

EVALUACIÓN DE MATERIAL FORESTAL DE REPRODUCCIÓN: NUEVAS PERSPECTIVAS FRENTE A UN VIEJO PROBLEMA

José Climent Maldonado ^{1*}, Rafael Zas Arregui ², Marta Pardos Mínguez ¹ y María Regina Chambel Santos ¹

¹ Dep. Sist. y Rec. Forestales, CIFOR-INIA. Ctra. Coruña Km 7,5. 28040-MADRID (España). *Correo electrónico: climent@inia.es

² Centro de Investigaciones Ambientais. CINAM-Lourizán. Apdo. 127. 36080-PONTEVEDRA (España)

Resumen

La necesidad de aumentar la eficiencia en la evaluación de la calidad genética de los materiales forestales de reproducción (MFRs) o de los componentes de los materiales de base obliga a optimizar los métodos a emplear y a reducir los plazos. Sin embargo, tanto en invernadero o cámara como en condiciones de campo, se plantean problemas metodológicos relacionados tanto con el control ambiental como con los caracteres a evaluar, en especial cuando se persigue determinar la adaptabilidad frente a las limitaciones ambientales. En este trabajo se realiza una breve revisión de los efectos ontogénicos, de los efectos maternos relacionados con el tamaño y germinación de la semilla y del efecto de la restricción radical impuesta por el contenedor, que pueden enmascarar o sesgar los efectos genéticos en la evaluación precoz de MFRs.

Palabras clave: *Ontogenia, Efectos maternos, Restricción radical, Evaluación precoz*

INTRODUCCIÓN

La evaluación de la calidad genética de los materiales forestales de reproducción (MFRs) o de los componentes de los materiales de base implica un considerable esfuerzo humano y económico, por lo que es fundamental optimizar los métodos para reducir los plazos de ensayo y aumentar la eficiencia en las comparaciones. El Real Decreto RD289/03 establece los requisitos mínimos que deben cumplir los ensayos, pero varios aspectos necesitan una mayor definición, lo que obliga a una reflexión científico-técnica sobre los métodos más adecuados para cada objetivo. Además, nuevos interrogantes surgen al intentar incorporar caracteres adaptativos para determinar la

vulnerabilidad de las nuevas reforestaciones frente al cambio climático en curso.

La legislación reconoce la validez potencial de los ensayos precoces siempre que se demuestre una elevada correlación juvenil-adulto. Una de las estrategias más utilizadas en selección precoz son los ensayos retrospectivos, en los que la información de ensayos adultos se compara con la del mismo material, pero en distintos individuos, cultivados en condiciones controladas o semi-controladas durante un período breve. Si bien varios trabajos han tratado de determinar los caracteres y los ambientes de ensayo más adecuados en evaluaciones tempranas, las correlaciones juvenil-adulto son en ocasiones muy bajas y en general muy dispares entre especies y ensayos (Zas et al., 2004). Estas disparidades pueden

deberse, además de al distinto control genético de caracteres juveniles y adultos, a los efectos ontogénicos (KREMER, 1992; WILLIAMS, 1987), a la superposición de los efectos maternos (LÓPEZ et al., 2003) y tal vez a la incorporación indeseada de artefactos ligados a las condiciones artificiales de ensayo. En concreto, el efecto de la limitación de espacio impuesta por los contenedores es un tema que se ha tratado mucho en relación con la calidad de planta, pero del que se desconoce su efecto en las comparaciones precoces entre genotipos (CLIMENT et al., 2007).

Por supuesto, existen otros muchos aspectos metodológicos en la evaluación de MFRs que necesitan investigarse, tales como la puesta a punto de ensayos de supervivencia frente a estrés severo (con la consiguiente definición precisa de los niveles de restricción ambiental para cada especie y objetivo) o el control de la variación micro-ambiental en parcelas de campo. Así, en ensayos de mayor duración en condiciones de campo, el problema comienza al plantear el propio diseño experimental: ¿cuántas parcelas se establecen y en qué ambientes? y, en cada parcela, ¿cuál es el diseño más adecuado para controlar la variación micro-ambiental? En este sentido, algunos métodos recientemente incorporados a los análisis genéticos forestales, como el AMMI (*Additive Main effects & Multiplicative Interaction*) para la identificación de los patrones de interacción genotipo x ambiente (CHAMBEL, 2006), o la aplicación de técnicas geo-estadísticas para el análisis espacial (ZAS, 2006) ofrecen resultados prometedores.

La necesidad de intercambio de información y la búsqueda de protocolos comunes aplicables en el proceso de evaluación de MFRs, han motivado iniciativas recientes a nivel nacional e internacional, orientadas a la creación de bases de datos y redes de ensayos que faciliten los meta-análisis en un futuro inmediato, y a la discusión y divulgación de protocolos basados en estándares ampliamente reconocidos. Entre estas iniciativas, cabe citar la Acción Coordinada Treebreedex (VI FP de la UE, 2006-2010), la Red Nacional de Ensayos Genéticos Forestales, cuyo germen se incluye en SILVA-DAT, o la reactivación de Silva Mediterránea para valorizar los ensayos de procedencias internacionales de coníferas Mediterráneas.

LOS EFECTOS ONTOGÉNICOS

Los árboles forestales, como todos los seres vivos, presentan distintas fases de desarrollo desde el embrión al estado reproductor. Esta secuencia ontogénica es irreversible, a diferencia de la fenológica, inducida por las variaciones cíclicas del ambiente. Las variaciones ontogénicas pueden manifestarse de forma sutil o gradual, a través del aumento de la complejidad estructural de la planta y modificaciones de asignación de biomasa (por ejemplo, aumento de la proporción de biomasa leñosa del tallo con la edad del árbol), pero también pueden producirse de forma abrupta, tal como ocurre en *Juniperus* (MILLER et al., 1995), en *Eucalyptus* (JORDAN et al., 2000) o en pinos mediterráneos, con marcadas diferencias entre los estados juvenil y adulto vegetativo o pre-reproductor (CLIMENT et al., 2006). El interés de aumentar el conocimiento sobre ontogenia en especies forestales, de cara a la evaluación de los MFRs se basa en dos aspectos principales:

- Por una parte, el estado de desarrollo condiciona las respuestas frente a estímulos o estrés ambientales y, por tanto, debe tenerse en cuenta en cualquier proceso de evaluación y/o selección, sobre todo si se incluye la comparación entre ambientes (plasticidad fenotípica). Precisamente, la distinción entre la verdadera plasticidad debida al ambiente de ensayo, y las diferencias ligadas al estado de desarrollo constituye un importante tema de discusión científica (MC CONNAUGHAY & COLEMAN, 1999). Los análisis alométricos, en los que se comparan los modelos de regresión de distintas componentes de la biomasa (raíces, tallos, hojas o porciones de éstas), facilitan esta distinción. Si los individuos de distintos genotipos, ambientes o tratamientos se encuentran en distintos puntos de la misma trayectoria alométrica se trataría de un efecto ontogénico, mientras que si se encuentran en distintas trayectorias estarían revelando diferencias genéticas o/y plasticidad en el desarrollo (POORTER & NAGEL, 2000). Sin embargo, existen variables de interés en un proceso de evaluación de MFRs, como la supervivencia o la tolerancia al estrés, que no pueden analizarse mediante alometría.

- Por otra parte, la ontogenia puede tener un papel adaptativo en sí misma, tal como sugiere la relación entre la variación inter- e intra-específica y las características del hábitat en algunas especies forestales, como en *Eucalyptus* (JORDAN *et al.*, 2000), coherente con el destacado papel que se le atribuye en la evolución de los seres vivos (MCKINNEY & MCNAMARA, 1991). En *Pinus canariensis* se ha constatado que las poblaciones más xerófitas y termófilas muestran un retraso ontogénico consistente en distintos sitios de ensayo y, al mismo tiempo, tras el cambio de fase vegetativo (transición heteroblástica del crecimiento juvenil, con acículas aisladas, al crecimiento adulto con acículas en braquiblastos) las plantas presentaban una probabilidad de supervivencia mucho mayor en campo (CLIMENT *et al.*, 2006). Demostrar las causas funcionales del papel adaptativo de la ontogenia no es una tarea fácil, dada la compleja interrelación de los múltiples caracteres que varían durante el proceso de desarrollo. Así, en pino canario, se ha demostrado que las acículas juveniles sufren más pérdidas de agua por transpiración cuticular (CLIMENT *et al.*, 2006) y son más sensibles al frío (LUIS *et al.*, 2007); por eso, es poco intuitivo el hecho de que los individuos mantengan caracteres

juveniles frente a limitaciones ambientales. Es probable que la explicación sólo se alcance tras un exhaustivo conocimiento de los costes de producción y mantenimiento frente a las ventajas y desventajas adaptativas de los distintos elementos (y su arquitectura) que constituyen la planta en distintas fases del desarrollo (BLOOM *et al.*, 1985).

Es necesario establecer índices cualitativos o cuantitativos que reflejen adecuadamente el estado ontogénico para cada especie. Frente a índices simples como el tamaño de la planta o la edad cronológica, existen otros supuestamente más complejos y más relacionados con el estado de desarrollo, como el índice de Plastocrón para frondosas (ERICKSON & MICHELINI, 1957) o el nº de unidades de tallo para coníferas (LASCoux *et al.*, 1993). Sin embargo, al menos en el género *Pinus*, las diferencias observadas mediante estos índices se corresponden poco con las que se aprecian por comparación de estructuras vegetativas juveniles y adultas (Figuras 1 y 2). Dada esta complejidad, las escalas categóricas como las empleadas en CHAMBEL *et al.* (2007) pueden ser una buena aproximación preliminar. Además, si el proceso de desarrollo se produce por estados discretos, estas escalas pueden no ser más subjetivas que las que se utilizan comúnmente para estudios fenológicos.

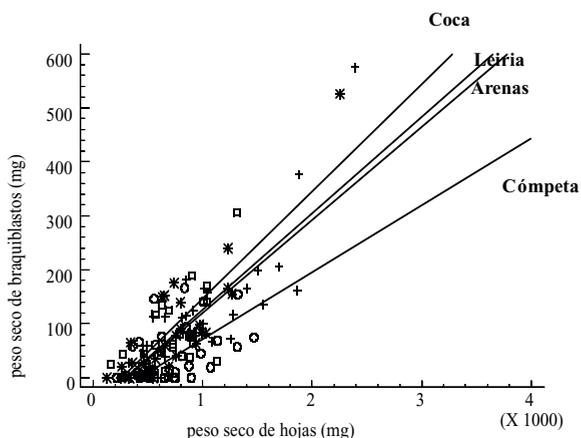


Figura 1. La comparación de modelos de regresión entre el peso seco de todas las acículas (braquiblastos) en *Pinus pinaster* a las 22 semanas de cultivo en cámara, muestra relaciones alométricas significativamente diferentes entre cuatro procedencias (□ Arenas de S. Pedro; ○ Cómpeeta; + Leiria; * Coca). Coca presenta un mayor nivel ontogénico que Leiria y Arenas, y sobre todo Cómpeeta. Esta relación no se corresponde con las diferencias en tamaño de la planta ni en número de unidades de tallo

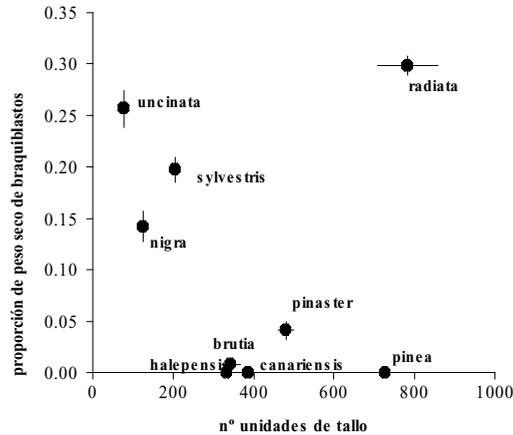


Figura 2. Biplot entre nº de unidades de tallo y la proporción de la biomasa foliar debida a acículas adultas (braquiblastos) en nueve especies de pinos, a las 32 semanas de cultivo en invernadero: se aprecia una clara segregación de las especies por su afinidad genética (¿o su nicho ecológico?)

LOS EFECTOS MATERNOS EN LA EVALUACIÓN PRECOZ DE MFRS

Los efectos maternos, cuya influencia en el comportamiento de los árboles forestales en sus primeros estados de desarrollo, está constatada (LÓPEZ et al., 2003), constituyen otro amplio campo de investigación en plantas, mucho menos desarrollado en árboles forestales que en plantas de ciclo corto (BLÖDNER et al., 2007). En concreto, los efectos relacionados con el ambiente en el que se desarrolla el embrión (after-effects, o plasticidad trans-generacional, según las fuentes) se detectaron a través del distinto comportamiento de un mismo material genético procedente de distintos huertos semilleros con distinto ambiente (ver, por ejemplo JOHNSEN & SKROPPA, 1996). Estos efectos han cobrado recientemente gran relevancia debido a su posible influencia en la adaptación rápida de las poblaciones forestales frente al cambio climático (JOHNSEN et al., 2005). Los efectos maternos pueden ser indirectos, relacionados con las características de la semilla (peso, tamaño, germinación) o directos (efectos sobre el comportamiento no relacionados con los anteriores). Si bien estos efectos tienden a disminuir o desaparecer rápidamente, las selecciones muy precoces para variables de crecimiento pueden resultar considerablemente sesgadas si no se tiene en cuenta el tamaño de la semilla (Figura 3).

Por otro lado, las estimaciones muy tempranas de heredabilidad pueden resultar sobredimensionadas por la superposición de los efectos maternos con la variación genética aditiva.

EFFECTOS LIGADOS AL AMBIENTE DE ENSAYO: EL CASO DE LA RESTRICCIÓN RADICAL

Los procesos funcionales implicados en la restricción mecánica del desarrollo de la raíz son múltiples y complejos. La consecuencia más evidente de la restricción radical es la disminución del crecimiento de la parte aérea ocasionada por el aporte insuficiente de agua y nutrientes (FERREE et al., 1992), pero pueden darse diferencias en la asignación de biomasa que no se reflejan en una disminución de la biomasa total o aérea de la planta. Si bien este efecto tiene una constatada influencia en las características físicas de los MFRs; i.e. en la calidad de planta (APHALO & RIKALA, 2003), el hecho de que la restricción al desarrollo radical impuesta por el contenedor puede disminuir o sesgar las diferencias fenotípicas entre genotipos ha sido hasta ahora muy poco estudiado. Por ejemplo, en *Pinus canariensis* se ha constatado que las diferencias entre dos procedencias en la asignación de biomasa a la raíz (biomasa radical/biomasa

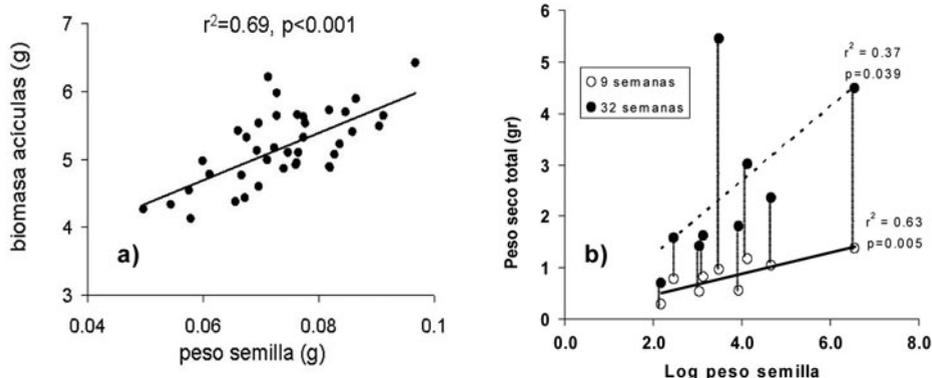


Figura 3. a) Relación entre el peso de la semilla y la biomasa de acículas en familias de *Pinus pinaster* tras 6 meses de cultivo en invernadero. b) Disminución del efecto del tamaño de la semilla en la biomasa total entre dos cosechas (tras 9 y 22 semanas de cultivo en invernadero) en nueve especies de pinos: de izquierda a derecha, *P. uncinata*, *P. sylvestris*, *P. halepensis*, *P. nigra*, *P. radiata*, *P. brutia*, *P. pinaster*, *P. canariensis* y *P. pinea*

total) y el índice de área foliar (área foliar total/biomasa total) no se apreciaban en contenedores estándar (Forest-pot 200), pero sí se manifestaron significativamente en mini-rizotrones de 90 cm de profundidad, en sólo 16 semanas de cultivo. Es decir, incluso en un plazo tan breve, la limitación de espacio asociada a los contenedores pequeños enmascara la diferenciación morfológica entre genotipos (CLIMENT et al., 2007). Una vez más, las notables diferencias de desarrollo en las primeras etapas entre especies hace necesario conocer este efecto en cada caso concreto, a menos que se empleen siempre contenedores de gran volumen.

BIBLIOGRAFÍA

- APHALO, P. & RIKALA, R.; 2003. Field performance of silver-birch planting-stock grown at different spacing and in containers of different volume. *New For.* 25(2): 93-108.
- BLÖDNER, C.; GOEBEL, C.; FEUSSNER, I.; GATZ, C. & POLLE, A.; 2007. Warm and cold parental reproductive environments affect seed properties, fitness, and cold responsiveness in *Arabidopsis thaliana* progenies *Plant Cell Environ.* 30(2): 165-175.
- BLOOM, A.J.; CHAPIN, F.S. & MOONEY, H.A.; 1985. Resource limitation in plants - an economic analogy. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 16: 363-392.
- CLIMENT, J.; CHAMBEL, M.R.; LÓPEZ, R.; MUTKE, S.; ALÍA, R. & GIL, L.; 2006. Population divergence for heteroblasty in the Canary Islands pine (*Pinus canariensis*, Pinaceae). *Am. J. Bot.* 93(6): 840-848.
- CLIMENT, J.; ALONSO, J. & GIL, L.; 2007. Root restriction hindered early allometric differentiation between seedlings of two provenances of Canary Island pine. *Silvae Genet.*, en prensa.
- CHAMBEL, M.R.; 2006. *Variabilidad adaptativa y plasticidad fenotípica en procedencias de pinos ibéricos*. Tesis doctoral. Dep. Silvopascicultura. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid.
- CHAMBEL, M.R.; CLIMENT, J. & ALÍA, R.; 2007. Divergence among species and populations of Mediterranean pines in biomass allocation of seedlings grown under two watering regimes. *Ann. For. Sci.* 64(1): 87-97.
- ERICKSON, R.O. & MICHELINI, F.J.; 1957. The Plastochron Index. *Am. J. Bot.* 44(4): 297-305.
- FERREE, D.C.; MYERS, S.C. & SCHUPP, J.R.; 1992. Root pruning and root restriction of fruit trees-current review. *Acta Hort.* 322: 153-166.
- JOHNSON, O. & SKROPPA, T.; 1996. Adaptive properties of *Picea abies* progenies are influen-

- ced by environmental signals during sexual reproduction. *Euphytica* 92(1-2): 67-71.
- JOHNSON, O.; FOSSDAL, C.G.; NAGY, N.; MOLMANN, J.; DAEHLEN, O.G. & SKROPPA, T.; 2005. Climatic adaptation in *Picea abies* progenies is affected by the temperature during zygotic embryogenesis and seed maturation. *Plant Cell Environ.* 28(9): 1090-1102.
- JORDAN, G.J.; POTTS, B.M.; CHALMERS, P. & WILTSHIRE, R.J.E.; 2000. Quantitative genetic evidence that the timing of vegetative phase change in *Eucalyptus globulus* ssp *globulus* is an adaptive trait. *Aus. J. Bot.* 48(5): 561-567.
- KREMER, A.; 1992. Predictions of age-age correlations of total height based on serial correlations between height increments in Maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) *Theor. Appl. Genet.* 85(2-3): 152-158.
- LASCoux, D.M.; KREMER, A. & DORMLING, I.; 1993. Growth and phenology of 1-year-old maritime pine (*Pinus pinaster*) seedlings under continuous light - Implications for early selection. *Can. J. For. Res.* 23(7): 1325-1336.
- LOPEZ, G.; POTTS, B.; VAILLANCOURT, R. & APIOLAZA, A.; 2003. Maternal and carryover effects on early growth of *Eucalyptus globulus*. *Can. J. For. Res.* 33(11): 2108-2115.
- LUIS, V.C.; TASCHLER, D.; HACKER, J.; JIMÉNEZ, M.S.; WIESER, G. & NEUNER, G.; 2007. Ice nucleation and frost resistance of *Pinus canariensis* seedlings bearing needles in three different developmental states. *Ann. For. Sci.* 64 177-182.
- MCCONNAUGHAY, K. & COLEMAN, J.S.; 1999. Biomass allocation in plants: ontogeny or optimality? A test along three resource gradients. *Ecology* 80(8): 2581-2593.
- McKINNEY, M. & McNAMARA, K.; 1991. *Heterochrony: the evolution of ontogeny*. Plenum Press. New York.
- MILLER, P.M.; EDDLEMAN, L.E. & MILLER, J.M.; 1995. *Juniperus occidentalis* juvenile foliage: advantages and disadvantages for a stress-tolerant, invasive conifer. *Can. J. For. Res.* 25(3): 470-479.
- POORTER, H. & NAGEL, O.; 2000. The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review. *Aus. J. Plant Physiol.* 27(6): 595-607.
- WILLIAMS, C.G.; 1987. The influence of shoot ontogeny on juvenile-mature correlations in loblolly pine. *For. Sci.* 33(22): 411-422.
- ZAS, R.; MERLO, E. & FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; 2004. Juvenile-Mature genetic correlations in *Pinus pinaster* Ait. under different nutrient x water regimes. *Silvae Genet.* 53(3): 124-129.
- ZAS, R.; 2006. Iterative kriging for removing spatial autocorrelation in analysis of forest genetic trials. *Tree Genet. Genomics* 2(4): 177-186.