en cada combinación especie×parcela.

Así, para cada fragmento se generó una matriz de interacciones entre mico- y fotobionte que se utilizó como punto de partida para el análisis de la estructura de la red. Las interacciones se visualizaron utilizando la función *plotweb* del paquete *bipartite* (Dormann et al. 2008; Dormann et al. 2009). Para cada red se calcularon las siguientes parámetros: 1) conectividad (C), o porcentaje del total de links posibles presentes en nuestra red, dándonos una idea de la densidad de interacciones en nuestras redes (Dormann et al. 2009). 2) Anidamiento, calculado a través del estimador WNODF (Weighted Nestedness metric based on Overlap and Decreasing Fill) (Almeida-Neto and Ulrich 2011). Este índice es una versión cuantitativa del anteriormente propuesto por Almeida-Neto et al. (2008) (NODF) que permite conocer el grado de anidamiento (Guimarães and Guimarães 2006) que muestra una red teniendo en cuenta la fuerza de interacción entre los organismos. El anidamiento es una propiedad altamente estudiada y detectada en redes de interacción mutualista, que hace referencia a un patrón en el que los especialistas de la red interactúan con subconjuntos de las especies con las que interactúan

los generalistas (Bascompte 2007; Bascompte et al. 2003). Los resultados fueron enfrentados a una distribución nula construida a partir de 500 modelos nulos creados usando el método “vaznull” del paquete *bipartite* a partir de la matriz original. Este modelo nulo es bastante conservativo ya que mantiene el número de interacciones totales de red y de cada especie de forma individual, y testado con la función z-test para comprobar la significación respecto a la esperada de forma aleatoria. 3) Modularidad, que muestra la existencia de subgrupos o módulos dentro de la red en los que las especies interactúan preferentemente entre ellos (Olesen et al. 2007). La presencia de módulos en nuestras redes y su significación se calculó mediante el algoritmo propuesto por Beckett (2016) (Q) e implementado en la función *ComputeModules* del paquete *bipartite*. Como el algoritmo está sujeto a cierta estocasticidad, el análisis se corrió un total de 4 veces, eligiendo, en caso de variación, el resultado con un valor mayor de Q. Para evaluar este resultado se calculó la modularidad en 100 matrices aleatorias generadas a partir de nuestras matrices originales y utilizando el modelo “vaznull”. Los valores obtenidos de Q se contrastaron con lo de la distribución nula mediante un z-test siguiendo a (Dormann and Strauss 2014) y asumiendo diferencias significativas con valores de $z \geq \pm 2$. 4) Especificidad a nivel de red (H_2'), donde se tiene en cuenta la frecuencia de interacción de forma cuantitativa midiendo la desviación de los links realizados sobre un modelo nulo de interacciones totales (Bersier et al. 2002; Blüthgen et al. 2008). Igual que en casos anteriores la significancia de los resultados fue testada contra la distribución nula generada mediante el análisis de un conjunto de matrices de interacción generadas por un modelo nulo ‘vaznull’ (500 matrices) y un z-test. 5) Robustez de cada simbiote respecto a la pérdida de las especies con las que interactúa, medida con la función *second.extinct* del paquete *bipartite*, y calculando el área debajo de la curva de extinción.

Todos los análisis fueron llevados a cabo en el paquete de R *bipartite* (Dormann et al. 2008; Dormann et al. 2009).

Análisis a nivel de especie

Atendiendo a las especies que componen esta relación simbiótica obtuvimos una serie de valores relacionados con la especificidad, grado de distribución y biología de la especie. 1) Grado de distribución, llamando así al número de interacciones realizadas por cada especie, sin tener en cuenta el número de lecturas de cada una (Jordano et al. 2003; Vázquez 2005). 2) Especificidad a nivel de especie (d') que también tiene en cuenta las interacciones de manera cuantitativa pero utilizando la distancia de Kullback-Leiber (Blüthgen et al. 2006). Tanto la d' como el grado de distribución se compararon en conjunto y a lo largo del gradiente utilizando dos rasgos funcionales: a) el biotipo de las especies de hongos liquenizados (crustáceo vs. foliáceo vs. fruticuloso) y b) el modo de reproducción (sexual vs. vegetativo). La significancia de los rasgos funcionales se testó mediante un test *anova* y un posterior test *post-hoc* a través de la función *pairwise.t.test* con el método de *Bonferroni*. 3) Solapamiento de nicho, que junto a la medida de la especificidad permite conocer el proceso por el cual ciertas especies se ven restringidas a un rango muy estrecho de posibles nichos, debido a probables procesos coevolutivos con las especies con las que interactúan (Poisot et al. 2011).

Todas las gráficas para los análisis realizados fueron creadas con el paquete de R “*ggplot2*” (Wickham 2016)

Recambio de interacciones a lo largo del gradiente

Al igual que la diversidad de especies cambia entre puntos de estudio, también lo hacen las interacciones. Se utilizó el paquete *betalink* (Poisot 2016) para calcular el recambio de interacciones entre fragmentos utilizando el índice de Whittaker (Whittaker

1960). Este paquete permite pormenorizar la diferencia de interacciones entre dos parcelas (β_{WN}) en las diferencias debidas al recambio de especies (β_{ST}) y la diferencia debida a la presencia de las especies, pero no a la interacción (β_{OS}).

Este procedimiento nos permite comprobar si la coocurrencia de especies es suficiente para que la interacción ocurra o si existen factores locales que impiden la interacciones pese a la coocurrencia (Havens 1992). Los valores de las diferentes componentes de la beta diversidad entre fragmentos se visualizaron utilizando el paquete *circlize* (Gu et al. 2014).

Niveles de eutrofización de cada fragmento

Para determinar una posible influencia de la eutrofización en la riqueza de micobiontes y fotobiontes para cada fragmento se realizó una medida indirecta utilizando los valores indicadores de eutrofización para cada especie disponibles en la base de datos de ITALIC 5.0 (<http://dryades.units.it/italic/index.php>) (Nimis and Martellos 2017). Para cada fragmento se calculó una media ponderada de acuerdo a la abundancia de cada especie presente.

RESULTADOS

Los inventarios realizados en las parcelas de estudio detectaron un total de 46 especies. De estas especies, 17 son crustáceas, 18 foliáceas y 11 fruticulosas; 23 se reproducen principalmente de manera sexual, mostrando las 23 restantes reproducción vegetativa (Mat. Sup. Tabla 1). Se consiguió amplificar la región ITS del hongo para todas las especies encontradas en la zona de estudio excepto una (*Parmelina quercina*), la cual se caracterizó mediante estudio morfológico. El resto se compararon mediante búsqueda BLAST con las secuencias disponibles en el Gen Bank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>-

genbank/). Se obtuvieron valores de similitud de 99 o 100% para un total de 34 especies. Para 12 especies los valores fueron menores, debido a la ausencia de las especies en la base de datos (p.ej. *Ramalina obtusata*) o bien debido a que probablemente se trate de taxones nuevos (p.ej. *Blastenia* sp., *Lecanora* cf. *expallens*, *Lecanora* cf. *carpineae*) (Mat. Sup. Tabla1). El número de especies por parcela oscilaba entre las 9 del árbol hasta las 28 del fragmento 505 (13.11 ha) con una media de 22 especies (Mat. Sup. Tabla 2). Tanto la riqueza de micobiontes por fragmento como el índice de Shannon (Fig. 2B), crecen a medida que aumenta el área hasta alcanzar un máximo en el fragmento 505 (13.11 ha). La riqueza se ajustó a un modelo lineal ($p < 0.05$; $R^2=0.4824$), mientras que el índice de Shannon se ajustó a un modelo cuadrático ($p < 0.05$; $R^2=0.7308$).

Se recolectaron 2272 talos correspondientes a 229 muestras para análisis mediante MiSeq. La media de talos por especie y parcela fue de 9.92. Se obtuvieron un total de 8.478.480 lecturas paired-end de los amplicones de ITS2 de los fotobiontes en la plataforma Illumina MiSeq. Después del filtrado de calidad con DADA2 quedaron un total de 4.956.878 lecturas y tras aplicar el filtro para eliminar contaminaciones quedaron finalmente 4,903.976, con una media de 21,415 lecturas por muestra. El procesado de estas muestras a través de DADA2 dio como resultado 985 ASV de los cuales 175 pasaron el proceso de filtrado, especialmente debido a ser ASVs minoritarios con menos de 100 lecturas. Con los 175 ASVs restantes se realizó una búsqueda BLAST múltiple en el Gen Bank con el objetivo de realizar una primera asignación taxonómica de los mismos. El género mayoritario de fotobiontes fue *Trebouxia* con 158, seguido por 13 del género *Dictyochloropsis* y 4 del género *Asterochloris*.

El género *Asterochloris* está restringido al género *Cladonia*, mientras que el género *Dictyochloropsis* lo observamos mayoritariamente en *Phlyctis argena*.

El número máximo de ASVs en una parcela fue de 75 en el fragmento 505 (13.11 ha) y el mínimo (25) en el árbol, obteniendo una media de 51 ASVs por parcela (Mat. Sup. Tabla 2). La riqueza y el índice de Shannon para fotobionte se ajustaron a un modelo cuadrático con p valores menores a 0.05 y con valores de R^2 de 0.6256 y 0.7268 respectivamente. Se observó el mismo patrón que para micobiontes, la riqueza y el índice de Shannon aumentan en general con el tamaño hasta alcanzar un máximo en el fragmento del fragmento 505 (13.11 ha), aunque no se observa un descenso tan acusado de la diversidad en las parcelas de mayor tamaño como ocurre con el micobionte (Fig. 2B y 2C). El número medio de ASV por micobionte en cada parcela alcanzó su máximo en el árbol (2.777) y el mínimo en el fragmento 502 (4.23 ha) (Fig. 2A). En el 91% de las especies encontramos más de un ASV, en el 49 % más de 5 ASVs y en un 10% más de 10 ASVs.

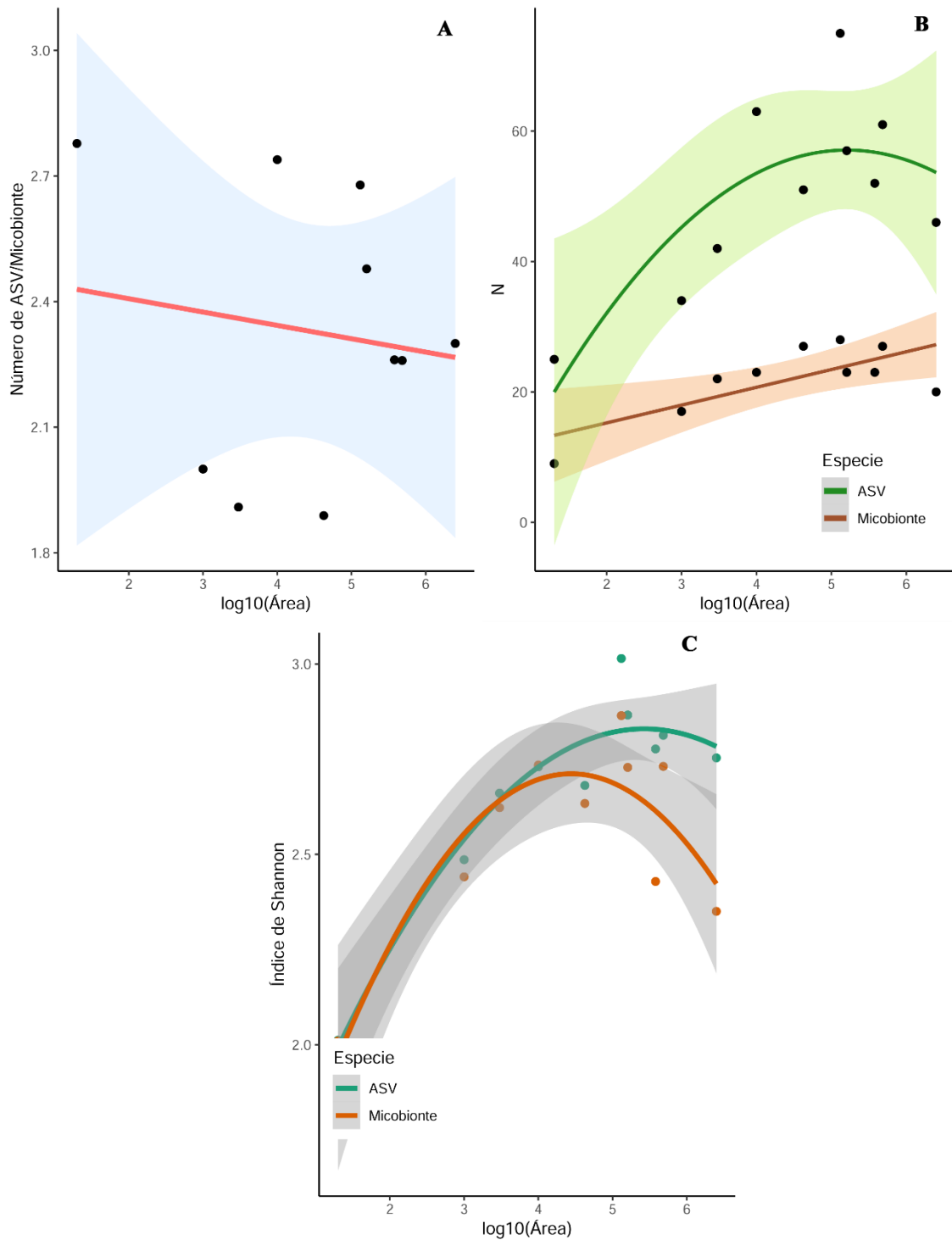


Fig.2. Representación gráfica la diversidad de micobiontes y fotobiontes encontrada a lo largo del gradiente de tamaño de fragmentos. A) Número de ASV por micobionte respecto al área (log). Modelo lineal: $p > 0.05$; $R^2 = -0.1013$. B) Riqueza de micobiontes y fotobiontes respecto al área (log). Modelo lineal (micobiontes): $p < 0.05$; $R^2 = 0.4824$. Ajuste cuadrático (fotobiontes): $p < 0.05$; $R^2 = 0.3799$. C) Ajuste cuadrático del índice de Shannon respecto al área: (micobiontes) $p < 0.005$; $R^2 = 0.7308$. (fotobiontes) $p < 0.0001$; $R^2 = 0.7268$

Análisis de la arquitectura de las redes de interacciones hongo-alga

Se encontraron un total de 1365 interacciones entre las 229 muestras de micobionte y los 175 ASVs de fotobiontes.

La conectancia de las 10 redes analizadas varía entre 0.086 del fragmento 505 (13.11 ha) y 0.2355 del árbol. Se observa un claro descenso en los niveles de conectancia a lo largo del gradiente analizado (Fig. 3A; $R^2=0.7667$; $p < 0.001$). Los valores de anidamiento son en general pequeños, y todos significativamente menores que los modelos nulos (anti anidamiento) (Tabla 2). Los valores oscilan entre 7.1139 del fragmento 200 (250 ha) y 19.1238 del árbol, y muestran un claro descenso según aumenta el tamaño del fragmento (Figura 3B; $R^2=0.8885$; $p < 0.0001$). El valor de modularidad (Q) fluctúa desde 0.595 del árbol hasta los 0.7297 del fragmento 54 (16 ha), con un patrón ascendente acentuado a medida que aumenta el área (Fig. 3C; $R^2=0.7809$; $p < 0.001$). La especificidad (H_2') muestra un valor máximo de 0.8098 en el fragmento 200 (250 ha) y un mínimo en el árbol de 0.6860, mostrando un claro patrón ascendente a medida que lo hace el área (Fig. 3D; $R^2=0.6$; $p < 0.01$). El solapamiento de nicho muestra un patrón descendente muy parecido tanto en fotobiontes (Fig. 3E; $R^2=0.599$; $p < 0.01$), como en micobiontes (Fig. 3E; $R^2=0.6903$; $p < 0.01$), siendo este último el que posee valores más altos con una media de 0.168 mientras que la media para los fotobiontes es de 0.091.

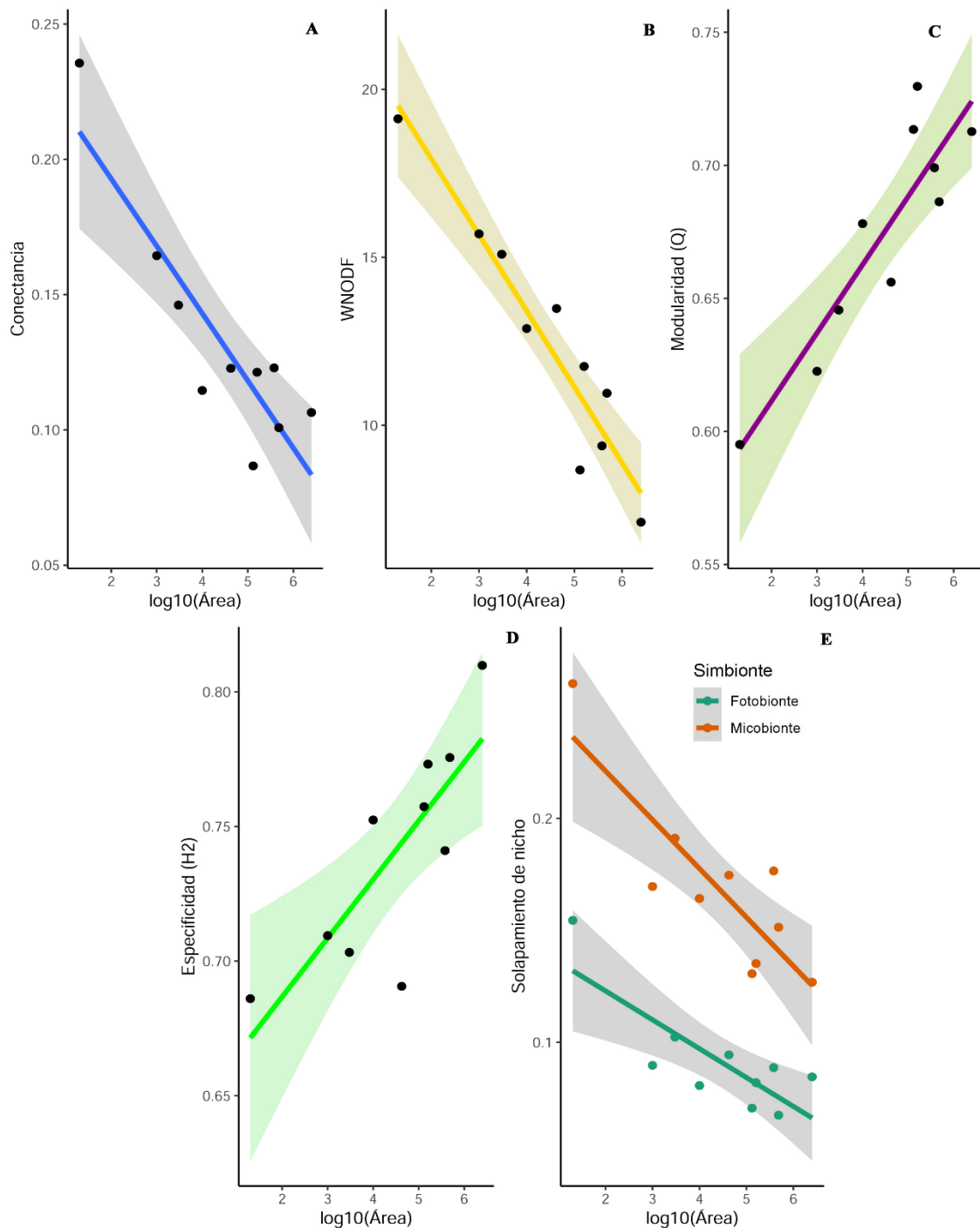


Fig.3. Representación gráfica de los valores obtenidos para los diferentes parámetros de red respecto al área de los fragmentos (log) y los modelos lineales respectivos. A) Conectancia ($R^2=0.7667$; $p < 0.001$). B) Anidamiento ($R^2=0.8885$; $p < 0.0001$). C) Modularidad ($R^2=0.7809$; $p < 0.001$). D) Especialización (H_2') ($R^2=0.6$; $p < 0.01$). E) Solapamiento de nicho en micobiontes (marrón) ($R^2=0.6903$; $p < 0.01$) y fotobiontes (verde) ($R^2=0.599$; $p < 0.01$). Las rectas de color representan la recta de ajuste según el modelo lineal, y la zona sombreada el intervalo de confianza (95%).

El número máximo de módulos por red fue de 10 (Fragmento 159, 48.2 ha y Fragmento 505, 13.11 ha) mientras que el mínimo fue cuatro (Árbol), siendo la media de aproximadamente siete módulos por red. (Fig. 4) (Tabla 2).

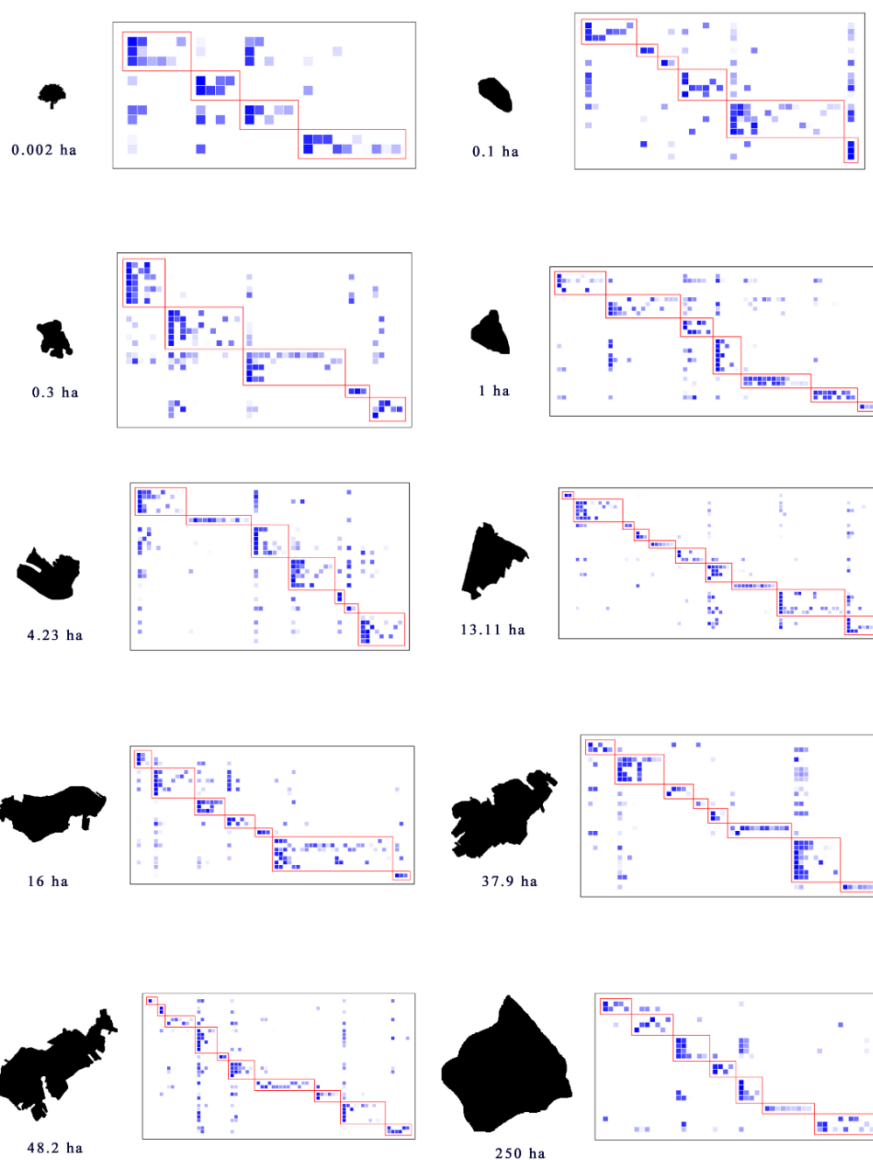


Fig.4. Representación gráfica de los módulos encontrados en el análisis de las redes de interacción estudiadas. Los gráficos han sido ordenados de izquierda a derecha y de arriba abajo según el área del fragmento. Las cajas rojas representan los módulos y los cuadrados azules las interacciones. El tono de azul viene determinado por la fuerza de la interacción (número de lecturas del fotobionte en cada especie de micobionte y parcela).

Tabla 2. Medidas de anidamiento (WNODF), modularidad (Q) y especialización (H2') y los respectivos z-tests utilizando 500 modelos nulos *vaznull*.

<u><i>Fragmento</i></u>	<u><i>WNODF</i></u>	<u><i>Z score</i></u> <u><i>WNODF</i></u>	<u><i>H₂'</i></u>	<u><i>Z score H₂'</i></u>	<u><i>Q</i></u>	<u><i>Z score Q</i></u>	<u><i>N.º módulos</i></u>
Árbol (0.002 ha)	19.123	-84.766	0.6860	222.43	0.595	1426.404	4
Fragmento 31(0.1 ha)	15.698	-78.964	0.7094	284.84	0.6226	1913.544	6
Fragmento 601 (0.3 ha)	15.091	-90.402	0.7032	336.33	0.6456	2382.395	5
Fragmento 28 (1 ha)	12.879	-86.191	0.7523	417.74	0.6781	2424.03	7
Fragmento 502 (4.23 ha)	13.475	-112.63	0.6906	392.78	0.6561	2361.618	7
Fragmento 505 (13.11 ha)	8.667	-113.56	0.7573	326.28	0.7135	2729.443	10
Fragmento 54 (16 ha)	11.751	-116.07	0.7731	395.5	0.7297	3204.239	7
Fragmento 500 (37.9 ha)	9.386	-155.04	0.7410	349.54	0.6991	2477.612	8
Fragmento 159(48.2 ha)	10.953	-89.271	0.7755	100.92	0.6863	3278.584	10
Fragmento 200 (250 ha)	7.114	-114.85	0.8098	190.74	0.7127	2634.896	7

El grado más alto observado fue de 22 en *Lecanora subcarpineae* del fragmento 28 (1 ha) y en *Blastenia* sp. del fragmento 601 (0.3 ha), mientras que la mayor d' se dio en *Phlyctis argena* de los fragmentos 200 (250 ha) y 28(1 ha) con un valor de 1. Por el contrario, el valor mínimo de grado (1) lo obtuvieron ciertas especies foliáceas como por ejemplo *Melanelixia fuliginosa* en el fragmento 200 (250 ha), mientras que el valor mínimo de d' fue 0.16 en *Lecanora subcarpineae* del fragmento 28 (1 ha). El grado de cada especie y la especialización a nivel de especie (d') fueron comparados entre biotipos (Fig. 5A y 5B) y modo de reproducción (Fig. 5C y 5D), y se estudió como variaban sus valores medios a lo largo del gradiente de áreas (Figs. 6 y 7). Existen diferencias significativas en el grado y la d' entre los distintos biotipos ($p < 0.0001$ en ambos casos). El grado medio es significativamente mayor en el biotipo crustáceo (9) respecto a los otros dos biotipos ($p < 0.0001$), pero las diferencias no son significativas entre foliáceo y fruticuloso, mientras que la d' media es mayor para el tipo foliáceo ($p < 0.0001$, $d' = 0.65$), correspondiendo la menor d' al biotipo crustáceo (0.5). En cuanto al grado de distribución a lo largo del gradiente de tamaños (Fig. 6A), encontramos que las especies crustáceas llegan al máximo en tamaños intermedios de parcelas. Sin embargo, un patrón muy distinto se observa con la especificidad en la que las especies foliáceas aumentan su especificidad a medida que lo hace el área del fragmento (Fig. 6B). Si nos centramos en el tipo de reproducción, observamos que no hay diferencias en cuanto al grado (Fig. 5C). Sin embargo, hay una diferencia significativa ($p < 0.0001$) en el índice de especialización d' siendo los líquenes con reproducción vegetativa los que obtienen valores más altos, con una media de 0.65, mientras que para los líquenes con reproducción sexual es de 0.48 (Fig. 5D). Estos valores se ven reflejados en el gradiente de áreas, obteniendo los valores máximos en las especies vegetativas en tamaños intermedios y grandes, mientras que las

especies con reproducción sexual aumentan su especificidad en las parcelas más grandes
(Fig. 7B).

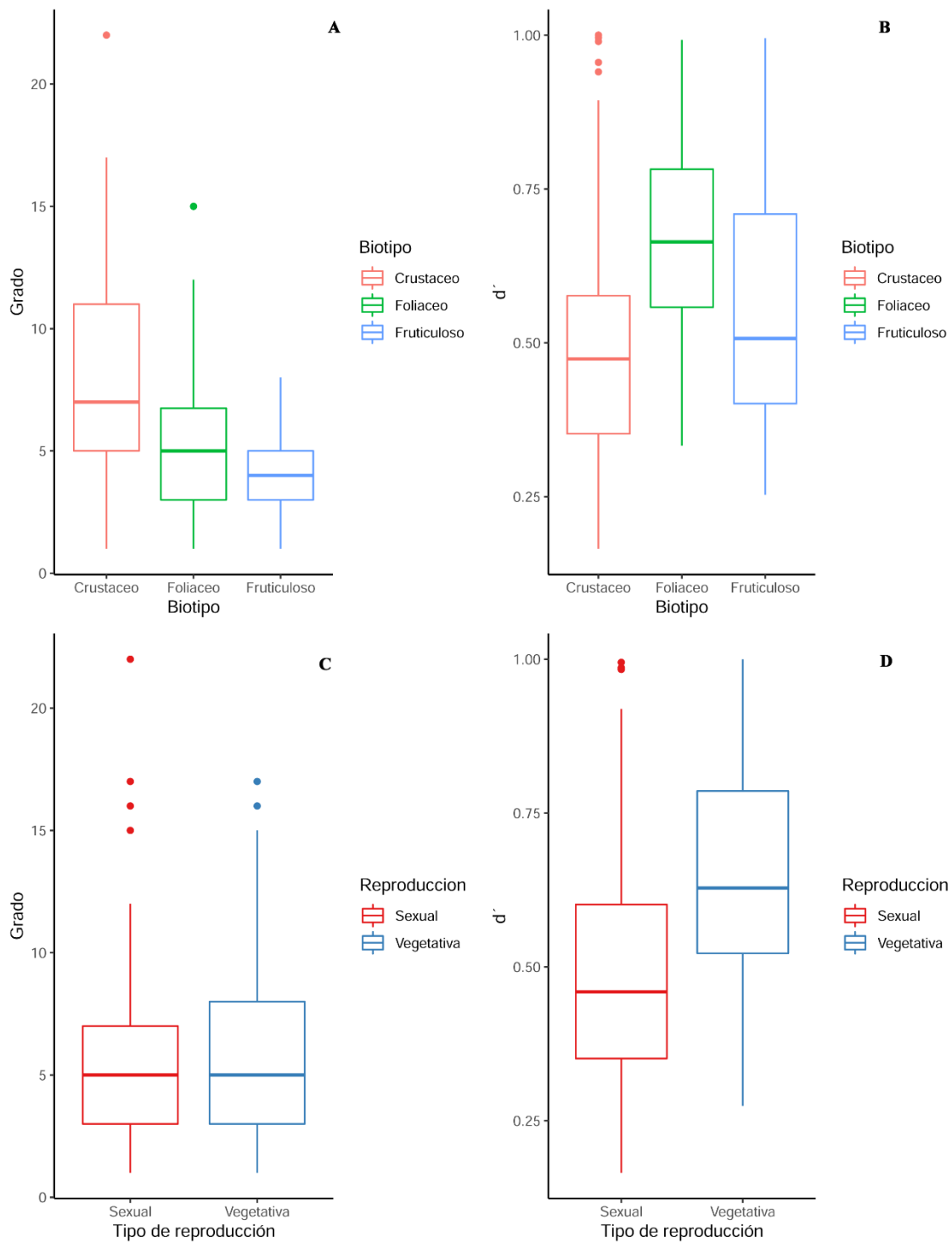


Fig.5 Gráficas de cajas del grado de distribución y de la especialización a nivel de especie (d') respecto al Biotipo (A y B) y el tipo de reproducción (C y D).

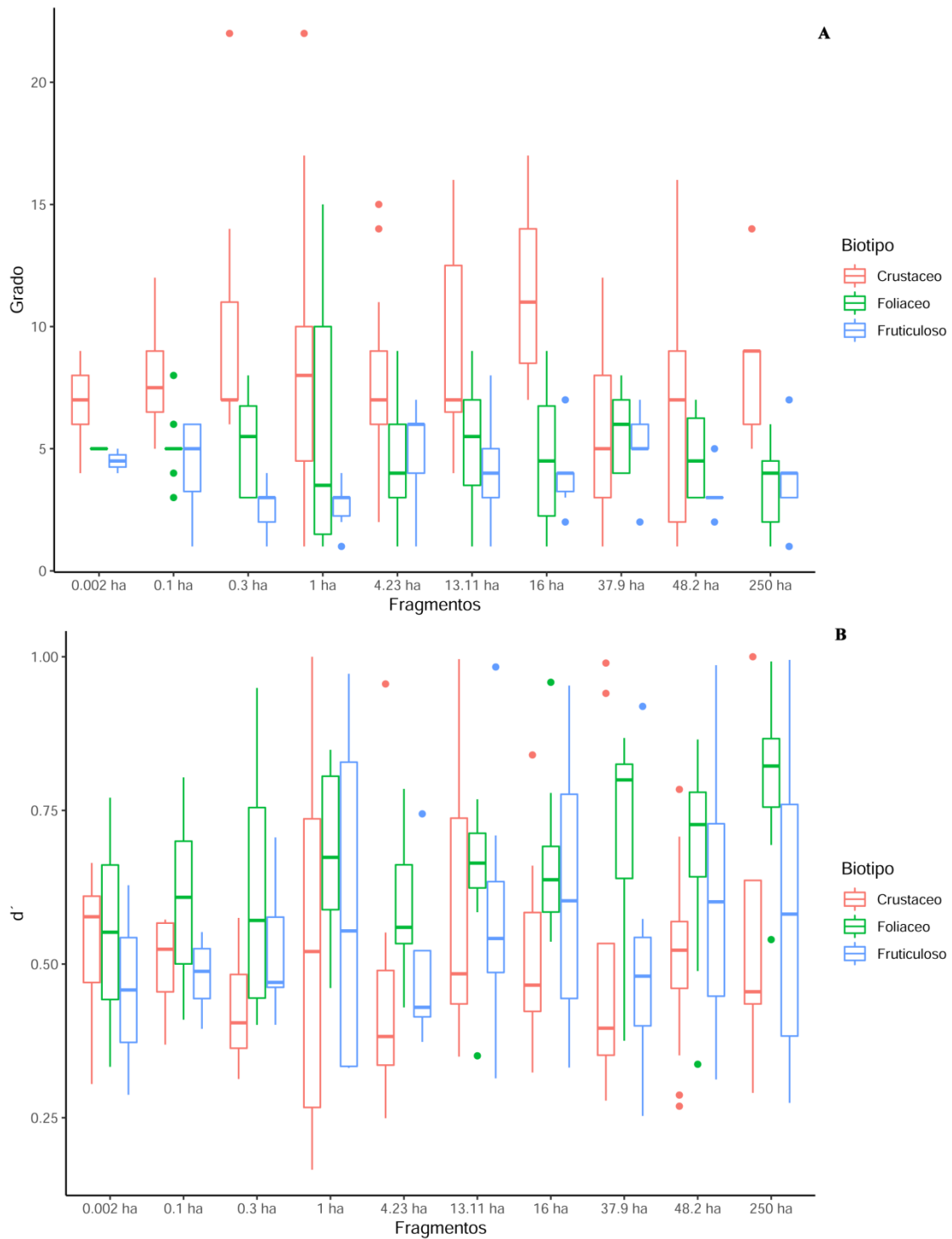


Fig. 6. Gráficos de caja del grado (A) y el índice de especialización d' (B) respecto al biotipo a lo largo del gradiente estudiado. Los datos están ordenados según el tamaño del fragmento en orden ascendente.

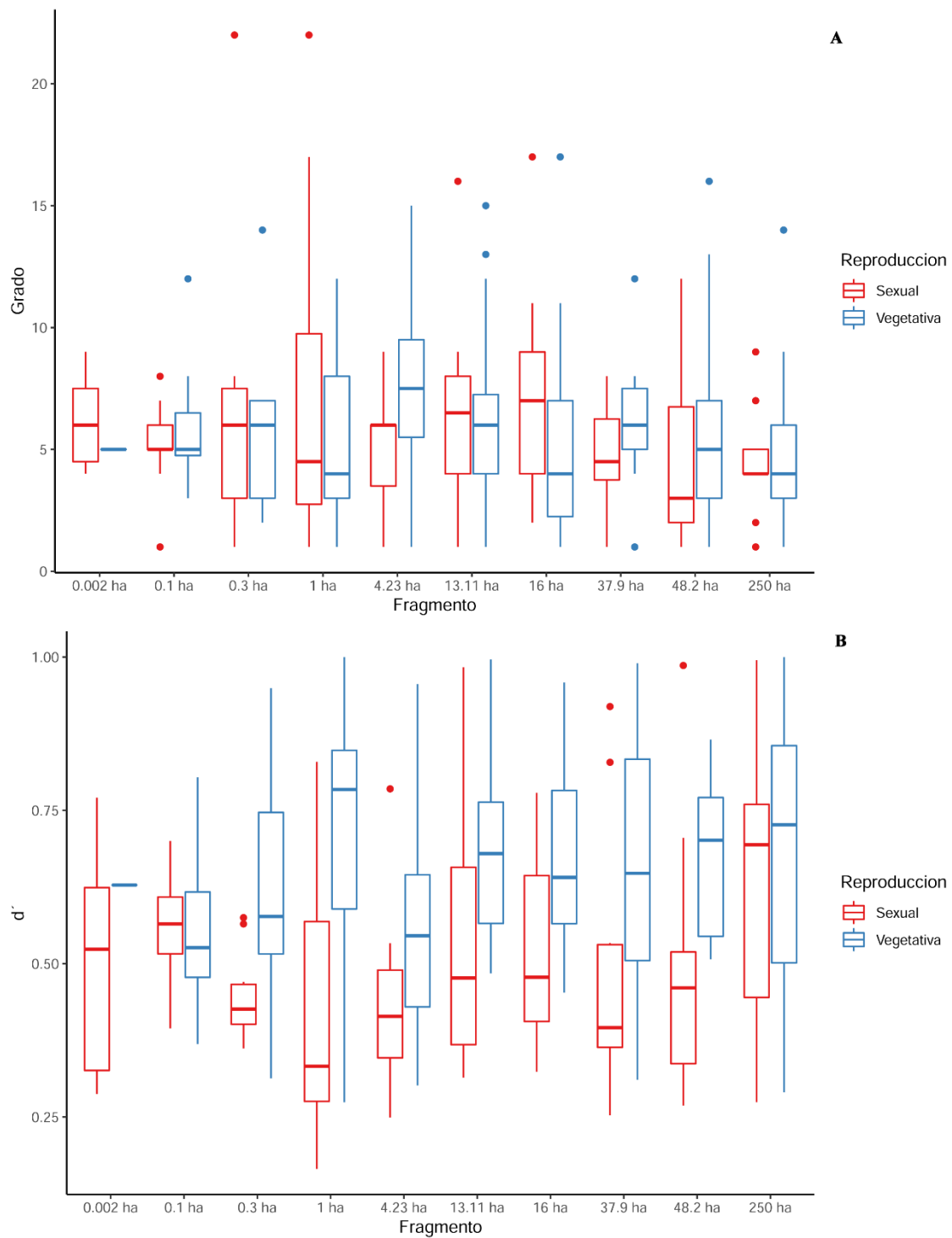


Fig. 7. Gráficos de cajas del grado de distribución (A) y del índice de especialización (d') (B) frente al área del fragmento. Los datos están ordenados según el tamaño del fragmento en orden ascendente

Los valores de beta diversidad de interacciones totales (β_{WN}) revelan un gran recambio de interacciones entre fragmentos (Fig. 8A), con un valor medio de 0.7073. Es significativo que el porcentaje medio de esta tasa de recambio de interacciones explicado por el recambio de especies (β_{ST}/β_{WN}) es del 42.53% mientras que el explicado por el recambio de interacciones (β_{OS}/β_{WN}) es del 57.47% (Fig 8B, $p < 0.0001$).

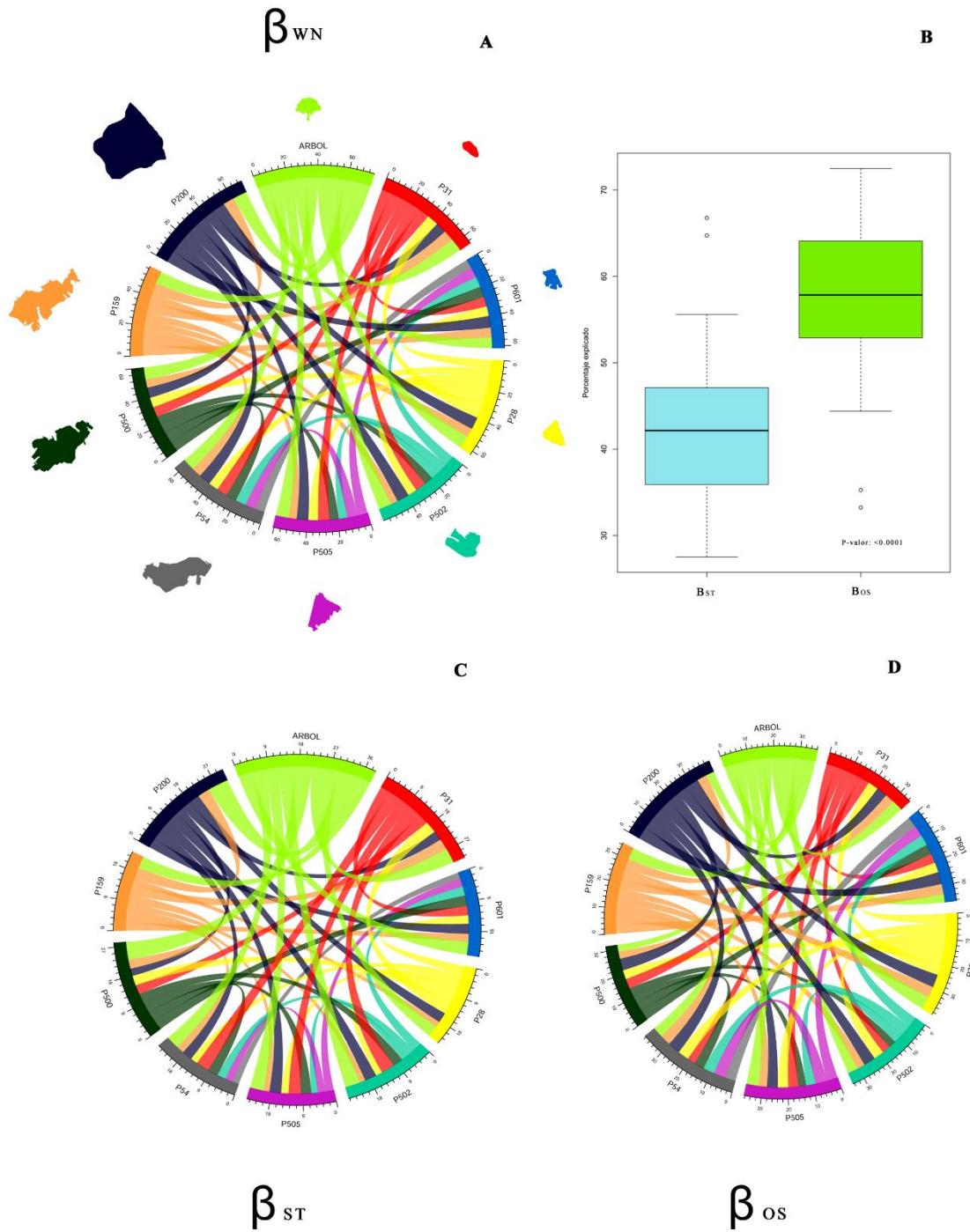


Fig.8. Representación circular y gráfico de cajas de las betas diversidades. Cada color representa un fragmento, ordenados de más pequeño (Árbol) a más grande (fragmento 200, 250 ha). El grosor de cada link viene dado por el grado de disimilitud entre los dos fragmentos. A) representa la beta diversidad de interacciones totales. En esta gráfica se representan además las formas de cada fragmento con su color correspondiente. B) Representación en cajas de la diferencia de disimilitud explicada por el recambio de especies (B_{ST}) y por el recambio de interacciones (B_{OS}). C) Disimilitud de interacciones explicada por el recambio de especies. D) Disimilitud explicada por el recambio de interacciones.

En cuanto a la robustez de las redes estudiadas, se observaron valores altos tanto para los fotobiontes, con una media de 0.8227, como para los micobiontes, con una media de 0.6119. La robustez para fotobionte se ajustó a un modelo lineal ($p < 0.05$; $R^2 = 0.8227$), mientras que para micobionte se ajustó a un modelo cuadrático ($p < 0.005$; $R^2 = 0.7618$). Los patrones observados fueron similares, descendiendo a medida que el tamaño del área aumenta (Fig. 9).

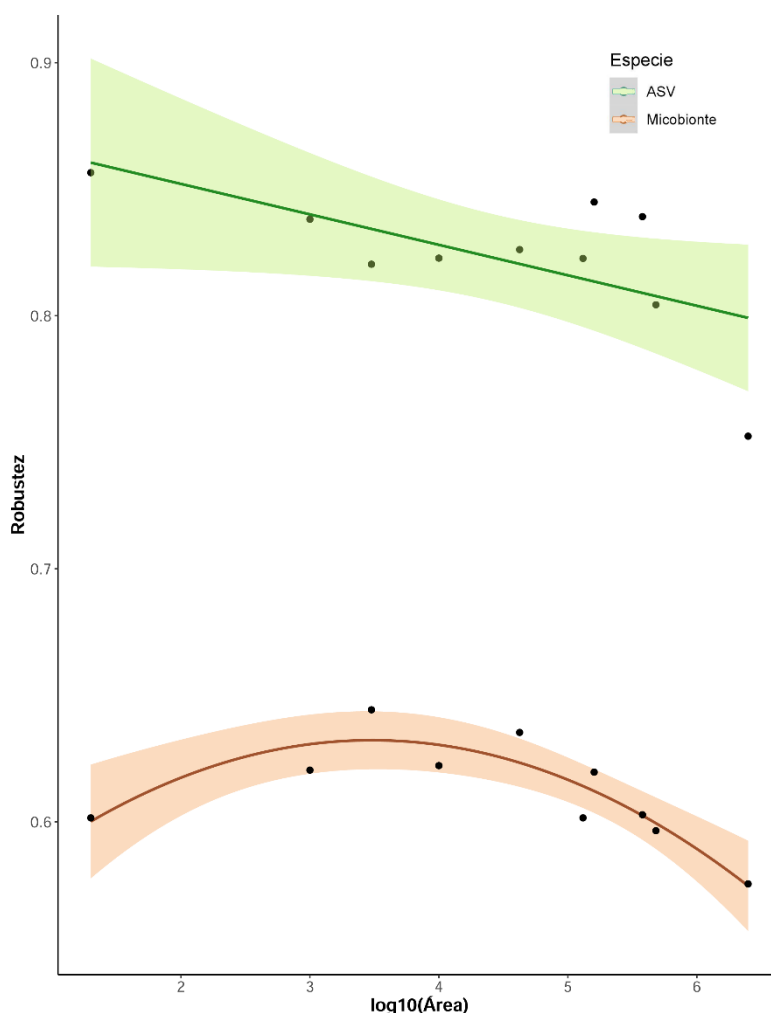


Fig. 9. Representación de la robustez de los fotobiontes ajustado a un modelo lineal ($R^2=0.3304$; $p<0.05$) (A) y de los micobiontes ajustado a un modelo cuadrático (B) ($R^2=0.7618$; $p < 0.005$)

Por último, el índice de eutrofización calculado presenta una distribución con dos picos, uno en el fragmento 31 (0.1 ha) de 2.85 y otro en el fragmento 54 (16 ha) de 2.43 (Fig. 10).

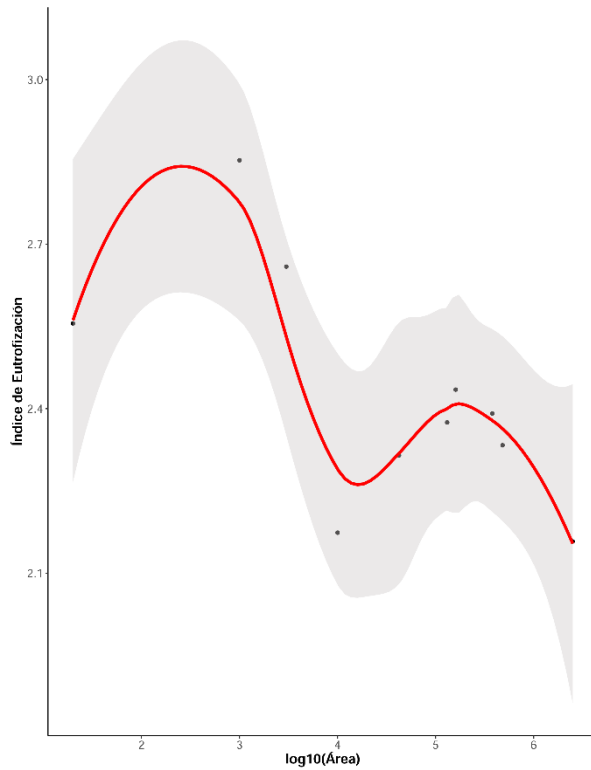


Fig. 10. Representación gráfica del índice de eutrofización medio para cada parcela.

DISCUSIÓN

Los líquenes han sido utilizados de manera generalizada como bioindicadores de cambios en los ecosistemas (Asta et al. 2002; Conti and Cecchetti 2001) incluyendo la fragmentación (Aragón et al. 2010; Cardós et al. 2016). Sin embargo, existen pocas evidencias de los factores y procesos que conducen a la pérdida de diversidad en hábitats fragmentados. En este trabajo se ha estudiado cómo la fragmentación de un bosque de encinas afecta a las redes de interacción hongo-alga, utilizando para ello un gradiente de tamaño, herramientas moleculares de secuenciación de nueva generación y el marco conceptual de las redes de interacción bipartitas (Bascompte and Jordano 2013). Esta aproximación nos ha servido tanto para desentrañar el efecto de la fragmentación en la diversidad de simbiosis líquénicas como para arrojar luz sobre determinados aspectos claves de la biología de los líquenes.

La diversidad de micobiontes (especies) y de fotobiontes (ASVs) (Figs. 2B y 2C) mostraron sus valores más altos en los fragmentos de área intermedia-alta, mientras que los fragmentos con menor diversidad son los de menor tamaño. La fragmentación del hábitat produce alteraciones del régimen de luz y viento, provocados por la creación del efecto borde (Boudreault et al. 2008; Moen and Jonsson 2003). Sin embargo, para un bosque típicamente mediterráneo como el estudiado, con poca densidad arbórea, y rodeado de una matriz agrícola, pensamos que el mayor efecto producido por la disminución del tamaño del fragmento puede ser el aumento de la deposición nitrogenada en forma de amonio (NH_4^+) derivado de la fertilización de los campos de cultivo (Bouwman et al. 1997; Vitousek et al. 1997a). Las altas dosis de nitrógeno actúan como un filtro abiótico (Rew et al. 1992; Schippers and Joenje 2002), reduciendo la diversidad de líquenes (Britton and Fisher 2007; Giordani et al. 2014). La deposición de compuestos nitrogenados respecto a la fuente de origen decae con la distancia (Fрати et al. 2007). Sin

embargo, la coincidencia en nuestro gradiente de los valores más altos de diversidad junto a niveles intermedios de eutrofización (Fig. 9), podría apoyarse en la hipótesis de la perturbación intermedia (Kershaw and Mallik 2013).

Las redes de interacciones estudiadas mostraron características típicas de este tipo de interacción íntima: baja conectividad, un claro patrón de anti anidamiento, elevada modularidad y alta especificidad (Pérez-Ortega et al. in prep; Chagnon et al. 2018). Estas características difieren de otras redes de interacción como las interacciones mutualista polinizador-planta o frugívoros-planta (Bascompte et al. 2003; Mello et al. 2011), acercándose más a redes antagonistas (Bascompte 2007; Dunne et al. 2002; Pires and Guimarães 2012).

Todos los parámetros estudiados mostraron una clara tendencia de cambio respecto al gradiente de tamaño. Los valores de conectancia, el solapamiento de nicho y el anidamiento sufren una disminución clara y significativa a lo largo del gradiente, mientras que la modularidad y la especificidad aumentan. Así, cuanto mayor es el tamaño de la parcela de estudio, se reduce el número de conexiones realizadas de entre las posibles (conectancia) (Fig. 2A) a pesar de que la disponibilidad de fotobiontes no parece seguir el mismo patrón (Fig. 1B). Por lo tanto, teniendo en cuenta los valores observados de especialización (H_2') y solapamiento de nicho, parece que según aumenta el tamaño de fragmento las conexiones se reducen y se vuelven más especialistas. Este patrón se ve confirmado por la tendencia mostrada por los valores de modularidad, que también aumentan con el tamaño del fragmento, indicando que los grupos de especies que interaccionan entre sí cada vez se vuelven más cerrados, con menos conexiones entre ellos. Los valores de anidamiento también disminuyen con el aumento del área, lo que es probable que esté relacionado con el aumento de la modularidad (Fortuna et al. 2010). La presencia de un número notablemente menor de fotobiontes compatibles en fragmento

pequeños, produce interacciones más generalistas entre micobiontes y fotobiontes, lo que aumenta la conectancia y produce una pérdida general de la modularidad.

(Aizen et al. 2012) en su estudio de las redes de polinizador-planta en un gradiente de área en las Sierras Argentinas observaron una pérdida selectiva de interacciones con la disminución del área, produciendo un aumento del anidamiento, debido a la pérdida de aquellas interacciones que involucraban a las especies más especialistas. En nuestro caso, hemos observado un patrón similar, pues si bien nuestro patrón general es siempre de anti anidamiento y elevada modularidad, debido posiblemente a restricciones filogenéticas (Pérez-Ortega et al., in prep.), existe un aumento del anidamiento con la disminución del área del fragmento.

En nuestros resultados, observamos claras diferencias en relación al grado y su especialización (d') respecto a rasgos funcionales relacionados con la morfología de talo de las especies y de su modo de reproducción (Figs. 5 y 6). La especialización es mayor en el biotipo foliáceo y mínima en el crustáceo. Es estudios anteriores se han observados niveles muy bajos de especificidad y selectividad en especies crustáceas respecto a otras foliáceas por ejemplo en la familia Physciaceae (Dahlkild et al. 2001; Helms et al. 2001). El grado de especialización también depende del tipo de reproducción, mostrando un mayor grado de especialización (selectividad) las especies con reproducción asexual. Estudios anteriores, en que se habían comparado pares de especies hermanas sexual-asexual habían apuntado la hipótesis de que la codispersión de ambos biontes provocaba restricciones que producían un aumento de la especificidad (Dal Grande et al. 2012; Otálora et al. 2010).

Los resultados del particionamiento del recambio de interacciones y especies entre fragmentos ofrecen un resultado sin duda sorprendente. Si bien, a priori, esperábamos una pérdida selectiva de interacciones debido a la desaparición de ciertas especies en el

gradiente de áreas (Aizen et al. 2012), nuestros resultados apuntan a que la diferencia entre fragmentos se debe mayoritariamente a que interacciones que ocurren en un fragmento pueden no ocurrir en otro a pesar de que ambas especies estén presentes (β_{OS}). Este resultado tiene gran relevancia a nivel biológico y evolutivo. Que dos taxones interactúen bajo ciertas condiciones abióticas de un fragmento pero no en otras, puede ser debido a varias causas: a) la diferencia en el tiempo de colonización que produciría una falta de solapamiento en el tiempo para que ocurra la interacción (Rafferty and Ives 2011), b) las diferentes condiciones abióticas producen presiones selectivas locales hacia ciertas combinaciones de biontes con mayor fitness, hipótesis propuesta por Thompson (1999) como la teoría del mosaico coevolutivo.

Por último, hay que destacar que, aunque las redes encontradas mostraban un patrón de antianidamiento y alta modularidad, mostraban valores altos de robustez ante la pérdida de miembros y extinciones en cascada para ambos biontes. Aunque en la literatura se ha asociado la propiedad del anidamiento a la fortaleza frente a las perturbaciones (Bascompte 2007; Bascompte et al. 2003; Dunne et al. 2002; Jordano et al. 2003, el alto grado de modularidad encontrado en nuestras redes puede ayudar a que las extinciones no se propaguen de manera masiva en la red. Sin embargo, que la robustez aumente con el descenso del tamaño del fragmento y el descenso de la modularidad, es un patrón que debe ser estudiado de manera más detallada.

CONCLUSIONES

1. Las redes de interacción hongo-alga en comunidades de líquenes epífitos en un bosque típicamente mediterráneo muestran propiedades características de este tipo de interacción íntima: baja conectancia, anti anidamiento, y alta modularidad y especificidad.
2. Todos los parámetros de red estudiados muestran cambios significativos a lo largo del gradiente estudiado.
3. A medida que el área disminuye, la modularidad, el número de fotobiontes y micobiontes, el índice de Shannon y la especificidad disminuyen.
4. Por el contrario, el anidamiento, conectancia y solapamiento de nicho aumentan cuanto más pequeño es el fragmento.
5. Los rasgos funcionales biotipo y el tipo de reproducción son responsables de diferencias significativas en cuanto al grado medio y a la especialización en las especies encontradas en el estudio.
6. La diferencia principal entre fragmentos en cuanto a interacciones se debe a aquellas que no ocurren pese a la presencia de las especies, más que a la falta de la interacción por la ausencia de alguna de ellas.
7. Los resultados obtenidos tienen una gran relevancia de cara a la conservación ya que la arquitectura de las redes de interacción es de crucial importancia para su propia estabilidad.
8. Estos resultados abren una nueva línea en el campo del estudio de la simbiosis líquénica y su coevolución, así como de los efectos del cambio global sobre los líquenes.

BIBLIOGRAFÍA

- Aizen M, Sabatino M, Tylianakis J (2012) Specialization and Rarity Predict Nonrandom Loss of Interactions from Mutualist Networks
- Almeida-Neto M, Ulrich W (2011) A straightforward computational approach for measuring nestedness using quantitative matrices. *Environmental Modelling & Software* 26:173-178
- Almeida-Neto M, Guimarães P, Guimarães PR, et al. (2008) A consistent metric for nestedness analysis in ecological systems: reconciling concept and measurement. *Oikos* 117:1227-1239
- Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, et al. (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25:3389-3402
- Aragón G, Abuja L, Belinchón R, et al. (2015) Edge type determines the intensity of forest edge effect on epiphytic communities. *European Journal of Forest Research* 134:443-451
- Aragón G, Martínez I, Izquierdo P, et al. (2010) Effects of forest management on epiphytic lichen diversity in Mediterranean forests. *Applied Vegetation Science* 13:183-194
- Asta J, Erhardt W, Ferretti M, et al. (2002) Mapping lichen diversity as an indicator of environmental quality.
- Bascompte J (2007) Networks in ecology. *Basic and Applied Ecology* 8:485-490
- Bascompte J, Jordano P (2013) Mutualistic networks. Princeton University Press
- Bascompte J, Jordano P, Melián CJ, et al. (2003) The nested assembly of plant–animal mutualistic networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100:9383
- Beck A (1999) Photobiont Inventory of a Lichen Community Growing on Heavy-Metal-Rich Rock. *The Lichenologist* 31:501-510
- Beck A, Friedl T, Rambold G (1998) Selectivity of photobiont choice in a defined lichen community: inferences from cultural and molecular studies. *New Phytologist* 139:709-720
- Beckett SJ (2016) Improved community detection in weighted bipartite networks. *Royal Society Open Science* 3
- Bersier L-F, Banašek-Richter C, Cattin M-F (2002) Quantitative descriptors of food-web matrices. *Ecology* 83:2394-2407
- Blaha J, Baloch E, Grube M (2006) High photobiont diversity associated with the euryoecious lichen-forming ascomycete *Lecanora rupicola* (Lecanoraceae, Ascomycota). *Biological Journal of the Linnean Society* 88:283-293
- Blüthgen N, Fründ J, Vázquez DP, et al. (2008) What do interaction network metrics tell us about specialization and biological traits. *Ecology* 89:3387-3399
- Blüthgen N, Menzel F, Blüthgen N (2006) Measuring specialization in species interaction networks. *BMC Ecology* 6:9
- Boudreault C, Bergeron Y, Drapeau P, et al. (2008) Edge effects on epiphytic lichens in remnant stands of managed landscapes in the eastern boreal forest of Canada. *Forest Ecology and Management* 255:1461-1471
- Bouwman AF, Lee DS, Asman WAH, et al. (1997) A global high-resolution emission inventory for ammonia. *Global Biogeochemical Cycles* 11:561-587
- Britton AJ, Fisher JM (2007) Interactive effects of nitrogen deposition, fire and grazing on diversity and composition of low-alpine prostrate *Calluna vulgaris* heathland. *Journal of Applied Ecology* 44:125-135
- Brook BW, Sodhi NS, Bradshaw CJ (2008) Synergies among extinction drivers under global change. *Trends in ecology & evolution* 23:453-460
- Callahan BJ, McMurdie PJ, Holmes SP (2017) Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. *The ISME Journal* 11:2639

- Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, et al. (2016) DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods* 13:581
- Cardós JLH, Martínez I, Calvo V, et al. (2016) Epiphyte communities in Mediterranean fragmented forests: importance of the fragment size and the surrounding matrix. *Landscape Ecology* 31:1975-1995
- Chagnon PL, Magain N, Miadlikowska J, et al. (2018) Strong specificity and network modularity at a very fine phylogenetic scale in the lichen genus *Peltigera*. *Oecologia*
- Coleman AW (2009) Is there a molecular key to the level of “biological species” in eukaryotes? A DNA guide. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 50:197-203
- Concostrina-Zubiri L, Martínez I, Escudero A (2018) Lichen-biocrust diversity in a fragmented dryland: Fine scale factors are better predictors than landscape structure. *Science of The Total Environment* 628-629:882-892
- Conti ME, Cecchetti G (2001) Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment — a review. *Environmental Pollution* 114:471-492
- Cox PM, Betts RA, Jones CD, et al. (2000) Acceleration of global warming due to carbon-cycle feedbacks in a coupled climate model. *Nature* 408:184
- Dahlkild Å, Källersjö M, Lohtander K, et al. (2001) Photobiont diversity in the Physciaceae (Lecanorales). *Bryologist*:527-536
- Dal Grande F, Rolshausen G, Divakar PK, et al. (2018) Environment and host identity structure communities of green algal symbionts in lichens. *New Phytol* 217:277-289
- Dal Grande F, Widmer I, Wagner HH, et al. (2012) Vertical and horizontal photobiont transmission within populations of a lichen symbiosis. *Molecular Ecology* 21:3159-3172
- Dormann CF, Fründ J, Blüthgen N, et al. (2009) Indices, graphs and null models: analyzing bipartite ecological networks. *The Open Ecology Journal* 2
- Dormann CF, Gruber B, Fründ J (2008) Introducing the bipartite package: analysing ecological networks. *interaction* 1:0.2413793
- Dormann CF, Strauss R (2014) A method for detecting modules in quantitative bipartite networks. *Methods in Ecology and Evolution* 5:90-98
- Douglas AE (2010) *The symbiotic habit*. Princeton University Press
- Dunne JA, Williams RJ, Martinez ND (2002) Network structure and biodiversity loss in food webs: robustness increases with connectance. *Ecology Letters* 5:558-567
- Fahrig L (2003) Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34:487-515
- Ferencova Z, Rico VJ, Hawksworth DL (2017) Extraction of DNA from lichen-forming and lichenicolous fungi: a low-cost fast protocol using Chelex. *The Lichenologist* 49:521-525
- Fortuna MA, Stouffer DB, Olesen JM, et al. (2010) Nestedness versus modularity in ecological networks: two sides of the same coin? *Journal of Animal Ecology* 79:811-817
- Fрати L, Santoni S, Nicolardi V, et al. (2007) Lichen biomonitoring of ammonia emission and nitrogen deposition around a pig stockfarm. *Environmental Pollution* 146:311-316
- Giordani P, Calatayud V, Stofer S, et al. (2014) Detecting the nitrogen critical loads on European forests by means of epiphytic lichens. A signal-to-noise evaluation. *Forest Ecology and Management* 311:29-40
- Grass I, Jauker B, Steffan-Dewenter I, et al. (2018) Past and potential future effects of habitat fragmentation on structure and stability of plant–pollinator and host–parasitoid networks. *Nature Ecology & Evolution*
- Grube M, Hawksworth DL (2007) Trouble with lichen: the re-evaluation and re-interpretation of thallus form and fruit body types in the molecular era. *Mycological Research* 111:1116-1132
- Gu Z, Gu L, Eils R, et al. (2014) circlize implements and enhances circular visualization in R. *Bioinformatics* 30:2811-2812

- Guimarães PR, Guimarães P (2006) Improving the analyses of nestedness for large sets of matrices. *Environmental Modelling & Software* 21:1512-1513
- Guzow-Krzeminska B (2006) Photobiont flexibility in the lichen *Protoparmeliopsis muralis* as revealed by ITS rDNA analyses. *The Lichenologist* 38:469-476
- Havens K (1992) Scale and structure in natural food webs. *Science* 257:1107-1109
- Helms G, Friedl T, Rambold G, et al. (2001) Identification of Photobionts from the lichen family Physciaceae using algal-specific ITS rDNA sequencing. *The Lichenologist* 33:73-86
- Jordano P, Bascompte J, Olesen JM (2003) Invariant properties in coevolutionary networks of plant–animal interactions. *Ecology Letters* 6:69-81
- Kearse M, Moir R, Wilson A, et al. (2012) Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28:1647-1649
- Kershaw HM, Mallik AU (2013) Predicting Plant Diversity Response to Disturbance: Applicability of the Intermediate Disturbance Hypothesis and Mass Ratio Hypothesis. *Critical Reviews in Plant Sciences* 32:383-395
- Kuussaari M, Bommarco R, Heikkinen RK, et al. (2009) Extinction debt: a challenge for biodiversity conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 24:564-571
- Leavitt D, Kraichak E, Nelsen MP, et al. (2015) Fungal specificity and selectivity for algae play a major role in determining lichen partnerships across diverse ecogeographic regions in the lichen-forming family Parmeliaceae (Ascomycota). *Molecular Ecology* 24:3779-3797
- Lindgren H, Velmala S, HÖGnabba F, et al. (2014) High fungal selectivity for algal symbionts in the genus *Bryoria*. *The Lichenologist* 46:681-695
- Lücking R, Lawrey James D, Sikaroodi M, et al. (2009) Do lichens domesticate photobionts like farmers domesticate crops? Evidence from a previously unrecognized lineage of filamentous cyanobacteria. *American Journal of Botany* 96:1409-1418
- Lutzoni F, Miadlikowska J (2009) Lichens. *Current Biology* 19:R502-R503
- Matos P, Geiser L, Hardman A, et al. (2017) Tracking global change using lichen diversity: towards a global-scale ecological indicator. *Methods in Ecology and Evolution* 8:788-798
- McCune B (2000) Lichen communities as indicators of forest health. *The Bryologist* 103:353-356
- Mello MAR, Marquitti FMD, Guimarães PR, et al. (2011) The modularity of seed dispersal: differences in structure and robustness between bat– and bird–fruit networks. *Oecologia* 167:131
- Memmott J, Waser NM, Price MV (2004) Tolerance of pollination networks to species extinctions. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 271:2605-2611
- Moen J, Jonsson B (2003) Edge Effects on Liverworts and Lichens in Forest Patches in a Mosaic of Boreal Forest and Wetland
- Mougi A, Kondoh M (2012) Diversity of Interaction Types and Ecological Community Stability. *Science* 337:349-351
- Muggia L, Pérez-Ortega S, Kopun T, et al. (2014) Photobiont selectivity leads to ecological tolerance and evolutionary divergence in a polymorphic complex of lichenized fungi. *Annals of Botany* 114:463-475
- Nascimbene J, Marini L (2015) Epiphytic lichen diversity along elevational gradients: biological traits reveal a complex response to water and energy. *Journal of Biogeography* 42:1222-1232
- Nimis P, Martellos S (2017) ITALIC–The information system on Italian lichens. Version 5.0. University of Trieste, Dept. of Biology (<http://dryades.units.it/italic>)

- Olesen JM, Bascompte J, Dupont YL, et al. (2007) The modularity of pollination networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104:19891
- Otálora MAG, Martínez I, O'Brien H, et al. (2010) Multiple origins of high reciprocal symbiotic specificity at an intercontinental spatial scale among gelatinous lichens (Collemataceae, Lecanoromycetes). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 56:1089-1095
- Pérez-Ortega S, Ortiz-Álvarez R, Allan Green TG, et al. (2012) Lichen myco- and photobiont diversity and their relationships at the edge of life (McMurdo Dry Valleys, Antarctica). *FEMS Microbiology Ecology* 82:429-448
- Pires MM, Guimarães PR (2012) Interaction intimacy organizes networks of antagonistic interactions in different ways. *Journal of The Royal Society Interface*
- Pocock MJO, Evans DM, Memmott J (2012) The Robustness and Restoration of a Network of Ecological Networks. *Science* 335:973-977
- Poisot T (2016) Betalink: beta-diversity of species interactions. R Package Version 2
- Poisot T, Bever JD, Nemri A, et al. (2011) A conceptual framework for the evolution of ecological specialisation. *Ecol Lett* 14:841-51
- Rafferty NE, Ives AR (2011) Effects of experimental shifts in flowering phenology on plant–pollinator interactions. *Ecology Letters* 14:69-74
- Rew L, Theaker A, Froud-Williams R, et al. (1992) Nitrogen fertilizer misplacement and field boundaries. *Aspects of Applied Biology*
- Rivas-Martínez S (1980) Les étages bioclimatiques de la végétation de la Péninsule Ibérique. *Anales del Jardín Botánico de Madrid. Real Jardín Botánico*, pp. 251-268
- Rivas-Martínez S (1983) Pisos bioclimáticos de España. *Lazaroa* 5:33-43
- Sadowsky A, Mettler-Altmann T, Ott S (2016) Metabolic response to desiccation stress in strains of green algal photobionts (Trebouxia) from two Antarctic lichens of southern habitats. *Phycologia* 55:703-714
- Sala OE, Stuart Chapin F, III, et al. (2000) Global Biodiversity Scenarios for the Year 2100. *Science* 287:1770-1774
- Santos T, Tellería JL (2006) Pérdida y fragmentación del hábitat: efecto sobre la conservación de las especies. *Ecosistemas* 15:3-12
- Scheffer M, Bascompte J, Brock WA, et al. (2009) Early-warning signals for critical transitions. *Nature* 461:53
- Scheffer M, Carpenter SR, Lenton TM, et al. (2012) Anticipating Critical Transitions. *Science* 338:344
- Schippers P, Joenje W (2002) Modelling the effect of fertiliser, mowing, disturbance and width on the biodiversity of plant communities of field boundaries. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 93:351-365
- Szczepaniak K, Biziuk M (2003) Aspects of the biomonitoring studies using mosses and lichens as indicators of metal pollution. *Environmental Research* 93:221-230
- Thompson JN (1999) Specific Hypotheses on the Geographic Mosaic of Coevolution. *The American Naturalist* 153:S1-S14
- Tilman D, Fargione J, Wolff B, et al. (2001) Forecasting agriculturally driven global environmental change. *Science* 292:281-284
- Toju H, Tanabe AS, Yamamoto S, et al. (2012) High-Coverage ITS Primers for the DNA-Based Identification of Ascomycetes and Basidiomycetes in Environmental Samples. *PLOS ONE* 7:e40863
- Tschermak-Woess E (1988) The algal partner. In. *CRC handbook of lichenology* 1:39-92
- Tylianakis JM, Laliberté E, Nielsen A, et al. (2010) Conservation of species interaction networks. *Biological Conservation* 143:2270-2279
- Valiente-Banuet A, Aizen MA, Alcántara JM, et al. (2015) Beyond species loss: the extinction of ecological interactions in a changing world. *Functional Ecology* 29:299-307

- Valladares F, Flores-Rentería D, Forner A, et al. (2014) Influencia de la fragmentación y el clima en procesos clave para la regeneración del encinar. *Revista Ecosistemas* 23:37-47
- Vázquez DP (2005) Degree distribution in plant–animal mutualistic networks: forbidden links or random interactions? *Oikos* 108:421-426
- Vitousek PM, Aber JD, Howarth RW, et al. (1997a) Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences. *Ecological Applications* 7:737-750
- Vitousek PM, D'Antonio CM, Loope LL, et al. (1997b) Introduced species: a significant component of human-caused global change. *New Zealand Journal of Ecology* 21:1-16
- Wedin M, Döring H, Gilenstam G (2004) Saprotrophy and lichenization as options for the same fungal species on different substrata: environmental plasticity and fungal lifestyles in the *Stictis*–*Conotrema* complex. *New Phytologist* 164:459-465
- Whittaker RH (1960) Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California. *Ecological Monographs* 30:279-338
- Whittet R, Ellis CJ (2013) Critical tests for lichen indicators of woodland ecological continuity. *Biological Conservation* 168:19-23
- Wickham H (2016) *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. Springer
- Wilcove DS, McLellan CH, Dobson AP (1986) Habitat fragmentation in the temperate zone. *Conservation biology* 6:237-256
- Wornik S, Grube M (2010) Joint Dispersal Does Not Imply Maintenance of Partnerships in Lichen Symbioses. *Microbial Ecology* 59:150-157

MATERIAL SUPLEMENTARIO

Tabla 1.

Tabla que detalla los resultados obtenidos tras realizar la búsqueda BLAST para cada especie. En la primera columna se muestra la especie descrita tras su comparación morfológica. En la segunda está el identificador propuesto para nuestro trabajo. La columna “BLAST” hace referencia al resultado obtenido tras la búsqueda, acompañado del porcentaje de identidad de nuestra muestra y del identificador de la secuencia de GenBank.

Identificación de campo	ID	BLAST	%identidad	N.º acceso GenBank	Biotipo	Tipo de reproducción
<i>Anaptychia ciliaris</i>	ABG16	<i>Anaptychia ciliaris</i>	98	KJ027715	Fruticuloso	Sexual
<i>Buellia griseovirens</i>	ABG17	<i>Buellia griseovirens</i>	99	KC681816	Crustáceo	Sexual
<i>Caloplaca ferruginea</i>	ABG18	<i>Blastenia sp.</i>	99	MF447208	Crustáceo	Sexual
<i>Caloplaca sp.</i>	ABG19	<i>Blastenia sp.2</i>	99	MF447205	Crustáceo	Vegetativa
<i>Candelaria concolor</i>	ABG44	<i>Candelaria pacifica</i>	99	EF535210	Foliáceo	Vegetativa
<i>Candelariella xanthostigma</i>	ABG21	<i>Candelariella xanthostigma</i>	99	EF535201	Crustáceo	Sexual
<i>Cladonia chlorophea</i>	ABG06	<i>Cladonia fimbriata</i>	100	KF525266	Fruticuloso	Vegetativa

<i>Evernia prunastri</i>	ABG09	<i>Evernia prunastri</i>	99	KX132953	Fruticuloso	Vegetativa
<i>Hypogymnia tubulosa</i>	ABG15	<i>Hypogymnia tubulosa</i>	99	KX132956	Foliáceo	Sexual
<i>Lecanora carpinea</i>	ABG46	<i>Lecanora cf. carpinea</i>	94	AY541249	Crustáceo	Sexual
<i>Lecanora chlarotera</i>	ABG03	<i>Lecanora chlarotera</i>	98	FR799201	Crustáceo	Sexual
<i>Lecanora expallens</i>	ABG22	<i>Lecanora cf. expallens</i>	96	FR799207	Crustáceo	Vegetativa
<i>Lecanora gr. Subfusca</i>	ABG34	<i>Lecanora horiza</i>	99	KX132998	Crustáceo	Sexual
<i>Lecidella elaeochroma</i>	ABG24	<i>Lecidella euphorea</i>	98	KT453742	Crustáceo	Sexual
<i>Lecidella sp.</i>	ABG25	<i>Lecidella elaeochroma</i>	97	HQ605936	Crustáceo	Sexual
<i>Lepra albescens</i>	ABG04	<i>Lepra albescens</i>	99	MG947600	Crustáceo	Vegetativa
<i>Melanelixia fuliginosa</i>	ABG08	<i>Melanelixia fuliginosa</i>	99	KX132913	Foliáceo	Sexual
<i>Melanelixia glabra</i>	ABG26	<i>Melanelixia glabra</i>	100	AY581064	Foliáceo	Vegetativa
<i>Melanelixia subaurifera</i>	ABG45	<i>Melanelixia subaurifera</i>	100	KT695379	Foliáceo	Sexual
<i>Melanohalea exasperata</i>	ABG27	<i>Melanohalea exasperata</i>	98	KX132935	Foliáceo	Vegetativa
<i>Ochrolechia sp</i>	ABG28	<i>Ochrolechia sp.</i>	97	HQ650639	Crustáceo	vegetativa

<i>Ochrolechia sp2</i>	ABG29	<i>Lecanora subcarpineae</i>	99	KX132988	Crustáceo	Sexual
<i>Parmelia sulcata</i>	ABG23	<i>Parmelia sulcata</i>	99	KX132926	Foliáceo	Sexual
<i>Parmelina quercina</i>	ABG31				Foliáceo	Sexual
<i>Parmelina tiliacea</i>	ABG05	<i>Parmelina tiliacea</i>	100	JX466446	Foliáceo	Vegetativa
<i>Phaeophyscia orbicularis</i>	ABG32	<i>Phaeophyscia orbicularis</i>	99	AF224449	Foliáceo	Vegetativa
<i>Phlyctis argena</i>	ABG02	<i>Phlyctis argena</i>	99	MF625060	Crustáceo	Vegetativa
<i>Physcia adscendens</i>	ABG12	<i>Physcia adscendens</i>	99	FJ497044	Foliáceo	Vegetativa
<i>Physcia aipolia</i>	ABG37	<i>Physcia dubia</i>	97	KX550105	Foliáceo	Sexual
<i>Physcia tenella</i>	ABG11	<i>Physcia tenella</i>	99	KY266867	Foliáceo	Sexual
<i>Physconia enteroxantha</i>	ABG13	<i>Physconia enteroxantha</i>	99	LS483160	Foliáceo	Vegetativa
<i>Physconia grisea</i>	ABG43	<i>Physconia grisea</i>	99	KC559094	Foliáceo	Vegetativa
<i>Physconia persidiosa</i>	ABG14	<i>Physconia persidiosa</i>	99	LS483165	Foliáceo	Vegetativa
<i>Pleurosticta acetabulum</i>	ABG40	<i>Pleurosticta acetabulum</i>	99	KX132911	Foliáceo	Sexual
<i>Pseudoevern timer furfuracea</i>	ABG01	<i>Pseudoevern timer furfuracea</i>	99	GU300779	Fruticuloso	Sexual

<i>Pyrrhospora quernea</i>	ABG47	<i>Lecidella flavosorediata</i>	99	KX132965	Crustáceo	Vegetativa
<i>Ramalina calicaris</i>	ABG07	<i>Ramalina fraxinea subsp. calicariformis</i>	99	KC960763	Fruticuloso	Vegetativa
<i>Ramalina farinacea</i>	ABG48	<i>Ramalina farinacea</i>	100	GU593042	Fruticuloso	Vegetativa
<i>Ramalina fastigiata</i>	ABG10	<i>Ramalina fastigiata</i>	99	EU034669	Fruticuloso	Sexual
<i>Ramalina fraxinea</i>	ABG20	<i>Ramalina fraxinea</i>	100	KP282346	Fruticuloso	Sexual
<i>Ramalina obtusata</i>	ABG41	<i>Ramalina confirmata</i>	95	JF923606	Fruticuloso	Sexual
<i>Rhinodina cf. pyrina*</i>	ABG30	<i>Rinodina capensis</i>	99	GU553293	Crustáceo	Sexual
<i>Tephromela atra</i>	ABG49	<i>Tephromela atra</i>	100	KX181178	Crustáceo	Sexual
<i>Usnea hirta</i>	ABG50	<i>Usnea hirta</i>	99	JN086310	Fruticuloso	Vegetativa
<i>Xanthoria parietina</i>	ABG42	<i>Xanthoria parietina</i>	98	DQ888716	Foliáceo	Sexual
<i>Xanthoria polycarpa</i>	ABG51	<i>Calogaya lobulata</i>	99	KU926999	Crustáceo	Vegetativa

Fig. 1.

Representación gráfica de las redes de interacción hongo (azul) - alga (verde) en cada parcela. Las parcelas están ordenadas de más pequeña a más grande y su forma está representada en negro.

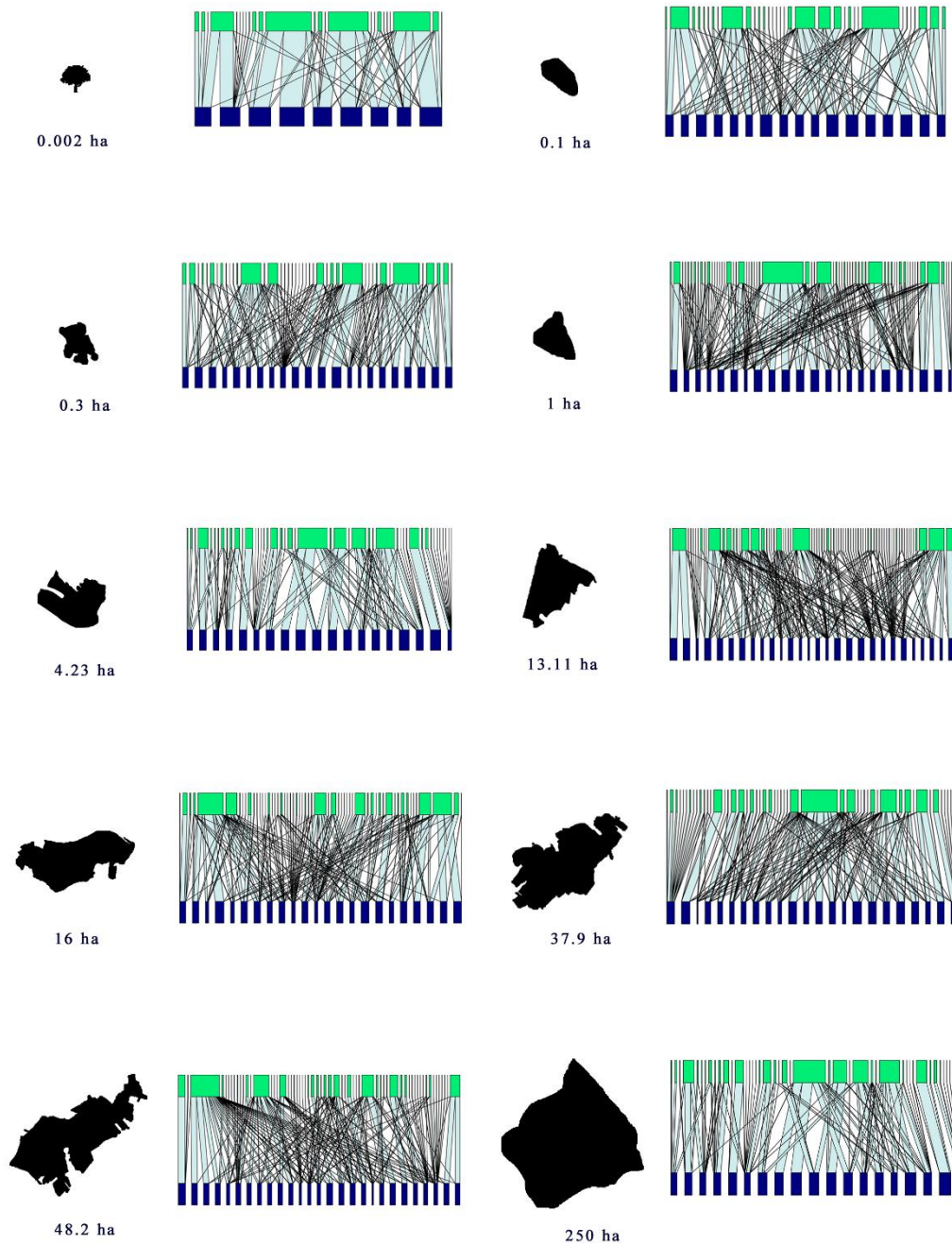


Tabla 2.

Tabla informativa sobre el nombre de cada parcela, su área y el número de micobiontes y fotobiontes presentes en cada una.

<u>Parcela</u>	<u>Área (ha)</u>	<u>Nº Micobiontes</u>	<u>Nº ASV</u>	<u>NºASV/ Micobionte</u>
Árbol	0.002	9	25	2.777
31	0.1	17	34	2
601	0.3	22	42	1.909
28	1.02	23	63	2.739
502	4.23	27	51	1.888
505	12.21	28	75	2.678
54	16.13	23	57	2.478
500	35.85	23	52	2.260
159	48.01	27	61	2.259
200	563.90	20	46	2.3