

PLASTICIDAD FENOTÍPICA DE *PINUS PINASTER* FRENTE A LA DISPONIBILIDAD DE NUTRIENTES

Patricia Martínez Garbín, Rafael Zas Arregui y Luis Sampedro Pérez

Centro de Investigaciones Ambientais. CINAM-Lourizán. Apdo. 127, 36080-PONTEVEDRA (España).
Correo electrónico: pmartins.cifal@siam-cma.org

Resumen

En tres ensayos factoriales familia x fertilización situados en sitios de baja fertilidad en el Sur de Galicia se analizó la plasticidad fenotípica en el desarrollo y la variación genética en plasticidad en familias de medios hermanos de *Pinus pinaster*. La autocorrelación espacial que presentaron las variables de estudio invalidaron las técnicas de análisis convencional, siendo necesario ajustar los datos espacialmente mediante técnicas de geoestadística. En las tres parcelas se encontró variación genética en el crecimiento de la población de estudio además de plasticidad fenotípica frente a la disponibilidad de nutrientes en el gradiente de fertilización ensayado. En concordancia con estudios nutricionales previos en Galicia, la fertilización resultó ser beneficiosa para el crecimiento de las plantas. También se encontró variación genética en la plasticidad en todas las parcelas, lo que indica que existen variaciones genéticas en la eficacia nutricional entre las familias estudiadas. Sin embargo, la interacción fertilización x sitio, familia x sitio y familia x fertilización x sitio muestra un patrón de respuesta complejo.

Palabras clave: *Interacción genotipo x nutrición, Variación genética, Autocorrelación espacial, Pino marítimo, Estabilidad genotípica*

INTRODUCCIÓN

La capacidad que muestran algunos genotipos de alterar de forma significativa su expresión en respuesta a determinados factores ambientales, produciendo una serie de fenotipos diferentes, se denomina plasticidad fenotípica. La plasticidad fenotípica es una propiedad específica de caracteres individuales en relación a influencias ambientales determinadas que se manifiesta en rasgos concretos y en respuesta a estímulos ambientales específicos. Esta propiedad tiene gran importancia en el desarrollo, funcionamiento y evolución de los organismos en el ambiente (BRADSHAW, 1965).

El modo en que un genotipo puede generar distintos fenotipos afecta a casi todos los aspectos

de la gestión y de la política forestal, y en especial a los programas de mejora, tanto si las respuestas implican una mejor adaptación al medio como si reflejan sólo una mayor o menor sensibilidad al ambiente. La interacción genotipo x ambiente, es decir, las diferencias genéticas en plasticidad, constituyen un importante factor limitante que afecta a los programas de mejora (ZAS & FERNÁNDEZ-LÓPEZ, 2005). Una alternativa a la hora de utilizar material mejorado variable en plasticidad es definir zonas ambientalmente homogéneas aptas para grupos de genotipos que tengan un patrón de respuesta similar y seleccionar dentro de cada zona genotipos específicamente adaptados. Otra opción sería identificar genotipos estables con un buen comportamiento general para utilizar en un amplio rango de ambientes.

En Galicia, una de las especies más importantes en la repoblación forestal, incluida en el programa de mejora genética iniciado en el CINAM-Lourizán en la década de los 80, es el pino marítimo (*Pinus pinaster* Ait.). Esta especie se utiliza en un amplio rango ambiental y muestra un comportamiento muy plástico. Siendo la nutrición uno de los principales factores ambientales que controla la productividad de las masas forestales en Galicia (e.g. SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ et al., 2002), es esperable que el comportamiento del material de mejora pueda variar sustancialmente ante distintas disponibilidades de nutrientes o ante distintos regímenes selvícolas (con o sin fertilización) (MARTÍNS, 2005; ZAS et al., 2006).

Por ello, dentro del programa de mejora de *P. pinaster* en Galicia, se han incluido ensayos factoriales familia x fertilización, con el propósito de evaluar una muestra de material seleccionado del programa bajo distintos tratamientos de fertilización de establecimiento y analizar la plasticidad y la variación genética en plasticidad de este material frente a los distintos nutrientes. En el presente trabajo se presentan los resultados de estos ensayos a los 3 años de edad.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló sobre tres ensayos factoriales familia x fertilización instalados

entre abril de 2003 (Rebordelo: 42,46° N; 8,48° W; altitud: 530 m; y Rianxo: 42,60° N; 8,77° W; altitud: 90 m) y febrero de 2004 (Cea: 42,46° N; 7,76° W; altitud: 520 m). Las parcelas se sitúan sobre gneises (Rebordelo) y granitos (Rianxo y Cea) con suelos franco-arenosos y ácidos, ricos en materia orgánica y N total, y pobres en nutrientes, especialmente en P asimilable.

El material vegetal consistió en 28 familias de polinización abierta de *P. pinaster* seleccionadas al azar entre los árboles del huerto semillero de Sergude, pertenecientes a la región de procedencia la Noroeste-Litoral y 3 testigos comerciales (semilla comercial gallega de costa, de interior y del huerto semillero de Sergude). Los 9 tratamientos de fertilización se diseñaron por combinación de 4 fertilizantes comerciales (N: Nitrato amónico (5 g N.planta⁻¹), P: superfosfato triple (10 g P.planta⁻¹), K: sulfato potásico (15 g K.planta⁻¹) y Mg: sulfato magnésico (5 g Mg.planta⁻¹) según se indica en la figura 1. La fertilización se aplicó manualmente alrededor de las plantas en el momento de la plantación. El diseño experimental es un *split-plot* replicado en 10 bloques, con los tratamientos de fertilización como factor principal y los genotipos como factor secundario con un total de 2790 plantas por ensayo.

En todos los ensayos se midió la altura total de todas las plantas vivas después de los cuatro primeros periodos vegetativos. Debido a que no todas las plantas se plantaron de acuerdo a una

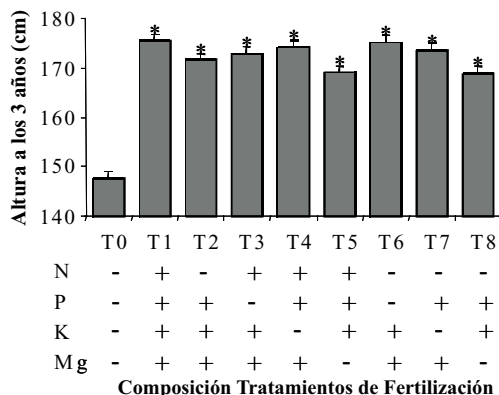


Figura 1. Efecto de la fertilización sobre el crecimiento en altura durante el tercer periodo vegetativo en Rebordelo. Los asteriscos (*) indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las medias (LSMEANS) de los distintos tratamientos frente al control. La presencia y ausencia de un determinado compuesto en los distintos tratamientos de fertilización se indica por los signos + y -, respectivamente

cuadrícula regular, las coordenadas x-y aproximadas de cada árbol se estimaron mediante el levantamiento topográfico de las parcelas con una estación total. Para comprobar la distribución espacial de los datos y verificar la existencia de autocorrelación espacial se emplearon herramientas de geoestadística mediante la construcción de semivariogramas y la modelización de las observaciones mediante *kriging*. Cuando una variable muestra una estructura espacial no aleatoria los datos se ajustan, 'eliminando' la autocorrelación que presentan mediante un proceso de análisis espacial iterativo (ISA). Una descripción detallada del método se puede consultar en ZAS (2006).

La variación genética en crecimiento, la plasticidad fenotípica frente a la disponibilidad de nutrientes y la variación genética en plasticidad se analizaron, tanto para cada sitio como en el análisis conjunto de los tres sitios, mediante análisis de varianza utilizando el procedimiento MIXED del sistema SAS, considerando la interacción bloque x fertilización como factor aleatorio y el resto como factores fijos (LITTELL *et al.*, 1996). La comparación entre tratamientos y entre familias se realizó utilizando el comando LSMEANS del procedimiento MIXED, asumiendo un nivel de significación de 0,05. Para estimar e interpretar las diferencias genéticas en plasticidad se empleó el modelo de efectos principales aditivos e interacción multiplicativa (método AMMI, (GAUCH, 1988)) ajustando el modelo con

el procedimiento GLM de SAS, con sumas de cuadrados de tipo III para la estimación de los efectos principales y de la interacción familia x fertilización. Para la obtención de las coordenadas en el espacio de los factores principales de cada familia y tratamiento se utilizó el procedimiento IML de SAS. Para la representación gráfica del *biplot* se utilizó el procedimiento GPLOT de SAS (VOLTAS *et al.*, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante los cuatro periodos vegetativos estudiados, las variables presentaron una estructura espacial no aleatoria, con una semivarianza que disminuye a distancias cortas en las tres parcelas (Figura 2a). Esto significa que los datos están autocorrelacionados, violándose el requisito de independencia de las observaciones, necesario en los métodos de estadística paramétrica convencional (ZAS, 2006). En la modelización *kriging* de los residuos de la variable se puede observar la elevada heterogeneidad ambiental existente tanto dentro de los bloques como dentro de los *whole plots* (Figura 2b). En esta figura se muestra claramente la dependencia espacial que presentan los datos en ensayos de estas dimensiones. De aquí se desprende la necesidad de corregir las variables mediante técnicas de ajuste espacial. En trabajos previos se había obviado la posible heterogeneidad espa-

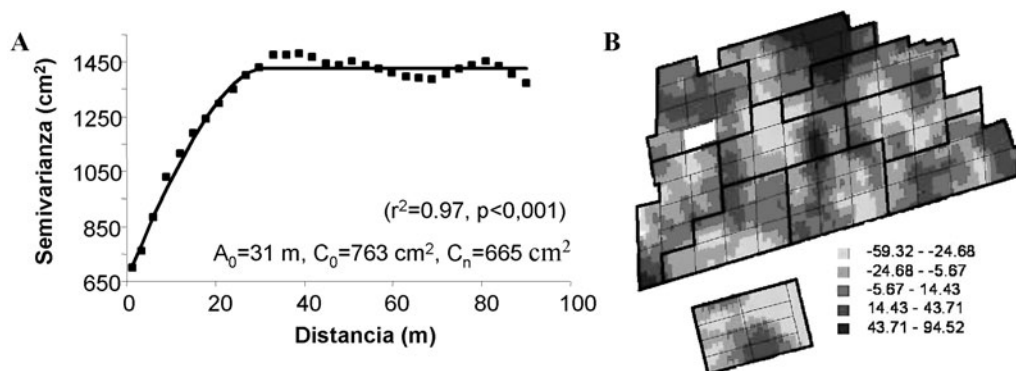


Figura 2. A) Semivariograma observado y teórico (empleando el modelo esférico) de los residuos para la altura durante el tercer periodo vegetativo en Cea. Se presenta el r^2 , el rango (A_0), la varianza estructural (C_0) y el nugget (C_n). B) Modelización de la distribución espacial de los residuos mediante el método de *kriging* iterativo. Las líneas negras gruesas representan el límite de los bloques y las finas de los *whole plots*

cial de las observaciones concluyendo que no existía variación genética en la plasticidad (MARTÍNS, 2005). Sin embargo, como se indica más adelante, cuando se corrigen los datos eliminando este ruido espacial, la interacción familia x fertilización resulta significativa.

El análisis de varianza individual realizado para las variables ajustadas mostró que la fertilización, la familia y la interacción familia x fertilización tuvieron un efecto altamente significativo sobre el crecimiento en altura durante los cuatro primeros periodos vegetativos en las tres parcelas (Tabla 1).

Las familias ensayadas mostraron importantes diferencias de crecimiento en altura. Esta varia-

ción genética en el crecimiento de las familias mejoradas está ampliamente contrastada (MARTÍNS, 2005; ZAS & FERNÁNDEZ-LÓPEZ, 2005). Comparando el comportamiento de las familias ensayadas con el de los testigos, se encontró que las familias de primera generación del huerto semillero mostraron crecimientos significativamente superiores a los testigos comerciales en todos los casos, salvo en Cea, donde el comportamiento de los testigos, especialmente la semilla comercial del interior, fue mejor (Figura 3). El comportamiento diferencial de las familias en Cea podría explicarse por las características más mediterráneas de esta parcela, que se sitúa en el límite de las zonas de mejora costera e interior, ya que

Factor	g.l.	Término Error	Cea	Rianxo	Rebordelo
			F _{p<F}	F _{p<F}	F _{p<F}
Fertilización (T)	8	T*B	18,8***	8,4***	40,2***
Bloque (B)	9	T*B	0,1	0,1	0,1
Familia (G)	30	Error	5,8***	9,1***	11,4***
G*T	240	Error	1,5***	1,2*	1,5***
G*B	270	Error	1,0	0,9	1,0

Tabla 1. Resumen del análisis de varianza para los datos ajustados espacialmente para la altura durante el tercer periodo vegetativo para cada sitio. Se presentan los F ratios y los correspondientes niveles de probabilidad (***= p<0.001, **= p<0.01, *= p<0.05)

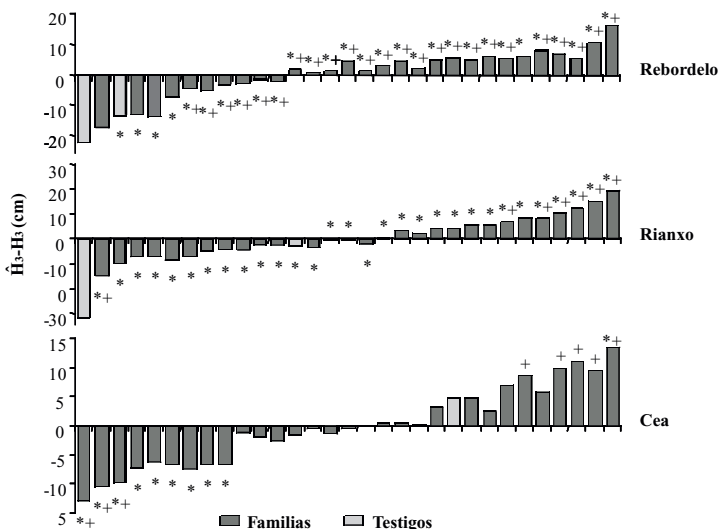


Figura 3. Desviación de la media familiar (\hat{H}_3) con respecto a la media general (H_3) para la altura durante el tercer año en Rebordelo, Rianxo y Cea. (* = familia significativamente distinta a TINT; + = familia significativamente distinta a TCOS)

otros trabajos han evidenciado la superioridad en vivero o en campo del material de mejora frente a testigos comerciales de costa e interior (ZAS & FERNÁNDEZ-LÓPEZ, 2005; ZAS *et al.*, 2005).

La comparación estadística de las medias de los tratamientos para la altura durante el tercer periodo vegetativo reflejó que las plantas fertilizadas mostraron un comportamiento muy superior al control en Rebordelo (Figura 1). La respuesta a los tratamientos de fertilización concuerda con los desordenes nutricionales encontrados en las plantaciones de diversas especies forestales situadas sobre los suelos forestales ácidos y graníticos de Galicia (e.g. SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2002). Sin embargo, esta respuesta no es tan clara como la encontrada en *Pinus radiata*, donde el efecto particular de la fertilización con P y Mg fue mucho más evidente (ZAS *et al.*, 2006). Otros estudios también han detectado importantes incrementos en el crecimiento en las plantaciones de *P. pinaster* sobre suelos arenosos y ácidos a través de la fertilización (e.g. AUGUSTO *et al.*, 2005). El comportamiento plástico de la especie en respuesta a las limitaciones del ambiente coincide, a su vez, con otros trabajos donde se evalúa el comportamiento de diferentes poblaciones frente a otros factores ambientales, como la disponibilidad hídrica (e.g. ZAS & FERNÁNDEZ-LÓPEZ, 2005), lumínica (e.g. SÁNCHEZ-GÓMEZ *et al.*, 2006) y de temperatura (e.g. NGUYEN *et al.*, 1995). En Cea y Rianxo, la respuesta a la fertilización no fue tan clara y la comparación entre tratamientos resultó más confusa. El ataque de un patógeno (MARTÍNS *et al.*,

2008) y una plaga (ZAS *et al.*, 2005) en estas parcelas, ambos con un comportamiento diferencial según el tratamiento de fertilización aplicado, pueden explicar esta falta de respuesta. El efecto de la fertilización en estas dos parcelas sólo resultó significativo cuando se corrigieron los datos según la autocorrelación espacial que presentaban. Estudios anteriores, utilizando técnicas de análisis convencional, no detectaron diferencias entre tratamientos (MARTÍNS, 2005).

El material de mejora ensayado mostró diferencias genéticas en plasticidad frente a la disponibilidad de nutrientes, reflejado por una interacción familia x fertilización significativa (Tabla 1). El comportamiento observado coincide con resultados obtenidos en otros estudios sobre la especie en invernadero (ZAS & FERNÁNDEZ-LÓPEZ, 2005) y con los de otros programas de mejora de coníferas de Europa y América, donde la interacción genotipo x nutrición resultó significativa y cuantitativamente importante (e.g. XIAO *et al.*, 2003). El método AMMI aplicado en cada parcela permitió descomponer la interacción familia x fertilización en 2 ó 3 componentes significativos, que explicaron entre el 60 y el 75% de la interacción (datos no mostrados). Los resultados de este método pueden sintetizarse en una gráfica biplot donde se representa tanto a las familias como a los tratamientos de fertilización sobre un sistema de coordenadas definido por los dos primeros ejes AMMI. Las familias más próximas al origen son las más estables, mientras que las más plásticas se encuentran a mayor distancia de los ejes. En general, tanto en Cea (Figura

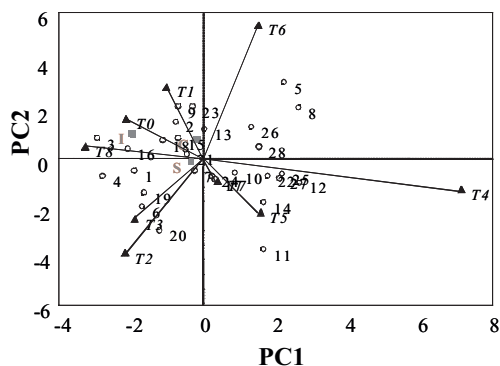


Figura 4. Biplots de la descomposición de la interacción familia x fertilización por el método AMMI para la altura ajustada durante el tercer periodo vegetativo en Cea. (PC1, PC2: Componentes principales 1 y 2)

ra 4) como en las otras dos parcelas no se observó ningún tipo de agrupación entre familias ni entre tratamientos. A su vez, la posición relativa de los tratamientos no guardó ningún patrón que permitiese identificar alguno de los nutrientes como responsable de la respuesta plástica. Tampoco se observó ninguna asociación clara entre familias y tratamientos de fertilización. Sin embargo, en otros estudios sobre la especie esta metodología representó una herramienta eficiente para identificar patrones de respuesta de los genotipos a las características ambientales de los sitios de ensayo (CHAMBEL, 2006).

Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado al amparo del Proyecto de Investigación INIA-RTA05-173 y de una beca de iniciación a los Estudios de Tercer Ciclo de la Consellería de Educación e Ordenación Universitaria de la Xunta de Galicia.

BIBLIOGRAFÍA

- AUGUSTO, L.; CRAMPON, N.; SAUR, E.; BAKKER, M.R.; PELLERIN, S.; DE LAVAISSIÈRE, C. & TRICHET, P.; 2005. High rates of nitrogen fixation of *Ulex* species in the understory of maritime pine stands and the potential effect of phosphorus fertilization. *Can. J. For. Res.* 35(5): 1183-1192.
- BRADSHAW, A.D.; 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Adv. Genet.* 13: 115-155.
- CHAMBEL, M.R.; 2006. *Variabilidad adaptativa y plasticidad fenotípica en procedencias de pinos ibéricos*. Dep. Silvopascicultura. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid.
- GAUCH, H.G.; 1988. Model selection and validation for yield trials with interaction. *Biometrics* 44: 705-715.
- LITTELL, R.C.; MILLIKEN, G.A.; STROUP, W.W. & WOLFINGER, R.D.; 1996. *SAS System for mixed models*. SAS Institute. Cary, NC.
- MARTÍNS, P.; 2005. *Efecto de la fertilización de establecimiento en el comportamiento de familias de polinización abierta de Pinus pinaster*. Proyecto Fin de Carrera, EPS de Ingenieros de Montes. USC. Lugo.
- MARTÍNS, P.; MOREIRA, X.; ZAS, R.; SAMPEDRO, L. & SOLLA, A.; 2008. Variación genética y efecto de la fertilización en la susceptibilidad de *Pinus pinaster* a *Fusarium oxysporum*. *Cuad. Soc. Esp. Cienc. For.* 25: (en revisión).
- NGUYEN, A.; DORMLING, I. & KREMER, A.; 1995. Characterization of *Pinus pinaster* seedling growth in different photo- and thermoperiods in a phytotron as a basis for early selection. *Scan. J. For. Res.* 10(2): 129-139.
- SÁNCHEZ-GÓMEZ, D.; VALLADARES, F. & ZAVALA, M.A.; 2006. Functional traits and plasticity in response to light in seedlings of four Iberian forest tree species. *Tree Physiol.* 26(11): 1425-1433.
- SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, F.; RODRÍGUEZ-SOALLEIRO, R.; ESPAÑOL, E.; LÓPEZ, C.A. & MERINO, A.; 2002. Influence of edaphic factors and tree nutritive status on the productivity of *Pinus radiata* D. Don plantations in northwest Spain. *Forest Ecol. Manage.* 171(1-2): 181-189.
- VOLTAS, J.; VAN EEUWIJK, F. A.; IGARTUA, E.; GARCÍA DEL MORAL, L.F.; MOLINA-CANO, J.L. & ROMAGOSA, I.; 2002. Genotype by environment interaction and adaptation in barley breeding: basic concepts and methods of analysis. In: G. Slafer (ed.), *Barley Science: Recent Advances from Molecular Biology to Agronomy of Yield and Quality*: 205-241. The Haworth Press. New York.
- XIAO, Y.; JOKELA, E.J. & WHITE, T.L.; 2003. Growth and leaf nutrient responses of loblolly and slash pine families to intensive silvicultural management. *Forest Ecol. Manage.* 183(1-3): 281-295.
- ZAS, R. & FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; 2005. Juvenile genetic parameters and genotypic stability of *Pinus pinaster* Ait. open pollinated families under different water and nutrient regimes. *For. Sci.* 51(2): 165-174.
- ZAS, R.; SAMPEDRO, L.; PRADA, E. & FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; 2005. Genetic variation of *Pinus pinaster* Ait. seedlings in susceptibility to *Hylobius abietis* L. *Ann. For. Sci.* 62(7): 681-688.
- ZAS, R.; 2006. Iterative kriging for removing spatial autocorrelation in analysis of forest

- genetic trials. *Tree Genetics Genomics* 2(4): 177-186.
- ZAS, R.; PICHEL, F.; MARTÍNS, P. & FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; 2006. Fertilization x genotype interaction in *Pinus radiata* open pollinated seedlings planted in three locations in Galicia (NW Spain). *New For.* 32(3): 253-263.