



**POLITÉCNICA**

**UNIVERSIDAD POLITECNICA DE MADRID**

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA DE MONTES, FORESTAL Y  
DEL MEDIO NATURAL**

**Mejora Genética de *Pinus sylvestris* L.: Estudio de  
Procedencias y Estrategias de Conservación y Mejora en España**

**TESIS DOCTORAL**

**Eduardo Notivol Paíno**

**Ingeniero de Montes**

**2020**



**PROGRAMA DE DOCTORADO INVESTIGACIÓN FORESTAL AVANZADA**

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA DE MONTES, FORESTAL Y  
DEL MEDIO NATURAL**

**UNIVERSIDAD POLITECNICA DE MADRID**

**TESIS DOCTORAL**

Mejora Genética de *Pinus sylvestris* L.: Estudio de  
Procedencias y Estrategias de Conservación y Mejora en España

**Autor:**

Eduardo Notivol Paíno

Ingeniero de Montes

**Director:**

D. Ricardo Alía Miranda

Doctor Ingeniero de Montes

**AÑO: 2020**





**POLITÉCNICA**

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID**

Tribunal nombrado por el Magnífico y Excelentísimo Sr. Rector de la Universidad Politécnica de Madrid, el día ..... de .....de 20...

Presidente: D/D<sup>a</sup>. .....

Vocal: D/D<sup>a</sup>. .....

Vocal: D/D<sup>a</sup>. .....

Vocal: D/D<sup>a</sup>. .....

Secretario D/D<sup>a</sup>. .....

Realizado el acto de defensa y lectura de la Tesis el día ..... de .....de 20...

El Presidente

Los Vocales

El Secretario



## AGRADECIMIENTOS

No podría empezar sin agradecer la inmensa paciencia y dedicación que ha mostrado el director de esta tesis, Ricardo Alía, sin cuya colaboración y tesón no habría sido posible realizar este trabajo. Pero el agradecimiento se extiende no sólo al plano profesional, sino también al personal donde contar con su amistad supera con creces la reputación de su dirección científica que según consenso internacional no es poca.

En segundo lugar, quiero agradecer el apoyo y comprensión de alguien que me acompaña en todo desde hace más tiempo del que se puede recordar, Ana. Ha tenido que aguantar lo propio de estas situaciones pero corregido y aumentado por la dilación del proceso y sus complicaciones.

En tercer lugar, y no por ello menos importante, el enorme esfuerzo realizado por mis padres por hacer posible mi acceso a la universidad y que desgraciadamente mi padre, lejos de entender mi profesión, no podrá ver este último hito, aunque sin duda mi madre lo acumulará, como él, con el orgullo acumulado del resto de sus hijos, que no dejará de ser una ínfima recompensa de su exclusiva dedicación.

Por último, agradecer a los muchos amigos y (sin embargo) compañeros, que sabiendo de la realización de esta tesis, me han ayudado de manera u otra y siempre con el desinteresado apoyo de su criterio y amistad.

Finalmente no podría olvidarme de los árboles, que al igual que las montañas que son escaladas porque están ahí (Mallory 1923), ellos también están ahí para que sus "*life's little mysteries*" sean descubiertos.



# INDICE

RESUMEN.....	VI
ABSTRACT.....	VIII
1.- INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.-Variacion geográfica en la fenología del crecimiento.....	2
1.2.- Componentes de la fenología del crecimiento y su variación .....	3
1.3.- Implicaciones en la estrategia de utilización de semillas.....	3
1.4.- Modelo experimental e hipótesis de trabajo.....	4
2.- OBJETIVOS.....	7
3.- MATERIAL Y MÉTODOS .....	9
3.1.- Material vegetal y diseño de los experimentos .....	9
3.1.1.- Ensayo en invernadero .....	9
3.1.2.- Ensayos de procedencia multisitio.....	10
3.2.- Ajuste de curvas de crecimiento.....	12
4.- RESULTADOS .....	15
4.1.- VARIACIÓN GENÉTICA DEL RITMO DE CRECIMIENTO EN LOS LÍMITES DE UN CLINE LATITUDINAL EN <i>Pinus sylvestris</i> L. ....	15
4.1.1.- Metodología Específica .....	15
4.1.1.1.- Métodos estadísticos y parámetros genéticos .....	16
4.1.2.- Resultados Específicos .....	18
4.1.2.1.- Descripción de la curva de crecimiento .....	18
4.1.2.2.- Heredabilidades y correlaciones entre caracteres del ritmo de crecimiento.....	20
4.1.2.3.- Diferenciación entre poblaciones .....	21
4.1.2.4.- Media, varianza de la genética aditiva ( $V_A$ ), y coeficiente de variación de la genética aditiva ( $CV_A$ ) de las poblaciones. ....	22
4.1.3.- Discusión Específica .....	25
4.1.3.1.- Modelización del crecimiento.....	25
4.1.3.2.- Heredabilidad.....	25
4.1.3.3.- Correlaciones entre caracteres .....	26
4.1.3.4.- Diferenciación entre poblaciones .....	27
4.1.3.5.- Patrones de variación de los valores medios, de la varianza genética poblacional ( $V_A$ ), y del coeficiente de variación de genética aditiva ( $CV_A$ ) .....	27

4.2.- PATRONES FENOLÓGICOS Y VARIABILIDAD DEL CRECIMIENTO PRIMARIO EN PROCEDENCIAS ESPAÑOLAS .....	31
4.2.1.- Metodología Específica .....	32
4.2.1.1. Material vegetal y mediciones .....	32
4.2.1.2.- Métodos estadísticos .....	32
4.2.1.2.- Estimaciones de los componentes de la varianza, relación entre variable y diferenciación.....	33
4.2.2.- Resultados Específicos .....	34
4.2.2.1.- Ajustes de la curva de crecimiento .....	34
4.2.3.2.- Análisis conjunto .....	35
4.2.2.3.- Correlación entre caracteres .....	37
4.2.2.4.- Diferenciación entre procedencias .....	38
4.2.2.5. Plasticidad fenotípica .....	39
4.2.2.6. Comportamiento de procedencias e interacción genotipo-ambiente .....	39
4.4.3.- Discusión Específica .....	42
4.3.- RELACIONES Y MECANISMOS DE COMPENSACIÓN EN LOS COMPONENTES DEL CRECIMIENTO PRIMARIO .....	47
4.3.1.- Metodología Específica .....	47
4.3.1.1.- Material vegetal .....	47
4.3.1.2.- Análisis de coeficientes de paso .....	48
4.3.2.- Resultados Específicos .....	51
4.3.4.- Discusión Específica .....	57
4.4.- EL USO DE POBLACIONES Y SU VARIACIÓN GENÉTICA EN EL CRECIMIENTO FRENTE AL CAMBIO CLIMÁTICO .....	59
4.4.1.- Metodología Específica .....	60
4.4.1.1.- Material vegetal .....	60
4.4.1.2.- Escenarios climáticos .....	61
4.4.1.3.- Variables analizadas y análisis de los ensayos .....	61
4.4.1.4.- Estrategias de origen de semillas.....	62
4.4.2.- Resultados Específicos .....	64
4.4.2.1.- Análisis combinado y variación genética de poblaciones de pino silvestre .....	64
4.4.2.2.- Escenarios climáticos .....	65
4.4.2.3.- Estrategias de origen de semillas.....	69
4.4.3.- Discusión Específica .....	72
5.- DISCUSIÓN GENERAL.....	77

6.- CONCLUSIONES .....	85
7.- BIBLIOGRAFIA.....	87
ANEXO 1 .....	97
A.1.- Análisis individuales univariantes.....	97
A.1.1.- Análisis de la varianza individuales univariantes .....	100
A.2.- Análisis individuales multivariantes.....	109
A.3.- Análisis conjuntos univariantes .....	112
ANEXO 2: Artículos publicados relacionados con esta Tesis.....	115

## RESUMEN

El estudio de la arquitectura del crecimiento primario en procedencias unida al estudio del ciclo fenológico permite establecer hipótesis respecto a la diferenciación de procedencias y las posibles adaptaciones al medio, dado que el ciclo de crecimiento tiene un papel crucial en la adaptación a climas templados.

Para el estudio del ritmo de crecimiento se han ajustado curvas de crecimiento individuales y se han obtenido un conjunto de variables relacionadas con el ritmo de crecimiento. Con dicha metodología se ha analizado la estructura genética del ritmo de crecimiento de 69 familias de cuatro poblaciones de pino silvestre procedentes de los extremos de su cline latitudinal y de 17 procedencias medidas en 5 ensayos de procedencia.

En el estudio familiar las estimaciones de las heredabilidades de las variables fueron muy altas y la diferenciación entre poblaciones también, mientras que en el de procedencias ésta fue más limitada. No se han encontrado patrones generales de variación en las varianzas genéticas aditivas aunque sus altos valores sugieren que la varianza genética aditiva no es un factor limitante para la adaptación a un nuevo óptimo.

Los resultados obtenidos permiten identificar patrones de variación de la especie en caracteres relacionadas con la fenología del crecimiento muy ligadas con las variaciones estacionales e interanuales en las condiciones climáticas. La plasticidad fenotípica adquirió una relevancia mayor que se manifiesta más entre años que entre sitios como mecanismo adaptativo a los cambios del ambiente. Ello es trascendente considerando el cambio climático previsto, que si bien las poblaciones actuales no estarán probablemente adaptadas a estas futuras condiciones, se encontró una gran variabilidad dentro de las procedencias, que podrían permitir la adaptabilidad de las poblaciones a estas condiciones, vía adaptación *in situ* (Aitken et al. 2008; Alberto et al. 2013)

El estudio de las relaciones entre los componentes del crecimiento mostró que la tasa de crecimiento tiene una componente causal siempre superior a la de la duración del crecimiento. De forma general se vio una correlación negativa entre ambos componentes. Las contribuciones de la tasa y el periodo fueron muy variables entre procedencias, sitios de ensayo y años, así como las relaciones existentes entre ellas tanto entre procedencias como dentro de ellas, siendo mayor la contribución genética de la tasa de forma general.

La correlación entre los componentes fue mayor dentro de las procedencias que entre ellas mostrando una mayor flexibilidad en la compensación a nivel interno dentro de las poblaciones, probablemente por una selección estabilizadora en la tasa de crecimiento. El análisis de estas relaciones mostró la capacidad compensatoria de los componentes a través de una plasticidad fenotípica modulada genéticamente como respuestas a variaciones del ambiente.

Como aplicación a la gestión se ha realizado un análisis de diferentes estrategias de obtención de semillas bajo un escenario de cambio climático de altas emisiones. Se observó que para *Pinus sylvestris* L., en el límite occidental-meridional de su distribución, con su estructura de variación y las predicciones climáticas futuras, las expectativas teóricas de estrategias de

obtención de semilla, basados en similitudes climáticas previstas o de combinación de procedencias, no resultaron mejores que las tradicionales (semilla de procedencia local o de óptimo comportamiento), o no son posibles por inexistencia de procedencias adecuadas a ese clima.

## ABSTRACT

The study of primary growth architecture in provenances including the growth rhythm allows establishing hypotheses for provenance differentiation and environmental adaptation, since the growth rhythm plays a crucial role in adaptation to temperate climates.

Individual growth curves have been adjusted to obtain a set of variables related to the growth rhythm. This methodology has been applied for analyzing the genetic structure of the growth rhythm in 69 families from four populations from the limits of its latitudinal cline and from 17 provenances measured in 5 provenance trials.

Progeny trial results provided very high estimates for heritabilities and population differentiation as well, while in the multisite provenance test, the last was more limited. No general patterns of variation have been found in additive genetic variances, although their high values suggested that additive genetic variance is not a limiting factor for adaptation to a new optimum.

The results obtained allow identifying patterns of variation of the species in characters related to the phenology of growth closely linked to seasonal and interannual variations in climatic conditions. Phenotypic plasticity acquires a greater relevance that is disclosed more between years than sites as an adaptive mechanism to changes in the environment. This is important considering the predicted climate change that, although current populations will probably not be adapted to these future conditions, a great variability within provenances exists, which could allow the adaptability of populations to these conditions, via *in situ* (Aitken et al. 2008; Alberto et al. 2013).

The study of the relationships between the components of growth showed that the growth rate has a causal component always greater than that of the duration of growth. In general, there was a negative correlation between both components. The contributions of the rate and the period were highly variable between provenances, test sites and years, as well as the relationships between them both between provenances and within them, with generally, a greater genetic contribution of the rate.

The correlation between the components was greater within provenances than between them, showing greater flexibility in compensation internally within populations, probably due to a stabilizing selection in the growth rate. The analysis of these relationships showed the compensatory capacity of the components through a genetically modulated phenotypic plasticity as responses to variations in the environment.

For management application, an analysis of different strategies for seed sourcing has been carried out under a climate change high emissions scenario. Despite the theoretical expectations, for Scots pine a forest tree species at its rear edge of its distribution, seed-sourcing methods based on climate matching or combination of seed sources did not perform better than traditional local or predictive methods or they are not feasible because of the lack of future climate-matching populations.



## 1.- INTRODUCCIÓN

Los bosques son esenciales para la provisión de servicios ambientales, materias primas y activos de los ecosistemas de un país o región, y proporcionan ingresos importantes cuando se tienen en cuenta todos sus valores (Campos et al. 2019). Como resultado, los bosques, y especialmente los bosques de coníferas, han sido ampliamente utilizados y transformados por diferentes actividades humanas, como la silvicultura y la gestión forestal (Ratnam et al. 2014), para aumentar algunas de estas fuentes de ingresos, pero más aún se han visto afectados por los cambios del uso de la tierra (por ejemplo, ganadería, agricultura, desarrollo) o diferentes peligros naturales (por ejemplo, incendios forestales, perturbaciones relacionadas con el cambio climático) que provocan una mayor vulnerabilidad de muchas poblaciones o incluso especies. Por lo tanto, durante las últimas décadas se ha hecho cada vez más hincapié en la necesidad de conservación y uso sostenible de los recursos genéticos forestales (Loo et al. 2014).

La reforestación o restauración son actividades forestales importantes, en las que se utilizan semillas o plantas para establecer un futuro bosque. Durante las últimas décadas, ha habido una creciente preocupación por mejorar la resiliencia de los bosques del futuro. Una herramienta clave para lograr este objetivo es el uso de material genéticamente variable, ya que está relacionado con la adaptación futura y la provisión de bienes y servicios (Alía et al. 2009a). Como consecuencia, se están realizando grandes esfuerzos para definir y tener en cuenta las características genéticas del material desplegado en la silvicultura.

Los ensayos de procedencia en múltiples sitios han demostrado su valor para abordar muchas cuestiones evolutivas y ecológicas relacionadas con la adaptación (Mátyás 1994, 1996), ya que en ellos se pueden estudiar diferentes poblaciones en condiciones ambientales comunes y, por lo tanto, utilizar estos ensayos para simular las diferentes estrategias de utilización de la fuente de semilla basadas en los resultados en un momento dado.

El estudio de procedencias, estrategias de mejora, conservación y uso sostenible de los recursos genéticos de la especie se pretende abordar desde la metodología de la genética cuantitativa a través del fenotipado y estudio de caracteres relacionados con el crecimiento primario de la especie.

El crecimiento en altura es uno de los caracteres más utilizados en el campo forestal, tanto para estimar volúmenes de producción, como para todo tipo de estudios biológicos y funcionales y en particular en los programas de mejora genética (Kremer y Lascoux 1988). Por su relativa simplicidad en la toma de datos, ha sido considerado como proxy de otros caracteres más complejos en su formulación o medida como puede ser la adaptación al clima (Rehfeldt et al. 2002).

Los caracteres adaptativos como los relacionados con el ritmo de crecimiento resultan adecuados para comprender la adaptación de las poblaciones a condiciones locales en especies de amplia distribución.

El crecimiento primario en las coníferas es un carácter compuesto que puede ser dividido en componentes aditivos y multiplicativos (Cannell 1978). Estos componentes pueden agruparse en aspectos fenológicos y morfogénicos. El conocimiento de estos componentes es esencial para entender el crecimiento primario o altura.

La arquitectura del crecimiento primario unida al estudio del ciclo fenológico permite establecer hipótesis respecto a la diferenciación de procedencias y las posibles adaptaciones al medio, dado que el ciclo de desarrollo tiene un papel crucial en la adaptación a climas templados.

Los estudios de genética cuantitativa en poblaciones originarias de los extremos de los clines que incluyan múltiples caracteres y *loci* pueden proporcionar información sobre la base genética de la divergencia entre poblaciones. Documentar los patrones de la variación genética aditiva de poblaciones en los límites de distribución es un primer paso en esa dirección (García-Gil et al. 2003; Waldmann et al. 2005).

Esta visión evolutiva-adaptativa cobra aún más sentido al contemplar los posibles efectos del cambio global. Las poblaciones de las especies forestales además de proseguir su proceso evolutivo, tienen que enfrentarse al doble reto de la adaptación y mitigación de los efectos del cambio y una adecuada gestión de los recursos genéticos basados en su conocimiento es fundamental para ello.

### **1.1.-Variación geográfica en la fenología del crecimiento**

La respuesta a la selección en las medias y en la varianza genética aditiva de los caracteres se puede estudiar en el comportamiento de poblaciones naturales distantes entre sí dentro de su área de distribución al incluirlas en un ensayo de procedencias en idénticas condiciones.

Dentro de cada población hay una presión de selección estabilizante para un óptimo local (Barton 1999), pero el óptimo difiere entre poblaciones a lo largo del gradiente de condiciones naturales. Si bien hay poca información disponible sobre la genética cuantitativa de los clines, las predicciones teóricas muestran que las medias seguirán el óptimo local, es más difícil hacer predicciones sobre los patrones de la varianza genética, ya que éstos pueden depender en gran parte de la genética de cada característica, y en menor medida de la selección y la migración (Crow y Nagylaki 1976; Barton y Turelli 1989; Barton 1999).

El mismo cline para la formación de la yema se encontró en latitudes más al sur (García-Gil et al. 2003). Los resultados discrepantes entre los marcadores neutrales y fenotípicos sugieren que los clines fenotípicos observados pueden ser el resultado de la selección divergente y no debido a la estructura histórica de la población (Merilä y Crnokrak 2001; McKay y Latta 2002). La idea de una fuerte adaptación local de las poblaciones de pino silvestre es también apoyada mediante experimentos de movilidad de semillas. Los árboles del sur sobreviven peor cuando son trasladados al norte, mientras que los árboles del norte sobreviven mejor cuando son plantados en el sur, pero crecen más lentamente que las poblaciones locales del sur (Eriksson et al. 1980; Beuker 1994; Mátyás 1996). Además, las poblaciones españolas, las más al sur del rango de distribución, están más fragmentadas que las del norte, variando ambas en los niveles de diversidad y características de crecimiento, desde las poblaciones del norte o centro europeas.

## **1.2.- Componentes de la fenología del crecimiento y su variación**

El crecimiento primario o en altura, además de ser uno de los caracteres más ampliamente usados en la silvicultura, también lo es en los programas de mejora genética por sus obvias implicaciones productivas, por su facilidad de medida y su variación genética a todos los niveles.

La fenología ha recibido mucha atención durante la última década porque muchos organismos están cambiando sus ciclos en respuesta al cambio climático dado que el ritmo de los procesos biológicos, especialmente en las regiones con una marcada estacionalidad, están fuertemente controlados por el clima y consecuentemente esta respuesta se produce (Gordo y Sanz 2009, 2010).

Su uso generalizado requiere su detallado conocimiento y en particular de su característica de carácter complejo y compuesto. Esta complejidad puede abordarse considerando que el crecimiento apical anual puede considerarse como el producto de la tasa media de crecimiento por su duración o periodo en el que se desarrolla dicho crecimiento.

Múltiples autores han demostrado la importancia de estos componentes, como Perry et al. (1966) que determinó para *Pinus taeda* que la tasa de crecimiento acumuló cerca del 60 % de la variación el crecimiento en altura, o que dicha tasa fue la responsable de la diferenciación de familias en *Pinus banksiana* (Magnussen y Yeatman 1989). En *Pinus taeda* Jayawickrama et al. (1998) demostró que las grandes ganancias en crecimiento del material del norte de Florida se debían a su genéticamente mayor periodo de crecimiento y en los capítulos de este trabajo se muestran diferencias significativas en la duración del periodo de crecimiento, así como del crecimiento anual en altura tanto en procedencias como en familias, mostrando su control genético con unas heredabilidades muy altas tanto en crecimiento como en duración del periodo (Notivol et al. 2007).

## **1.3.- Implicaciones en la estrategia de utilización de semillas.**

Existe una necesidad urgente de conservar los recursos genéticos y favorecer la resiliencia de las especies de coníferas frente a los cambios y amenazas esperados. Los cambios pasados podrían haber afectado ya la adaptabilidad de las poblaciones a los rápidos cambios climáticos en curso (Alberto et al. 2013), pero también podrían haber dado lugar a retrasos adaptativos de algunas especies de árboles forestales europeos (Fréjaville et al. 2020).

La selección de la fuente de semilla más productiva para un área determinada ha sido un enfoque tradicional de los gestores forestales. En la actualidad, la información sobre la variabilidad genética y las predicciones proporcionadas por la ciencia del cambio climático permiten diferentes estrategias de fuentes de semilla para maximizar la futura adaptación y resiliencia de nuestros bosques (Breed et al. 2013; Thomas et al. 2014; Havens et al. 2015; Bucharova et al. 2019; Kramer et al. 2019). Entre las posibles estrategias, algunas se han promovido ampliamente como fuentes de semilla, como las de origen local y óptimo. Otras, de más reciente propuesta, como las de origen predictivo, ajustado, compuesto y proporcional (Byrne et al. 2013; Prober et al. 2015) se analizan en este trabajo igualmente (ver materiales y métodos para una descripción detallada de estas estrategias).

Estas diferentes estrategias son difíciles de probar y comparar entre sí en especies forestales de coníferas. Su larga vida útil y amplios rangos de distribución, imponen algunas limitaciones en los ensayos de campo para obtener lotes de semillas con base en las diferentes estrategias, estableciendo el material en ensayos con idénticas condiciones ambientales y midiendo los resultados después de un período de tiempo significativo.

#### **1.4.- Modelo experimental e hipótesis de trabajo**

En este trabajo se utilizan ensayos de procedencias de pino silvestre (*Pinus sylvestris* L.) ubicados en España como caso de estudio. La hipótesis es que los ensayos de procedencia pueden ser una muestra representativa para analizar el comportamiento de diferentes poblaciones de una determinada especie. Esto permite evaluar tanto los componentes ambientales y genéticos en los caracteres adaptativos relacionados con la fenología del crecimiento. Estos caracteres de crecimiento han demostrado tener gran interés para el análisis de la variación adaptativa y comportamiento de las especies arbóreas (Rehfeldt 1992; Rweyongeza et al. 2004). También permiten evaluar diferentes estrategias de fuente de semilla en escenarios de cambio climático mediante el muestreo de individuos de una o varias procedencias.

Para abordar estas cuestiones, se ha escogido trabajar con *Pinus sylvestris* L. por sus características e importancia forestal a nivel mundial.

*Pinus sylvestris* L. tiene la mayor área de distribución mundial de las especies forestales. Se extiende desde del Sur de la península Ibérica (38ºN) al Norte de la Escandinava (68ºN) y desde el Oeste de Escocia (6ºW) hasta el límite oriental de Siberia (135ºE). Como consecuencia de tal rango de distribución geográfica las poblaciones naturales de esta especie han tenido que adaptarse a una serie de gradientes medioambientales relacionadas con la duración del período vegetativo, la calidad de la luz, regímenes de temperaturas y precipitaciones, distintos tipos de suelos, etc. Al igual que el resto de los pinos es una especie anemógama con una alta tasa de polinización abierta. El flujo polínico es el principal mecanismo de dispersión genética en muchos árboles polinizados por el viento. Un flujo genético elevado unido a un sistema de cruzamiento abierto (panmíctico) reduce la diferenciación dentro de las poblaciones mientras que el aislamiento (deriva genética) y la selección divergente en general aumentan dicha diferenciación. En general el flujo genético y la deriva actúan sobre las frecuencias alélicas tanto de genes neutros como de aquellos que regulan caracteres adaptativos mientras que la selección influye sobre los genes con valor adaptativo.

El pino silvestre en España se encuentra en el extremo sur de su distribución (Hampe y Petit 2005), y esto a su vez tiene implicaciones en la fragmentación de las poblaciones, la diferenciación genética entre ellas (Prus-Glowacki et al. 2003; Notivol et al. 2007; Soto et al. 2010) así como en la variación genética de rasgos adaptativos (Alía et al. 2001b; Notivol et al. 2007). La especie tiene un bajo grado de domesticación y notables diferencias fenotípicas y genéticas en caracteres importantes entre las poblaciones, a pesar de los altos niveles de flujo genético (Savolainen et al. 2007).

El pino silvestre es una buena especie modelo para poder abordar estas cuestiones ya que se caracteriza por poblaciones con un elevado tamaño efectivo, abundante flujo polínico y un sistema de cruzamiento abierto (Muona y Harju 1989) lo que teóricamente reduciría la diferenciación neutral. Los resultados empíricos sobre diferencia entre poblaciones a un nivel neutro para pino silvestre están de acuerdo con esa predicción (Karhu et al. 1996; Robledo-Arnuncio y Gil 2005). Por otra parte, en las poblaciones del norte se ha descrito una fuerte variación clinal del momento de formación de la yema y la tolerancia a las heladas (Hurme et al. 1997). Es además una especie importante en los programas de forestación y restauración en España (la tercera especie en España con 20.000 kg de semilla / año y 1.218 ha / año) y con 17 regiones de procedencia para comercialización o material de reproducción (Alía et al. 2009b). Estudios previos han demostrado la existencia de variación genética para rasgos relacionados con el crecimiento, supervivencia y ramificación entre las procedencias españolas y una significativa interacción genotipo-ambiente para altura y diámetro (Alía et al. 2001b) . Por lo tanto, el área de estudio constituye un excelente caso para abordar cómo la variación genética de la especie en caracteres de crecimiento afectaría a las estrategias de fuente de semilla y también las implicaciones para la conservación genética en el límite de distribución de una especie ampliamente distribuida.

En esta memoria se analiza en profundidad el crecimiento primario en *Pinus sylvestris* L. en cuanto a su descomposición como carácter complejo, su ritmo anual y las relaciones entre sus componentes para poder separar los efectos genéticos, los ambientales y su interacción. Ello permitirá utilizar este conocimiento en programas de mejora genética mejorando los criterios de selección así como en las recomendaciones de uso de los materiales forestales de reproducción aprovechando tanto su variabilidad genética como su plasticidad fenotípica y propiciar la conservación y uso sostenible de sus recursos genéticos considerando el cambio climático.



## 2.- OBJETIVOS

Los objetivos generales y específicos de esta tesis doctoral son los siguientes:

### **2.1.- Analizar la variación genética del ritmo de crecimiento en procedencias de *Pinus sylvestris* L. en los límites de un cline latitudinal en *Pinus sylvestris* L.**

- Determinar el control genético de las características del ritmo de crecimiento con semillas de un año (Apartado 4.1)
- Analizar las diferencias entre poblaciones para esas características (Apartados 4.1 y 4.2)
- Examinar los patrones de variación poblacionales de las características del ritmo de crecimiento (Apartados 4.1 y 4.2) y los cambios en las medias y varianzas genéticas a lo largo de una clina geográfica (Apartado 4.1).

### **2.2.- Analizar las relaciones y mecanismos de compensación en los componentes del crecimiento primario en procedencias españolas de *Pinus sylvestris* L.**

- Determinar las correlaciones genéticas de las características del ritmo de crecimiento con semillas de un año (Apartado 4.1).
- Profundizar en el conocimiento del proceso y sus mecanismos de compensación en los componentes del crecimiento en altura anual en poblaciones (Apartado 4.3).
- Analizar las implicaciones para la mejora y adaptación de la especie en estas relaciones (Apartado 4.1 y 4.3)

### **2.3.- Analizar distintas estrategias de utilización de procedencias de *Pinus sylvestris* L. a partir de los resultados de los ensayos de procedencias analizados.**

- Cuantificar la diferenciación de las procedencias españolas en el ritmo de crecimiento primario (Apartado 4.2)
- Presentar distintas alternativas de fuente de semilla para la gestión forestal en función del cambio climático (Apartado 4.4)
- Proporcionar información para el diseño de estrategias de conservación de los recursos genéticos forestales y recomendaciones de uso sostenible de los materiales forestales de reproducción (Apartados 4.1, 4.2 ,4.3 y 4.4)

•

### 3.- MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1.- Material vegetal y diseño de los experimentos

Diferenciamos entre el material utilizado en invernadero (Apartado 4.1) frente a los resultados en ensayos de campo (Apartados 4.2, 4.3, 4.4).

##### 3.1.1.- Ensayo en invernadero

Se utilizan cuatro poblaciones procedentes de los extremos latitudinales del rango de distribución natural en Europa de pino silvestre (Figura 1). Por disponibilidad de semilla, las poblaciones fueron representadas por un número diferente de familias: 21 para Valsaín (ES), 10 para Puebla de Lillo (ES), 19 para Kolari (FI) y Lapinjärvi (FI). En cada población las semillas se recogieron de una muestra representativa de árboles separados entre ellos 50 metros como mínimo.

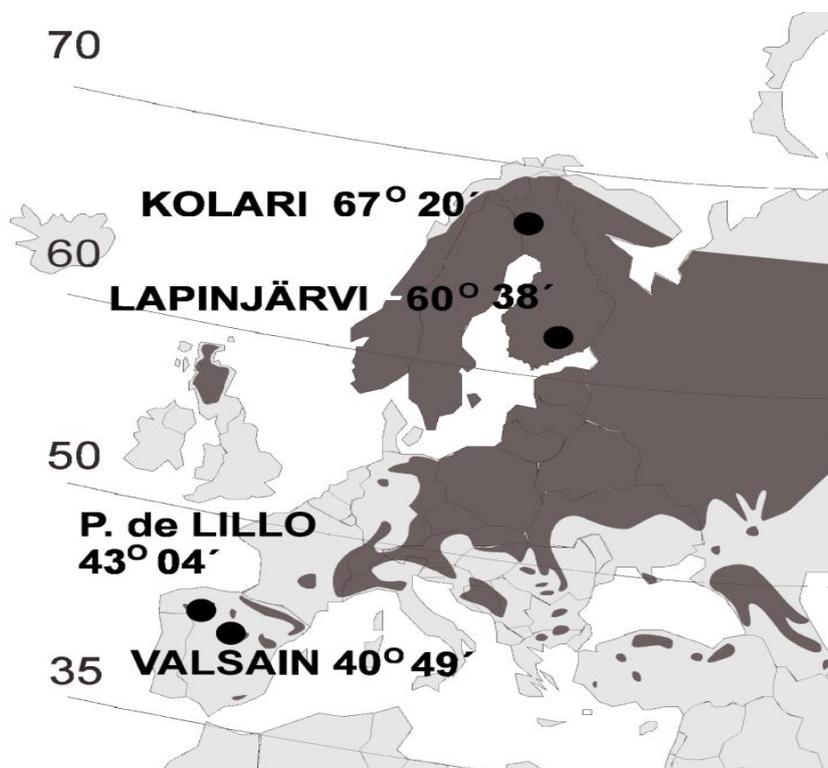


Figura 1: Mapa con la distribución de *P. sylvestris* y las poblaciones muestreadas en el ensayo de invernadero

De cada familia se evaluaron 20 brinzales de una savia (1380 brinzales en total). La siembra se realizó en junio de 2001 y las plantas se cultivaron en contenedor bajo condiciones controladas en invernadero del METLA de Haapastensyrjä (61º N). Las plantas crecieron bajo condiciones de luz natural tal como describe García-Gil et al. (2003). De acuerdo con las condiciones del invernadero el diseño experimental escogido fue un alfa-látice latinizado de bloques incompletos (John y Williams 1995) Este diseño tiene tres tipos de agrupamiento espacial (repeticiones, bloques anidados incompletos dentro de repeticiones y de columnas) con objeto de controlar al máximo la variación ambiental existente. Las características del diseño fueron

las siguientes: cuatro repeticiones, 18 bloques incompletos de cinco unidades experimentales por repetición (estando compuesta cada unidad experimental por cinco plantas) y ordenadas en cinco columnas perpendiculares a la dirección de los bloques.

La altura de cada planta (H) se midió dos veces a la semana desde el 10 de Julio (34 días después de la siembra) hasta el 23 de octubre (día 139). La fecha de formación de las yema en días se anotó al final de la época de crecimiento (Mikola 1982).

### 3.1.2.- Ensayos de procedencia multisitio

Se utiliza el material vegetal procedente de un ensayo de procedencias multisitio (Alía et al. 2001b). En este ensayo se utilizaron lotes de semillas procedentes de 11 localidades españolas y 6 alemanas. Los lotes procedían de la recogida de 25 árboles en cada localidad. Las características de los orígenes estudiados en este trabajo y su representación en los distintos ensayos de procedencia se detallan en la Tabla 1 y Figura 2.

Tabla 1: Origen geográfico de las procedencias estudiadas

Características de los orígenes de la semilla						Representación en:				
Código	Origen	Altitud	Latitud	Longitud	Precip.	ARA	BAZ	CUR	GUD	NAV
1	Puebla de Lillo (Le)	1550	43°04'N	06°15'W	1780	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
2	San Zadornil (Bu)	1000	42°50'N	03°11'W	790	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
4	Morrano (Hu)	700	42°12'N	00°06'W	840	Sí	Sí	Sí	Sí	No
5	Borau (Hu)	1550	42°42'N	00°35'W	1580	Sí	Sí	Sí	No	Sí
7	Pobla de Lillet (B)	1100	42°14'N	01°58'W	660	Sí	No	Sí	No	Sí
8	Covalada (So)	1550	41°56'N	02°48'W	1000	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
91	Galve de Sobre (Gu)	1400	41°15'N	03°07'W	810	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
101	Valsaín (Sg)	1550	40°49'N	04°01'W	1170	Sí	Sí	Sí	No	Sí
14	Gudar (Te)	1700	40°25'N	00°41'W	750	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
151	Castell de Cabres (Cs)	1150	40°45'N	00°12'W	850	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
17	Baza (Gr)	2050	37°22'N	02°51'W	630	Sí	Sí	Sí	No	Sí
19	Gartrow (D)	50	53°02'N	11°25'W	605	Sí	No	No	No	Sí
20	Otterberg (D)	300	49°30'N	07°45'W	690	Sí	Sí	No	No	Sí
21	Wolfgang (D)	177	50°09'N	09°03'W	645	Sí	No	No	No	Sí
22	Wiessentheid (D)	220	49°48'N	11°21'W	580	Sí	No	No	No	No
24	Selb (D)	570	50°12'N	12°10'W	650	Sí	Sí	No	No	No
25	Laufen (D)	430	Huerto	semillero		Sí	No	No	No	Sí

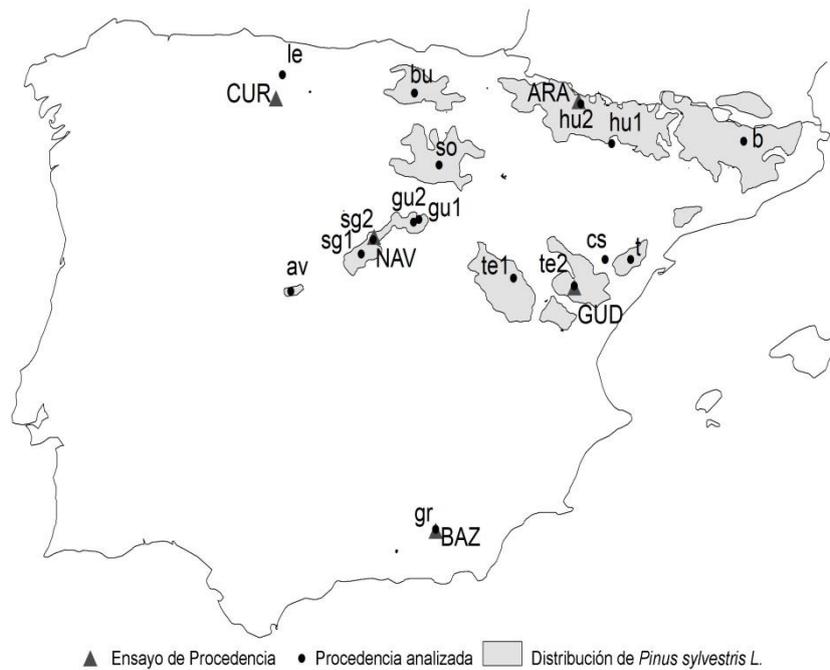


Figura 2: Localización de las poblaciones y sitios de ensayo usados en este estudio

La planta se produjo a raíz desnuda en un vivero forestal localizado en el monte de Valsaín (Segovia) a 1.250 m. de altitud. Con este material se establecieron parcelas de ensayo de procedencias con el siguiente diseño experimental: 4 bloques completos al azar, 16 individuos por unidad experimental (procedencia y bloque) y un marco de plantación de 2,5 m. No todas las poblaciones se encuentran en todas las parcelas de ensayo debido a problemas de germinación y supervivencia en la fase de vivero.

La localización y características de las parcelas que han sido medidas en este trabajo se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2: Localización y características de las parcelas de ensayo

Parcela	Provincia	Altitud	Latitud	Longitud	P. anual	Fecha plantación	Superficie
<b>ARA (Aragüés)</b>	Huesca	1370	42°44'N	0°37'W	1050	04/91	0.88 ha
<b>BAZ (Baza)</b>	Granada	1856	37°21'N	2°50'W	606	11/90	0.64 ha
<b>CUR (Curueño)</b>	León	1150	42°46'N	6°21'W	800	11/90	0.64 ha
<b>GUD (Gudar)</b>	Teruel	1710	40°24'N	0°41'W	690	04/91	0.40 ha
<b>NAV (Navafría)</b>	Segovia	1600	41°02'N	3°49'W	1170	11/90	0.76 ha

Las variables medidas en cada parcela de ensayo corresponden a mediciones de supervivencia, altura y diámetro a los 5, 10 y 15 años tras la plantación (Tabla 3), y los correspondientes a la longitud del brote de la guía terminal en tres parcelas (ARA, CUR y NAV) durante dos períodos vegetativos consecutivos (6º y 7º año de crecimiento). Dichas mediciones se realizaron en subconjuntos de procedencias y plantas de los ensayos según se puede ver en la Tabla 4.

Tabla 3: Variables analizadas en los ensayos de procedencias.

Sitio	Edad	Variables	Muestreo
ARA	5, 10 15 años 6,7 años	Altura, Diámetro, Supervivencia Longitud del brote	60 arb/proc 3 bloq, 5 arb/bloq, 15 arb/proc
BAZ	5, 10 15 años	Altura, Diámetro, Supervivencia	64 arb/proc
CUR	5, 10 15 años 6,7 años	Altura, Diámetro, Supervivencia Longitud del brote	64 arb/proc 4 bloq, 4 arb/bloq, 16 arb/proc
GUD	5, 10 15 años	Altura, Diámetro, Supervivencia	64 arb/proc
NAV	5, 10 15 años 6,7 años	Altura, Diámetro, Supervivencia Longitud del brote	64 arb/proc 4 bloq, 4 arb/bloq, 16 arb/proc,

Tabla 4: Procedencias evaluadas en longitud del brote

Parcela	Año	NProc	Nbloq	Npl/bloq	Nplantas	Orígenes
ARA	6	11	3	5	165	4, 5, 7, 8, 101, 151, 14, 17, 21, 22, 24
	7	16	3	5	240	1, 2, 4, 5, 7, 8, 91, 101, 14, 151, 17, 19,
CUR	6	8	4	4	128	1, 4, 5, 7, 8, 101, 151, 17
	7	11	4	4	176	1, 2, 4, 5, 7, 8, 91, 101, 14, 151, 17
NAV	6	11	4	4	176	1, 5, 7, 8, 17, 19, 20, 21, 25, 101, 151
	7	14	4	4	224	1, 2, 5, 7, 8, 91, 101, 151, 14, 17, 19,

### 3.2.- Ajuste de curvas de crecimiento

En los apartados 4.1, 4.2 y 4.4 se utilizan resultados derivados del ajuste de curvas de crecimiento individuales de plantas de pino silvestre de distintas edades.

Se eligió la función de Gompertz (Draper y Smith 1998) para modelizar el crecimiento de la plántula. Este modelo cumple con las principales características de las curvas de crecimiento: asíntota, punto de inflexión, significado biológico de los parámetros (Kiviste et al. 2002). La expresión matemática es:  $H = ce^{-e^{-b(t-m)}}$  donde H es la altura de la planta (en mm) en el momento t (en días después de la siembra), el parámetro c es la altura total prevista de la planta (la asíntota de la curva), b está muy relacionado con el ratio del máximo crecimiento respecto de la altura total ( $b \approx \text{crecimiento}_{\text{max}}/c$ ) y con la pendiente de la etapa lineal, y m es el valor de t correspondiente al punto de inflexión de la curva (momento en el que se alcanza el crecimiento máximo y con el momento en que el crecimiento comienza a desacelerarse).

Gráficamente se pueden comprobar las distintas influencias que tienen en el aspecto general de la curva de crecimiento de una planta las variaciones de dichos parámetros. En el gráfico adjunto (Figura 3-a) se presenta el rango de valores del parámetro “b” relacionado con la tasa de crecimiento, para unos valores medios de los otros parámetros y cómo influye el parámetro “m”, a través de su rango de valores (Figura 3-b). Los rangos de variación de estos parámetros deben mantenerse dentro de unos límites y guardar cierta relación entre ellos para mantenerse dentro de unos valores biológicamente posibles. El efecto de su variación conjunta puede verse en la superficie (Figura 3-c) formada por las familias de curvas obtenidas con rangos de posibles valores de los parámetros “b” y “m” para un valor de c determinado (60).

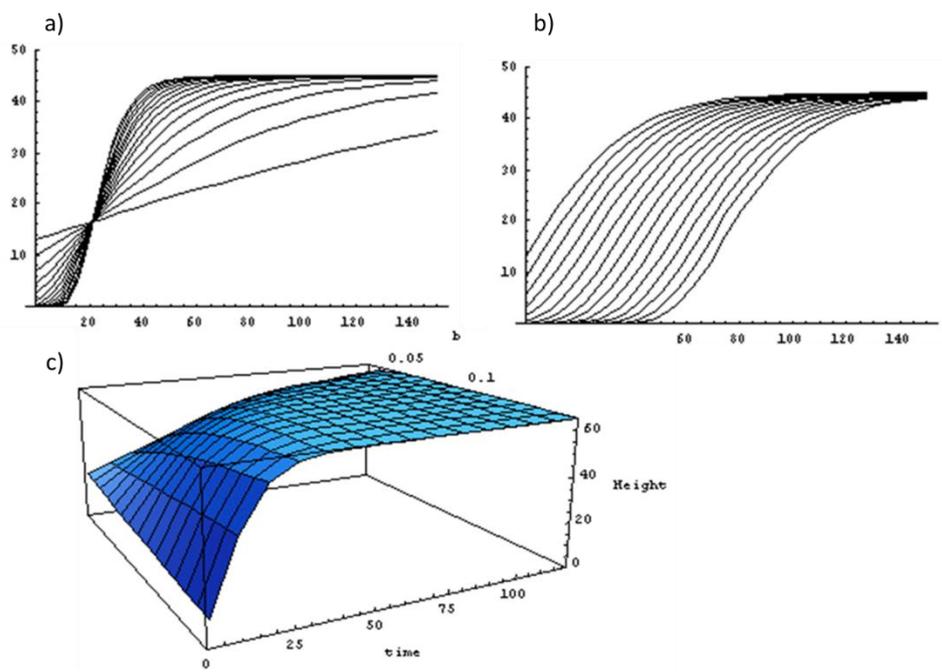


Figura 3: Efecto de la variación de los parámetros en la curva de crecimiento. a) Efecto de la variación del parámetro “b”. b) Efecto de la variación del parámetro “m”. c) Superficie formada por familias de curvas con variación conjunta de los parámetros “b” y “m” para un valor determinado del crecimiento final de 60

Para cada plántula se ajustó una curva de crecimiento usando un procedimiento no lineal. Los estimadores de los parámetros ( $c, b, m$ ) se obtuvieron de modo que optimizaran la función de la suma de los cuadrados de los residuos, minimizándola mediante el algoritmo de Levenberg-Marquardt (Wolfram 1999). Dado que el método de optimización es iterativo se necesitan valores inicializadores de los parámetros, y para ello se desarrolló e implementó un programa en Mathematica® para, mediante un procedimiento de búsqueda, generar estos valores inicializadores. Este método usa intervalos numéricos en lugar de valores puntuales para obtener los valores iniciales en un ajuste no lineal.

Estos valores iniciales se seleccionan partir de un conjunto de ajustes preliminares más groseros dentro de los intervalos definidos. Para evaluar la bondad del ajuste se utilizó un coeficiente de regresión para cada brinjal.

A partir de las curvas ajustadas se obtuvieron tres variables más derivadas de la fórmula para cada brinjal. Estas son, inicio del crecimiento ( $t_{10}$ ), finalización del crecimiento ( $t_{90}$ ) y duración del crecimiento ( $dur$ ). Siendo las dos primeras definidas como el tiempo necesario para alcanzar el 10% ( $H=0.1c$ ) y el 90% ( $H=0.9c$ ) del total de la altura, respectivamente:

$$t_{10} = m - \frac{\ln[-\ln(0.1)]}{b}$$

$$t_{90} = m - \frac{\ln[-\ln(0.9)]}{b}$$

La duración del crecimiento (*dur*) se calculó como diferencia entre *t90* y *t10*.

## 4.- RESULTADOS

### 4.1.- VARIACIÓN GENÉTICA DEL RITMO DE CRECIMIENTO EN LOS LÍMITES DE UN CLINE LATITUDINAL EN *Pinus sylvestris* L.

#### ANTECEDENTES

En el presente capítulo se ha analizado la estructura genética del ritmo de crecimiento de 69 familias de cuatro poblaciones de pino silvestre procedentes de los extremos de su cline latitudinal. Estos caracteres de crecimiento han demostrado tener gran interés para el análisis de la variación adaptativa y comportamiento de las especies arbóreas (Rehfeldt 1992; Rweyongeza et al. 2004). Se han ajustado curvas de crecimiento individuales para la obtención de un conjunto de variables relacionadas con el ritmo de crecimiento.

El principal objetivo es estudiar la variación de las medias y varianza genética aditiva en respuesta a la selección en poblaciones naturales de pino silvestre, mediante (i) la determinación del control genético de los caracteres de crecimiento en plantas de un año de pino silvestre, (ii) el análisis de la diferenciación entre procedencias en esos caracteres, y (iii) examinar los cambios en la media y la varianza genética aditiva de los caracteres entre esas poblaciones.

Las estimaciones de las heredabilidades de las variables fueron muy altas (0.43-1.09) y la diferenciación entre poblaciones arrojaron valores muy elevados igualmente ( $QST = 0.19-0.71$ ). Las correlaciones fenotípicas fueron superiores a las genéticas y principalmente positivas.

Aunque se aprecian claras tendencias en algunas variables, no se han encontrado patrones generales de variación en las varianzas genéticas aditivas. Por otra parte, sus altos valores obtenidos ( $14\% \pm 8\%$ ,  $\text{mean} \pm \text{SE}$ ) sugieren que la varianza genética aditiva no es un factor limitante para la adaptación a un nuevo óptimo dentro de los rangos de variación de estas variables. La existencia y disponibilidad de varianza genética aditiva es el factor clave para poder responder a la selección (Falconer y Mackay 1996). Se discuten asimismo las diferencias en las medias, varianzas genéticas aditivas y coeficientes de variación aditiva por poblaciones.

#### 4.1.1.- Metodología Específica

Las procedencias, número de familias, y diseño utilizado corresponden a las descritas en el apartado 3.1 de esta memoria.

Las variables utilizadas, basadas en el ajuste de las curvas de crecimiento (apartado 3.2), medidas en cada plántula además de la fecha de formación de la yema son los parámetros de la curva ajustada de crecimiento, la referida función de Gompertz (Draper y Smith 1998)

$$H = ce^{-e^{-b(t-m)}} .$$

Así se han analizado  $H$  como la altura de la planta (en mm) en el momento  $t$  (en días después de la siembra), el parámetro  $c$  es la altura total prevista de la planta (la asíntota de la curva),  $b$

el parámetro relacionado con el ratio del máximo crecimiento y con la pendiente de la etapa lineal, y  $m$  como el valor de  $t$  correspondiente al punto de inflexión de la curva (momento en el que se alcanza el crecimiento máximo y con el momento en que el crecimiento comienza a desacelerarse). Por otra parte y derivados de las curvas de ajuste individuales para cada brinza se han obtenido tres variables más, el inicio del crecimiento, su finalización y la ( $t_{90}$ ) y duración del mismo  $t_{10}$ ,  $t_{90}$  y  $dur$  respectivamente.

#### 4.1.1.1.- Métodos estadísticos y parámetros genéticos

De acuerdo con el diseño experimental instalado, un alfa-látice latinizado de bloques incompletos (John y Williams 1995) y tras comprobación de que los residuos son independientes y se distribuyen normalmente ( $0, V_e$  siendo  $V_e$  la varianza del error), se estableció el siguiente modelo para todas las variables:

$$y_{ijklm} = \mu + P_i + \varphi_{j(i)} + R_k + C_l + \beta_{m(k)} + \varepsilon_{ijklmn}$$

donde,

$y_{ijklm}$  : es el valor de la variable para la planta  $n$  de la familia  $j$  de la población  $i$ , localizada en la columna  $l$  y el bloque  $m$  de la repetición  $k$ ;

$\mu$  : es la media general de la variable;

$P_i$  : es el efecto de la población  $i$  ( $i = 1-4$ );

$\varphi_{j(i)}$  : es el efecto de la familia  $j$  de la población  $i$  ( $j = 1-10, 1-19, \text{ o } 1-21$ );

$R_k$  : es el efecto de la repetición  $k$  ( $k = 1-4$ );

$C_l$  : es el efecto de la columna  $l$  ( $l = 1-5$ )

$\beta_{m(k)}$  : es el efecto del bloque  $m$  ( $m = 1-18$ ) en la repetición  $k$ , y

$\varepsilon_{ijklmn}$  : es el error ( $n = 1-5$ )

El modelo se ajustó como un modelo mixto con efectos fijos (población, réplica y columna) y aleatorios (familia, bloque y error), obteniendo los componentes de la varianza por máxima verosimilitud restringida (REML). Se obtuvieron los mejores estimadores y predictores lineales insesgados (BLUE y BLUP) para los factores fijos y variables, respectivamente y el test de Tukey-Kramer se utilizó para agrupar las medias ajustadas de las poblaciones (SAS Institute 1999). El test de Shapiro-Wilks fue usado para evaluar la normalidad (Sokal y Rohlf 1995) e incluso cuando se evidenció alguna heterogeneidad de las varianzas, no se consideró una transformación estabilizadora después de comprobar que los valores de los ratios de las varianzas eran inferiores a 10 (Patterson y Silvey 1980; Williams et al. 2002).

La Figura 4 muestra los residuos del modelo por familia y población para todas las variables.

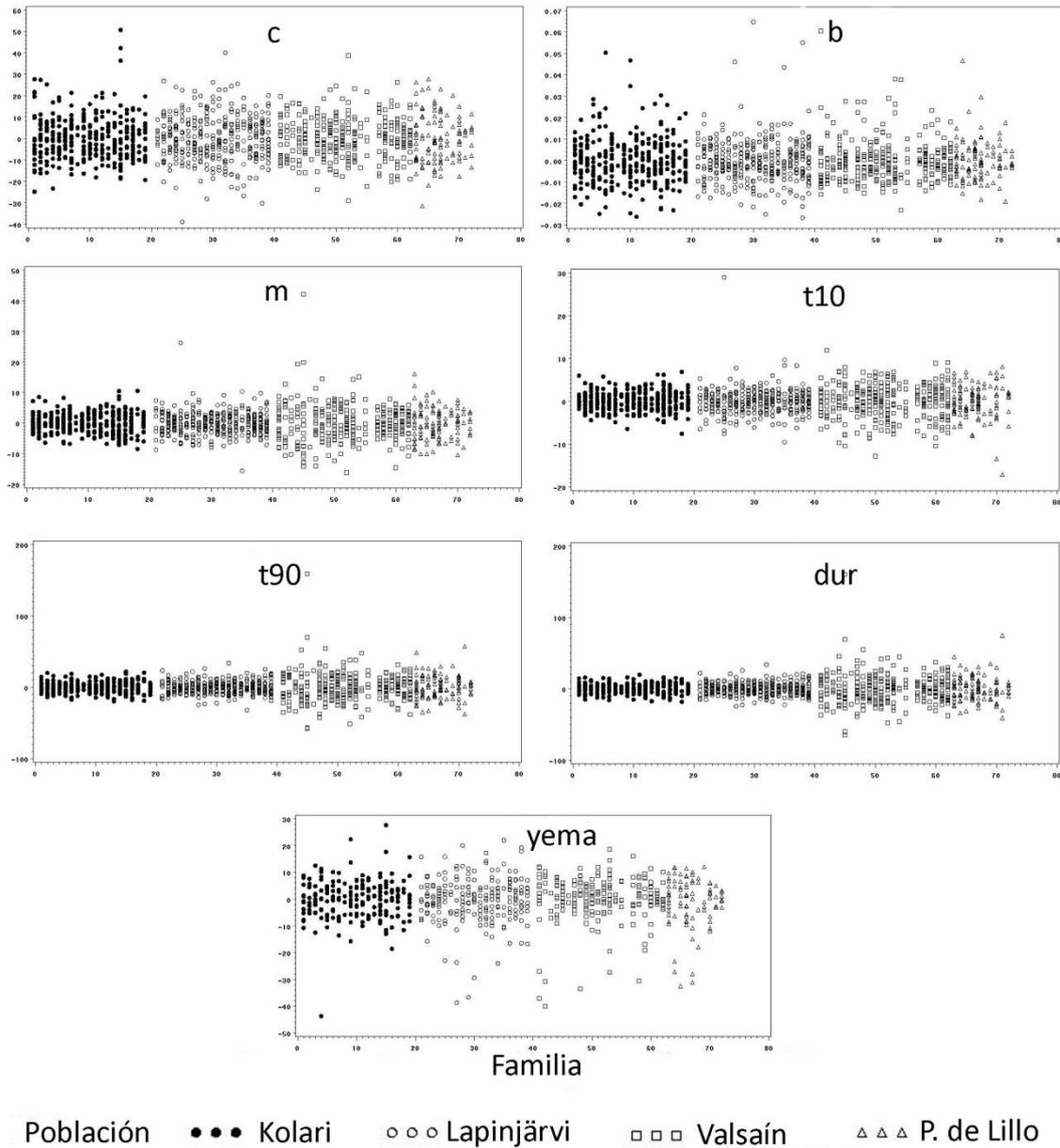


Figura 4: Residuos de todas las observaciones tras el ajuste del modelo

#### 4.1.1.1.1.- Heredabilidad conjunta y correlación genética entre variables

La heredabilidad conjunta de todas las poblaciones en sentido estricto,  $h^2$ , fue calculada para cada variable después de eliminar la componente de la población de cada familia.

$$h^2 = \frac{V_A}{V_P} = \frac{4V_{fam}}{V_{fam} + V_{col} + V_{bl} + V_e}$$

Dónde:  $V_p$  es la varianza fenotípica,  $V_A$  es la varianza aditiva,  $V_{fam}$  es la varianza de la familia,  $V_{col}$  es la varianza de la columna,  $V_{bl}$  es la varianza del bloque y  $V_e$  es la varianza del error.

El error estándar de la heredabilidad se calculó siguiendo la aproximación clásica de Osborne y Paterson (Visscher, 1998) con la expresión:

$$SE_{h^2} = 4 \times \sqrt{\frac{2 \left(1 - \frac{h^2}{4}\right)^2 \left[1 + (s-1) \frac{h^2}{4}\right]^2}{s(s-1)(f-1)}}$$

Dónde:  $s$  es el número de brinzales por familia (20) y  $f$  el número de familias (69).

Las correlaciones genéticas aditivas (Lynch y Walsh 1998) basadas en mediciones hechas en familias de semifratrias dentro de poblaciones y las correlaciones fenotípicas se calcularon para todas las variables utilizando componentes de la varianza y de la covarianza. Los errores estándar de las correlaciones genéticas y fenotípicas,  $r$ , se calcularon mediante la aproximación general de Tallis (válida para un gran número de progenies, (Visscher 1998)):

$SE_r \approx \sqrt{\frac{(1-r^2)^2}{d.f.}}$ , dónde  $d.f.$  es  $f$  (número de familias) para las correlaciones genéticas aditivas y  $n$  (muestra total) para las correlaciones fenotípicas.

#### 4.1.1.1.2.- Parámetros genéticos dentro de poblaciones

En un segundo paso, se estimaron las medias, la varianzas genéticas aditivas ( $V_A$ ), los coeficientes de variación de la genética aditiva ( $CV_A$ ) (Houle 1992) y la heredabilidad en sentido estricto para cada población. El modelo utilizado fue el mismo que en el caso anterior pero obteniendo la información para cada una de las poblaciones por separado.

#### 4.1.1.1.3.- Diferenciación entre poblaciones

La diferenciación genética entre poblaciones para caracteres cuantitativos,  $Q_{ST}$ , fue calculada mediante las relaciones existentes entre las varianzas, dentro y entre poblaciones, siguiendo el método descrito por (Wright 1951; Weir y Cockerman 1984; Prout y Barker 1989).

$$Q_{ST} = \frac{V_{pop}}{V_{pop} + 2(V_A)}$$

Donde  $V_{pop}$  es la varianza poblacional y  $V_A$  es la varianza genética aditiva.

Se realizó un análisis multivariante de la varianza y un análisis discriminante canónico (SAS Institute 1999) para las seis características de la curva ( $c$ ,  $b$ ,  $m$ ,  $T10$ ,  $T90$  y  $dur$ ) y se obtuvo una representación gráfica en las dos primeras variables canónicas obtenidas.

### 4.1.2.- Resultados Específicos

#### 4.1.2.1.- Descripción de la curva de crecimiento

Las curvas de crecimiento estimadas se ajustaron a los datos con bastante exactitud. La diferencia media entre valores predichos y observados fue del 3% y el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) fue  $0.999 \pm 0.0002$  (con valores individuales máximos y mínimos de 0.999 y 0.859 respectivamente). La Figura 5 muestra algunos ejemplos de curvas individuales

ajustadas y las representaciones de las curvas de crecimiento máxima, mínima y media de la altura de la planta para cada una de las poblaciones.

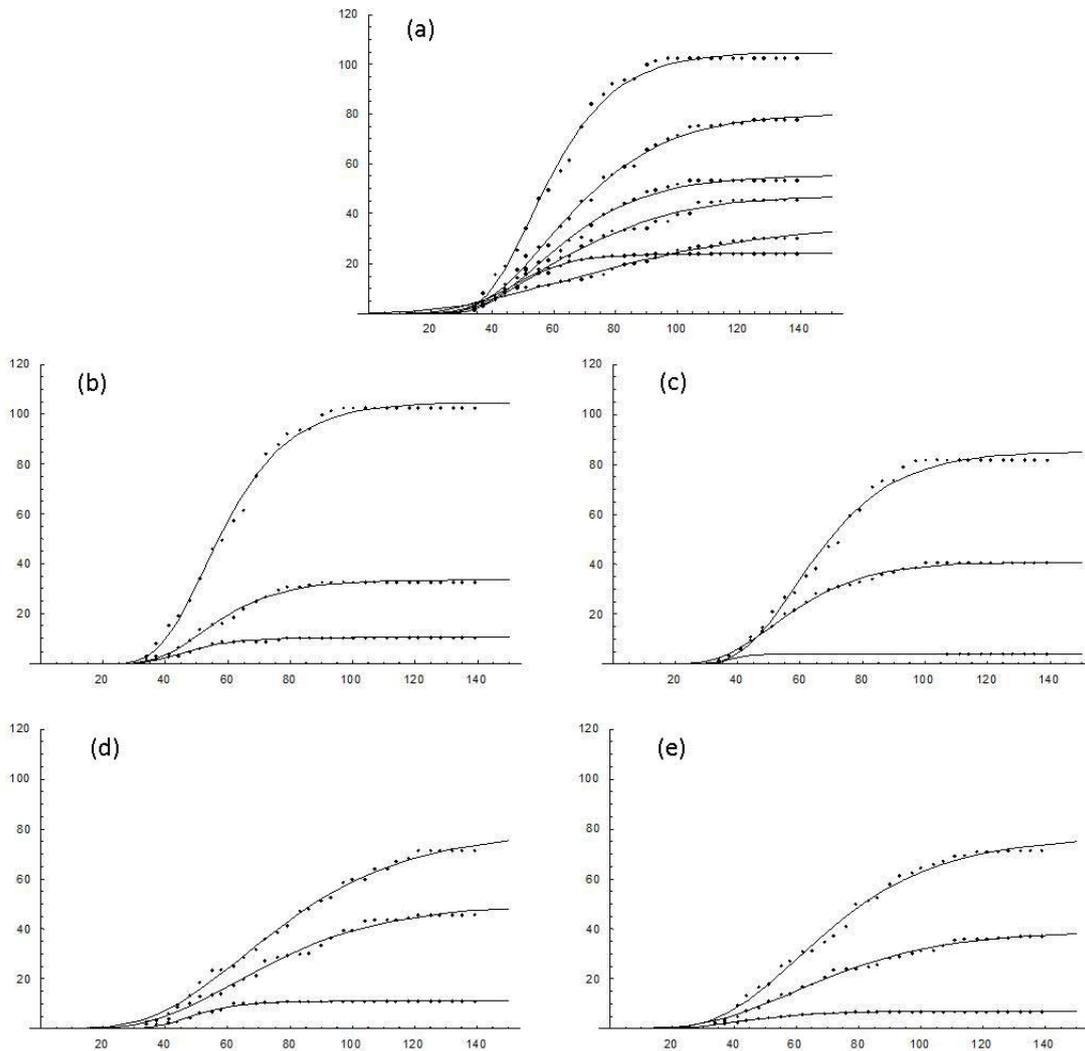


Figura 5: Ejemplos de ajustes individuales de la curva (a) y las curvas de los brinzales más alto, bajo y medio de Kolarí (b), Lapinjärvi (c), P. de Lillo (d) y Valsáin (e)

Los estadísticos descriptivos de las cuatro poblaciones se presentan en la Tabla 5. La medias globales para todos los individuos fueron: altura total (c)  $39.18 \pm 0.44$  mm., tasa de crecimiento máxima (b)  $0.058 \pm 0.0006$  días, punto de inflexión (m)  $54.89 \pm 0.21$  días, inicio del crecimiento ( $t_{10}$ )  $38.96 \pm 0.13$  días, finalización del crecimiento ( $t_{90}$ )  $100.11 \pm 0.68$  días, duración (dur)  $112.20 \pm 0.72$  días y formación de la yema  $109.46 \pm 0.51$  días.

Tabla 5: Medias de todas las variables por población. Valores con letras diferentes son significativamente diferentes (Test de comparaciones múltiples de Tukey  $p < 0.05$ )

Población	c	b	m	T10	t90	dur	F. yema
Kolari	32.64 a	0.079 b	49.01 b	38.25 a	78.09 b	39.88 b	88.84 b
Lapinjärvi	40.56 bc	0.062 c	54.63 c	40.93 b	91.62 c	50.69 c	102.60 c
P. de Lillo	48.23 b	0.040 a	60.00 a	37.74 a	119.95 a	82.25 a	124.96 a
Valsáin	38.20 a c	0.038 a	59.78 a	35.71 c	124.98 a	89.03 a	127.50 a
Media ± error st.	39.18 ± 0.44	0.058 ± 0.0006	54.89 ± 0.21	38.96 ± 0.13	100.11 ± 0.68	112.20 ± 0.72	109.46 ± 0.51

#### 4.1.2.2.- Heredabilidades y correlaciones entre caracteres del ritmo de crecimiento

La Tabla 6 muestra la heredabilidad individual conjunta, las correlaciones genéticas aditivas y fenotípicas y sus errores estándar para todas las variables analizadas, basadas en estimadores de máxima verosimilitud restringida (REML) de los factores aleatorios del modelo. Los valores de la heredabilidad fueron altos para todas las características variando desde 0.43 para el punto de inflexión (b) hasta 1.09 para la tasa de crecimiento máximo.

Tabla 6: Correlaciones fenotípica sobre la diagonal y genéticas aditivas bajo la diagonal, heredabilidad individual conjunta en la diagonal y diferenciación genética de caracteres cuantitativos ( $Q_{st}$ )

$h^2$	c	b	m	t10	t90	dur	F. yema
c	<b>1.09</b> [± 0.16]	-0.31 [± 0.02]	0.43 [± 0.02]	0.42 [± 0.02]	0.23 [± 0.03]	0.15 [± 0.03]	0.24 [± 0.03]
b	-0.10 [± 0.12]	<b>0.54</b> [± 0.11]	-0.79 [± 0.01]	0.23 [± 0.03]	-0.90 [± 0.01]	-0.89 [± 0.01]	-0.87 [± 0.01]
m	0.18 [± 0.12]	-0.78 [± 0.05]	<b>0.43</b> [± 0.10]	0.23 [± 0.03]	0.89 [± 0.01]	0.81 [± 0.01]	0.70 [± 0.01]
t10	0.53 [± 0.09]	0.08 [± 0.12]	0.30 [± 0.11]	<b>0.64</b> [± 0.12]	0.23 [± 0.03]	-0.38 [± 0.02]	0.25 [± 0.03]
t90	-0.11 [± 0.12]	-0.83 [± 0.04]	0.85 [± 0.03]	-0.26 [± 0.11]	<b>0.71</b> [± 0.13]	0.99 [± 0.00]	0.81 [± 0.01]
dur	-0.21 [± 0.12]	-0.79 [± 0.04]	0.73 [± 0.06]	-0.43 [± 0.10]	0.98 [± 0.00]	<b>0.84</b> [± 0.14]	0.81 [± 0.01]
F. yema	0.07 [± 0.12]	-0.71 [± 0.06]	0.63 [± 0.07]	-0.08 [± 0.12]	0.68 [± 0.06]	0.65 [± 0.07]	<b>0.66</b> [± 0.12]
$Q_{st}$	0.08	0.71	0.52	0.19	0.56	0.54	0.77

En la mayoría de los casos las correlaciones genéticas aditivas fueron menores que las fenotípicas, con la excepción de las correlaciones entre tasa de crecimiento máximo (b), punto de inflexión (m) y duración del crecimiento (dur) vs. inicio del crecimiento (t10), lo que sugirieron una correlación medioambiental positiva. En algunos casos se observa cambio de signo entre las correlaciones genéticas y fenotípicas, como en el caso de inicio del crecimiento vs. finalización del crecimiento y duración del crecimiento vs. altura total. Estos casos podrían sugerir correlaciones medioambientales negativas.

#### 4.1.2.3.- Diferenciación entre poblaciones

Los resultados del análisis de varianza (Tabla 7) indican un efecto muy significativo de la población en todas las características. Los errores fueron bajos y los efectos ambientales del diseño no fueron significativos.

Tabla 7: Tests tipo III para los efectos fijos del modelo mixto del análisis de la varianza

Efecto	c		b		M		t10	
	F	P	F	P	F	P	F	P
Rep.	1.75	0.165	1.84	0.148	0.28	0.843	2.7	0.052
Pop.	8.65	<.0001	226.5	<.0001	92.29	<.0001	27.96	<.0001
Colum.	6.78	<.0001	3.35	0.010	3.13	0.014	2.94	0.020
	t90		dur		F. yema			
	F	P	F	P	F	P		
Rep.	0.98	0.408	1.59	0.200	1.53	0.214		
Pop.	133.75	<.0001	130.67	<.0001	320.28	<.0001		
Colum.	2.22	0.065	1.84	0.120	0.52	0.720		

Los análisis multivariantes de la varianza mostraron asimismo efectos muy significativos de la población cuando se consideraban todas las características (Lambda de Wilks y Traza de Pilai  $p < 0.0001$ ) así como para el resto de los efectos del modelo.

Se encontró un elevado nivel de diferenciación entre poblaciones para la mayoría de las características, como se puede comprobar por el valor del coeficiente de diferenciación genética para caracteres cuantitativos ( $Q_{ST}$ ), variando de 0.08 para la altura total hasta 0.77 para la maduración (Tabla 6).

Los análisis discriminantes canónicos fueron satisfactorios absorbiendo las dos primeras variables canónicas el 68% y el 20% del total de la variación entre poblaciones. La primera variable canónica está relacionada con la tasa de crecimiento máximo (c), el punto de inflexión (m), el cese del crecimiento (t90) así como su duración (dur), y discriminó claramente las cuatro poblaciones ordenadas latitudinalmente (Figura 6). El segundo eje está asociado con la altura total (c) y el inicio del crecimiento (t10) y separó a las dos poblaciones más extremas de la distribución de la especie.

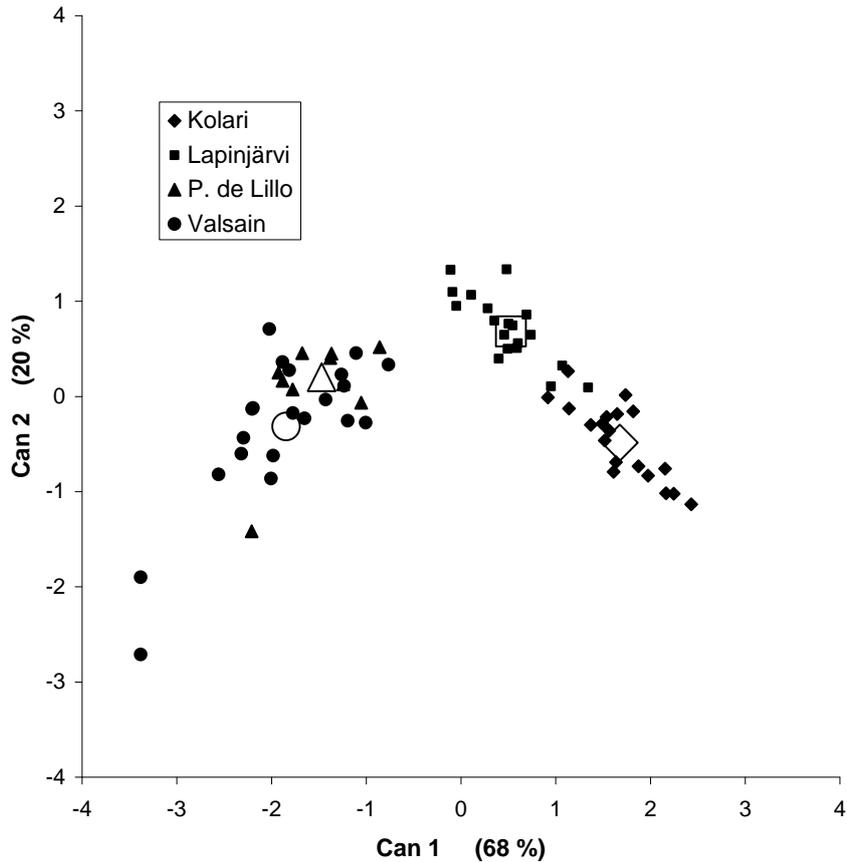


Figura 6: Representación de las observaciones de las familias en las dos primeras variables canónicas (Can1 y Can2 con su porcentaje de varianza absorbida) obtenidas en un análisis discriminante canónico agrupado por poblaciones con base en las seis variables de crecimiento

**4.1.2.4.- Media, varianza de la genética aditiva (VA), y coeficiente de variación de la genética aditiva (CV<sub>A</sub>) de las poblaciones.**

Las curvas de crecimiento medio de las distintas poblaciones (Figura 7) muestran el patrón de variación de las características del ritmo de crecimiento del pino silvestre. Los valores medios por población varían de 36 a 41 días para el inicio del crecimiento, de 78 a 125 días para su cese, con una duración del período que va de 51 a 89 días (Tabla 5).

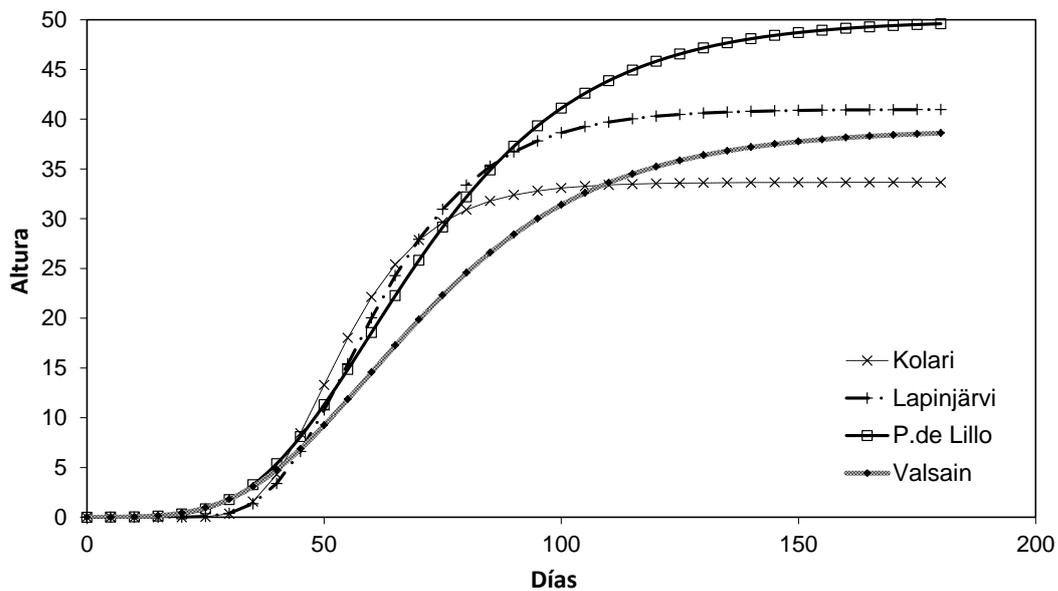


Figura 7: Curvas de crecimiento medio para cada población

Las heredabilidades (por población) se muestran en la Tabla 8. Estos valores presentaron diferencias entre características y poblaciones, aunque su rango es similar al observado combinando las familias de todas las poblaciones.

Tabla 8: Heredabilidades por población con error estándar

$h^2$	c	b	m	t10	tT90	dur	F. yema
<b>Kolari</b>	1.58±0.34	0.23±0.13	0.42±0.18	0.55±0.21	0.28±0.15	0.19±0.12	0.75±0.25
<b>Lapinjärvi</b>	0.68±0.23	0.66±0.23	0.84±0.26	0.28±0.14	1.04±0.29	0.91±0.27	0.59±0.21
<b>P. de Lillo</b>	0.24±0.18	0.29±0.20	0.42±0.25	0.00±0.09	0.49±0.27	0.43±0.25	0.47±0.26
<b>Valsain</b>	0.85±0.25	0.75±0.23	0.21±0.12	0.96±0.27	0.64±0.21	0.84±0.25	0.57±0.20
<b>Conjunta</b>	1.09±0.16	0.54±0.11	0.43±0.10	0.64±0.12	0.71±0.13	0.84±0.14	0.66±0.12

Los valores de las medias, las varianzas y el coeficiente de variación genética aditiva en relación con la latitud de la población se muestran en la Figura 8. Hay una relación lineal entre las medias y la latitud para la mayoría de las características estudiadas, excepto para el inicio del crecimiento y para la altura total, las cuales presentaron el valor máximo en latitudes intermedias.

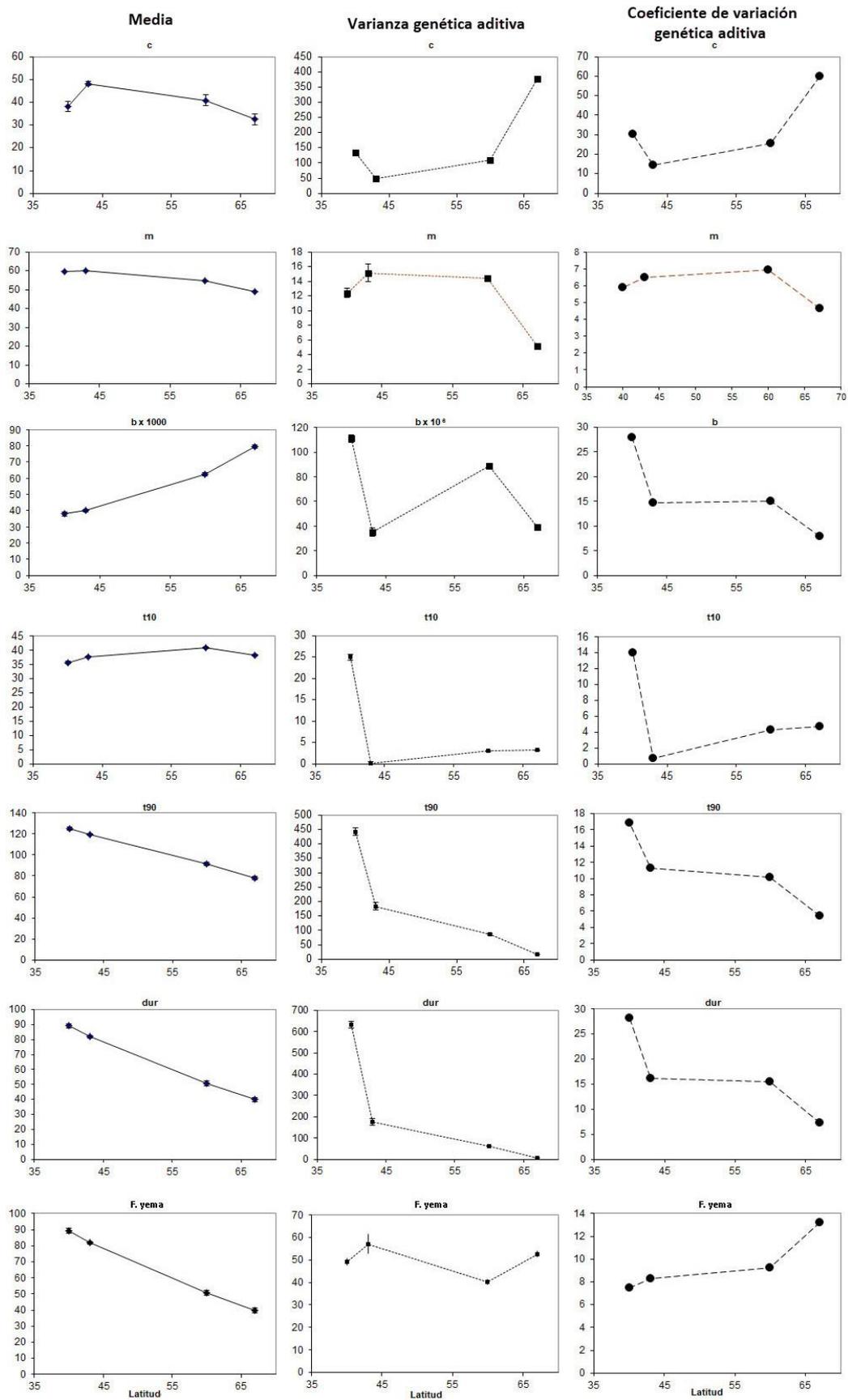


Figura 8: Medias, varianzas genéticas aditivas y coeficientes de variación genética aditiva por latitud para las estimaciones de los diferentes parámetros de la curva de crecimiento

La varianza aditiva ( $VA$ ) y el coeficiente de variación genética aditiva ( $CV_A$ ) de todos los caracteres presentaron patrones similares sin mostrar una asociación latitudinal clara en ningún caso. La varianza genética aditiva disminuyó en las poblaciones hacia el norte tanto para la finalización del crecimiento como para su duración, y todas las poblaciones tuvieron valores similares para la varianza genética aditiva de la fecha de formación de la yema.

### **4.1.3.- Discusión Específica**

#### **4.1.3.1.- Modelización del crecimiento**

Las variables empleadas en este estudio caracterizan el ritmo de crecimiento de las plántulas de pino silvestre durante el primer año de crecimiento, y son importantes para entender el proceso de selección durante el primer estadio de las plantas bajo diferentes condiciones ambientales. Se eligieron las curvas de Gompertz por su simplicidad, por su precisa descripción del proceso y por el significado biológico de los parámetros obtenidos. Comparado con otros modelos, el de Gompertz no incorpora la restricción de simetría como el modelo logístico (la curva es simétrica alrededor del punto de ratio máximo crecimiento y tiene los mismos períodos de crecimiento lento y rápido). Por otra parte presenta la limitación matemática de que el punto de inflexión está siempre a una proporción fija del valor de la asíntota, pero esta característica también es común en otros modelos habituales de la descripción del crecimiento (Weibull o Richards – Chapman), y está suficientemente compensada por la simplicidad del modelo (sólo tres parámetros) y su gran flexibilidad (Figura 5). Los parámetros de la curva deben ser lo más independientes posible entre sí para evitar redundancia. Sin embargo, los valores de sus rangos de variación se tienen que mantener dentro de los límites del significado biológico.

El procedimiento utilizado en este estudio para el cálculo de los valores inicializadores del ajuste fue novedoso. La idoneidad del método se confirma por el bajo valor de error del ajuste (3%). Aunque el ajuste no lineal de curvas de crecimiento ya se ha utilizado en pinos y otras especies (e.g. Skroppa y Magnussen 1993; Fekedulegn et al. 1999), los parámetros genéticos se han estimado sólo en pocas ocasiones (e.g. (Magnussen y Kremer 1993; Skroppa y Magnussen 1993; Gwaze et al. 2002).

#### **4.1.3.2.- Heredabilidad**

La heredabilidad conjunta (i.e. la obtenida considerando una metapoblación formada por las 69 familias en las cuales se excluyó el efecto población) indica un elevado control genético para todos los de los caracteres evaluados del ritmo de crecimiento en plántulas de un año, como ya se había sugerido anteriormente (Gwaze et al. 2002; Savolainen et al. 2004). Obviamente este modelo general teórico se basa en un hipotético intercambio genético entre poblaciones de acuerdo a un imposible modelo panmíctico por lo que los valores de la heredabilidad conjunta no pueden ser considerados como las heredabilidades de una única población. Sin embargo, la escasa diferencia genética entre poblaciones (medida por marcadores neutrales) y los valores de heredabilidades dentro de cada población demuestran la utilidad de estos resultados para describir el control genético del ritmo de crecimiento en pino silvestre.

#### 4.1.3.3.- Correlaciones entre caracteres

El estudio de las correlaciones genéticas y fenotípicas ayuda a comprender las interacciones entre los factores que influyen en un carácter y ayudará a profundizar el conocimiento de su biología. La literatura se ha centrado profusamente en el crecimiento anual de la altura, y se han usado diferentes aproximaciones para reducir su complejidad. Las componentes morfogenéticas del crecimiento primario o arquitectura de la altura se han descrito y se han analizado genéticamente considerando sus componentes como efectos aditivos (frecuentemente después de transformaciones matemáticas). Por ejemplo el incremento anual de altura ha sido descompuesto en el número de unidades de tallo y en la longitud media de la unidad de tallo (Kremer 1981). Los ratios de crecimiento anatómico y citohistológico del meristemo apical se han considerado para describir el crecimiento primario (Kremer y Larson 1982; Kremer 1984). El examen de las tasas de crecimiento y la duración de los períodos de crecimiento es otra aproximación clásica para entender el crecimiento en altura (Magnussen y Yeatman 1989).

Los resultados muestran que los caracteres analizados tienen elevadas correlaciones genéticas aditivas. Las correlaciones fenotípicas son incluso mayores que las genéticas. La mayoría de las correlaciones son positivas, con excepción de las correlaciones entre la tasa de crecimiento máximo vs. el punto de inflexión, el cese del crecimiento, la duración del crecimiento, y la fecha de formación de la yema. Una correlación negativa entre la tasa de crecimiento y la duración del crecimiento sólo se ha observado en *Picea abies* (Oleksyn et al. 1998). También se ha observado que las plantas con mayor altura total tienen un inicio del crecimiento más temprano, que este inicio está negativamente correlacionado con la finalización del crecimiento, y que esa característica tiene mayor influencia en la duración del crecimiento que en su inicio. El patrón de las correlaciones genéticas entre las características analizadas, a nivel individual, pone de manifiesto la existencia de limitaciones en el proceso de crecimiento durante el primer año. Si bien los parámetros de la curva podrían adoptar cualquier valor, se observa que se mantienen dentro de límites biológicos, lo cual apoya esa idea como buena.

Una limitación de este trabajo ha sido el bajo número de familias de cada población, lo cual no ha permitido un análisis de la estructura de la matriz de correlación entre poblaciones. La fecha de formación de la yema está muy positivamente correlacionada con la duración del crecimiento y con el punto de inflexión y negativamente correlacionada con el ratio de crecimiento máximo, indicando que las plantas con un inicio tardío del crecimiento tienen una fecha de formación de yema tardía. Naturalmente, la formación de la yema sólo se produjo una vez que el crecimiento en altura se había detenido. Los resultados muestran algunos casos en los que las correlaciones genéticas aditivas son mayores que las fenotípicas. Ello podría ser consecuencia de una posible correlación negativa ambiental, pero los resultados deben interpretarse con mucha precaución cuando está implicado el inicio del crecimiento, debido a que la siembra fue "artificial" en fecha y común para todas las familias y poblaciones. Por lo tanto, para el análisis del ritmo de crecimiento de pino silvestre, una de las variables utilizadas en este estudio es redundante (la duración del crecimiento) y otra podría estar afectada por el protocolo experimental (el inicio del crecimiento), y no se discutirá en los siguientes apartados.

#### **4.1.3.4.- Diferenciación entre poblaciones**

Para la mayoría de los caracteres, excepto la altura total, se obtuvieron valores altos de  $Q_{ST}$ . Por otra parte, es sabido que los efectos maternos son relevantes en la germinación y en el crecimiento del primer año (Hurme et al. 1997; Kaya y Isik 1997). Los valores de la diferenciación poblacional en el ritmo de crecimiento son, en todos los casos, mayores que los observados con marcadores neutrales, indicando una fuerte estructura genética de la diversidad en las características cuantitativas (adaptativas) para las poblaciones de pino silvestre en los límites de su rango latitudinal. Otros estudios han mostrado diferentes resultados dependiendo de la especie, del protocolo del experimento y de las variables consideradas: no se encontró variación genética poblacional en la tasa de crecimiento en brinzales de un año de *P. sylvestris* (Reich et al. 1994) ni de cuatro años de *P. halepensis* (Alía et al. 2001a). También se observó poca diferenciación para el inicio del crecimiento en *P. contorta* (Rehfeldt y Wykoff 1981) y en *P. merkusii* (Koskela 2000), y por otra parte se vio una variación genética significativa para la tasa de crecimiento en *P. banksiana* (Blake y Yeatman 1989), para la elongación total y los parámetros de crecimiento en plantas de un año en *Pinus contorta* (Chaine et al. 2001), y para la altura total en plantas de cuatro años en *Pinus halepensis* (Alía et al. 2001a).

#### **4.1.3.5.- Patrones de variación de los valores medios, de la varianza genética poblacional ( $V_A$ ), y del coeficiente de variación de genética aditiva ( $CV_A$ )**

La relación entre la media y la latitud muestra claramente la existencia de diferencias latitudinales para la tasa de crecimiento máximo, el punto de inflexión, la finalización del crecimiento, y la fecha de formación de la yema, el carácter con mayor diferenciación poblacional. El análisis discriminante canónico apoya también la hipótesis de la variación clinal. En éste análisis las cuatro poblaciones son ordenadas por la latitud en el primer eje canónico (tasa de crecimiento máximo, cese del crecimiento y punto de inflexión). Es importante resaltar que estos son caracteres con un marcado significado adaptativo. Las poblaciones del Norte están adaptadas a un crecimiento rápido durante un corto período de crecimiento (la mitad aproximadamente de las del Sur), teniendo una formación de yema más temprana que las plantas de las poblaciones meridionales. De hecho, el cese del crecimiento comienza 10 días antes en las poblaciones de Kolari que en las de España. En las poblaciones del Norte el factor limitante es la amplitud del período de crecimiento y la temperatura (e.g. (Howe et al. 1996; Clapham et al. 1999, 2002). En las poblaciones del Sur el principal factor limitante es la disponibilidad hídrica durante el período de crecimiento. Trabajos anteriores en la misma especie ya describieron la existencia de marcados clines en las poblaciones del norte (e.g. (Mikola 1982; Aho 1994; Hurme et al. 1997)) y de adaptación local (Alía et al. 2001a).

La altura total no sigue un cline, en su lugar el valor más alto se observa en latitudes intermedias. Las poblaciones de mayor latitud de Finlandia y las de mayor altitud de España no crecieron tanto. Las poblaciones más septentrionales y más meridionales crecen en las condiciones muy alejadas del óptimo de la especie y consecuentemente muestran una reducción del crecimiento total. Ensayos de procedencias con poblaciones de España y Europa Central revelaron que esas poblaciones de las localidades de los extremos crecen menos que las de Europa Central (Notivol et al. 1996; Alía et al. 2001b).

Uno de los aspectos más importantes de este trabajo es el análisis del patrón de varianza genética aditiva en las poblaciones de los extremos del rango de distribución. Los resultados muestran una elevada  $V_A$  para la mayoría de las variables estudiadas. De media,  $V_A$  representa el 14% ( $\pm 8$ ) del total de la varianza para el conjunto de los caracteres en todas las poblaciones. La existencia y disponibilidad de varianza genética aditiva es el factor clave para poder responder a la selección (Falconer y Mackay 1996). Savolainen et al. (2004) simularon la adaptación al cambio climático basada en valores conocidos de la varianza genética aditiva en dos importantes características adaptativas en poblaciones finlandesas (tolerancia al frío y formación de la yema). Los resultados mostraron que la respuesta genética de las poblaciones finlandesas de pino silvestre podría ser posible si hubiera espacio para nuevos brinzales (pero la respuesta se ralentiza porque la supervivencia de los árboles con genotipos no adaptados al nuevo clima conquista igualmente el espacio inicialmente). Las altas varianzas genéticas aditivas encontradas en este estudio sugieren que la varianza genética aditiva no es el factor limitante para la adaptación a un nuevo óptimo. Este elevado valor sugiere que la variación genética se ha mantenido por un equilibrio entre la migración y selección estabilizante hacia el óptimo local, el cual difiere entre poblaciones. Una situación similar fue descrita para clines de *Drosophila* (Barton y Turelli 1989).

El valor de  $V_A$  fue extremadamente bajo en la población de Puebla de Lillo comparándola con las otras poblaciones españolas (Valsaín) para la altura total, la tasa de crecimiento máximo, el inicio, la finalización y duración del crecimiento. Esto puede ser resultado de la deriva genética sufrida por esta población reléctica. La erosión de la variación genética está también apoyada por la baja diversidad haplotípica ( $H$ ) presentada por el gen PAL en esta población comparada con poblaciones finlandesas y rusas (Dvornyk et al. 2002), y una ligera reducción de la diversidad genética cuando se comparó con Valsain (Robledo-Arnuncio et al. 2005). La  $V_A$  disminuyó en los límites norte del rango para el cese y la duración del crecimiento. Este resultado indica que la selección puede ser más fuerte en las poblaciones más norte para este carácter, donde el período de crecimiento allí es más corto. Este resultado contrasta con el obtenido para la formación de la yema y punto de inflexión, en los que los valores de  $V_A$  son bastante similares entre poblaciones y no tienen una clara tendencia a disminuir en la varianza hacia el norte.

Una observación general para la mayoría de los caracteres es que los valores de  $V_A$  varían entre poblaciones, lo cual puede verse como un signo de diferentes fuerzas y/o intensidades selectivas actuando en las distintas poblaciones. Además, la estructura genética poblacional puede diferir entre poblaciones en distintos *loci*.

Cuando comparamos los resultados de  $V_A$  entre caracteres, observamos heterogeneidad lo cual puede indicar que la naturaleza genética difiere entre características (e.g. número y contribución de *loci* o interacciones epistáticas). Reeve (2000) mostró que el número de *loci* y la distribución de sus efectos afectará a cómo  $V_A$  responde a la selección. A priori, podríamos esperar una tendencia similar en que  $V_A$  disminuye hacia el norte, en tal caso, se podría decir que las poblaciones relécticas del sur han retenido un mayor número de variantes alélicas. Sin embargo, no todas las características siguen este patrón de asociación entre  $V_A$  y la latitud.

Alternativamente, también se podría esperar una menor varianza genética aditiva en los extremos de la distribución debido a la fuerte selección direccional, pero esto no se observó con nuestros datos. Sgro y Blows (2003) describieron una falta de asociación lineal entre  $V_A$  y la latitud para un carácter en un conjunto de poblaciones de *Drosophila serrata* recogidos a lo largo de un gradiente latitudinal. Este estudio, basado en las siete características relacionadas, también mostró que la asociación entre la  $V_A$  y la latitud es compleja y varía entre características y poblaciones. Por lo tanto, para entender completamente y predecir los cambios de  $V_A$  es necesario un conocimiento profundo a nivel del carácter, de su estructura genética poblacional y de las fuerzas selectivas que actúan sobre él.



## 4.2.- PATRONES FENOLÓGICOS Y VARIABILIDAD DEL CRECIMIENTO PRIMARIO EN PROCEDENCIAS ESPAÑOLAS

### ANTECEDENTES

Las mediciones de la elongación del brote terminal de los árboles de tres ensayos de procedencias durante dos años, proporcionaron datos para ajustar curvas individuales de crecimiento y obtener variables individualizadas relacionadas con el ritmo anual del mismo, para el estudio de su variación.

El objetivo de analizar la variación genética y su aplicación en España de procedencias de *Pinus sylvestris* L. se contempla a partir de (i) la descripción precisa del ritmo de crecimiento primario de las procedencias españolas (ii) evaluar su diferenciación y las relaciones entre sus caracteres y (iii) ofrecer recomendaciones para la gestión de los recursos genéticos de pino silvestre.

Los ajustes descriptivos del ritmo de crecimiento han sido muy precisos con un error medio del 4%. La diferenciación entre procedencias en general es limitada para todas las variables y la plasticidad fenotípica adquiere una relevancia mayor a pesar de que para el incremento anual del brote la componente genética es superior y de rango similar a la plasticidad (16.2 % y 14.8 %). Las correlaciones entre los caracteres suelen ser mayores entre procedencias que dentro de ellas, destacando la positiva del crecimiento total con la duración y la negativa del parámetro relacionado con la tasa de crecimiento máximo con la duración, tanto entre procedencias con dentro de ellas (inferiores).

La plasticidad fenotípica se manifiesta más entre años que entre sitios como mecanismo adaptativo a los cambios del ambiente (más intensos en el tiempo que en los sitios de ensayo dentro del área natural de distribución la especie). A la vista de la interacción genotipo x ambiente es interesante destacar que las procedencias que comienzan antes el crecimiento, lo acaban también antes, y por tanto la duración final del crecimiento no se ve prolongada en el conjunto de las procedencias.

En el análisis multivariante de agrupación de procedencias, las de origen alemán ensayadas se agrupan de forma conjunta junto a dos españolas (101 y 2) y entre el resto existe una gran variación destacando el aislamiento de la 1.

La reducida diferenciación genética para caracteres cuantitativos ( $Q_{st}$ ) no son superiores a los ofrecidos por la literatura en diversidad molecular ( $F_{st}$ ) indicando que esta diferenciación no se diferencia de la debida a patrones neutrales, aunque en algunos casos los caracteres con valores próximos a 0 indican una selección estabilizadora.

Los resultados obtenidos permiten identificar patrones de variación de la especie en caracteres relacionadas con la fenología del crecimiento muy ligadas con las variaciones estacionales e interanuales en las condiciones climáticas. Ello es trascendente considerando el cambio climático previsto, que si bien las poblaciones actuales no estarán probablemente adaptadas a

estas futuras condiciones, se encontró una gran variabilidad dentro de las procedencias, que podrían permitir la adaptabilidad de las poblaciones a estas condiciones, vía adaptación *in situ* (Aitken et al. 2008; Alberto et al. 2013)

#### 4.2.1.- Metodología Específica

##### 4.2.1.1. Material vegetal y mediciones

Se analizaron 3 sitios de ensayo (ARA, NAV y CUR), y 16 procedencias (ver apartado 3.1.2), durante dos periodos de crecimiento (6º y 7º año).

En cada planta muestreada (15 por procedencia en ARA y 16 en NAV y CUR) se midió periódicamente la longitud del brote. A partir de estas medidas se ajustó un modelo de crecimiento basado en una curva de crecimiento Gompertz para cada planta obtenido a partir de ajustes no lineales (ver apartado 3.2) con la salvedad que al ser plantas de más de un año se considera el tamaño inicial de la yema  $h$ , según el siguiente modelo:

$$ht = h + ce^{-b(t-m)}$$

Las variables consideradas son  $h$  (tamaño inicial de la yema), los tres parámetros de la curva Gompertz:  $c$  (crecimiento del año),  $b$  (tasa máxima de crecimiento),  $m$  (punto de inflexión); las variables derivadas  $t_{10}$  (iniciación del crecimiento),  $t_{90}$  (cese del crecimiento),  $dur$  (duración).

##### 4.2.1.2.- Métodos estadísticos

Las variables se analizaron independientemente para cada ensayo y conjuntamente para cada año (ver Anexo 1: A.1 y A.3). Además, se utilizó un modelo mixto conjunto para todos los factores y niveles (año, sitio y procedencia), en el que todos los factores se consideran aleatorios.

El modelo aplicado en función de las características experimentales del diseño (submuestras dentro de bloques completos al azar) ha sido el siguiente:

$$Y_{ijklmn} = \mu + P_i + S_j + Y_k + \beta_l(S_j) + P_i S_j + P_i Y_k + S_j Y_k + \epsilon_{ijklm}$$

donde,

$Y_{ijklmn}$ : es el valor de la variable de la procedencia  $i$  en el sitio  $j$  el año  $k$  en el bloque  $l$  del sitio  $j$ .

$\mu$ : representa el valor medio global de la variable

$P_i$ : representa el efecto de la procedencia  $i$

$S_j$ : representa el efecto del sitio  $j$

$Y_k$ : representa el efecto del año  $k$

$\beta_l(S_j)$ : representa el efecto del bloque  $l$  en el sitio  $j$

$P_i S_j$ : representa el efecto de la interacción de la procedencia  $i$  en el sitio  $j$

$P_i Y_k$ : representa el efecto de la interacción de la procedencia  $i$  con el año  $k$

$S_j Y_k$  : representa el efecto de la interacción del sitio j el año k

$\epsilon_{ijklm}$  : es el residuo o término de error

#### 4.2.1.2.- Estimaciones de los componentes de la varianza, relación entre variable y diferenciación.

A partir del modelo mixto conjunto se obtuvieron los componentes de la varianza de cada uno de los factores analizados. Se ha diferenciado entre los componentes relacionados con la plasticidad fenotípica debida al ambiente (sitio, año y su interacción) frente a los debidos a la componente genética de las poblaciones (procedencia y sus interacciones).

La relación entre las variables se ha analizado mediante los coeficientes de correlación entre y dentro de poblaciones de todas las variables. Las correlaciones genéticas a nivel de procedencia se calcularon para todas las variables utilizando componentes de la varianza y de la covarianza (Lynch y Walsh 1998) y las correlaciones fenotípicas a partir de los valores individuales.

Se han obtenido los BLUPs para los factores aleatorios, a partir del modelo mixto considerado.

Para el conjunto de los coeficientes de la curva y de las variables obtenidas a partir de ella se han obtenido estimaciones de la diferenciación genética  $Q_{st}$  basados en la descomposición de los componentes de la varianza y la heredabilidad ( $h^2$ ) del carácter analizado (Wright 1951; Weir y Cockerman 1984; Prout y Barker 1989).

$$Q_{st} = \frac{\sigma_{entre}^2}{\sigma_{entre}^2 + 2\sigma_{dentro}^2} = \frac{\sigma_{proc}^2 + \sum_i \frac{\sigma_{proc \times \alpha_i}^2}{n_i}}{\left( \sigma_{proc}^2 + \sum_i \frac{\sigma_{proc \times \alpha_i}^2}{n_i} \right) + 2h^2 \sigma_{error}^2}$$

Siendo,

$\sigma_{entre}^2$  : varianza entre poblaciones identificada como la varianza entre procedencias ( $\sigma_{proc}^2$ ) más la parte correspondiente de las interacciones ( $\sigma_{proc \times \alpha_i}^2$ ) procedencia x sitio y procedencia x año en el caso del modelo global

$\sigma_{dentro}^2$  : varianza dentro de poblaciones, identificada como la varianza del error de los modelos multiplicada por el valor de la heredabilidad individual en sentido estricto.

$h^2, \sigma_{error}^2$  : heredabilidad y varianza del error

Al no contar con estimaciones de heredabilidad dentro de las poblaciones derivadas de los ensayos de procedencias se han considerado dos valores correspondientes a los límites usuales para la altura de pino silvestre ( $h^2=0.2$  y  $h^2=0.4$ ) (ver (Bastien y Alía 2000). Para un análisis en *Pinus sylvestris* L.). En el caso de identificar la varianza dentro de la población como la varianza del error del modelo (hipótesis de  $h^2=1$ ) este valor de diferenciación corresponde con el valor del coeficiente de diferenciación genética  $t'$  (Kremer 1994)

$$t' = t / (2-t); \text{ siendo } t = \frac{\sigma_{inter}^2}{\sigma_{inter}^2 + \sigma_{intra}^2}$$

Las repeticiones en la estimación de la varianza genética son necesarias en poblaciones pequeñas para obtener representaciones precisas de los verdaderos niveles de variación genética (Avery y Hill 1977; Sgrò y Blows 2003) para lo cual se han calculado los valores para cada sitio y año.

Para cada sitio de ensayo y año se ha realizado un análisis multivariante de la varianza con las variables obtenidas directamente del ajuste de las curvas de crecimiento (parámetros: h, c, b, y m) (Anexo 1: A.2). Asimismo se hicieron análisis discriminantes canónicos (SAS Institute 1999) en busca de combinaciones lineales de dichas variables que proporcionen la máxima separación entre procedencias. Dicho análisis proporciona asimismo unas variables canónicas que agrupan y concentran la variación entre grupos (procedencias) así como las distancias de Mahalanobis al cuadrado de las medias de dichas variables canónicas (ver Anexo 1: A.2).

Para analizar la relación entre el comportamiento de las procedencias y las características de las poblaciones se ha obtenido el coeficiente de correlación entre los BLUPs de las procedencias para cada carácter y las variables Altitud, Latitud, longitud y precipitación de las poblaciones. Dado el número de comparaciones realizadas se ha efectuado la corrección de Bonferroni para test múltiples

## 4.2.2.- Resultados Específicos

### 4.2.2.1.- Ajustes de la curva de crecimiento

El resultado de los ajustes individuales no lineales por el procedimiento descrito ofrece un error medio estándar del 4%.

Dada la amplitud y variedad de ambientes ensayados considerando todas las combinaciones posibles de sitio y año, se han calculado los momentos estadísticos para estudiar la intensidad y amplitud de su variación (Tabla 9).

*Tabla 9: Valores descriptivos medios globales de los parámetros*

Variable	N	Media	Desv. Std.	Mínimo	Máximo	Coef. Variación
<b>h</b>	1231	28.7	16.71	5.1	74.5	58.1
<b>c</b>	1231	181.4	116.91	10.6	348.4	64.4
<b>b</b>	1231	0.089	0.028	0.025	0.379	31.9
<b>m</b>	1231	143.6	7.36	120.9	168.7	5.1
<b>t10</b>	1231	133.5	8.19	105.4	157.5	6.1
<b>t90</b>	1231	171.0	10.17	134.0	256.6	5.9
<b>dur</b>	1231	37.5	10.72	28.1	123.8	28.6

De las variables analizadas, el valor de m, t10 y t90 presentan valores de los coeficientes de variación muy bajos, alrededor del 5%, frente al resto de caracteres que presentan valores por encima de 28%. El crecimiento medio de los materiales ensayados en los dos años fue de 181.4 mm por año, con una tasa media de crecimiento máximo alrededor de 16.14 mm/día (frente a una tasa media de 4.83mm/día), un punto de inflexión a los 143 días, y comenzando el crecimiento (10%) a los 133 días, con una duración del crecimiento de 37.5 días.

Con los valores de los parámetros de cada curva obtenida para cada planta se han calculado los valores medios por procedencia (medias de los valores predichos) y las medias por procedencia de los valores de los crecimientos medidos (medias de los valores observados) por ensayo y año y se han representado en la (Figura 9). Los puntos separados representan los valores observados y los contiguos los obtenidos de los ajustes (predichos).

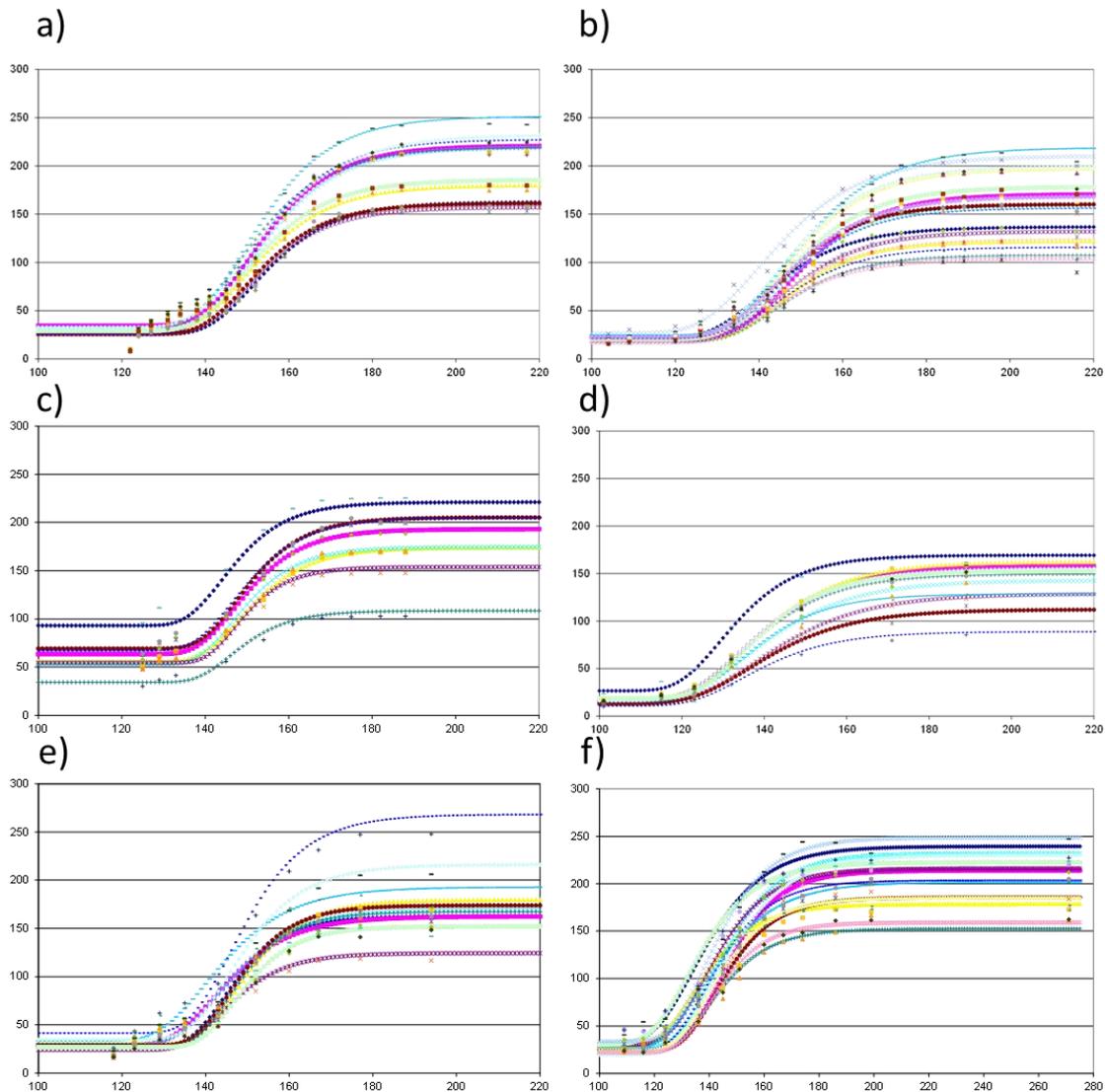


Figura 9: Curvas ajustadas y valores medios observados (símbolos aislados) por procedencia en los 3 sitios (en filas) y los dos años (en columnas). Eje de abscisas día juliano y ordenadas el tamaño del brote en mm. a) ARA, 6º, b) ARA, 7º, c) CUR, 6º, d) CUR, 7º, e) NAV, 6º, f) NAV, 7º

#### 4.2.3.2.- Análisis conjunto

A partir del modelo general se presenta en la Tabla 10 los resultados del análisis de varianza de los factores considerados en el análisis. Los factores son significativos para las distintas variables, excepto el sitio para la variable c y b, y la del año por sitio para la mayoría de los caracteres (c, b, m, t10 y dur).

Tabla 10: Análisis de la varianza del modelo conjunto, valor de F y significación de cada factor considerado.

Factor	Num. DF	Den. DF	h	c	b	m	t10	t90	dur
sitio	2	8	28.59 ***	2.51 ns	8.55 *	21.35 ***	15.4 **	18.61 ***	2.53 ns
año	1	8	449.51 ***	0.01 ns	127.02 ***	495.03 ***	458.67 ***	3.97 ns	84.04 ***
proc	17	997	7.05 ***	10.07 ***	2.14 ***	6.42 ***	6.38 ***	3.11 ***	2.68 ***
sitio*proc	22	997	4.48 ***	3.08 ***	1 ns	3.03 ***	2.94 ***	1.88 **	1.62 *
año*proc	14	997	2.3 ***	0.58 ns	1.33 ns	1.64 ns	1.34 ns	1.76 **	1.45 ns
sitio*año	2	8	198.82 ***	18.94 ***	22.61 ***	19.91 ***	25.45 ***	12.71 **	16.44 **

Num.DF: grados de libertad del numerador, Den.DF: grados de libertad del denominador. Nivel de significación: ns: no significativo, \* 0.01<P<0.05, \*\* 0.001<P<0.01, \*\*\* P<0.001

Los componentes de la varianza (Tabla 11 y Figura 10) de cada factor son muy diferentes dependiendo del carácter analizado. Los relacionados con la plasticidad de los caracteres (año y la interacción sitio x año, y en menor medida el sitio,) son los más importantes para todos los caracteres analizados, aunque destaca la escasa importancia del año en las variables c y t90, donde el sitio es un factor más importante que el año. La procedencia presenta un valor similar en todos los caracteres (alrededor del 2%), excepto en c que es del 7.8%. Es interesante destacar que estos valores son similares a los de la interacción procedencia x sitio, y superior al de la interacción procedencia x año (excepto en h). En conjunto los factores relacionados con la plasticidad fenotípica representan entre el 14.8 y el 70.4% de la variación total y los factores relacionadas con la variación genética entre las procedencias (procedencia y la plasticidad genética asociada al sitio y al año) representan entre el 2.1 y 16.2 % de la variación total.

Tabla 11: Componentes de la varianza (en % del total) para los distintos factores considerados en el análisis. Se agrupan los componentes en los relacionados con la plasticidad fenotípica y el componente genético de la variación. [En la tabla no se incluyen la variación del residuo ni el error experimental (variación del bloque en sitio)]

Factor	h	c	b	m	t10	t90	dur
sitio	0.2	6.1	0.1	8.4	1.9	12.6	0.0
procedencia	2.2	7.8	0.5	2.0	2.2	2.0	1.8
año	41.1	0.0	25.0	47.8	54.8	4.9	20.7
proc x sitio	2.2	8.5	0.9	2.6	1.9	4.4	2.6
sitio x año	29.1	8.6	18.6	8.1	13.4	1.6	11.1
proc x año	3.8	0.0	0.6	0.4	0.1	0.8	0.0
<b>Plasticidad</b>	<b>70.4</b>	<b>14.8</b>	<b>43.7</b>	<b>64.4</b>	<b>70.1</b>	<b>19.1</b>	<b>31.8</b>
<b>Genética</b>	<b>8.2</b>	<b>16.2</b>	<b>2.1</b>	<b>5.1</b>	<b>4.1</b>	<b>7.3</b>	<b>4.5</b>

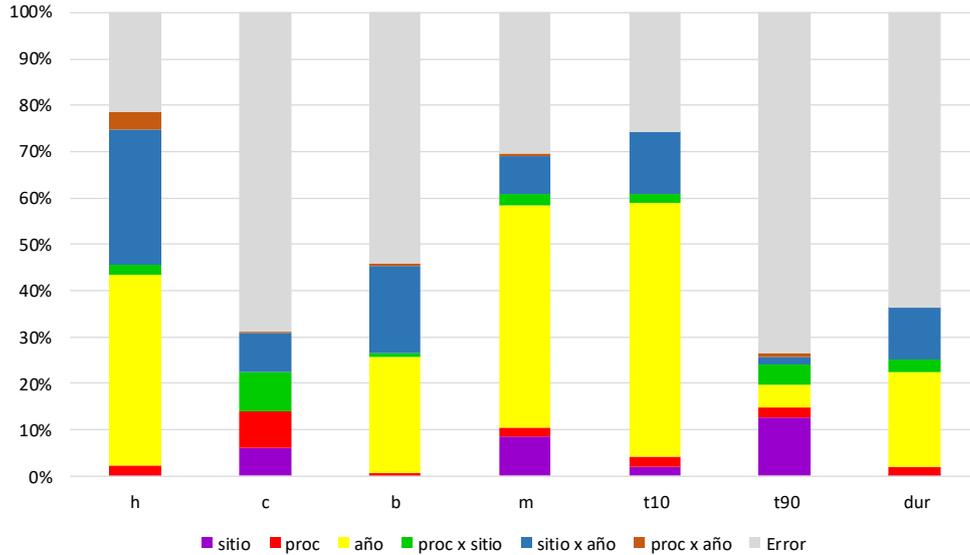


Figura 10: Componentes de la varianza en porcentaje de todos los factores para los años 6 y 7 en los tres sitios de ensayo

#### 4.2.2.3.- Correlación entre caracteres

La matriz de correlación de las variables entre procedencias y dentro de procedencias se presenta en la Tabla 12. Las correlaciones entre procedencias suelen ser mayores que dentro de procedencias. Se observa que en general las correlaciones tienen valores bajos entre caracteres, incluso entre las que reflejan los parámetros de las curvas de crecimiento (c, b, m) y los derivados de las curvas (t10, t90, dur). Solamente el punto de inflexión (m) está altamente correlacionado con t10 y t90 a los dos niveles, y la tasa de crecimiento máximo (b) con t90 y la duración del crecimiento (dur). Entre las variables derivadas destaca la correlación entre la duración y t90, que parece tener mayor importancia que el inicio del crecimiento en el material ensayado. El tamaño de la yema (h), tiene correlaciones bajas con las variables relacionadas con la fenología del crecimiento, y solo con un valor medio (0.4 a los dos niveles) con la longitud total del brote.

Tabla 12: Coeficientes de correlación de las variables entre procedencias (sobre la diagonal) y dentro de procedencias (bajo la diagonal). En negrilla valores significativos al 5%, en cursiva valores significativos al 1%

Entre / Dentro	h	c	b	m	t10	t90	dur
h	-	<b>0.628</b>	-0.448	-0.325	-0.437	0.079	0.451
c	<b>0.464</b>	-	<b>-0.656</b>	0.055	-0.185	<b>0.592</b>	<b>0.742</b>
b	<b>-0.086</b>	<b>-0.384</b>	-	0.000	0.475	<b>-0.498</b>	<b>-0.897</b>
m	<b>-0.076</b>	<b>0.209</b>	<b>0.132</b>	-	<b>0.950</b>	<b>0.681</b>	-0.141
t10	<b>-0.068</b>	-0.048	<b>0.501</b>	<b>0.871</b>	-	0.418	-0.444
t90	-0.040	<b>0.505</b>	<b>-0.571</b>	<b>0.568</b>	<b>0.091</b>	-	<b>0.629</b>
dur	0.002	<b>0.474</b>	<b>-0.782</b>	0.023	<b>-0.470</b>	<b>0.836</b>	-

#### 4.2.2.4.- Diferenciación entre procedencias

La diferenciación entre poblaciones (para los valores de heredabilidad de 0.4) es mayor para la longitud del brote (c), con un valor del 15.9%, y para el resto de caracteres es menor del 8.2% y menor del 3% para b, t90 y dur, indicando una selección estabilizadora (Tabla 13).

Tabla 13: Valores de diferenciación cuantitativa ( $Q_{st}$ ) para distintos valores de  $h^2$ .

$h^2$	Variables						
	h	c	b	m	t10	t90	dur
0.2	0.107	0.274	0.038	0.128	0.151	0.058	0.050
0.4	0.056	0.159	0.019	0.069	0.082	0.030	0.026
1.0	0.023	0.070	0.008	0.029	0.034	0.012	0.010

Estos valores de diferenciación sin embargo son muy variables entre años y sitio de ensayo (Tabla 14).

Tabla 14: Valores de diferenciación cuantitativa ( $Q_{st}$ ) para valores de  $h^2$  de 0.4 para cada año y sitio de ensayo.

Sitio	Año	$h^2$	Variables							
			h	c	b	m	ht	t10	t90	dur
ARA	6º	0.4	0.243	0.294	0.025	0.000	0.289	0.000	0.081	0.036
	7º	0.4	0.216	0.369	0.094	0.132	0.360	0.133	0.138	0.144
CUR	6º	0.4	0.383	0.301	0.038	0.097	0.376	0.042	0.060	0.001
	7º	0.4	0.324	0.150	0.153	0.204	0.180	0.079	0.207	0.144
NAV	6º	0.4	0.114	0.186	0.039	0.214	0.185	0.183	0.021	0.064
	7º	0.4	0.183	0.177	0.098	0.243	0.184	0.291	0.096	0.087
ARA	6º	1	0.114	0.143	0.010	0.000	0.140	0.000	0.034	0.015
	7º	1	0.099	0.189	0.040	0.057	0.184	0.058	0.060	0.063
CUR	6º	1	0.199	0.147	0.016	0.041	0.194	0.017	0.025	0.001
	7º	1	0.161	0.066	0.067	0.093	0.081	0.033	0.094	0.063
NAV	6º	1	0.049	0.084	0.016	0.098	0.083	0.082	0.009	0.027
	7º	1	0.082	0.079	0.042	0.114	0.083	0.141	0.041	0.037

Por sitio de ensayo y año se observa que en Aragüés para el año 6º se mantiene la tendencia del modelo global con valores siempre superiores y con la particularidad de valores de  $Q_{st}$  nulos para m y t10. El año 7º en este sitio sigue el mismo patrón que el global pero con mayores valores. En Curueño el año 6º difiere del modelo global en la agrupación de variables obteniéndose superiores valores de diferenciación en el grupo de c, ht y h frente al grupo formado por m, t10, t90 y b. Obteniéndose por otra parte un valor nulo de la duración. El año 7º en Curueño no se asemeja al modelo global al presentar una relativa homogeneidad en los valores estimados de diferenciación para todas las variables. Los años 6º y 7º en Navafría siguen la tendencia del modelo global pero solo con dos grupos en lugar de tres. Estos grupos son los formados por c, ht, h, m y t10 frente al formado por t90, dur y b con menores valores de  $Q_{st}$ .

#### 4.2.2.5. Plasticidad fenotípica

La variación entre años y sitios de ensayo se muestra en la Tabla 15. La variación entre años es muy importante con un incremento significativo en el segundo año en h (23.6 vs. 42.1), m (130.0 vs. 147.5), y casi de 10 en el inicio del crecimiento (t10) en el primer año que ocasiona un incremento similar en la duración del periodo de crecimiento. Entre sitios, aunque significativas, las diferencias solo son biológicamente importantes en c (de 142 en NAV frente a los 165 en CUR), m (de 141.2 en ARA a 145,1 en CUR) y en t90 (de 167 días en ARA y de 174 en CUR). Es de destacar la alta interacción sitio x año en h, c y b.

Tabla 15: BLUPs (corregidos por los efectos fijos) de las variables analizadas para los factores sitio, año y su interacción

Factor	Nivel	Variables						
		h	c	b	m	t10	t90	dur
sitio	ARA	32.95	152.29	0.090852	141.23	132.71	167.51	36.71
	CUR	32.80	165.21	0.090678	145.12	133.80	174.13	36.73
	NAV	32.85	142.59	0.090819	143.45	133.45	169.26	36.71
año	6º	23.58	153.33	0.082137	139.04	128.17	168.80	40.13
	7º	42.15	153.39	0.099429	147.50	138.47	171.80	33.30
sitio x año	ARA - 6º	44.13	133.32	0.101636	143.38	132.97	169.29	33.89
	ARA - 7º	35.01	171.89	0.088996	141.19	129.24	170.97	39.05
	CUR - 6º	15.02	163.93	0.073509	142.44	132.41	170.84	41.38
	CUR - 7º	39.80	159.42	0.094173	145.89	137.72	170.23	35.11
	NAV - 7º	30.37	138.24	0.095600	143.45	134.26	170.17	34.14

#### 4.2.2.6. Comportamiento de procedencias e interacción genotipo-ambiente

Los BLUPs corregidos por los efectos fijos de todas las variables para las procedencias evaluadas se presentan en la Tabla 16. Los valores presentan una escasa variación en las medias siendo los rangos entre las procedencias de 10.5 mm en la longitud inicial de la yema h, 52.7 en la longitud del brote (c), 0.0033 en el parámetro relacionado con la tasa de crecimiento máximo (b), 3.43 días en el punto de inflexión (m), 4.47 días en t10, 3.31 en t90, y 3.42 en la duración del crecimiento (dur). Es importante destacar que las procedencias que comienzan antes el crecimiento, lo acaban también antes, y por tanto la duración final del crecimiento no se ve prolongada en el conjunto de las procedencias. A pesar del reducido valor de las interacciones mencionadas estos valores medios deben ser apreciados con cautela por la existencia de dichas interacciones.

Tabla 16: BLUPs (corregidos por los efectos fijos) para las procedencias evaluadas en los tres sitios de ensayo y en el 6 y 7 año de crecimiento

Proc	Variables						
	h	c	b	m	t10	t90	dur
1	39.02	155.32	0.09131	141.17	130.83	168.60	36.24
2	32.73	159.41	0.09119	144.60	135.30	170.75	35.97
4	32.67	144.80	0.09121	143.85	134.26	170.37	36.17
5	33.18	146.40	0.09031	143.07	133.20	170.01	36.45
7	31.83	149.58	0.09019	144.06	134.27	170.95	36.94
8	32.44	148.61	0.09196	143.49	133.76	170.18	36.31
91	32.10	133.87	0.09180	143.07	133.60	169.40	35.40
101	34.42	174.21	0.08873	143.72	133.12	171.82	38.75
14	31.72	137.78	0.09200	143.86	134.45	170.12	35.70
151	33.16	139.50	0.09170	143.47	134.04	169.69	35.46
17	28.55	121.49	0.09207	143.22	133.58	169.74	35.88
19	32.80	169.10	0.09025	143.72	133.71	170.81	37.16
20	32.65	163.62	0.08969	143.03	132.55	170.75	37.83
21	31.40	166.79	0.08982	143.84	133.25	171.91	38.82
22	32.07	167.53	0.09059	143.47	133.52	170.55	36.93
24	34.10	172.53	0.08993	142.63	132.16	170.41	37.61
25	33.89	156.58	0.09058	141.31	130.85	169.04	36.53
Alemania	32.82	166.03	0.09014	143.00	132.67	170.58	37.48
España	32.89	146.45	0.09113	143.42	133.67	170.15	36.30

Existe una relación entre las variables de localización y la variable c (Tabla 17). La precipitación del lugar de origen se encuentra positivamente correlacionada con h y negativamente correlacionada con m y t10. Se da lugar a un mayor crecimiento de las procedencias de sitios más bajos, y de mayor latitud, y un inicio del crecimiento más tardío en las procedencias más lluviosas. Destaca en este carácter, la no relación con variables como la altitud y latitud, mientras que para t90 y dur si hay una señal relacionada con la altitud, longitud y latitud.

Tabla 17: Correlación entre las variables de la fenología del crecimiento y variables ambientales de los lugares de origen (en negrilla, significativas tras la corrección de Bonferroni por comparaciones múltiples) N obs.=16

N obs.=16	Altitud	Latitud	Longitud	Precipitacion
<b>h</b>	0.00	0.13	-0.21	<b>0.81</b>
<b>c</b>	<b>-0.68</b>	<b>0.76</b>	<b>-0.75</b>	0.44
<b>b</b>	0.50	-0.55	0.50	-0.32
<b>m</b>	-0.19	-0.05	0.24	<b>-0.74</b>
<b>t10</b>	0.03	-0.28	0.47	<b>-0.81</b>
<b>t90</b>	-0.49	0.40	-0.29	-0.33
<b>dur</b>	-0.51	0.58	-0.59	0.27

El análisis de la varianza multivariante (ver Anexo 1 A.2) realizados para el conjunto de las variables arrojó unos valores de lambda de Wilks, trazas de Pillai, de Hotelling-Lawley y de las

raíces máximas de Roy altamente significativos con valores superiores al 99 %, lo que indica una clara influencia de la procedencia si se considera el conjunto de los parámetros que definen la curva de crecimiento primario.

El análisis discriminante canónico para el modelo global refleja una agrupación de procedencias como puede verse en la Figura 11. En ella se separan claramente las procedencias 1 y 25, y las procedencias alemanas (excepto la 25, huerto semillero) están agrupadas, junto con dos procedencias españolas (101, y 2).

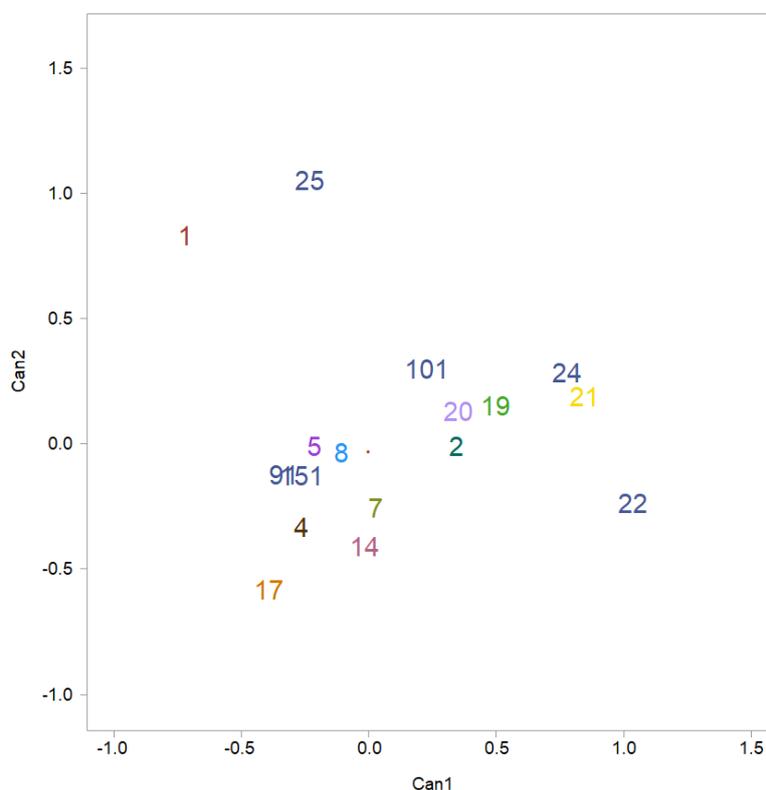


Figura 11: Agrupación de procedencias mediante análisis discriminante canónico

Los análisis discriminantes canónicos realizados para cada sitio de ensayo y año muestran una agrupación de procedencias bastante eficaz por condiciones ecológicas o ambientales como puede verse en la Figura 12. En ellos se comprueba que la agrupación de procedencias es relativamente estable por sitio de ensayo en ambos años. En la parcela de Aragüés, las poblaciones alemanas permanecen siempre agrupadas y discriminadas en función de la variable canónica 1. También pueden observarse agrupaciones de las procedencias 4, 14 y 17 los dos años aunque no siempre por la misma variable canónica. Poblaciones en los límites del diagrama (1 y 17) y agrupaciones en función del eje Y (7, 5, 4, 101 y 151) pueden verse en los análisis correspondientes a Curueño. En Navarría también se ven distribuciones extremas o distantes en ambos años para las poblaciones 25, 21 y 151.

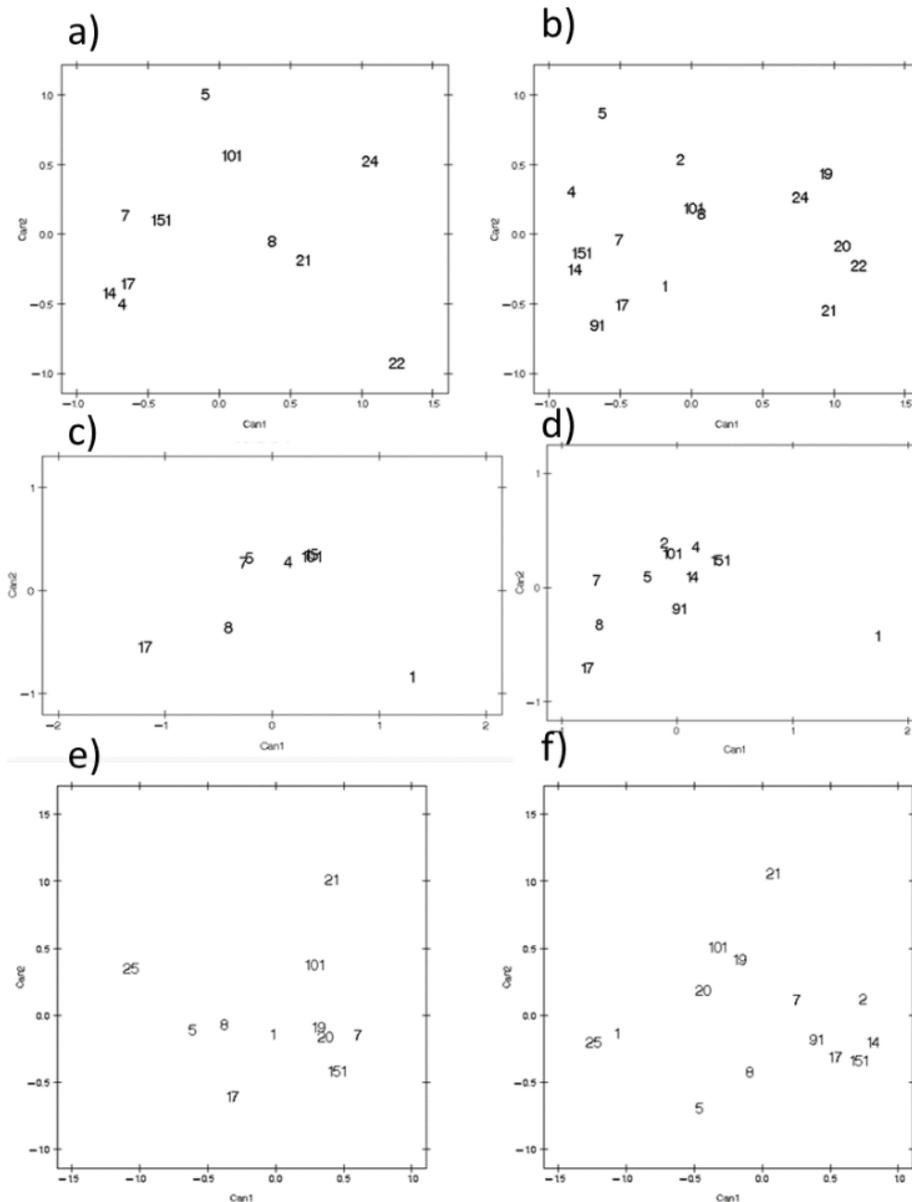


Figura 12: Análisis discriminante canónico. ARA: 6<sup>o</sup> (a) y 7<sup>o</sup> (b), CUR: 6<sup>o</sup> (c) y 7<sup>o</sup> (d), NAV: 6<sup>o</sup> (e) y 7<sup>o</sup> (f)

#### 4.4.3.- Discusión Específica

Este capítulo analiza la variación de las variables relacionadas con la fenología del crecimiento de procedencias de pino silvestre en tres sitios de ensayo y durante dos años consecutivos. Se muestra la importancia de la plasticidad fenotípica en estos caracteres, la baja diferenciación entre las procedencias, ligada a una selección estabilizadora entre procedencias resultado de la variación interanual en las respuestas y la existencia de gradientes ambientales relacionadas con el comportamiento de las procedencias analizadas.

Este estudio analiza por primera vez la fenología del crecimiento en plantas de distintas procedencias de pino silvestre en un ensayo de procedencias, utilizando un modelo Gompertz de crecimiento, y completado con otras variables relacionadas con el inicio, duración y fin del periodo de crecimiento. Resultados previos en plántulas de pino silvestre indicaron que estos

caracteres presentan una alta heredabilidad a edades jóvenes y en otras especies también presentan un alto grado de control genético (Magnussen y Kremer 1993; Skroppa y Magnussen 1993; Gwaze et al. 2002). Los bajos errores de ajuste (4%) constatan la idoneidad del método y del modelo de crecimiento escogido. En su conjunto, las plántulas presentan un crecimiento moderado, con tasas bajas de crecimiento diario, y un reducido periodo de crecimiento (que es menor a los 40 días entre el 10 y el 90% del crecimiento anual).

El crecimiento anual está influenciado principalmente por factores ambientales, ligados tanto al sitio de ensayo como al año de evaluación. Destaca que estos efectos explican una variación significativa del crecimiento anual, que está relacionada con la plasticidad fenotípica de pino silvestre. En el área mediterránea existe una gran variabilidad interanual en muchas de las variables climáticas que influirá el futuro de las especies forestales (e.g. Sánchez-Salguero et al. 2017) y que se refleja en las observaciones realizadas. El inicio del crecimiento en las latitudes norte de la especie están principalmente determinadas por la acumulación de grados-día (e.g. Howe et al. 1996; Clapham et al. 1999, 2002) y que tiene reflejo en las recomendaciones para el uso de las semilla (Berlin et al. 2016). En nuestras latitudes esta relación no es tan clara, con signos de adaptación local (Alía et al. 2001b), lo que puede alterar la respuesta a las temperaturas y la posible existencia de heladas tardías que pueden comprometer incluso la supervivencia posterior del brote. En este estudio se ha observado (datos no mostrados) que tras el inicio del crecimiento, el posterior descenso de las temperaturas ocasionaba una detención del crecimiento del brote y por tanto el valor  $t_{10}$  ofrece una información más precisa sobre el momento en el que el brote ha comenzado su crecimiento anual.

El estudio de las correlaciones a nivel de procedencia y totales ayuda a comprender las interacciones entre los factores que influyen en un carácter y ayudará a profundizar el conocimiento de su biología. Los resultados muestran que los caracteres analizados tienen elevadas correlaciones fenotípicas, pero las correlaciones a nivel de la procedencia son más reducidas. La mayoría de las correlaciones son positivas, con excepción de las correlaciones entre el parámetro relacionado con la tasa de crecimiento máximo vs el punto de inflexión, el cese del crecimiento, la duración del crecimiento, y la fecha de formación de la yema. Estos resultados son similares a los obtenidos para *Pinus sylvestris* L. en plántulas (Notivol et al. 2007). Es llamativo que la longitud de la yema (preformada en el año anterior al crecimiento evaluado) no está correlacionada con ninguno de los caracteres evaluados, indicando la importancia de los factores ambientales del año en curso sobre la fenología del crecimiento en Pino silvestre (Kilpeläinen et al. 2006). Es llamativo que la duración del crecimiento está más ligada a la finalización del crecimiento que a su inicio, lo que en las condiciones evaluadas podría estar relacionada con la disponibilidad de agua durante el periodo estival, como en otras especies (Weemstra et al. 2013), y con la baja plasticidad del xilema y hojas de la especie entre distintas poblaciones (Martínez-Vilalta et al. 2009). Este resultado contrasta con lo que sucede en latitudes nortes donde el cese del crecimiento también está ligado a la tolerancia al frío (Repo et al. 2000; Savolainen et al. 2004).

Como en el caso de las plántulas de Pino silvestre (Apartado 4.1), el patrón de las correlaciones genéticas entre las características analizadas, a nivel individual, pone de manifiesto la existencia de limitaciones dado que los parámetros de la curva se mantienen dentro de límites biológicos, a pesar de que podrían adoptar cualquier valor. Hasta qué punto estas limitaciones

están relacionadas con compromisos evolutivos entre caracteres, que han derivado en fenotipos integrados para la especie, será analizado con más detalle en el Apartado 4.4 de esta memoria.

Una limitación de este estudio ha sido el bajo número de individuos por procedencia y sitio, y la ausencia de parentesco entre los individuos, que impide la estimación familiar dentro de las procedencias, y por tanto analizar si las correlaciones aditivas son similares entre procedencias. Sin embargo, las estimaciones obtenidas son consistentes con los resultados previos a otros niveles (Notivol et al. 2007). Las correlaciones para otros caracteres se han mostrado estables entre distintas poblaciones en el norte de Europa (Kroon et al. 2008).

Existe un patrón de variación asociado a las procedencias. Destaca que el valor de la interacción es de un nivel similar al de la procedencia para los caracteres analizados. Esto determina que además de diferir en los caracteres (con valores pequeños entre las medias de las procedencias) existen diferencias en plasticidad fenotípica entre las procedencias asociadas a la interacción procedencia-sitio y procedencia-año, tal como se interpreta basándonos en (Climent et al. 2008).

El efecto procedencia es significativo en todas las variables si bien resulta inferior en el caso del parámetro relacionado con la tasa máxima de crecimiento y se manifiesta más claramente en el crecimiento total que en los ritmos o las formas de crecimiento, siendo estos caracteres más el resultado de una interacción compleja del origen de la semilla con las características ambientales donde ésta se desarrolla. Las diferencias entre los sitios de ensayo se ven diferentes comportamientos además de los caracteres de alturas totales, también en el punto de inflexión, el inicio y fin del crecimiento por procedencia, constatándose que estos comportamientos diferenciales por procedencia son muy similares en ambos años estudiados.

Las estrategias o el comportamiento de las distintas procedencias se pueden analizar a partir de los datos medios de los ensayos globales. Así se ve como algunas consiguen un crecimiento en altura máximo debido a períodos de crecimiento largos, prolongando la finalización de éstos sin necesidad de iniciarlo antes (101) y en otros casos mediante el retraso total del período de crecimiento, incluyendo el momento en el que se alcanza el máximo (1), sin embargo el retraso del punto inflexión no siempre significa un alto crecimiento (17). Por otra parte, altas tasas de crecimiento máximo puntual no tienen por qué representar un crecimiento total mayor (14) independientemente del momento en que lo alcancen. Es por tanto la combinación de todos estos parámetros lo que configura el resultado definitivo del crecimiento en altura anual. Los patrones observados mediante los análisis de correlación canónica reflejan estos resultados, de una escasa variación entre procedencias, pero una consistente agrupación de procedencias por su lugar de origen. Esto se observa también al analizar marcadores moleculares (Prus-Glowacki et al. 2001; Robledo-Arnuncio et al. 2005). Es de destacar que existe una relación entre el comportamiento medio para algunas de las variables y el origen de la semilla, indicando una débil señal adaptativa en las procedencias, como se ha observado en ensayos realizados en Polonia con esta especie (Oleksyn et al. 2001). Estas señales también se han observado en CpSSR en las mismas poblaciones (Soto et al. 2010).

La diferenciación genética para caracteres cuantitativos ( $Q_{st}$ ) muestra valores relativamente bajos para los casos en los que la procedencia ha resultado significativa, y excepto para la longitud del crecimiento anual, no son superiores a los ofrecidos por la literatura en diversidad molecular ( $F_{st}$ ) (Prus-Glowacki et al. 2001; Robledo-Arnuncio et al. 2005; Soto et al. 2010) y tampoco alcanzan los elevados valores obtenidos con brinzales de un año (Notivol et al. 2007), al reducirse probablemente los efectos maternos. Estos valores bajos indican que esta diferenciación no se diferencia de la debida a patrones neutrales, aunque algunos de los caracteres con valores próximos a 0 indican una selección estabilizadora. Otros estudios han mostrado estos signos de selección estabilizadora, como ha sido señalada para la resistencia a la cavitación en *Pinus pinaster* (Lamy et al. 2014) que es también un carácter con un alto valor adaptativo. Tampoco se encontró variación genética poblacional en la tasa de crecimiento en brinzales de un año de *P. sylvestris* (Reich et al. 1994) ni de cuatro años de *P. halepensis* (Alía et al. 2001a). También se observó poca diferenciación para el inicio del crecimiento en *P. contorta* (Rehfeldt y Wykoff 1981) y en *P. merkusii* (Koskela 2000). Al contrario que en estos casos, si se ha detectado variación genética para la tasa de crecimiento en *P. banksiana* (Blake y Yeatman 1989) y para la elongación total y los parámetros de crecimiento en plantas de un año en *Pinus contorta* (Chuine et al. 2001).



### **4.3.- RELACIONES Y MECANISMOS DE COMPENSACIÓN EN LOS COMPONENTES DEL CRECIMIENTO PRIMARIO**

#### **ANTECEDENTES**

El análisis de paso (Wright 1934) se utiliza en este capítulo para estudiar la arquitectura del crecimiento primario al descomponer un carácter complejo como es el crecimiento en altura anual de un árbol en dos componentes, la tasa de crecimiento anual y la duración del periodo de crecimiento.

A partir de los datos producidos en el capítulo anterior con los ajustes individuales del crecimiento anual y la duración de su periodo se plantea la hipótesis del estudio de las relaciones entre el crecimiento anual, su tasa media y la duración del periodo de elongación .

El objetivo es profundizar en el conocimiento del proceso y las relaciones existentes en los componentes del crecimiento en altura anual en poblaciones de *Pinus sylvestris* L. a través de (i) cuantificar la contribución y la variación de la tasa de crecimiento y la duración del periodo de crecimiento, (ii) analizar las relaciones existentes entre las componentes y de las componentes con su resultante, (iii) obtener la y cuantificar el efecto genético de las procedencias de las contribuciones de los componentes y sus relaciones, y (iv) contribuir con información para el diseño de estrategias de uso sostenible de los recursos genéticos de la especie y su conservación.

La tasa de crecimiento tuvo una componente causal siempre superior a la de la duración del crecimiento y las correlaciones de la tasa con el incremento anual en altura son también mayores que las de la duración con el crecimiento. De forma general se vio una correlación negativa entre ambos componentes. Las contribuciones de la tasa y el periodo fueron muy variables entre procedencias, sitios de ensayo y años, así como las relaciones existentes entre ellas tanto entre procedencias como dentro de ellas, siendo mayor la contribución genética de la tasa de forma general.

La correlación entre los componentes fue mayor dentro de las procedencias que entre ellas mostrando una mayor flexibilidad en la compensación a nivel interno dentro de las poblaciones, probablemente por una selección estabilizadora en la tasa de crecimiento. El análisis de estas relaciones mostró la capacidad compensatoria de los componentes a través de una plasticidad fenotípica modulada genéticamente como respuestas a variaciones del ambiente.

#### **4.3.1.- Metodología Específica**

##### **4.3.1.1.- Material vegetal**

Los datos obtenidos en el capítulo anterior con los ajustes individualizados de las curvas de crecimiento se utilizan en éste para estudiar las relaciones entre los componentes del crecimiento en altura anual a partir de las variables elongación anual del brote terminal (c) y duración del período vegetativo (dur) obtenido como diferencia entre el tiempo requerido para alcanzar el 90% y el 10% del crecimiento total (t90 y t10).

Estos datos provienen de las mediciones de la longitud del brote terminal realizadas en 3 sitios de ensayo (ARA, NAV y CUR), en 16 procedencias (ver apartado 3.1.2) y durante dos periodos de crecimiento (6º y 7º año).

#### 4.3.1.2.- Análisis de coeficientes de paso

Para el análisis de los componentes del crecimiento en altura se utilizó el análisis de coeficientes de paso (Wright 1934) con el fin de determinar la contribución relativa de la duración del crecimiento (dur) y de la tasa de crecimiento media (tdc) en el incremento de crecimiento anual (c). El método se encuentra descrito con detalle y utilizado por diversos autores (Kremer y Larson 1983; Kremer 1985; Bongarten 1986; Magnussen y Yeatman 1989; Rweyongeza et al. 2003). A continuación se presenta un resumen del método.

En nuestra nomenclatura el incremento de crecimiento anual "c" se puede descomponer en el siguiente producto:

$$c = tdc \times dur.$$

Siendo tdc la tasa de crecimiento media obtenida por la misma expresión a partir de los valores de c y dur obtenidos del modelo de crecimiento (curva Gompertz).

Esta relación puede ser interpretada mediante un análisis de paso de (Wright 1934) en el que la ecuación se describe tras una transformación logarítmica como:

$$X = Y + Z$$

En la que  $X = \text{Log}(c)$ ,  $Y = \text{Log}(tdc)$  y  $Z = \text{Log}(dur)$

Como consecuencia de ello, la variación de X está definida por la variación de sus dos componentes Y y Z y de su covarianza:

$$\sigma_X^2 = \sigma_Y^2 + \sigma_Z^2 + 2Cov(Y, Z)$$

Y puesto que el coeficiente de correlación  $r_{YZ}$  entre Y y Z es  $r_{YZ} = \frac{Cov(Y, Z)}{\sigma_Y \sigma_Z}$ , despejando  $Cov(Y, Z)$  y sustituyendo en la ecuación anterior se obtiene:

$$\sigma_X^2 = \sigma_Y^2 + \sigma_Z^2 + 2\sigma_Y \sigma_Z r_{YZ}$$

Siendo,  $\sigma_X^2$  varianza de X,  $\sigma_Y^2$  varianza de Y,  $\sigma_Z^2$  varianza de Z y  $r_{YZ}$  el coeficiente de correlación entre Y y Z.

Dividiendo todos los miembros de la expresión por  $\sigma_X^2$  y usando las siguientes relaciones  $p_X = \frac{\sigma_X}{\sigma_X}$ ,  $p_Y = \frac{\sigma_Y}{\sigma_X}$ ,  $p_Z = \frac{\sigma_Z}{\sigma_X}$  se obtiene:  $p_X^2 = p_Y^2 + p_Z^2 + 2p_Y p_Z r_{YZ}$

Donde  $p_X^2 = 1$  porque es el coeficiente de paso de X a sí mismo, y  $p_Y$  y  $p_Z$  son los coeficientes de paso de Y y Z respectivamente a X

Las contribuciones relativas de Y a X y Z a X se determinan respectivamente como

$$c_Y = p_Y r_{XY} \quad y \quad c_Z = p_Z r_{XZ}$$

Donde  $c_Y$  y  $c_Z$ , son el grado de determinación de Y y Z a X respectivamente siendo  $r_{XY}$  y  $r_{XZ}$  los coeficientes de correlación entre X e Y y X y Z respectivamente.

La suma de ambas contribuciones por definición es 1.

$$p_X = 1 = c_Y + c_Z = p_Y r_{XY} + p_Z r_{XZ}$$

Y esta ecuación, interpretada de forma gráfica (Figura 13) en vectores unitarios produce la relación

$$p_X = p_Y r_{YX} + p_Z r_{ZX}$$

Así, el efecto de una componente (Y ó Z) en el carácter resultante (X) se puede medir en términos de los tres coeficientes complementarios que aparecen en las ecuaciones,

1) los  $p_Y$  y  $p_Z$  que se denominan coeficientes de paso y representan el ratio de desviaciones estándar entre la componente y el carácter,

2) las relaciones entre las componentes y el carácter son dadas por los coeficientes de correlación entre componente y carácter resultante ( $r_{YX}$ ,  $r_{ZX}$ ), y

3) el efecto real de la componente ( $c_{Y,X}$ ,  $c_{Z,X}$ ) teniendo en cuenta la relación entre la componente y el carácter. Este coeficiente se denomina coeficiente de contribución y se define como el producto del coeficiente de paso por el de correlación de la componente con el carácter resultante  $c_{Y,X} = p_Y r_{YX}$ , obteniéndose que la suma de la contribución de los componentes (Y y Z) produce el efecto o valor del carácter (X).

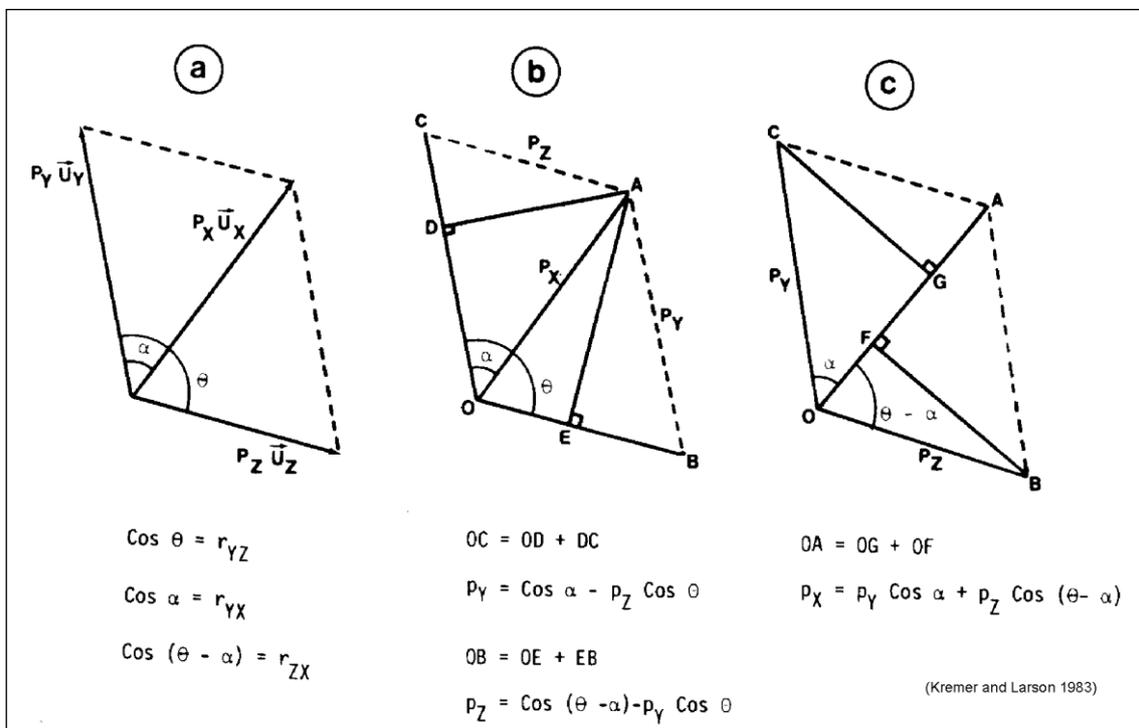


Figura 13: Interpretación gráfica vectorial de los componentes de un análisis de paso (Kremer y Larson 1983)

En la Figura 14 se puede ver la aplicación del análisis de paso al crecimiento anual descompuesto en la suma vectorial de la tasa de crecimiento y de su duración. Las relaciones cuantitativas (módulo del vector) y cualitativas (su disposición o ángulo que forman) existentes entre ambas determinan finalmente el crecimiento anual. El ejemplo gráfico muestra como el mismo crecimiento anual puede provenir de dos situaciones bien diferentes de sus componentes y una mayor tasa de crecimiento o una duración del período no tiene por qué resultar en un mayor crecimiento anual si no se considera su otra componente y su relación.

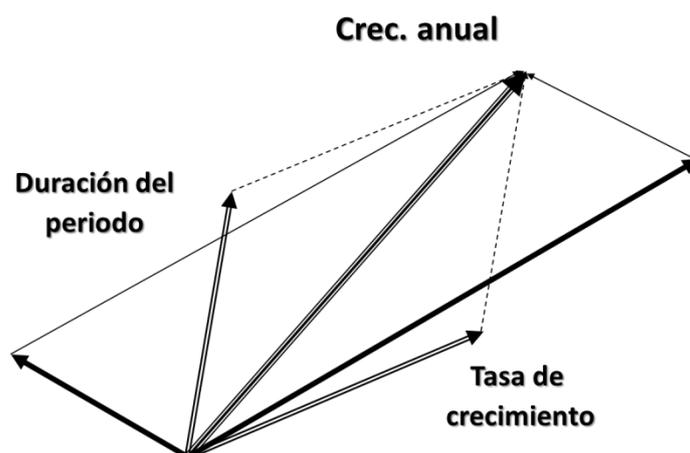


Figura 14: Descomposición gráfica del crecimiento anual en sus componentes. Dos situaciones diferentes (línea sólida y línea hueca) con el mismo resultado

Con las nuevas variables obtenidas  $\log(c)$ ,  $\log(tdc)$  y  $\log(dur)$  se ha realizado un análisis de la varianza multivariante para poder extraer de las matrices de varianza-covarianza de los factores los valores para calcular las correlaciones genéticas y fenotípicas. Las correlaciones genéticas se han calculado usando la componente genética de acuerdo con la fórmula (Falconer y Mackay 1996):

$$r_{xy} = \frac{cov_{xy}}{\sqrt{\sigma_x^2 \sigma_y^2}}$$

Donde,

$r_{xy}$  es el coeficiente de correlación genética,  $cov_{xy}$  es la covarianza de la componente genética entre las dos variables  $x$  y  $y$ , y  $\sigma_x^2$  y  $\sigma_y^2$  son las varianzas de las componentes genéticas correspondientes a dichas variables.

El modelo mixto aplicado para dicho análisis para obtener la componente genética, en este caso la procedencia, ha sido:

$$y_{ijklmn} = \mu + P_i + S_j + Y_k + \beta_l(S_j) + P_i S_j + P_i Y_k + S_j Y_k + P_i \beta_l(S_j) + Y_k \beta_l(S_j) + \epsilon_{ijklm}$$

donde,

$y_{ijklmn}$ : es el valor de la variable de la procedencia  $i$  en el sitio  $j$  el año  $k$  en el bloque  $l$  del sitio  $j$ .

$\mu$  : representa el valor medio global de la variable

$P_i$  : representa el efecto de la procedencia i

$S_j$  : representa el efecto del sitio j

$Y_k$  : representa el efecto del año k

$\beta_l(S_j)$  : representa el efecto del bloque l en el sitio j

$P_i S_j$  : representa el efecto de la interacción de la procedencia i en el sitio j

$P_i Y_k$  : representa el efecto de la interacción de la procedencia i con el año k

$S_j Y_k$  : representa el efecto de la interacción del sitio j el año k

$P_i \beta_l(S_j)$  : representa el efecto de la interacción de la procedencia i con el bloque l en el sitio j

$Y_k \beta_l(S_j)$  : representa el efecto de la interacción del año k con el bloque l en el sitio j

$\epsilon_{ijklm}$  : es el residuo o término de error

### 4.3.2.- Resultados Específicos

Con los datos existentes se han realizado distintos análisis de paso. En primer lugar, tanto con la totalidad de los datos como por cada sitio de ensayo y año. Además se han considerado análisis de paso a partir de la variación (desviaciones típicas) y relaciones de las componentes y resultante (correlaciones) entre procedencias y dentro de procedencias. De forma general se han obtenido las desviaciones típicas de las tres variables, duración (dur), tasa de crecimiento (tdc) e incremento anual en altura (c); los coeficientes de correlación, los de paso, los de contribución y el ángulo theta formado entre los vectores dur y tdc. Los resultados generales de estos análisis se pueden ver en la Tabla 18.

Tabla 18: Parámetros de partida (desviaciones típicas y coeficientes de correlación) y resultados de los análisis de paso (coeficientes de paso, contribución y ángulo formado entre componentes)

Ensayo	$\sigma_{dur}$	$\sigma_{tdc}$	$\sigma_c$	$r_{dur c}$	$r_{tdc c}$	$r_{dur tdc}$	$P_{dur}$	$P_{tdc}$	$C_{dur}$	$C_{tdc}$		theta
ARA 6º	0.190	0.251	0.326	0.639	0.813	-0.072	0.583	0.770	0.372	0.626		94.129
ARA 7º	0.158	0.433	0.495	0.525	0.951	-0.234	0.319	0.875	0.168	0.832		103.532
CUR 6º	0.255	0.371	0.389	0.396	0.775	-0.273	0.656	0.954	0.260	0.739		105.843
CUR 7º	0.247	0.456	0.463	0.293	0.855	-0.245	0.533	0.985	0.156	0.842		104.182
NAV 6º	0.361	0.567	0.602	0.393	0.811	-0.219	0.600	0.942	0.236	0.764		102.650
NAV 7º	0.267	0.415	0.475	0.492	0.828	-0.080	0.562	0.874	0.277	0.723		94.588
global	0.286	0.459	0.498	0.417	0.824	-0.170	0.574	0.922	0.240	0.760		99.801

En esta primera aproximación se puede observar como la tasa de crecimiento tiene una componente causal siempre superior a la de la duración del crecimiento tanto de forma global como en todas las situaciones estudiadas de año y sitio de ensayo. Los coeficientes de correlación entre tdc y c son también muy superiores a los de dur y c.

También se observa que el ángulo formado entre ambas componentes en todos los casos es superior a 90°, lo que implica una compensación negativa entre componentes como puede comprobarse por otra parte por su coeficiente de correlación ( $r_{dur.tdc}$ ).

Por otra parte, los mismos tipos de análisis se han llevado a cabo de forma independiente por procedencia en cada situación y año. Para facilitar la comparación entre procedencias de cómo se distribuyen estas componentes del crecimiento anual en cada una de ellas, se presentan de forma gráfica (Figura 15, Figura 16 y Figura 17) por sitio de ensayo los coeficientes de contribución y de paso de la duración del periodo de crecimiento y de la tasa de crecimiento para los dos años de mediciones.

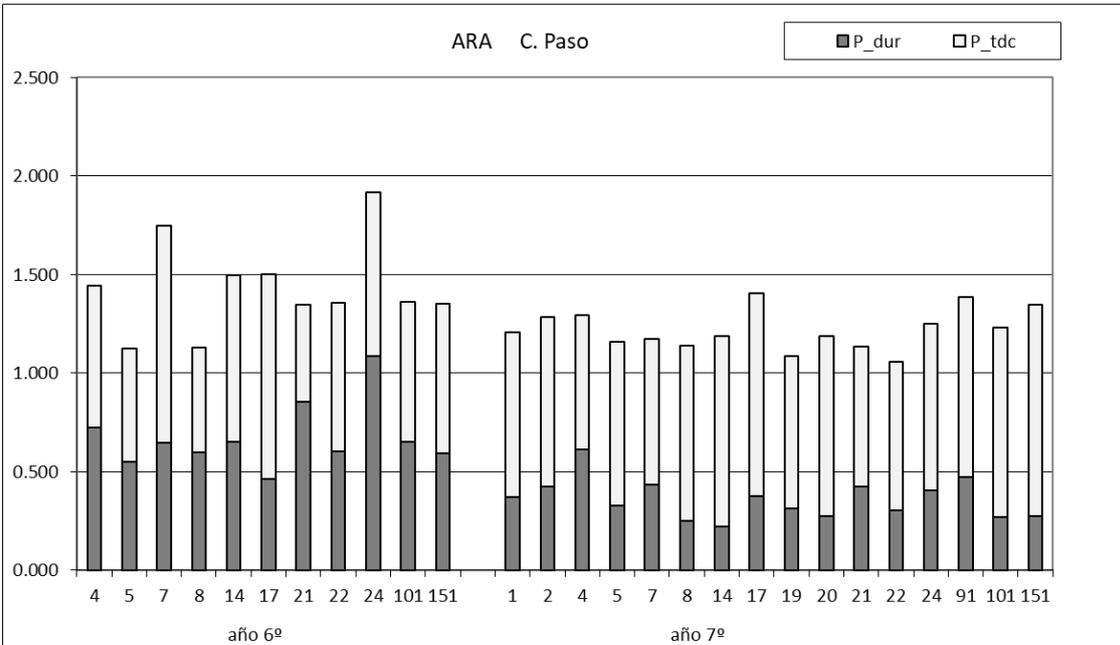
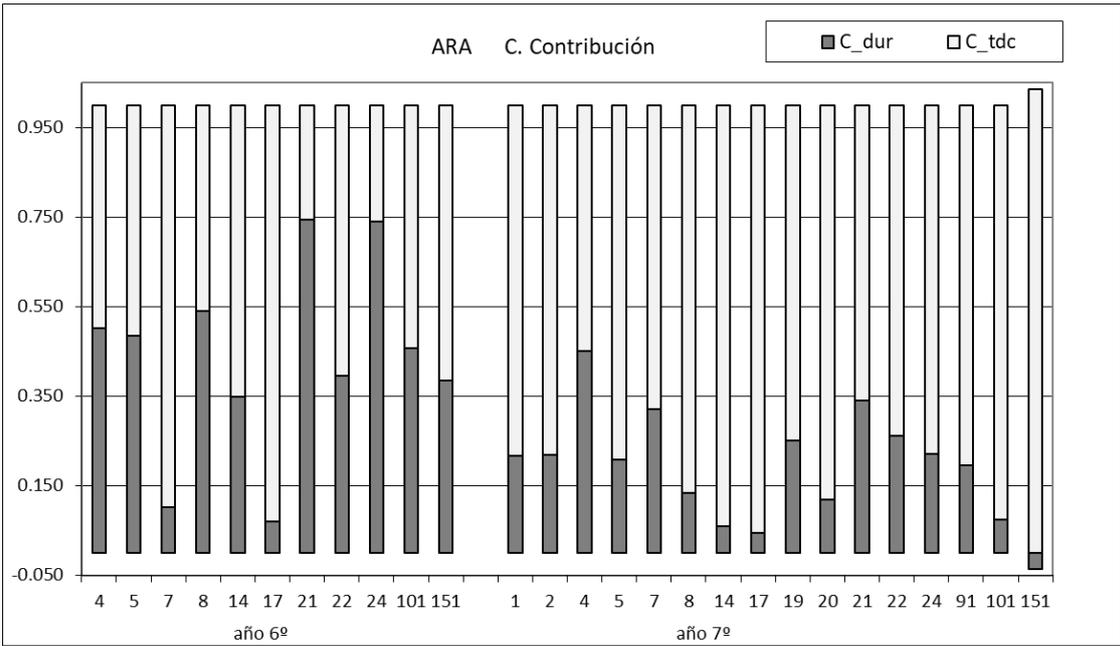


Figura 15: Coeficientes de paso y de contribución por procedencia ensayada en ARA

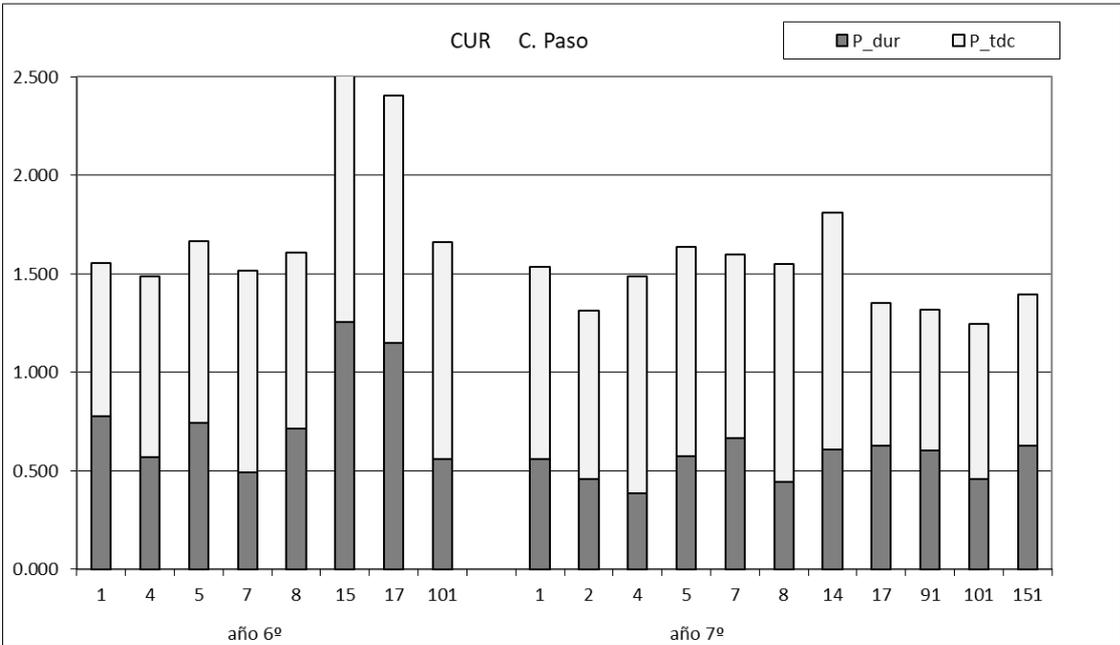
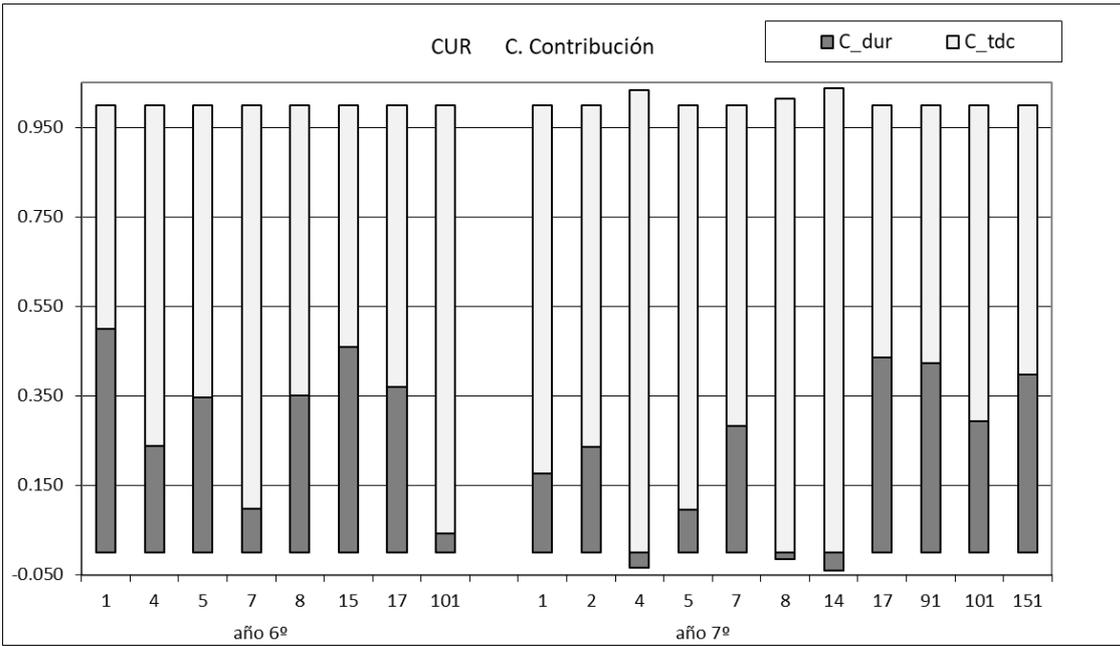


Figura 16: Coeficientes de paso y de contribución por procedencia ensayada en CUR

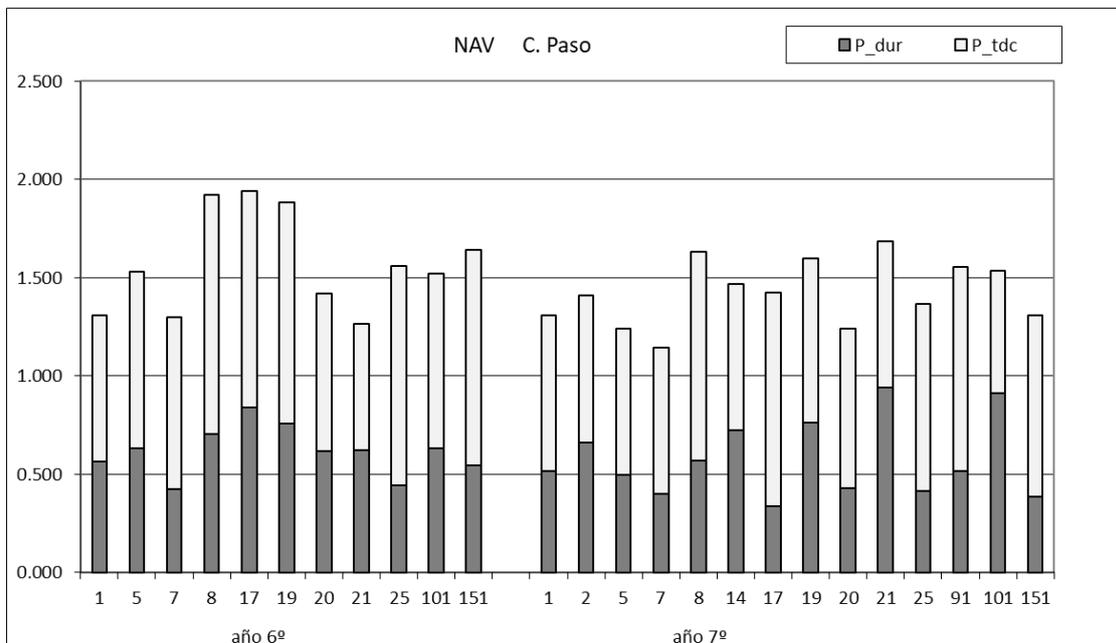
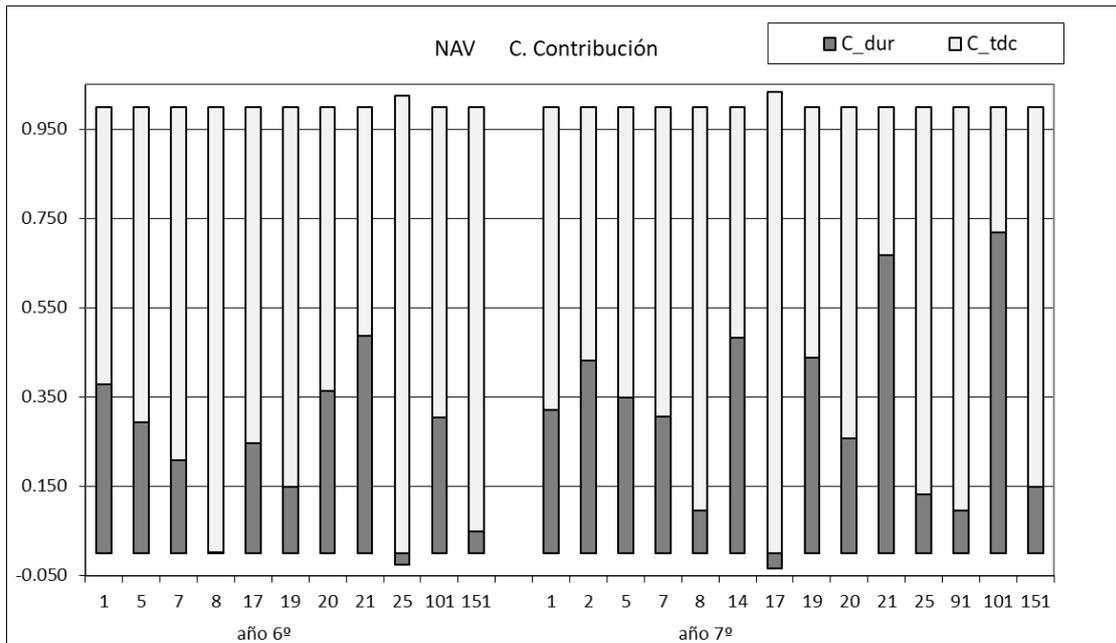


Figura 17: Coeficientes de paso y de contribución por procedencia ensayada en NAV

A partir de la descomposición multivariante de la varianza de las componentes ( $\log(\text{dur})$  y  $\log(\text{tdc})$ ) y resultante ( $\log(c)$ ) se obtienen los componentes de las varianzas y covarianzas entre variables. Esto permite extraer las covarianzas entre procedencias y dentro de procedencias y realizar la misma aproximación del análisis de paso y analizar cómo son las relaciones entre componentes y su resultante entre procedencias y dentro de procedencias por sitio y año de ensayo (ver Figura 18).

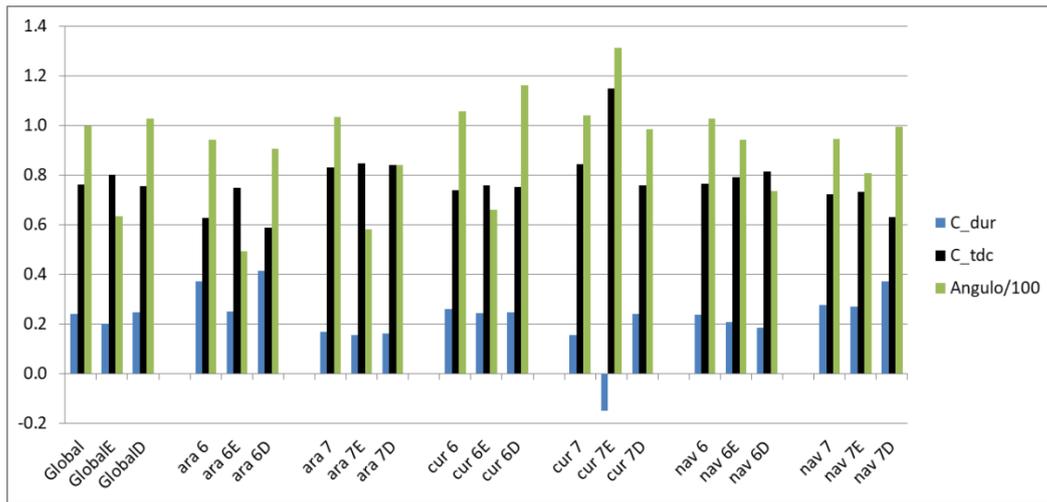


Figura 18: Contribuciones entre y dentro de procedednias de la tasa de crecimiento y la duración del periodo por sitio de ensayo y año

Las correlaciones genéticas (Tabla 19) a nivel de procedencia entre el crecimiento en altura y la tasa son muy altas, siempre superiores a las fenotípicas residuales y mantienen el signo positivo en todos los casos presentados. En el caso del crecimiento y la duración la intensidad es alta aunque inferior al caso anterior y también se mantiene el signo positivo en todos los casos menos en uno. En el caso de las correlaciones entre las componentes tasa y duración el valor se reduce considerablemente y aunque prevalece la superioridad entre procedencias (genética) existe todo tipo de cambio o permanencia de signo, produciendo un efecto general que incrementa la variabilidad general.

Tabla 19: Correlaciones genéticas entre el crecimiento anual en altura, tasa de crecimiento y duración de periodo a nivel de procedencia (encima de la diagonal) y fenotípicas residuales (bajo la diagonal) por sitio de ensayo y año

		c	tdc	dur
Global	c	-	0.9638	0.6687
	tdc	0.8040	-	0.4462
	dur	0.4030	-0.2180	-
ara 6	c	-	0.9723	0.8132
	tdc	0.7631	-	0.6545
	dur	0.6392	-0.0094	-
ara 7	c	-	0.9814	0.6807
	tdc	0.9349	-	0.5272
	dur	0.4482	0.1019	-
cur 6	c	-	0.9456	0.6801
	tdc	0.7105	-	0.4046
	dur	0.3164	-0.4427	-
cur 7	c	-	0.8947	-0.2524
	tdc	0.8300	-	-0.6581
	dur	0.4271	-0.1498	-
nav 6	c	-	0.8723	0.4229
	tdc	0.7949	-	-0.0743
	dur	0.2842	0.2842	-
nav 7	c	-	0.8929	0.5879
	tdc	0.7396	-	0.1606
	dur	0.5439	-0.1625	-

#### 4.3.4.- Discusión Específica

El análisis de paso utilizado para la descomposición de caracteres complejos ha sido profusamente utilizado en la interpretación de la arquitectura del crecimiento en sus componentes diferentes a las presentadas en este trabajo. La descomposición habitual es entre el número de unidades de tallo y la longitud media de dichas unidades (Kremer y Larson 1983; Kremer 1985; Bongarten 1986; Magnussen y Yeatman 1989; Rweyongeza et al. 2003). Una descomposición similar basada en duración, tasa y longitud del brote en *Picea abies* se presenta en un trabajo acerca de las relaciones causales en crecimiento juvenil libre (Ununger et al. 1988). Si bien sus resultados son contradictorios según dos hipótesis de los datos de partida utilizados, éstos no son comparables con los de este trabajo por las diferencias entre el crecimiento libre y crecimiento fijo o preformado en la yema (Cannell et al. 1976; Lanner 1976).

El análisis de paso nos revela que la contribución de la tasa de crecimiento es superior a la de la duración del periodo de crecimiento. A la vista de los coeficientes de paso se puede comprobar que en la mayoría de los casos son inferiores a la unidad. En el caso de la duración

del periodo de crecimiento en tan sólo 3 ocasiones y en el de tasa de crecimiento en 20 de un total de 72 considerando todas las procedencias en todos los sitios y años. Esto se interpreta, a la vista de la definición de estos coeficientes, como que la variación del carácter compuesto es mayor que el de sus componentes, y más en particular en el caso de la duración, resultando ser menos variable la duración del periodo de crecimiento que su tasa de crecimiento, y ambas menos variables que el crecimiento anual. No existe una norma general en que los coeficientes de paso sean superiores o inferiores a la unidad (representando una mayor o menor variación de los componentes que la resultante), en *Pinus pinaster*, *Pseudotsuga menziesii* y *Picea pungens* Kremer 1985 y Bongarten 1986 obtienen unos valores superiores a uno mientras que en *Pinus sylvestris* L. los coeficientes de paso son inferiores a la unidad (Lascoux et al. 1994). En ambos casos la descomposición es referida a número de unidades de tallo y su longitud media.

Que la tasa de crecimiento tenga una contribución superior que la duración en el crecimiento anual es un resultado habitual y está de acuerdo con lo hallado en *Pinus banksiana* (Magnussen y Yeatman 1989) en que la tasa de crecimiento del brote es considerado un mejor predictor que la duración del periodo en un estudio entre familias de la especie. Igualmente en *Pinus taeda*, con análisis de regresión, se vio que la tasa de crecimiento acumuló el 60% de la variación en el crecimiento en altura frente al 30 % de la duración (Perry et al. 1966) y las diferencias entre familias de la misma especie en el incremento anual en altura fueron atribuidas a su tasa de crecimiento (McCrady y Jokela 1996) o que la variación de la medida es atribuible a la tasa y no a la duración del periodo de crecimiento en la misma especie (Boyer 1969).

Si bien de forma general se constata la superior contribución de la tasa de crecimiento frente a la duración, y siempre conservado dicha tendencia, la variación de la contribución de la duración es muy elevada, con unos rangos de variación superiores que llegan a duplicar valores (15.6% frente 37.2%). La variación de la contribución de la tasa de crecimiento existe pero es cuantitativamente inferior.

Entre procedencias, la variación cuantitativa de ambas contribuciones es también muy elevada. Por procedencias, se mantiene siempre la superior contribución de la tasa frente a la duración salvo en 4 casos y siempre en procedencias con un clima similar (en 3 casos procedencia- año alemanas y 1 en el Sistema Central). No se aprecia tendencia o agrupación de procedencias en ninguna de las dos contribuciones ni por sitio ni por año.

Discerniendo las contribuciones entre procedencias y dentro de procedencias, no se detecta un patrón distinto al general de forma global, aunque la contribución de la tasa de crecimiento es siempre superior entre procedencias, aunque sólo sea ligeramente, salvo en un caso.

Las correlaciones genéticas son mayores que las fenotípicas en prácticamente todos los casos, pero al separar las componentes en su carácter fenotípico y genético a nivel procedencia, se observa una mayor capacidad compensatoria, incrementando la capacidad de plasticidad fenotípica, modulada genéticamente, como respuesta a variaciones del ambiente. Esto se constata en la gran variación entre los ángulos, o coeficientes de correlación, existente entre y dentro de las procedencias, incluyendo valores inferiores a 90º o cambios de signo de la correlación.

La duración y la tasa de crecimiento se encuentran negativamente correlacionadas lo que podría interpretarse como que las plantas que utilizan un periodo de crecimiento menor poseen una tasa mayor. Ahora bien, dado que el ángulo de los componentes, o su coeficiente de correlación, es generalmente mayor dentro de las procedencias que entre ellas, parece indicar que existe una mayor flexibilidad en la compensación a nivel interno dentro de las poblaciones, probablemente por una selección estabilizadora en el carácter tasa de crecimiento, como se ha apuntado ya en el capítulo anterior. Este mecanismo de compensación regulatorio conduce a la plasticidad fenotípica de las plantas, visto el fuerte control genético de la tasa de crecimiento (Gwaze et al. 2002; Savolainen et al. 2004; Notivol et al. 2007), frente a las variaciones naturales del periodo vegetativo inducidas por la variación ambiental. Esta idea se refuerza al ver que la contribución de la tasa de crecimiento es generalmente mayor entre procedencias que dentro de ellas, así como al constatar que la correlación genética supera a la fenotípica en todos los casos analizados excepto en uno.

#### **4.4.- EL USO DE POBLACIONES Y SU VARIACIÓN GENÉTICA EN EL CRECIMIENTO FRENTE AL CAMBIO CLIMÁTICO**

##### **ANTECEDENTES**

En este capítulo se ensayaron experimentalmente diferentes estrategias de obtención de semillas bajo un escenario de cambio climático de altas emisiones para aumentar la adaptación y resiliencia de los futuros bosques.

Los objetivos son (i) analizar los niveles de variación de la especie para la altura, diámetro y supervivencia, (ii) analizar diferentes estrategias de obtención de semilla en diferentes ambientes bajo un escenario de cambio climático, y (iii) proponer medidas de conservación y uso sostenible de las procedencias de *Pinus sylvestris* L. en España.

En primer lugar se analizó la ganancia de las diferentes estrategias en los caracteres relacionados con la adaptación (crecimiento en altura, diámetro y supervivencia) en cinco ensayos de procedencia. Posteriormente se integró esta información y la existente en *Pinus sylvestris* L. para analizar las estrategias de conservación de sus recursos genéticos. Se considera que este estudio de caso podría ser de utilidad para otras especies de amplia distribución en sus límites de área de distribución.

La conclusión de este trabajo es que para *Pinus sylvestris* L., en el límite occidental-meridional de su distribución, los nuevos métodos propuestos no proporcionaron mejores resultados que los usados tradicionalmente en la gestión forestal (semilla de procedencia local o de óptimos resultados). Se muestra que dependiendo de la estructura de variación de las especies y de las predicciones climáticas futuras, las expectativas teóricas de estrategias de obtención de semilla basados en similitudes climáticas previstas o de combinación de procedencias, no resultaron mejores que las tradicionales, o no son posibles por inexistencia de procedencias adecuadas a ese clima.

#### 4.4.1.- Metodología Específica

##### 4.4.1.1.- Material vegetal

Se ha utilizado información de un ensayo de procedencias en múltiples sitios (Tabla 20), con poblaciones que cubren el rango de distribución en España, así como poblaciones de Alemania (ver (Alía et al. 2001b) para detalles sobre el establecimiento y primeros resultados). En este estudio se utilizaron únicamente las poblaciones de España (Figura 2 y Tabla 21 ). Se identificó una población local en cada ensayo de procedencias.

Tabla 20: Ubicación y dos índices climáticos de los sitios para diferentes periodos. ALT: Altitud (m), LAT: Latitud (grados), LONG: Longitud (grados), MAT: Temperatura media anual (°C), PDQ: Precipitación del trimestre más seco de (mm)

Sitio	ALT	LAT	LONG	Periodo							
				1974-89		1990-2005		2025-2050		2075-98	
				MAT	PDQ	MAT	PDQ	MAT	PDQ	MAT	PDQ
ARA	1370	42°44'N	00°37'W	7.5	135.1	8.1	140.5	9.6	115.5	13.6	57.9
BAZ	1850	37°21'N	02°56'W	9.3	50.3	9.7	36.9	11.3	14.5	15.1	5.9
CUR	1150	42°46'N	06°21'W	9.7	87.6	10.1	88.4	11.4	57.1	15.2	28.3
GUD	1700	40°27'N	00°35'W	7.4	77.3	7.9	77.9	9.7	38.5	13.7	17.2
NAV	1600	41°02'N	03°49'W	8.1	66.5	8.6	63.6	10.2	32.0	14.3	16.5

Tabla 21: Información de los orígenes de la semilla, de la ubicación de los ensayos y características climáticas de los cuatro periodos considerados en este capítulo

Código	Origen	Región	Altitud	Latitud	Longitud	Sitio de ensayo				
						ARA	BAZ	CUR	GUD	NAV
Le	1 Puebla de Lillo	1	1550	43°04' N	05°15' W	x	x	L	x	x
Bu	2 San Zadornil	2	1000	42°50' N	03°11' W	x	x	x	x	x
Hu1	4 Murrano	4	700	42°12' N	00°06' W	x	x	x	x	o
Hu2	5 Borau	5	1550	42°42' N	00°35' W	L	x	x	o	x
Bu	7 Poble de Lillet	7	1100	42°14' N	01°58' W	x	o	x	o	x
So	8 Covalada	8	1550	41°56' N	02°48' W	x	x	x	x	x
Gu1	91 Galve de Sobre	9	1400	41°15' N	03°07' W	x	x	x	x	x
Gu2	92 Campisabalos	9	1400	41°13' N	03°12' W	x	x	x	x	x
Sg1	101 Valsain	10	1550	40°49' N	04°01' W	x	x	x	o	x
Sg2	102 Navafria	10	1600	41°00' N	03°50' W	x	x	x	o	L
Av	11 Navarredonda de Gredos	11	1550	40°21' N	05°07' W	x	x	x	x	X
Te1	12 Orihuela del Tremedal	12	1750	40°31' N	01°38' W	x	o	x	o	x
Te2	14 Gudar	14	1700	40°25' N	00°41' W	x	x	x	L	x
Cs	151 Castell de Cabres	15	1150	40°45' N	00°12' E	x	x	x	x	x
T	152 La Cenia	15	1100	40°45' N	00°03' E	x	x	x	x	x
Gr	17 Baza	17	2050	37°22' N	02°51' W	x	L	x	o	x

Algunas estrategias de selección de fuente de semilla se basan en índices de similitud genética como criterio para la selección de procedencias, para ello se usó la información obtenida del análisis de un lote de semillas (25 semillas) de cada población (excepto 151-Castell de Cabres) que fue genotipado usando 7 CpSSR (ver (Soto et al. 2010) para más detalles). Estos marcadores tienen una herencia paterna en las coníferas y son adecuados para la estimación del flujo genético de polen entre poblaciones (Robledo-Arnuncio et al. 2004b). Se calcularon las diferenciaciones por pares (PhiST), obtenidas por AMOVA utilizando el software Genalex 6.5 (Peakall y Smouse 2012).

#### 4.4.1.2.- Escenarios climáticos

Para cada procedencia y sitio, se obtuvo el valor promedio de cinco índices climáticos comúnmente utilizados y definidos en la base de datos WorldClim (Fick y Hijmans 2017) para los períodos 1974-89 (que representan las condiciones cuando se recolectó la semilla para establecer los ensayos) y 1990-2005 (correspondiente al de las mediciones en los de ensayos disponibles), y para los períodos 2025-2050 y 2075-2098 utilizando la vía de concentración representativa del escenario de altas emisiones (RCP8.5). Estos cinco índices fueron: MAT (bio1: temperatura media anual), MDR (bio2: rango diurno medio, es decir, media mensual (temperatura máxima - temperatura mínima)), TS (bio4: temperatura estacionalidad (desviación estándar  $\times$  100)), MTWQ (bio10: temperatura media del trimestre más cálido) y PDQ (bio17: precipitación del trimestre más seco) (consulte el Apéndice A para obtener más detalles).

Los datos climáticos fueron extraídos por las coordenadas de los sitios y procedencias del servicio de geo-web B4EST-DT [<https://ibbr.cnr.it/b4est/>]. Esta herramienta proporciona datos mediante algoritmos de reducción de escala de los índices climáticos en una cuadrícula de 5 km utilizando los conjuntos de datos UKCP18 (Proyecciones climáticas del Reino Unido) (1900-2098) (Met Office 2019; Harris et al. 2020).

#### 4.4.1.3.- Variables analizadas y análisis de los ensayos

Se usó información de las mediciones de altura total (HT), diámetro normal (DBH, a 1.3 m) y supervivencia (SUR) de cada árbol evaluado a la edad de 5, 10 y 15 años después de la plantación (dos años más después de la siembra).

Para cada rasgo y sitio se ajustó un modelo mixto de acuerdo al diseño estadístico utilizando la información disponible, con una corrección espacial de los sitios según el bloque, fila y columna de los árboles de acuerdo al siguiente modelo.

$$y = X\beta + Z\alpha + Bb + e$$

Donde,  $y$  es el vector que contiene los valores de la variable,  $X$  y  $Z$  son las matrices de incidencia que relacionan las observaciones con los efectos fijos (vector  $\beta$ ) y aleatorios (vector  $\alpha$ ) del modelo,  $Bb$  es el efecto aleatorio espacial (modelado por bloques o splines) y  $e$  el vector del efecto aleatorio residual.

Cuando la corrección espacial spline no fue significativa (ARA, BAZ y CUR) se realizó una corrección de bloque. Se usó el procedimiento remlf90 de BreedR (Muñoz y Sanchez 2020).

Se realizó un análisis combinado de sitios utilizando mediciones individuales (Alía et al. 2001b). Se incluyó sitio, procedencia, interacción sitio por procedencia, bloque y unidad experimental como factores aleatorios. La significación de los factores aleatorios se evaluó mediante pruebas de razón de verosimilitud (LRT). Se obtuvo la correlación edad-edad y las correlaciones de rasgos a nivel de árbol individual después de las correcciones.

#### 4.4.1.4.- Estrategias de origen de semillas

Se consideraron seis estrategias diferentes de fuente de semilla para cada sitio (ver Figura 19):

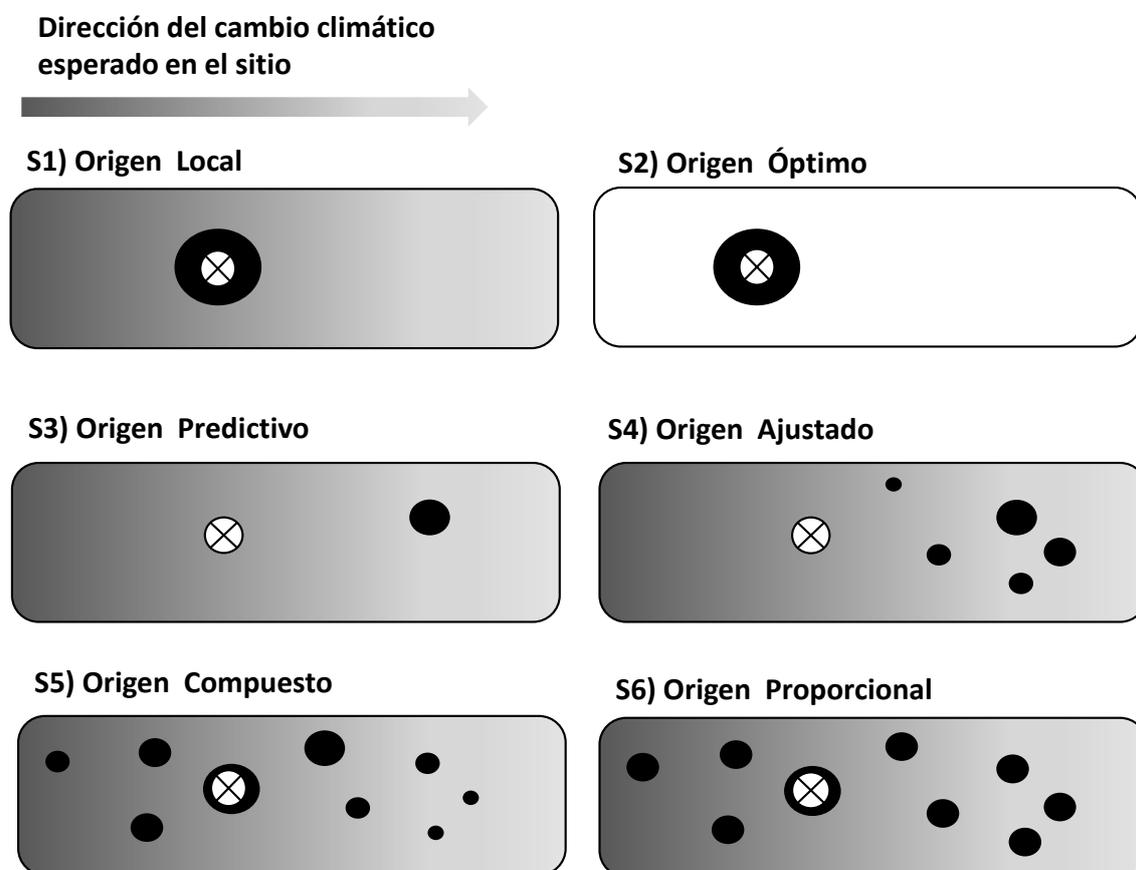


Figura 19: Estrategias de obtención de semillas utilizadas en este estudio (modificado de (Byrne et al. 2013; Prober et al. 2015)). El aspa indica el sitio (prueba de procedencia) y los círculos que las poblaciones utilizaron como fuentes de semillas. El tamaño del círculo indica la contribución de cada población a la estrategia de abastecimiento de semillas

S1. Origen local: Identifica la procedencia local correspondiente a cada sitio de prueba: ARA (hu2), BAZ (gr), CUR (le), GUD (cu) y NAV (sg2).

S2. Origen óptimo. Propone el uso de genotipos naturales que se determinan experimentalmente para adaptarse a las condiciones de la ubicación de la repoblación. Se seleccionó la procedencia con mejor desarrollo en cada sitio, siempre que no fuera la local. Cuando éste sea el caso, los escenarios S1 y S2 coinciden.

S3. Origen predictivo del clima futuro: Selecciona la procedencia donde el clima actual coincide con el clima futuro (predicciones de 2050) del sitio de ensayo (Sgrò et al. 2011).

S4. Origen ajustado al clima futuro. Combina árboles de procedencias de todo el gradiente previsto de cambio climático, incluyendo material genético que pueda contribuir a la resiliencia climática futura. La contribución de las diferentes procedencias no es uniforme, sino

sesgada hacia la dirección del cambio climático previsto (Prober et al. 2015), es decir, procedencias de lugares con climas previstos más similares a las condiciones ambientales futuras que la propia procedencia local. La contribución de las procedencias es proporcional a la idoneidad climática futura. Se realizaron ajustes suavizados para cada uno de los cinco índices climáticos para el período 1974-2098 en todos los sitios de estudio y procedencias para definir los gradientes climáticos esperados y la adecuación de las poblaciones a las condiciones climáticas futuras. Después, cada procedencia fue clasificada como adecuada o no para cada índice climático en el futuro (Tabla 28). Se seleccionan las procedencias con tres o más coincidencias y su aportación final fue proporcional al número de veces en que cada procedencia fue clasificada como apta.

S5. Origen compuesto. Combina árboles de diferentes procedencias para aumentar la diversidad genética y reflejar el flujo de genes entre las poblaciones. Este método tiene como objetivo imitar los patrones naturales de flujo de genes mezclando semillas de múltiples procedencias, pero con una contribución inversamente proporcional a la distancia genética por pares entre cada procedencia y la procedencia local, es decir, progresivamente menos árboles a medida que la distancia del sitio de recolección al sitio de plantación aumenta [30], pero igualando ecogeográficamente las fuentes (Broadhurst et al. 2008). La diferenciación de poblaciones por pares (Tabla S2) se utilizó como un proxy del flujo de genes.

S6. Origen proporcional. Combina árboles de todas las procedencias disponibles para aumentar la diversidad genética sin tener en cuenta las hipótesis sobre el flujo de genes. Se construyó una población simulada con igual número de individuos de cada procedencia. Similar al origen compuesto (S5), esta estrategia combina procedencias, pero tiene como objetivo simplemente muestrear una amplia variedad de fuentes genéticas, sin tener en cuenta la ubicación de la población de origen en relación con el sitio de plantación (Breed et al. 2013).

Para cada estrategia (S1-S6) se generaron por bootstrapping con reemplazo 1000 poblaciones sintéticas de  $n=50$  árboles, de acuerdo con las restricciones de cada estrategia. Los valores de los árboles individuales, corregidos por los efectos ambientales, se generaron entre todos los individuos adecuados del sitio que está evaluando. El procedimiento se llevó a cabo con un script ad hoc en R. Para cada población sintética, se calcula la media y la varianza para cada uno de los caracteres (HT, DBH y SUR) a los 5 años (solo altura), 10 y 15. También se estimaron los percentiles 5% y 95% y el percentil de valores de cada escenario que fueron mayores que la media del escenario S1. Esto se hizo para todas las combinaciones posibles de sitio de ensayo (5), variable fenotípica (6) y escenario (5 ó 6), con un total de 172 combinaciones. Se estudió la comparación entre escenarios según la distribución de los valores definidos por los percentiles.

#### 4.4.2.- Resultados Específicos

##### 4.4.2.1.- Análisis combinado y variación genética de poblaciones de pino silvestre

Las variables se encuentran altamente correlacionadas ( $p < 0,001$ ) entre ellas, así como entre años (Tabla 22), tanto a nivel individual como a nivel de parcela.

Tabla 22: Correlación entre rasgos en el nivel de la parcela (arriba de la diagonal) y del individuo (debajo de la diagonal)

	HT5	HT10	HT15	DBH10	DBH15	SUR15
HT5	-	0.739	0.640	0.692	0.651	0.453
HT10	0.743	-	0.912	0.849	0.866	0.659
HT15	0.577	0.927	-	0.772	0.905	0.698
DBH10	0.664	0.946	0.938	-	0.832	0.350
DBH15	0.540	0.882	0.923	0.845	-	0.549

El análisis combinado de los cinco sitios y para todas las variables consideradas indica una variación significativa entre poblaciones y sitios para la altura y el diámetro (Tabla 23), pero no para la supervivencia donde el factor población no fue significativo ( $p = 0.50$ ). Para la supervivencia, hubo diferencias significativas entre las poblaciones en el sitio BAZ, pero solo para la primera evaluación a los 5 años. La interacción sitio x procedencia fue significativa para la altura y el diámetro en todas las edades. El sitio fue el factor más importante que influyó en el modelo, con claras diferencias entre ellos. ARA proporcionó unos valores superiores a los demás, y GUD tuvo una mayor mortalidad y una altura y diámetro reducidos para todas las procedencias. Como los valores en las diferentes edades son consistentemente similares, sólo se incluyen los resultados de la última medición a los 15 años después de la plantación.

Tabla 23: Varianza explicada por variable y porcentaje correspondiente relativo a la varianza total, HT, altura medida en cm a los 15 años; DBH15, diámetro a la altura del pecho medido en cm a los 15 años, SUR15, supervivencia a los 15 años. Los factores significativos ( $p < 0,05$ ) se indican en negrita. La Varianza residual para la supervivencia ajustada con un modelo binomial con función de enlace logístico es  $\pi^2/3$

Factor	HT15		DBH15		SUR15	
	Varianza	%	Varianza	%	Varianza	%
Sitio	<b>22356.5</b>	60.5%	<b>1409.13</b>	63.7%	<b>0.811</b>	16.2%
Procedencia	<b>539.4</b>	1.5%	<b>19.66</b>	0.9%	0.009	0.2%
SitioxProc	<b>834.9</b>	2.3%	<b>44.63</b>	2.0%	0.004	0.1%
Bloque	<b>714.3</b>	1.9%	<b>31.24</b>	1.4%	<b>0.128</b>	2.5%
Unidad Experimental	<b>1854.5</b>	5.0%	116.41	5.3%	<b>0.779</b>	15.5%
Error Residual	10631.8	28.8%	591.63	26.7%	3.290	65.5%

La interacción significativa sitio x procedencia puede interpretarse como diferencias en la plasticidad fenotípica de las procedencias.

Los sitios difieren mucho en la supervivencia después de la plantación (Tabla 24), lo que indica una proporción diferente de árboles seleccionados entre los sitios (de 0,445 en GUD a la edad

de 15 a 0,906 en BAZ). Sin embargo, esta proporción seleccionada es similar para las diferentes poblaciones analizadas.

Tabla 24: Tasas de supervivencia en cinco sitios de ensayo de pino silvestre en España a lo largo de 15 años después de la plantación

Sitio	N	edad 5	edad 10	edad 15
ARA	960	0.92	0.89	0.88
BAZ	896	0.98	0.91	0.91
CUR	1,024	0.97	0.80	0.68
GUD	640	0.60	0.48	0.45
NAV	960	0.91	0.89	0.88
<b>Total</b>	<b>4,480</b>	<b>0.90</b>	<b>0.81</b>	<b>0.78</b>

#### 4.4.2.2.- Escenarios climáticos

Para los cinco índices seleccionados en este trabajo, se han obtenido valores promedio en cuatro períodos para las coordenadas correspondientes de las procedencias analizadas y los sitios de plantación de los ensayos de procedencias. Los cuatro períodos son: 1974-89 que representa las condiciones en que se recolectó la semilla, 1990-2005 que corresponde a las mediciones del ensayo disponibles y se utilizan datos climáticos registrados y por otra parte, para los períodos 2025-2050 y 2075-2098 utilizando la proyección del IPCC de trayectoria de concentración representativa 8.5 (RCP8.5) denominado como escenario “*business as usual*”, por considerarse la más adecuada para el periodo de plantación más próximo (2020-2050).

La Figura 20 y la Tabla 25 muestran la tendencia del clima en los períodos considerados para las ubicaciones de los cinco ensayos. Los datos de procedencia están disponibles en la Tabla 26

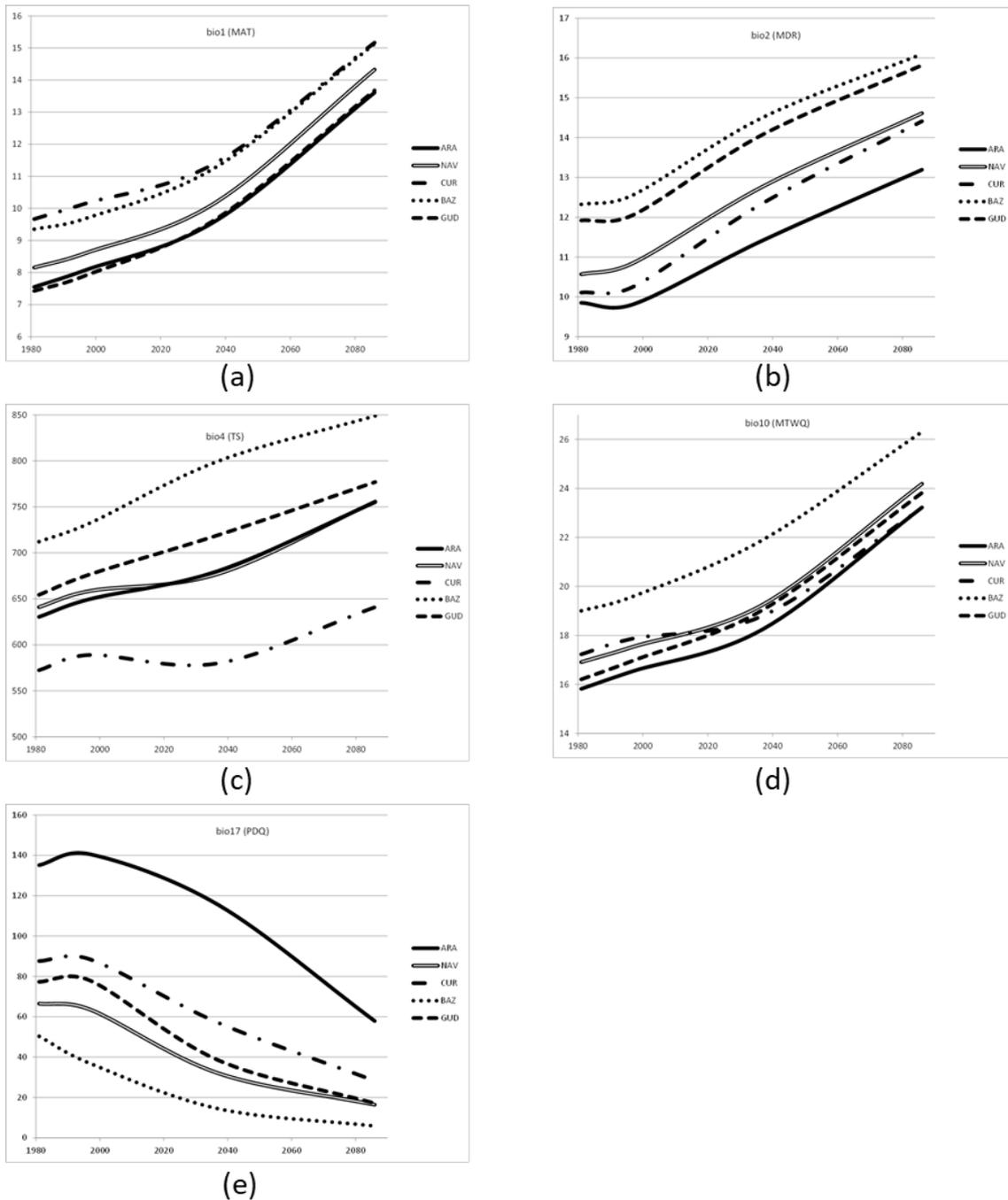


Figura 20: Proyección de los índices climáticos para el período 1980-2100 utilizando el servicio de geoweb B4EST-DT [<https://ibbr.cnr.it/b4est/>]. (a) bio1, MAT: temperatura anual media, (b) bio2, MDR: rango diurno medio, es decir, media mensual (temperatura máxima - temperatura mínima)), (c) bio4, TS: temperatura estacionalidad (desviación estándar  $\times$  100), (d) bio10, MTWQ: temperatura media del trimestre más cálido), (e) bio17, PDQ: precipitación del trimestre más seco

Tabla 25: Media de los índices climáticos para los diferentes períodos considerados en el estudio para la ubicación de los sitios del ensayo de procedencia multi-sitio. bio1, MAT: temperatura media anual, bio2, MDR: rango diurno medio, es decir, media mensual ((temperatura máxima - temperatura mínima)), bio4, TS: temperatura estacionalidad (desviación estándar  $\times$  100)), bio10, MTWD : Temperatura media del trimestre más cálido), bio17, PDQ: Precipitación del trimestre más seco

Sitio	Periodo			
	1974_1988	1990_2005	2025_2050	2075_2098
	<b>bio1 (MAT)</b>			
ARA	7.55	8.08	9.61	13.61
BAZ	9.35	9.69	11.28	15.13
CUR	9.67	10.16	11.42	15.17
GUD	7.42	7.91	9.66	13.68
NAV	8.15	8.61	10.18	14.33
	<b>bio2 (MDR)</b>			
ARA	9.85	9.81	11.42	13.19
BAZ	12.32	12.56	14.51	16.10
CUR	10.11	10.25	12.35	14.41
GUD	11.92	12.059	14.08	15.81
NAV	10.57	10.85	12.77	14.61
	<b>bio4 (TS)</b>			
ARA	630.39	649.8625	680.38	755.14
BAZ	712.13	732.525	799.72	848.90
CUR	572.41	589.04	579.98	641.05
GUD	654.38	676.74	719.36	776.99
NAV	641.02	658.67	677.21	755.74
	<b>bio10 (MTWQ)</b>			
ARA	15.82	16.54	18.25	23.22
BAZ	19.00	19.59	21.90	26.31
CUR	17.23	17.87	18.80	23.20
GUD	16.20	16.97	19.04	23.82
NAV	16.91	17.54	19.25	24.19
	<b>bio17 (PDQ)</b>			
ARA	135.16	140.53	115.53	57.94
BAZ	50.35	36.87	14.48	5.90
CUR	87.62	88.45	57.08	28.32
GUD	77.35	77.94	38.53	17.17
NAV	66.52	63.58	32.062	16.47

Tabla 26: Media de los índices climáticos de la Procedencia para los diferentes períodos considerados en el estudio. bio1, MAT: temperatura media anual, bio2, MDR: rango diurno medio, es decir, media mensual (temperatura máxima - temperatura mínima), bio4, TS: temperatura estacionalidad (desviación estándar × 100), bio10, MTWD : Temperatura media del trimestre más cálido), bio17, PDQ: Precipitación del trimestre más seco

Código	bio1 (MAT)		bio2 (MDR)		bio4 (TS <sup>3</sup> )	
	1974_1988	1990_2005	1974_1988	1990_2005	1974_1988	1990_2005
Le	6.95	7.43	9.59	9.73	555.66	571.01
Bu	8.9	9.4	10.35	10.56	549.19	566.78
Hu1	11.91	12.45	10.54	10.48	662.38	683.51
Hu2	6.75	7.28	9.69	9.64	631.6	650.66
B	9.68	10.16	11.91	12.12	651.59	672.24
So	7.76	8.26	11.41	11.67	624.99	644
Gu1	9.19	9.7	11.27	11.56	648.29	668.82
Gu2	9.17	9.67	11.13	11.41	649.4	669.87
Sg1	8.53	8.95	10.34	10.6	640.99	657.41
Sg2	8.16	8.61	10.57	10.85	642.04	659.67
Av	8.51	8.89	10.88	11.05	651.16	665.38
Te1	7.7	8.16	12.89	13.14	654.57	675.45
Te2	7.43	7.92	11.92	12.06	654.4	676.7
Cs	10.08	10.6	11.18	11.27	648.45	669.28
T	11.51	12.04	10.12	10.14	628.75	650.1
Gr	8.32	8.66	12.44	12.68	718.01	738.23
Código	bio10 (MTWQ)		bio17 (PDQ)			
	1974_1988	1990_2005	1974_1988	1990_2005		
Le	14.37	14.97	118.57	122.16		
Bu	16.15	16.78	115.28	113.16		
Hu1	20.52	21.3	81.41	87.51		
Hu2	15.05	15.77	141.39	147.94		
B	18.31	19.02	70.47	71.36		
So	16.15	16.83	92.22	92.4		
Gu1	17.91	18.64	67.8	67.38		
Gu2	17.9	18.64	67.34	66.46		
Sg1	17.3	17.87	61.6	57.67		
Sg2	16.93	17.55	67.08	63.96		
Av	17.29	17.78	52.99	46.81		
Te1	16.49	17.21	73.74	71.41		
Te2	16.21	16.97	77.49	78.14		
Cs	18.69	19.47	59.53	58.18		
T	19.79	20.56	63.48	64.68		
Gr	18.08	18.67	55.07	40.47		

Para el escenario ajustado, la contribución de las diferentes procedencias se basa en la idoneidad de las poblaciones a la vista de las condiciones actuales de las procedencias comparadas con las condiciones climáticas futuras de los sitios de plantación. La mezcla de procedencias es proporcional al número de coincidencias (idoneidad) de los cinco índices climáticos. Se acepta la idoneidad para cada índice si el valor actual es mejor o igual que el valor previsto para el año 2050 (es decir, si el bio1 (MAT) de una procedencia en 2020 es de 10°C y en un sitio de ensayo en 2050 el valor previsto de este índice es de 8°C, en este caso la procedencia computa una coincidencia positiva porque la adaptación de la T<sup>a</sup> está asegurada, pero si el valor pronosticado fuera de 11°C no).

Los valores para este conjunto de comparaciones se han obtenido a partir de ajustes suavizados para el período 1974-2098 (y ampliados para el lapso de tiempo 2020-2025) para cada uno de los cinco índices climáticos en todos los sitios de ensayo y procedencias a partir de los datos brutos obtenidos de la herramienta de *downscaling* B4EST (B4EST-DT) [https://ibbr.cnr.it/b4est/]. La Figura 21 son ejemplos del índice bio1 (MAT).

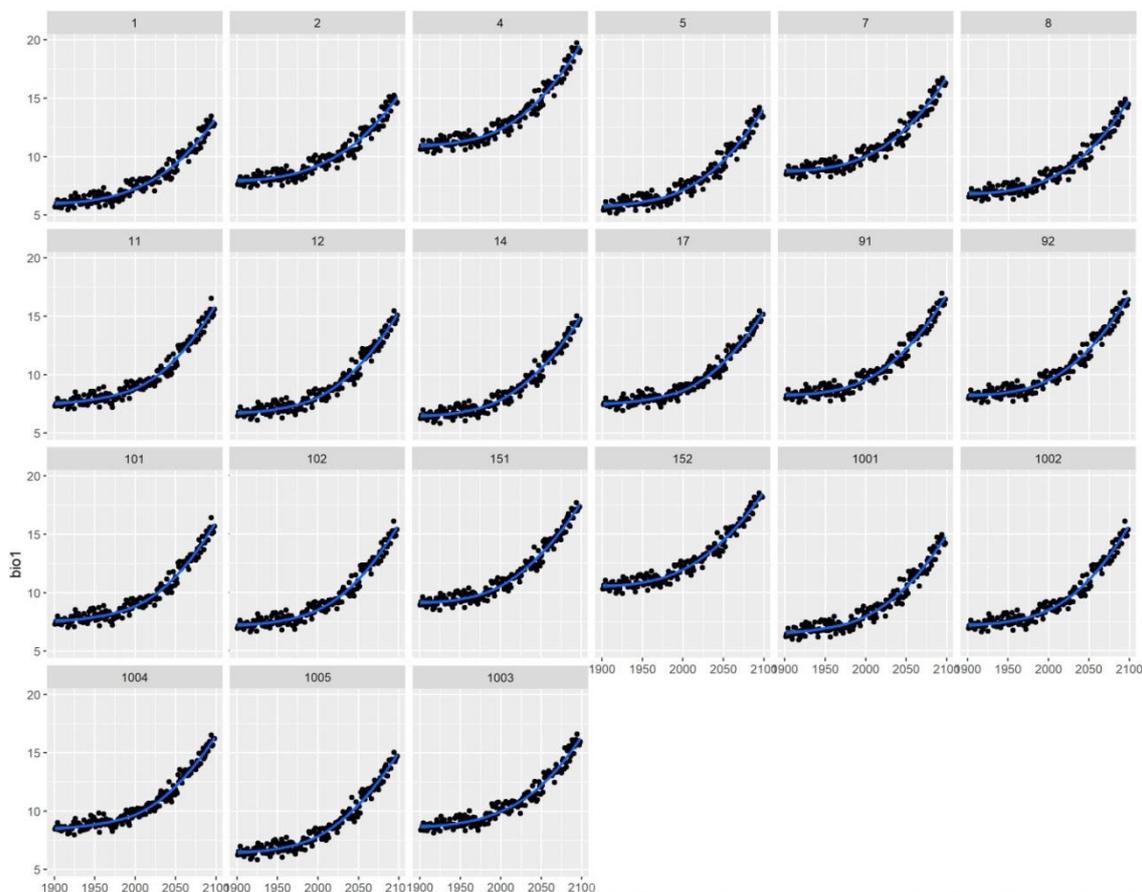


Figura 21: Ajustes suavizados de los valores brutos anuales de bio1 (MAT) de B4EST-DT para el período 1900-2098 para todas las procedencias y sitios de ensayo

#### 4.4.2.3.- Estrategias de origen de semillas

De acuerdo con las predicciones, las condiciones futuras esperadas aumentarán la temperatura media anual, el rango diurno medio, la estacionalidad de la temperatura, la temperatura media del trimestre más cálido y disminuirá la precipitación del trimestre más seco. En general para el 2050 todavía algunas de las poblaciones serán adecuadas para las condiciones futuras de los diferentes sitios (Tabla 27 y Tabla 28) considerando al menos 3 de los índices climáticos, pero no para el 2100. Es interesante percatarse que en BAZ, la población más austral, no habrá ninguna procedencia adecuada. Por el contrario, en ARA y CUR todavía habrá diferentes poblaciones aptas en estas condiciones. La procedencia del límite sur de distribución (17) sería adecuada para todo los sitios excepto el local. Esto incluye el sitio GUD, donde la procedencia 17 no fue ensayada.

Tabla 27: Procedencias dentro del rango de condiciones futuras de cada sitio experimental para al menos 3 de los índices climáticos (entre paréntesis, número de índices que coinciden con las condiciones futuras)

Sitio	Procedencias donde el clima actual coincide con escenarios futuros
ARA	Hu1 (4), B (4), Te1 (3), Te2 (3), Gu1 (3), Gu2 (3), Cs (5), T (3), Gr (4)
BAZ	-
CUR	Hu1 (3), B (3), Gu2 (3), Av (3), Cs (4), T (3), Gr (4)
GUD	-
NAV	Cs (3), Gr (3)

Tabla 28: Procedencias que coinciden con el escenario futuro (2050) para cada sitio. Los asteriscos indican procedencias no incluidas en el sitio del ensayo, pero se incluyen aquí para facilitar las comparaciones entre sitios. bio1, MAT: temperatura media anual, bio2, MDR: rango diurno medio, es decir, media mensual (temperatura máxima - temperatura mínima)), bio4, TS: temperatura estacionalidad (desviación estándar  $\times$  100)), bio10, MTWD : Temperatura media del trimestre más cálido), 5 bio17, PDQ: Precipitación del trimestre más seco

Sitio	Indice	Procedencia															
		Le	Bu	Hu1	Hu2	B	So	Gu1	Gu2	Sg1	Sg2	Av	Te1	Te2	Cs	T	Gr
ARA	bio1			1		1									1	1	
	bio2					1	1	1	1			1	1	1	1		1
	bio4			1									1	1	1		1
	bio10			1		1		1	1						1	1	1
	bio17			1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	sum	0	0	4	0	4	2	3	3	1	1	2	3	3	5	3	4
BAZ	bio1																
	bio2																
	bio4																
	bio10			1													
	bio17																
	sum	0	0	1	0	0*	0	0	0	0	0	0	0	0*	0	0	0
CUR	bio1			1											1	1	
	bio2					1	1	1	1			1	1	1	1		1
	bio4			1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1
	bio10			1		1		1	1						1	1	1
	bio17									1		1					1
	sum	0	0	3	1	3	2	2	3	2	1	3	2	2	4	3	4
GUD	bio1			1		1									1	1	
	bio2																
	bio4																1
	bio10			1											1	1	1
	bio17											1					1
	sum	0	0	2	0*	1*	0	0	0	0*	0*	1	0*	0*	2	2	3*
NAV	bio1			1		1									1	1	
	bio2												1	1			1
	bio4			1									1	1	1		1
	bio10			1											1	1	1
	bio17																
	sum	0	0	3*	0	1	0	0	0	0	0	0	2	2	3	2	3

Por lo tanto, no se pueden considerar poblaciones en las estrategias origen predictivo y origen ajustado en el sitio BAZ ni en el sitio GUD. En este último caso porque no se ensayó la procedencia de Gr.

El análisis general de las medias y las varianzas de las poblaciones sintéticas realizadas por *bootstrap*, indicó que los métodos de provisión de semillas diferían para los diferentes rasgos analizados ( $P < 0,001$ ). Teniendo en cuenta los cinco sitios de prueba, las estrategias de origen local y óptimo fue superior a los otros métodos para la media y la varianza de la altura y el diámetro (Tabla 29). Las estrategias de origen compuesto y proporcional no se comportaron de manera superior para la media de ninguna variable, y tuvieron una mayor varianza. La supervivencia no se consideró para el análisis ya que no hubo diferencias significativas entre las poblaciones y, por lo tanto, se asume que todas las poblaciones se comportaron de manera similar, incluso en condiciones de sitio muy distintas.

Tabla 29: Comparación de diferentes estrategias para altura y diámetro a los 15 años

	HT15				DBH15			
	Media	Grupo	Varianza	Grupo	Media	Grupo	Varianza	Grupo
<b>Local</b>	339.5	b	12073.84	c	64.33	b	635.55	d
<b>Óptimo</b>	358.0	a	11948.67	c	76.07	a	708.32	a
<b>Predictivo</b>	327.1	c	12891.22	a	60.37	c	586.42	e
<b>Ajustado</b>	322.2	d	12286.24	b	59.26	d	698.58	a
<b>Compuesto</b>	320.1	e	12335.81	b	58.66	e	678.08	b
<b>Proporcional</b>	320.7	e	12723.13	a	58.88	e	658.29	c

Sin embargo, este patrón general varió ligeramente según el sitio del ensayo, de modo que la mejor estrategia de muestreo podría definirse mejor teniendo en cuenta los efectos del sitio. (Tabla 30 para HT15 Figura 22).

Tabla 30: Bootstrap análisis de los escenarios para la variable variable HT15 (muestras de 50 árboles)

Site	Scenario1	Mean					Variance				
		Mean	Perc. 5%	Perc. 95%	Perc. > S1	Group	Mean	Perc. 5%	Perc. 95%	Perc. > S1	Group
ARA	S1	587.5	560.0	615.0	0.49	a	13859	10104	17703	0.50	b
	S3	525.8	501.5	550.9	0.00	c	13709	8737	19411	0.46	c
	S4	533.9	517.9	549.4	0.00	b	12518	9794	15472	0.22	c
	S5	532.4	507.8	555.9	0.00	b	13895	9619	18812	0.48	b
	S6	524.4	498.4	549.8	0.00	c	13961	9488	19307	0.50	a
BAZ	S1	249.0	226.6	272.0	0.50	e	9262	6812	11704	0.49	b
	S2	282.7	263.9	302.1	1.00	b	6505	4787	8544	0.02	c
	S5	255.9	235.2	276.4	0.69	d	9367	6599	12452	0.52	a
	S6	268.6	249.5	287.7	0.96	c	9157	6723	12106	0.44	a
CUR	S1	212.3	199.7	225.6	0.50	b	3086	2226	4039	0.49	e
	S2	218.1	204.7	231.8	0.77	a	3422	2369	4638	0.68	d
	S3	149.0	138.8	158.7	0.00	e	2042	1334	2837	0.02	c
	S4	193.9	180.4	207.1	0.02	d	4146	3015	5430	0.93	c
	S5	199.7	187.1	213.2	0.06	c	3471	2444	4535	0.73	d
	S6	199.3	186.5	212.0	0.05	c	3604	2576	4789	0.78	d
GUD	S1	165.0	155.9	173.2	0.52	f	1420	930	1926	0.48	e
	S2	247.8	231.9	263.5	1.00	a	5041	3744	6521	1.00	a
	S5	184.9	171.2	198.5	0.99	d	4598	3178	6355	1.00	b
	S6	175.2	161.8	188.1	0.89	e	4431	3096	6010	1.00	c
NAV	S1	484.5	448.4	521.9	0.52	a	32714	21219	45311	0.48	a
	S3	367.9	313.3	420.1	0.00	d	28219	14261	46799	0.29	b
	S4	367.9	315.0	416.2	0.00	d	28275	14103	47006	0.30	a
	S5	436.6	398.1	472.9	0.01	b	30267	18868	43961	0.34	a
	S6	431.9	393.4	470.3	0.01	c	30475	19656	42739	0.34	a

Hubo dos sitios (ARA y NAV) donde el origen local de semillas tuvo un mejor resultado en términos de altura y diámetro. En el sitio de ensayo de CUR, el origen local de semillas tuvo un desempeño muy similar al origen óptimo. Por otra parte, en otros dos sitios de ensayo (BAZ y GUD), la estrategia de origen óptimo superó a la local y se comportó de manera similar a las otras estrategias consideradas (Figura 22). La estrategia de origen ajustado se comportó mejor que los otros dos métodos basados en la combinación de procedencias (o. compuesto y o. proporcional) proporcionando una altura media mayor y una varianza similar en las estimaciones.

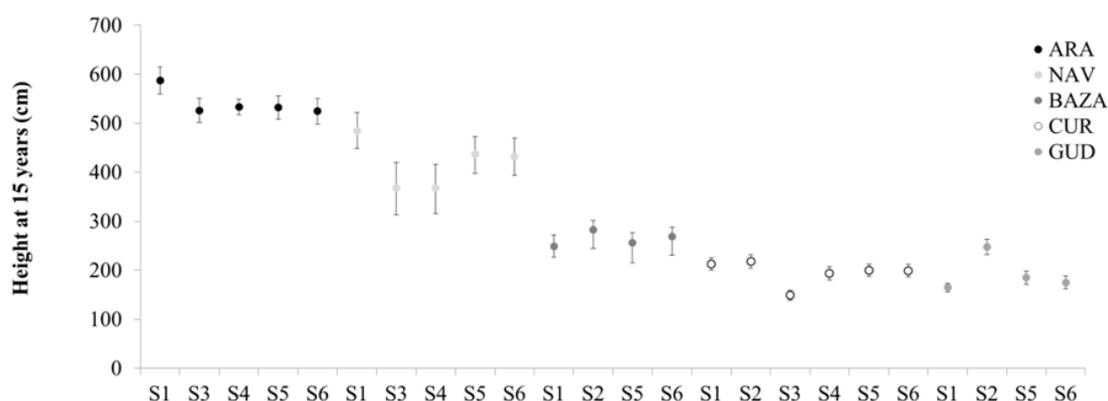


Figura 22: Valores para los diferentes escenarios de la Altura a los 15 años en los diferentes sitios. Código para los escenarios de abastecimiento de semillas, S1: Local, S2: Optimo, S3: Predictivo, S4: Ajustado, S45: Compuesto, S6: Proporcional

#### 4.4.3.- Discusión Específica

En este trabajo se analiza por primera vez diferentes estrategias de fuente de semilla bajo un escenario de cambio climático en pino silvestre utilizando información de ensayos de procedencia multi-sitio. La edad de evaluación (15 años después de la plantación) es un período adecuado para que el material se aclimate a las condiciones locales de cada sitio de ensayo. Los resultados también indican la estabilidad de la estimación a través de los años, y también la alta correlación entre los rasgos considerados. Estos rasgos son importantes para estimar la producción y futura adaptación de la especie y, por lo tanto, son fundamentales en la elección de los orígenes de la semilla en los programas de forestación y restauración forestal.

La interpretación de los resultados debe considerar diferentes aspectos del estudio, relacionados con el tipo de adaptación / aclimatación evaluada, es decir, la plasticidad fenotípica. Asimismo, se debe tener en cuenta el período de evaluación y su relación con los cambios climáticos esperados en el futuro, el área de estudio y la influencia de los tamaños de muestra en la estimación de las estrategias de abastecimiento de semillas.

La plasticidad fenotípica es el proceso principalmente relacionado con la respuesta futura de la especie a diferentes condiciones climáticas cuando las plantas ya están establecidas en experimentos de condiciones comunes. Los resultados indican la existencia de un efecto significativo del sitio para todos los rasgos considerados, un efecto procedencia e interacción sitio x procedencia significativa para la altura y el diámetro, pero no para la supervivencia. Esto está de acuerdo con resultados previos publicados con el mismo material a los 5 años (Alía

et al. 2001b). Estos resultados confirman la importancia de la plasticidad fenotípica en los rasgos de crecimiento. Es decir, la aclimatación a las condiciones del lugar a nivel de especie en su conjunto, pero también las diferencias en la plasticidad fenotípica a nivel de procedencia (Chambel et al. 2005).

Un segundo aspecto de adaptación relacionado con la supervivencia de árboles mejor adaptados, es de menor importancia en este estudio. Debemos tener en cuenta que la mortalidad, como en la mayoría de los ensayos de procedencia, se redujo artificialmente mediante la plantación de brinzales sanos cultivados en vivero y, por lo tanto, diluyendo cualquier efecto de selección en etapas muy tempranas de desarrollo (1-2 años). La mortalidad en esta etapa ha sido reducida artificialmente, ya que en los ensayos de procedencias interesa la evaluación de plantas establecidas durante la duración del ensayo. En primer lugar, la proporción de árboles supervivientes en los diferentes sitios, difirió entre ellos, con valores cercanos a 0.44 en uno de los sitios (GUD), y cercanos a 0.90 en los otros sitios. Por lo tanto, la intensidad de la selección es demasiado baja, en comparación con la observada en la etapa de plántula en algunas coníferas (Vizcaíno-Palomar et al. 2014) y también en los programas de selección artificial de la especie (Mullin y Lee 2013), como para esperar una adaptación futura significativa. En segundo lugar, la selección natural operará dentro de las poblaciones, donde la variación genética existente (variación genética intra-población para las estrategias basadas en una población, o una combinación de variación genética entre y dentro de la población para las estrategias basadas en la mezcla de diferentes poblaciones) considerará esos niveles de variación (Aitken et al. 2008; Chevin et al. 2010, 2012; Alberto et al. 2013), que son bastante importantes en el pino silvestre (Bastien y Alía 2000). Los efectos de esta selección se observarían en una segunda generación a partir del material establecido en los sitios. En el pino silvestre, este período es de alrededor de 120 años en el área de estudio (Rojo-Alboreca et al. 2017), similar al escenario climático más lejano pronosticado (2100). Y en tercer lugar, debido a que no hay diferencias entre las procedencias en la supervivencia (no hubo sesgo en la selección de procedencias debido a la mortalidad), las estrategias de fuente de semilla no dependerán de estas diferencias para la futura adaptación de esta especie en su área de distribución más meridional.

Aunque el objetivo temporal de este trabajo comparando orígenes de semilla se ha planificado para 2050 es de destacar que para el próximo siglo no existiría ninguna procedencia adecuada si el cambio climático sigue el escenario de altas emisiones. Esta situación tendría implicaciones severas para la conservación de los recursos genéticos y negativas consecuencias no sólo para la especie sino para una concepción mayor de la biodiversidad al perderse un elemento calve del hábitat forestal

El pino silvestre tiene un patrón de variación diferente en su límite norte de distribución, donde se ha detectado un patrón clinal para rasgos neutrales y adaptativos, en comparación con el límite meridional de distribución en España, donde las poblaciones están muy fragmentadas y la deriva genética puede haber jugado un papel importante en la distribución de la variación neutra y adaptativa (Robledo-Arnuncio et al. 2005; Notivol et al. 2007; Soto et al. 2010). Estos patrones contrastantes influyen en las recomendaciones de transferencia de semillas. En países del norte de Europa como Suecia y Finlandia, se ha sugerido un movimiento de semillas desde el sur hacia el norte con base en el resultado futuro (Berlin et al. 2016; Berlin

2019). En España, sin embargo, esta estrategia no se recomienda ya que las procedencias locales sólo están mostrando los mejores resultados en las áreas donde se cumplen las condiciones para la adaptación local (Leimu y Fischer 2008). Estos son sitios ARA y NAV donde se detectan grandes tamaños de población y un flujo genético extenso (Robledo-Arnuncio et al. 2004b) en contraste con otras poblaciones marginales donde la deriva genética podría haber jugado un papel importante (Robledo-Arnuncio et al. 2004a; Robledo-Arnuncio y Gil 2005). Así, la estrategia de origen local es superior a los otros métodos en sólo dos de los sitios.

La propuesta del origen óptimo se basa en la elección de la procedencia con mejor comportamiento (sin ser la local) y, por lo tanto, se basa en los resultados ya disponibles. Este es el método más utilizado basado en los ensayos de procedencia. Por definición, este método siempre proporcionará los mejores resultados, a veces junto con otras estrategias de fuente única como local o predictivo. Sin embargo, existen dos grandes inconvenientes que limitan su aplicación práctica. Primero, como no se sabe a priori qué procedencia será la mejor en cada sitio de forestación o restauración en particular, los ensayos de procedencia con un conjunto completo de procedencias deben replicarse ampliamente. En segundo lugar, se trata de un método post hoc, para el que se necesitan datos fenotípicos recopilados varios años después de la plantación.

Los métodos de fuente de semilla basados en las predicciones del clima se comportan de manera intermedia en comparación con los de origen local / óptimo. Los efectos previstos del cambio climático sobre la especie en la península ibérica incluyen un aumento tanto del crecimiento como de la mortalidad de los árboles (Benito-Garzón et al. 2013). Al considerar la variación intrapoblacional, los modelos basados en datos indican que las poblaciones de *P. sylvestris* del sur de España tendrían una mayor supervivencia relativa en los territorios del norte (que serán más cálidos) en escenarios climáticos futuros que en las condiciones actuales, y las poblaciones de *P. sylvestris* del norte de la Cordillera Ibérica tendrían la mayor disminución en el área de distribución y la menor supervivencia (Garzón et al. 2011). Los ensayos de procedencia se han medido durante el período 1995-2005, donde los climas en los diferentes sitios han seguido la tendencia esperada en los escenarios de cambio climático (Tabla 20). Sin embargo, estos cambios son aún pequeños en comparación con los pronosticados en el período hasta el 2100 y, por lo tanto, podemos esperar una subestimación de los resultados con estos dos métodos.

Las estrategias de origen compuesto, proporcional y ajustado se han sugerido en el contexto de un cambio climático rápido (Prober et al. 2015), pero esto no se ha probado con otros métodos (Byrne et al. 2013). Este es el primer intento de probar diferentes estrategias de fuente de semilla utilizando datos experimentales en una especie forestal arbórea. Se espera una mayor variación en los rasgos, como un proxy de la variación genética existente. Los resultados sugieren que la combinación de diferentes fuentes de semilla no proporciona una ventaja clara a los métodos basados en una sola población. Otro aspecto no considerado en este estudio es la posibilidad de combinación de alelos de diferentes poblaciones para producir nuevas combinaciones para que ocurra la selección natural. Sin embargo, es probable que se produzca alguna depresión exógena como resultado de estas nuevas combinaciones (Unger et al. 2016; Robledo-Arnuncio y Unger 2018). Por lo tanto, se deben tomar con

precaución estos resultados, ya que el contexto (estimación temprana en el escenario de cambio climático, variación no significativa entre las procedencias en la supervivencia) puede obstaculizar algunas de las ventajas de estos métodos propuestos por diferentes autores (Breed et al. 2013; Thomas et al. 2014; Havens et al. 2015; Bucharova et al. 2019; Kramer et al. 2019). Estos métodos pueden tener también algunos riesgos en la conservación de los recursos genéticos de la especie a largo plazo (Koskela et al. 2013) y por lo tanto se necesitarán mostrar claras ventajas sobre los métodos tradicionales para implementar a escala operativa en condiciones como las probadas en este trabajo.



## 5.- DISCUSIÓN GENERAL

Los bosques son, han sido y serán un componente básico del planeta e imprescindibles para el desarrollo no sólo de la especie humana sino del conjunto de la biosfera, cubren aproximadamente el 30 % de la superficie de la Tierra (FAO 2010). Por ello siempre ha existido de una manera u otra una preocupación por el mantenimiento y uso sostenible de los bienes y servicios que proveen. Esta preocupación se ha acentuado en las últimas décadas por las crecientes amenazas que sufre el patrimonio forestal por los cambios de uso del suelo, cambio climático, sobreexplotación, desastres naturales, fenómenos extremos y otros riesgos derivados de la acción antrópica. En particular el cambio global requiere medidas que mejoren la resiliencia de los bosques y herramientas que ayuden en la gestión forestal a perpetuar las masas, principio básico de la silvicultura. Por fortuna ya existen recomendaciones y guías de gestión forestal que incluyen la diversidad (Lindner 2000) entre sus escenarios para una gestión adaptativa.

La gestión forestal es un instrumento clave en la conservación y el uso sostenible de los recursos genéticos forestales, tal y como se reconoce en sucesivas resoluciones de las Conferencias Ministeriales de Protección de Bosques, o en la Estrategia Forestal Europea (1998). A través de la silvicultura, las repoblaciones y restauraciones forestales, entre otras, se incide directamente sobre los efectivos de una población, y se favorece la conexión entre poblaciones. Esta aportación e intercambio de genes tendrá sus consecuencias en la composición genética del regenerado cuando los individuos alcancen la edad reproductora. Pero también, para la gestión forestal sostenible *Forest Europe* incluye una serie de criterios e indicadores, entre los cuales se encuadra uno sobre los recursos genéticos forestales. Estos indicadores, a nivel nacional, permiten ver el progreso realizado por los países a intervalos regulares de evaluación (Lefèvre et al. 2020).

La actualización de estos indicadores se basan tanto en los progresos derivados del Programa Europeo de Conservación de los Recursos Genéticos Forestales EUFORGEN (de Vries et al. 2015), como de los indicadores relacionados con el uso de material forestal de reproducción, todo ellos implementado en un sistema de información geográfica destinado a la conservación de los recursos genéticos forestales EUFGIS («EUFGIS» s. f.; Lefèvre et al. 2013). La especie objeto de estudio, pertenece al listado de las más importantes del Programa y ha sido evaluada la situación de su conservación genética mediante una serie de indicadores (Lefèvre et al. 2020), resultando en un nivel destacado (Figura 23) así como en el esfuerzo realizado en su conservación a nivel pan-europeo (Figura 24)

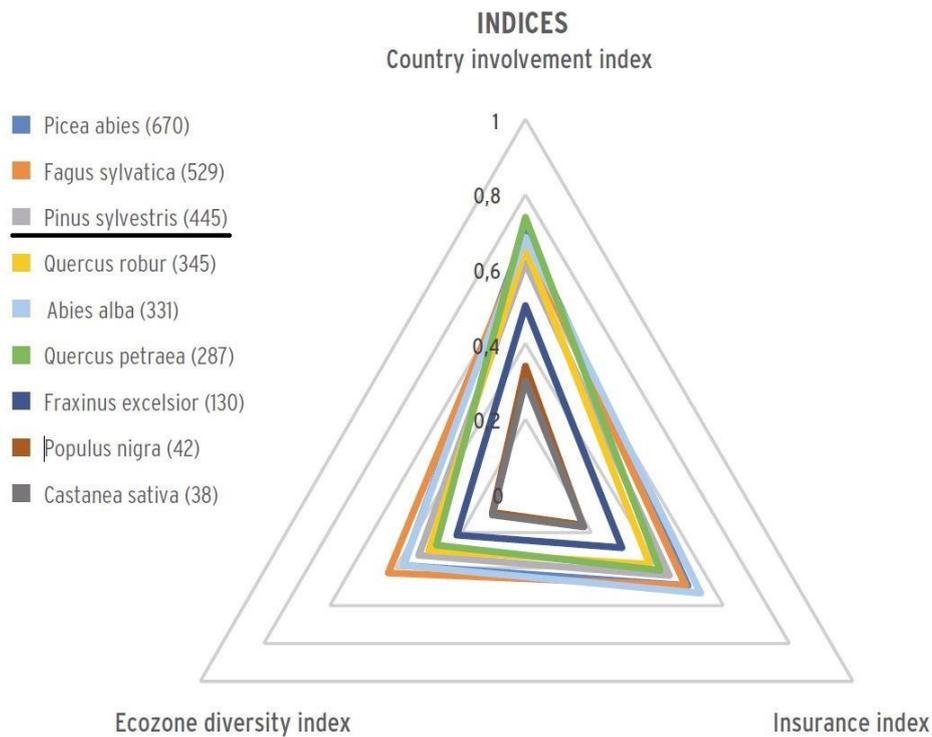


Figura 23: Radar de indicadores de conservación genética

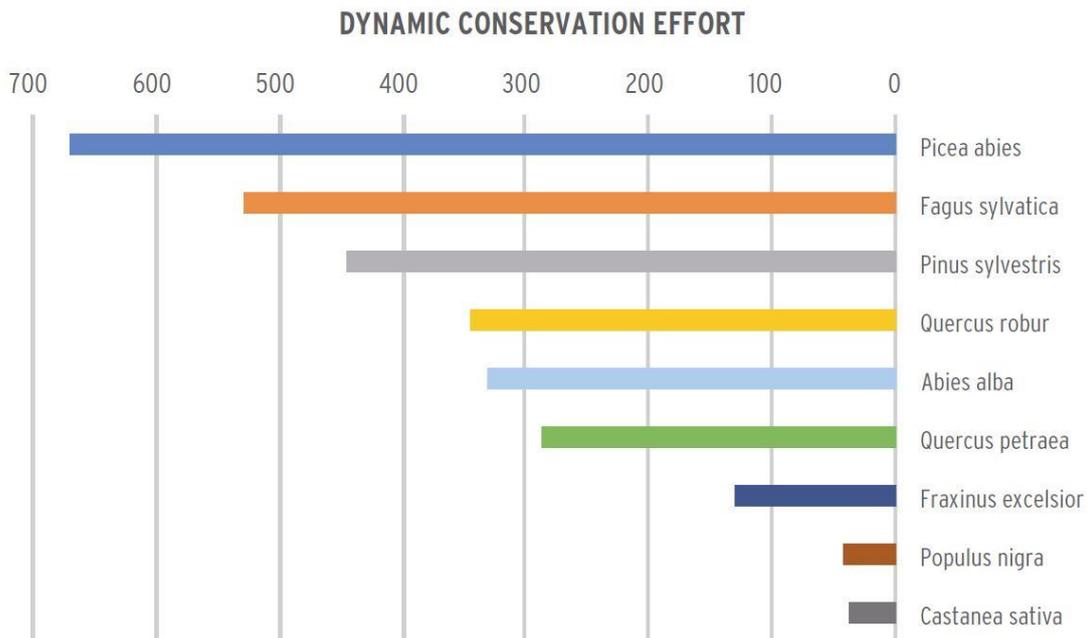


Figura 24: Esfuerzo en la conservación dinámica de especies forestales a nivel pan-europeo

Otros indicadores a nivel de gestión pueden ser considerados, teniendo en cuenta la escala espacial y temporal de la gestión forestal. En este sentido, los recursos genéticos forestales tienen una importancia elevada en actuaciones relacionadas con la práctica forestal como la silvicultura, el uso de los materiales forestales de reproducción en repoblaciones o en los procesos de regeneración natural.

Las prácticas selvícolas deberían tener en cuenta el tamaño de la población, la biología reproductiva y tasa de crecimiento de la especie para asegurar que la diversidad genética y los procesos evolutivos se mantienen en las poblaciones forestales (Ratnam et al. 2014). Los resultados obtenidos en esta tesis, indican como dentro de las poblaciones existe una alta diversidad genética para los caracteres relacionados con la fenología del crecimiento, y que esta diversidad constituye el principal mecanismo para la adaptación *in situ* de estas poblaciones frente a futuras condiciones de cambio climático (Aitken et al. 2008; Alberto et al. 2013). Este trabajo muestra que existe una elevada varianza genética aditiva para muchos caracteres, indicando que la varianza genética aditiva no sería el factor limitante para la adaptación a un nuevo óptimo, al menos para estos caracteres y poblaciones. Sin embargo también se aprecia que existen correlaciones entre el crecimiento y algunos componentes de la fenología, lo que puede comprometer esta evolución. A pesar de todo, la plasticidad fenotípica detectada, indica la resiliencia de estas poblaciones frente a la posible gestión forestal.

El uso de material vegetal genéticamente variable y adecuado en las labores de reforestación y restauración es una herramienta clave para conseguir este objetivo, ya que está relacionado con la adaptación futura del bosque a implantar o mantener. La mayoría de las variables muestran una fuerte adaptación local, indicando que la transferencia de semillas a largas distancias tiene que ser realizada con mucha precaución porque puede producir efectos dramáticos y serios fracasos. Una cuestión importante es la utilización de semillas procedentes de otras poblaciones a usar en repoblaciones. La adaptación de pino silvestre al clima local está bien documentada (Vaartaja 1959; Eiche 1966; Giertych y Mátyás 1991; Koski 2000; Alía et al. 2001b). Se sabe que la transferencia de semilla hacia el norte o hacia altitudes mayores repercute en un incremento de la mortalidad. El movimiento hacia el sur conduce a un incremento de la supervivencia y el crecimiento, aunque estos árboles se encuentran aún en desventaja respecto de las procedencias locales (Eriksson et al. 1980; Partanen and Beuker, E. 1999). La adaptación a condiciones locales también se ha observado en ensayos de procedencias basados en el tiempo de formación de la yema y resistencia al frío (Mikola 1982; Aho 1994; Hurme et al. 1997; García-Gil et al. 2003), en los que las poblaciones finlandesas mostraron resultados muy diferentes para la fecha de formación de yema en plantas de un año.

Los resultados obtenidos permiten identificar patrones de variación de la especie en caracteres relacionadas con la fenología del crecimiento que están muy relacionados con las variaciones estacionales e interanuales en las condiciones ambientales. Este resultado es de gran transcendencia debido a las implicaciones bajo escenarios futuros de cambio climático, donde, de acuerdo con el Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático, se esperan incrementos de temperatura, con mayores oscilaciones térmicas, y cambios en los patrones de precipitación ambiental (IPCC 2014). Esto permite asegurar que las poblaciones actuales no estarán probablemente adaptadas a estas futuras condiciones, y que en general, no existen poblaciones que pudiesen ser utilizadas en programas de migración asistida. Las conclusiones obtenidas en el Apartado 4.4 de esta memoria apoyan estos resultados.

El crecimiento en altura de los árboles es una de las variables más usadas en el sector forestal por responder adecuadamente a las cuestiones relacionadas con los servicios ecosistémicos que se esperan de los bosques en general y de los árboles en particular. La mayoría de los aspectos relacionados con la producción de bienes encuentran en la altura y su crecimiento maneras de ser cuantificados. Para los servicios protectores del suelo e hidrológicos igualmente mediante parámetros dasométricos relacionados con la altura se clasifican las masas. En cuanto a los servicios de depuración de la atmósfera (fijación de CO<sub>2</sub>) y del medio, también la altura, como componente básico del volumen, también responde a su cuantificación. Avanzando en otros servicios como conservación de la biodiversidad, soporte de ecosistemas y función social-recreativa, de igual forma, la altura es una herramienta que ayuda a caracterizar muy adecuadamente estos aspectos funcionales.

Pero no sólo desde un punto de vista como elemento clave en la estimación de servicios sino que desde una visión intrínseca de caracterización e identificación propia de los bosques y árboles la altura y su crecimiento se muestran muy bien posicionados como descriptores del estado y potencialidad.

Por ello, ante la mayoría de cualquiera de los planteamientos en el campo forestal, en su sentido más amplio, se contempla la altura y sus procesos como un elemento fundamental.

Un tercer campo de actuación relacionado con los resultados obtenidos en esta tesis, está ligado con la conservación de la diversidad genética de la especie.

La diversidad genética es un componente esencial para asegurar el potencial evolutivo de las poblaciones a futuros cambios climáticos (Rehfeldt et al. 1999; Savolainen et al. 2004) y por tanto asegurar su conservación así como la del ecosistema en el que se encuentra. Esto es más importante en especies clave, como la mayoría de las especies forestales, que juegan un papel esencial tanto en la diversidad genética del ecosistema como en su estabilidad y resiliencia. La diversidad genética es un componente esencial de la Biodiversidad y la importancia de su existencia es fundamental (Ratnam et al. 2014), ya que es la base de la capacidad de adaptación de las especies ante cambios ambientales, así como un requisito imprescindible para establecer programas de mejora.

Por ello, todo avance en el conocimiento de la diversidad genética y, en particular en caracteres tan importantes como la altura por su carácter descriptivo y adaptativo, son necesarios tanto para progresar en la producción de bienes, avanzando en los criterios de selección en mejora genética como en el conocimiento de los patrones de variación de la diversidad para su uso sostenible y conservación.

Para asegurar la conservación y uso sostenible de la diversidad genética se creó el Programa Europeo de Conservación de Recursos Genéticos Forestales (EUFORGEN) como un instrumento voluntario establecido por la Resolución S2 de Estrasburgo. Este Programa está operativo desde 1992 y ha permitido avanzar en la definición de metodologías de conservación. La aplicación de este Programa se ha desarrollado en España a partir de la Estrategia de Conservación y Uso Sostenible de los Recursos Genéticos Forestales (MIMAM 2006).

Este trabajo demuestra que las procedencias de pino silvestre difieren en las características relacionadas con la fenología del crecimiento, y que el patrón de variación está asociado al clima, pero también a la distribución de la especie. Este resultado tiene gran importancia para la delimitación de Unidades de Conservación Genética, que cubran todo el rango de variación adaptativa de la especie en el rango más meridional de su distribución dentro de las actividades del Programa Europeo EUFORGEN (Lefèvre et al. 2013; Koskela et al. 2013).

Dentro del Programa Europeo de Conservación de los Recursos Genéticos Forestales EUFORGEN, la conservación dinámica (de Vries et al. 2015) a partir de Unidades de Conservación *in situ* cobra un papel relevante con el establecimiento de un sistema de información geográfica destinado a la conservación de los recursos genéticos forestales EUFGIS («EUFGIS» s. f.; Lefèvre et al. 2013). En la Figura 25 ofrecida por el citado portal, se pueden ver las Unidades definidas y propuestas en España para la conservación de los recursos genéticos de la especie.

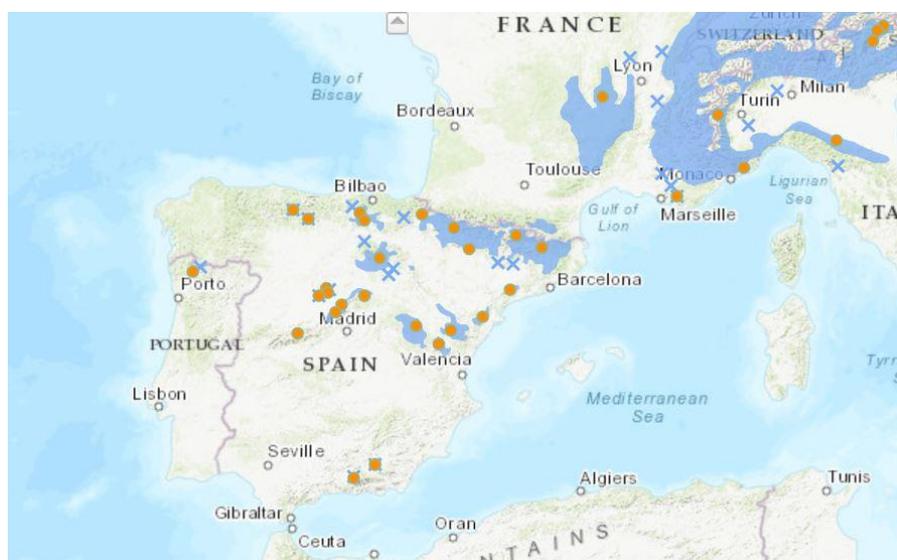


Figura 25: Unidades genéticas de conservación de *Pinus sylvestris* en España

La gran variación dentro de las procedencias nos señala que estas unidades podrían permitir mantener la capacidad adaptativa de las poblaciones a futuras condiciones, vía adaptación *in situ* (Aitken et al. 2008; Alberto et al. 2013). Sin embargo, no sabemos hasta qué punto los caracteres de estudio están integrados, dejando un menor grado de libertad a la selección para producir materiales mejor adaptados. Esta cuestión tiene gran trascendencia y ha sido analizada con detalle en el Apartado 4.3 de esta memoria.

Sin embargo, no debemos olvidar que el objetivo final es la integración de la conservación de los recursos genéticos dentro de las actividades de la gestión forestal. Para ello, la Estrategia de Conservación y Uso Sostenible de los Recursos Genéticos Forestales (MIMAM 2006) contempla el desarrollo de distintas herramientas y medidas para conseguir unos objetivos y prioridades, entre ellas la investigación con el apoyo a determinadas líneas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Líneas de investigación propugnadas como herramienta en la ECRGF española.

- 1) Estudio de la estructura de la diversidad genética en caracteres adaptativos y neutrales, utilizando aproximaciones multidisciplinarias que incluyan el uso de marcadores moleculares y secuencias de ADN, marcadores fisiológicos, morfológicos, etc. Se debe prestar especial atención, por la necesidad de coordinación, a los ensayos comparativos en condiciones contrastadas.
- 2) Estudio de la diversidad genética dentro de las poblaciones y de los factores que la determinan (variación genética aditiva, tamaño efectivo, flujo genético, etc.) en poblaciones de especies amenazadas (p. ej., tejo, pinsapo) o en poblaciones de tamaño reducido y distribución dispersa (p. ej., algunas frondosas nobles en el bosque caducifolio, endemismos insulares).
- 3) Aplicación de nuevas tecnologías para la evaluación y seguimiento de los RGF y su estado de conservación.
- 4) Diseño, eficacia e implementación de estrategias de mejora (p. ej. gestión de huertos semilleros, cruzamientos controlados, manejo de sublíneas, etc.).
- 5) Adaptabilidad de los recursos genéticos frente al cambio global.
- 6) Uso de nuevas tecnologías para la inventariación y caracterización de materiales de base y de reproducción.
- 7) Métodos de evaluación temprana y en condiciones controladas de diversos caracteres (resistencia a frío, sequía, enfermedades, plagas, etc.).
- 8) Análisis de las bases moleculares de caracteres adaptativos complejos.
- 9) Sistemas de reproducción y regeneración natural de especies forestales.
- 10) Efectos de la fragmentación y el cambio climático.
- 11) Potencial evolutivo de las poblaciones seleccionadas como materiales de reproducción.
- 12) Eficacia de las estrategias de conservación de RGF.
- 13) Técnicas de reproducción de especies forestales.
- 14) Estrategias específicas para especies amenazadas y/o endémicas.

Se puede comprobar que los estudios de variación en procedencias como el presentado responden a una amplia selección de las líneas recogidas, y principalmente en las 1, 2, 4, 7, 11, 12 y 14.

El estudio de la diversidad genética ha sido abordado en un carácter adaptativo como es la altura en ensayos comparativos en condiciones contrastadas en ensayos de procedencia multisitio. Se han calculado valores de variación genética aditiva y se han discutido en referencia a las situaciones geográficas y ambientales, considerando y comparando, entre otras, poblaciones de tamaño reducido. Se han utilizado diseños experimentales y técnicas estadísticas avanzadas en el estudio de variación del ritmo de crecimiento que facilitan las labores de selección en programas y estructuras de mejora. Se han utilizado métodos de selección y caracterización temprana en un invernadero con condiciones controladas. Se ha analizado el potencial evolutivo de las poblaciones estudiadas con base en la variación genética aditiva para ser utilizadas como material forestal de reproducción bajo hipótesis de cambio climático. Diferentes estrategias de fuente de semilla han sido analizadas para mantener las poblaciones existentes y se han recomendado metodologías que contemplen la plasticidad fenotípica en casos particulares. Y finalmente se han destacado, a partir de la información generada las poblaciones más amenazadas y que puedan requerir de estrategias específicas de evacuación o conservación *ex situ*.

El conjunto de resultados de estas líneas de investigación desarrolladas, permiten establecer unas bases para la conservación de los recursos genéticos forestales de *Pinus sylvestris* L. en España.



## 6.- CONCLUSIONES

1.- El crecimiento primario de brinzales de un año de *Pinus sylvestris* L., caracterizado mediante variables descriptoras de su ritmo, tiene un control genético marcado y las poblaciones de la especie se diferencian entre sí, evidenciando una selección adaptativa y potencial para la adaptación in situ.

2.- La varianza genética aditiva no es un factor limitante para la adaptación a nuevos óptimos, aunque no se puedan definir patrones generales de variación en las varianzas genéticas aditivas de los caracteres del ritmo crecimiento primario.

3.- La plasticidad fenotípica para estos caracteres tiene gran relevancia que se manifiesta más entre años que entre sitios como mecanismo adaptativo a los cambios del ambiente. Los patrones fenotípicos de variación en caracteres relacionados con la fenología del crecimiento están muy ligados con las variaciones estacionales e interanuales en las condiciones climáticas.

4.- La tasa de crecimiento tiene un componente causal siempre superior al de la duración del crecimiento, y de forma general una correlación negativa entre ambas. Ambas contribuciones son muy variables entre procedencias, sitios de ensayo y años, así como las relaciones existentes entre ellas tanto entre procedencias como dentro de ellas, siendo mayor la contribución entre procedencias de la tasa que de la duración del crecimiento.

5.- Las relaciones entre los componentes causales del crecimiento primario, tasa y duración, muestran una capacidad compensatoria de los componentes a través de una plasticidad fenotípica modulada genéticamente como respuestas a variaciones del ambiente. La correlación entre tasa y duración dentro de procedencias es mayor que entre ellas, probablemente causada por una selección estabilizadora en la tasa de crecimiento.

6.- En especies forestales como *Pinus sylvestris* L., en el límite occidente-meridional de su distribución, con altos niveles de variabilidad intrapoblacional y baja variación interpoblacional, los métodos basados en la elección de una población (local o de óptimo comportamiento) proporcionan un mejor resultado (media y varianza en altura y diámetro), en comparación con los métodos basados en las expectativas teóricas de estrategias de obtención de semilla, basados en similitudes climáticas previstas o de combinación de procedencias.

7.- La estrategia de conservación y uso sostenible de los recursos genéticos, mediante la selección de procedencias para su uso en repoblaciones y la definición de unidades de conservación genética, puede ser favorecida con el conocimiento del ritmo de crecimiento primario

8.- La adaptación local no es general en todas las poblaciones de Pino silvestre. Otros métodos de elección se pueden plantear en escenarios de cambio climático, aunque en los límites de distribución de las especies, el método de origen de semilla ajustado al clima podría no ser adecuado debido a la ausencia de poblaciones que sigan el gradiente climático previsto. Las mezclas de orígenes no se demuestran eficaces en las condiciones ensayadas para aumentar la resiliencia frente al cambio climático.

9. Las estrategias de conservación y uso sostenible de *Pinus sylvestris* L. pueden beneficiarse de estos estudios al permitir la elección de poblaciones para reforestación más adaptadas a las condiciones actuales y futuras, caracterizar las poblaciones para su conservación genética, y permitir estimar su potencial adaptativo como mecanismo de gestión de las unidades de conservación de la especie.

## 7.- BIBLIOGRAFIA

- Aho, M.L. 1994. Autumn frost hardening of one-year-old *Pinus sylvestris* (L.) seedlings: effect of origin and parent trees. *Scan. J. For. Res.* **9**: 17-24.
- Aitken, S.N., Yeaman, S., Holliday, J. a., Wang, T., y Curtis-McLane, S. 2008. Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evol. Appl.* **1**(1): 95-111. Wiley Online Library. doi:10.1111/j.1752-4571.2007.00013.x.
- Alberto, F.J., Aitken, S.N., Alía, R., González-Martínez, S.C., Hänninen, H., Kremer, A., Lefèvre, F., Lenormand, T., Yeaman, S., Whetten, R., Savolainen, O., Alia, R., Gonzalez-Martinez, S.C., Hanninen, H., Kremer, A., Lefevre, F., Lenormand, T., Yeaman, S., Whetten, R., y Savolainen, O. 2013. Potential for evolutionary responses to climate change - evidence from tree populations. *Glob Chang Biol* **19**(6): 1645-1661. doi:10.1111/gcb.12181.
- Alía, R., Alba, N., Chambel, M.R., Barba, D., y Iglesias, S. 2009a. Genetic quality of forest reproductive materials in Land restoration programmes. *En Innovative approaches in forest restoration. Editado por* V.R. Vallejo, S. Bautista, y J. Aaronson. CEAM, Valencia. pp. 89-103.
- Alía, R., Garcia del Barrio, J.M., Iglesias, S., Mancha, J.A., de Miguel, J., Nicolás, J.L., Pérez, F., y Sánchez de Ron, D. 2009b. Regiones de procedencia de especies forestales de España. O.A. Parques Nacionales, Madrid, Spain.
- Alía, R., Gómez, A., Agúndez, D., Notivol, E., Bueno, M.A., MullerStarck, G., Schubert, R., Alia, R., Gomez, A., Agundez, M.D., Bueno, M.A., y Notivol, E. 2001a. Levels of genetic differentiation in *Pinus halepensis* Mill. in Spain using quantitative traits, isozymes, RAPDs and cp-microsatellites. *Editado por* G. Muller-Starck y R. Schubert. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London. pp. 151-160.
- Alía, R., Moro-Serrano, J., Notivol, E., Alia, R., Moro-serrano, J., Notivol, E., Moro, J., Notivol, E., y Moro-serrano, J. 2001b. Genetic variability of Scots pine (*Pinus sylvestris*) provenances in Spain: Growth traits and survival. *Silva Fenn.* **35**(1): 27-38.
- Avery, P.J., y Hill, W.G. 1977. Variability in genetic parameters among small populations. *Genet. Res.* **29**(3): 193-213. doi:10.1017/S0016672300017286.
- Barton, N.H. 1999. Clines in polygenic traits. *Genet. Res.* **74**: 223-236.
- Barton, N.H., y Turelli, M. 1989. Evolutionary quantitative genetics: how little do we know? *Annu. Rev. Genet.* **23**: 337-370.
- Bastien, C., y Alía, R. 2000. What might be useful measures of genetic variability for adaptive traits within populations of Scots pine? *Inv Agrar Sist y Rec* **FS**(1): 97-110.
- Benito-Garzón, M., Ruiz-Benito, P., y Zavala, M.A. 2013. Interspecific differences in tree growth and mortality responses to environmental drivers determine potential species distributional limits in Iberian forests. *Glob. Ecol. Biogeogr.*: n/a-n/a. doi:10.1111/geb.12075.
- Berlin, M. 2019. Planter's guide - a joint decision support tool for Scots pine plant material in Sweden and Finland. Available a partir de <https://www.skogforsk.se/english/news/2019/common-scots-pine-deployment-recommendations-for-sweden-and-finland>.

- Berlin, M., Persson, T., Jansson, G., Haapanen, M., Ruotsalainen, S., Barring, L., y Gull, B.A. 2016. Scots pine transfer effect models for growth and survival in Sweden and Finland. *Silva Fenn.* **50**(3): 1-21. doi:10.14214/sf.1562.
- Beuker, E. 1994. Long-term effects of temperature on the wood production of *Pinus sylvestris* L. and of *Picea abies* (L.) in old provenance experiments. *Scand. J. For. Res.* **9**: 34-45.
- Blake, T.J., y Yeatman, C.W. 1989. Water relations, gas-exchange, and early growth rates outcrossed and selfed *Pinus banksiana* families. *Can. J. For. Res.* **67**: 1618-1623.
- Bongarten, B. 1986. Relationships between shoot length and shoot length components in Douglas-fir and blue spruce. *Can. J. For. Res.* **16**: 373-380.
- Boyer, W.D. 1969. Shoot growth patterns of young loblolly pine. *For. Sci.* **16**(4): 472-482.
- Breed, M.F., Stead, M.G., Ottewell, K.M., Gardner, M.G., y Lowe, A.J. 2013. Which provenance and where? Seed sourcing strategies for revegetation in a changing environment. *Conserv. Genet.* **14**(1): 1-10. doi:10.1007/s10592-012-0425-z.
- Broadhurst, L.M., Lowe, A., Coates, D.J., Cunningham, S.A., McDonald, M., Vesk, P.A., y Yates, C. 2008. Seed supply for broadscale restoration: Maximizing evolutionary potential. *Evol. Appl.* **1**(4): 587-597. doi:10.1111/j.1752-4571.2008.00045.x.
- Bucharova, A., Bossdorf, O., Hölzel, N., Kollmann, J., Prasse, R., y Durka, W. 2019. Mix and match: regional admixture provenancing strikes a balance among different seed-sourcing strategies for ecological restoration. *Conserv. Genet.* **20**(1): 7-17. Springer Netherlands. doi:10.1007/s10592-018-1067-6.
- Byrne, M., Division, D.E.C.S., Prober, S., y Mclean, E. 2013. Climate-resilient revegetation of multi-use landscapes : adaptation to climate in widespread eucalypt species. Gold Coast.
- Campos, P., Caparrós, A., Oviedo, J.L., Ovando, P., Álvarez-farizo, B., Díaz-balteiro, L., Carranza, J., Beguería, S., Díaz, M., Herruzo, A.C., Martínez-peña, F., Soliño, M., Álvarez, A., Martínez-jauregui, M., Pasalodos-tato, M., Frutos, P. De, Aldea, J., Almazán, E., Concepción, E.D., Mesa, B., Romero, C., Serrano-notivoli, R., Fernández, C., Torres-porras, J., y Montero, G. 2019. Bridging the Gap Between National and Ecosystem Accounting Application in Andalusian Forests , Spain. *Ecol. Econ.* **157**(November 2018): 218-236. Elsevier. doi:10.1016/j.ecolecon.2018.11.017.
- Cannell, M., Thompson, S., y Lines, R. 1976. An analysis of inherent differences in shoot growth within some north temperate conifers. *En Tree Physiology and Yield Improvement. Editado por* M.G.R. Canell y F.T. Last. Academic Press, London. pp. 173–205.
- Cannell, M.G.R. 1978. Analysis of shoot apical growth of *Picea sitchensis* seedlings. *Ann. Bot.* **42**(6): 1291-1303. doi:10.1093/oxfordjournals.aob.a085575.
- Chambel, M.R., Climent, J.M., Alía, R., y Valladares, F. 2005. Phenotypic plasticity: a useful framework for understanding adaptation in forest species. *Investig. Agrar. Sist. y Recur. For.* **14**(3): 334-344.
- Chevin, L.-M., Collins, S., y Lefèvre, F. 2012. Phenotypic plasticity and evolutionary demographic responses to climate change: taking theory out to the field. *Funct. Ecol.* (2012). doi:10.1111/j.1365-2435.2012.02043.x.
- Chevin, L.M., Lande, R., y Mace, G.M. 2010. Adaptation, plasticity, and extinction in a changing

- environment: towards a predictive theory. *PLoS Biol* **8**(4): e1000357.  
doi:10.1371/journal.pbio.1000357.
- Chuine, I., Aitken, S.N., y Ying, C.C. 2001. Temperature thresholds of shoot elongation in provenances of *Pinus contorta*. *Can. J. For. Res.* **31**: 1444-1455.
- Clapham, D.H., Ekberg, I., Eriksson, G., Norell, L., y Vince-Prue, D. 2002. Requirement for far-red light to maintain secondary needle extension growth in northern but not southern populations of *Pinus sylvestris* (Scots pine). *Physiol. Plant.* **114**(2): 207-212.  
doi:10.1034/j.1399-3054.2002.1140206.x.
- Clapham, D.H., Kolukisaoglu, H.U., Larsson, C.T., Qamaruddin Ekberg, I., M., Wiegmann-Eirund, C., Schneider-Poetsch, H.A.W., y von Arnolds, S. 1999. Phytochrome types in *Picea* and *Pinus*. Expression patterns of PHYA-related types. *Plant Mol. Biol.* **40**: 669-678.
- Climent, J., Chambel, M.R., Alía, R., y Valladares, F. 2008. Plasticidad genotípica: un marco útil para entender la adaptación de las especies forestales. *For. Syst.* **14**(3): 334-344.
- Crow, J.F., y Nagylaki, T. 1976. The rate of change of a character correlated with fitness. *Amer. Natur.* **110**: 207-213.
- Draper, N.R., y Smith, H. 1998. *Applied Regression Analysis*. Wiley.  
doi:10.1002/9781118625590.
- Dvornyk, V., Sirviö, A., Mikkonen, M., y Savolainen, O. 2002. Low nucleotide diversity at the pall locus in the widely distributed *Pinus sylvestris*. *Mol. Biol. Evol.* **19**: 179-188.
- Eiche, V. 1966. Cold damage and plant mortality in experimental provenance plantations with Scots pine in northern Sweden. *Stud. For. Suec.* **36**: 1-218.
- Eriksson, G., Andersson, S., Eiche, V., Ifver, J., y Persson, A. 1980. Sverity index 15 and transfer effects on survival and volume production of *Pinus sylvestris* in 16 Northern Sweden. *Stud. For. Suec.* **156**(1053-1061).
- EUFGIS. (s. f.). Available a partir de <http://portal.eufgis.org/>.
- Falconer, D.S., y Mackay, T.F.C. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*. 4th ed. Prentice Hall, Harlow, U.K.
- FAO. 2010. *Global Forest Resources Assessment 2010*. FAO Forestry Paper No. 163. Rome, Italy.
- Fekedulegn, D., Mac Siurtain, M., y Colbert, J.J. 1999. Parameter estimation of nonlinear growth models in forestry. *Silva Fenn.* **33**(4): 327-336.
- Fick, S.E., y Hijmans, R.J. 2017. WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *Int. J. Climatol.* **37**(12): 4302-4315. doi:10.1002/joc.5086.
- Fréjaville, T., Vizcaíno-Palomar, N., Fady, B., Kremer, A., Benito Garzón, M., BenitoGarzón, M., Fady, B., y Kremer, A. 2020. Range margin populations show high climate adaptation lags in European trees. *Glob. Chang. Biol.* **26**(2): 484-495. Wiley-Blackwell.  
doi:10.1111/gcb.14881.
- García-Gil, M.R., Mikkonen, M., y Savolainen, O. 2003. Nucleotide diversity at two phytochrome loci along a latitudinal cline in *Pinus sylvestris*. *Mol. Ecol.* **12**: 1195-1206.

- Garzón, M.B., Alía, R., Robson, T.M., y Zavala, M.A. 2011. Intra-specific variability and plasticity influence potential tree species distributions under climate change. *Glob. Ecol. Biogeogr.* **20**: 766-778. doi:10.1111/j.1466-8238.2010.00646.x.
- Giertych, M., y Mátyás, C. 1991. *Genetics of Scots Pine*. Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York-Tokio.
- Gordo, O., y Sanz, J.J. 2009. Long-term temporal changes of plant phenology in the Western Mediterranean. *Glob. Chang. Biol.* **15**(8): 1930-1948. doi:10.1111/j.1365-2486.2009.01851.x.
- Gordo, O., y Sanz, J.J. 2010. Impact of climate change on plant phenology in Mediterranean ecosystems. *Glob. Chang. Biol.* **16**(3): 1082-1106. doi:10.1111/j.1365-2486.2009.02084.x.
- Gwaze, D., Bridgwater, F., y CG, W. 2002. Genetic analysis of growth curves for a woody perennial species, *Pinus taeda* L. *Theor. Appl. Genet.* **105**(4): 526-531.
- Hampe, A., y Petit, R.J. 2005. Conserving biodiversity under climate change : the rear edge matters. *Ecol. Lett.* **8**(5): 461-467. doi:10.1111/j.1461-0248.2005.00739.x.
- Harris, I., Osborn, T.J., Jones, P., y Lister, D. 2020. Version 4 of the CRU TS monthly high-resolution gridded multivariate climate dataset. *Sci. Data* **7**(1): 1-18. doi:10.1038/s41597-020-0453-3.
- Havens, K., Vitt, P., Still, S., Kramer, A.T., Fant, J.B., y Schatz, K. 2015. Seed Sourcing for Restoration in an Era of Climate Change. *Nat. Areas J.* **35**(1): 122-133. doi:10.3375/043.035.0116.
- Houle, D. 1992. Comparing evolvability and variability. *Genetics* **130**(1): 195-204.
- Howe, G.T., Gardner, G., Hackett, W.P., y Furnier, G.R. 1996. Phytochromes control 9 of short-day-induced bud set in black cottonwood. *Physiol Plant* **97**: 95-103.
- Hurme, P., Repo, T., Savolainen, O., y Paakkonen, T. 1997. Climatic adaptation of bud set and frost hardiness in Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Can. J. For. Res.* **27**(5): 716-723.
- IPCC. 2014. Cambio climático 2014: Informe de Síntesis. *En* Contribución de los Grupos de trabajo I,II y III al Quinto Informe de Evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático. *Editado Por* R.K. Pachauri y L.A. Meyer. IPCC, Ginebra, Suiza.
- Jayawickrama, K.J.S., McKeand, S.E., y Jett, J.B. 1998. Phenological variation in height and diameter growth in provenances and families of loblolly pine. *New For.* **16**: 11-25.
- John, J.A., y Williams, E.R. 1995. *Cyclic and computer generated designs*. *En* 2nd editio. Chapman and Hall, London.
- Karhu, A., Hurme, P., Karjalainen, M., Karvonen, P., Karkkainen, K., Neale, D., y Savolainen, O. 1996. Do molecular markers reflect patterns of differentiation in adaptive traits of conifers? *Theor. Appl. Genet.* **93**: 215-221.
- Kaya, Z., y Isik, F. 1997. The pattern of genetic variation in shoot growth of *Pinus brutia* Ten. populations sampled from the Toros Mountains in Turkey. *Silvae Genet.* **46**(2-3): 73-81.
- Kilpeläinen, A., Peltola, H., Rouvinen, I., y Kellomäki, S. 2006. Dynamics of daily height growth in Scots pine trees at elevated temperature and CO<sub>2</sub>. *Trees - Struct. Funct.* **20**(1): 16-27.

doi:10.1007/s00468-005-0008-4.

- Kiviste, A., Alvarez Gonzalez, J.G., Rojo Alboreca, A., y Ruiz Gonzalez, A.D. 2002. Funciones de crecimiento en el ámbito forestal. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (INIA), Madrid.
- Koskela, J. 2000. Early shoot and diameter growth in four *Pinus merkusii* populations from Thailand. *J. Trop. For. Sci.* **12**(4): 707-716.
- Koskela, J., Lefèvre, F., Schueler, S., Kraigher, H., Olrik, D.C., Hubert, J., Longauer, R., Bozzano, M., Yrjänä, L., Alizoti, P., Rotach, P., Vietto, L., Bordács, S., Myking, T., Eysteinson, T., Souvannavong, O., Fady, B., De Cuyper, B., Heinze, B., von Wühlisch, G., Ducouso, A., y Ditlevsen, B. 2013. Translating conservation genetics into management: Pan-European minimum requirements for dynamic conservation units of forest tree genetic diversity. *Biol. Conserv.* **157**: 39-49. doi:10.1016/j.biocon.2012.07.023.
- Koski, V. 2000. A note on genetic diversity in natural populations and cultivated stands of scots pine. *Investig. Agrar. Sist. y Recur. For.* **Fuera de s**: 89-95.
- Kramer, A.T., Crane, B., Downing, J., Hamrick, J.L., Havens, K., Highland, A., Jacobi, S.K., Kaye, T.N., Lonsdorf, E. V., Ramp Neale, J., Novy, A., Smouse, P.E., Tallamy, D.W., White, A., y Zeldin, J. 2019. Sourcing native plants to support ecosystem function in different planting contexts. *Restor. Ecol.* **27**(3): 470-476. doi:10.1111/rec.12931.
- Kremer, A. 1981. Déterminisme génétique de la croissance en hauteur du Pin maritime (*Pinus pinaster* Ait) III. - Evolution des composantes de la variance phénotypique et génotypique. *Ann. des Sci. For.* **38**(3): 355-375. doi:10.1051/forest:19810304.
- Kremer, A. 1984. Distribution of relative growth rates and variation of cytohistological zonation in apical meristems of seedlings of two contrasting open-pollinated jack pine (*Pinus banksiana*) families. *Can. J. For. Res.* **14**: 297-310.
- Kremer, A. 1985. Component analysis of height growth, compensation between components and seasonal stability of shoot elongation in maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) *Crop physiology of forest trees. En Crop physiology of forest trees.* pp. 203-218.
- Kremer, A. 1994. Diversité génétique et variabilité des caractères phénotypiques chez les arbres forestiers. *Genet. Sel. Evol.* **26**(Suppl. 1): 105-123. doi:10.1186/1297-9686-26-S1-S105.
- Kremer, A., y Larson, P.R. 1982. The relation between first-season bud morphology and second- season shoot morphology of jack pine seedlings. *Can. J. For. Res.* **12**: 893-904.
- Kremer, A., y Larson, P.R. 1983. Genetic control of height growth components in Jack pine seedlings ( *Pinus banksiana*).
- Kremer, A., y Lascoux, D.M. 1988. Genetic architecture of height growth in maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.).
- Kroon, J., Andersson, B., y Mullin, T.J. 2008. Genetic variation in the diameter-height relationship in Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Can. J. For. Res.* **38**(6): 1493-1503. doi:10.1139/X07-233.
- Lamy, J.B., Delzon, S., Bouche, P.S., Alia, R., Vendramin, G.G., Cochard, H., y Plomion, C. 2014. Limited genetic variability and phenotypic plasticity detected for cavitation resistance in a

- Mediterranean pine. *New Phytol.* **201**(3): 874-886. doi:10.1111/nph.12556.
- Lanner, R.M. 1976. Patterns of shoot development in *Pinus* and their relationship to growth potential. *En Tree Physiology and Yield Improvement. Editado por M.G.R. Canell y F.T. Last.* Academic Press, London. pp. 223-243.
- Lascoux, M., Kang, H., y Lundkvist, K. 1994. Growth of 24 full-sib families of *pinus sylvestris* L. At six relative nutrient addition rates: II. Relation between growth components. *Scand. J. For. Res.* **9**(1-4): 115-123. doi:10.1080/02827589409382820.
- Lefèvre, F., Alia, R., Fjellstad, K.B., Graudal, L., Oggioni, S.D., Rusanen, M., Vendramin, G.G., y Bozzano, M. 2020. Dynamic conservation and utilization of forest tree genetic resources: indicators for *in situ* and *ex situ* genetic conservation and forest reproductive material.
- Lefèvre, F., Koskela, J., Hubert, J., Kraigher, H., Longauer, R., Olrik, D.C., Schüller, S., Bozzano, M., Alizoti, P., Bakys, R., Baldwin, C., Ballian, D., Black-Samuelsson, S., Bednarova, D., Bordács, S., Collin, E., De Cuyper, B., De Vries, S.M.G., Eysteinson, T., Frýdl, J., Haverkamp, M., Ivankovic, M., Konrad, H., Koziol, C., Maaten, T., Notivol Paino, E., Öztürk, H., Pandeva, I.D., Parnuta, G., Pilipovič, A., Postolache, D., Ryan, C., Steffenrem, A., Varela, M.C., Vessella, F., Volosyanchuk, R.T., Westergren, M., Wolter, F., Yrjänä, L., y ZariEngA, I. 2013. Dynamic Conservation of Forest Genetic Resources in 33 European Countries. *Conserv. Biol.* **27**(2): 373-384. doi:10.1111/j.1523-1739.2012.01961.x.
- Leimu, R., y Fischer, M. 2008. A Meta-Analysis of Local Adaptation in Plants. *PLoS One* **3**(12): 1-8. doi:10.1371/journal.pone.0004010.
- Lindner, M. 2000. Developing adaptive forest management strategies to cope with climate. *Tree Physiol.* **20**(5-6): 299-307. doi:10.1093/treephys/20.5-6.299.
- Loo, J., Souvannavong, O., y Dawson, I.K. 2014. Seeing the trees as well as the forest: The importance of managing forest genetic resources. *For. Ecol. Manage.* **333**: 1-8. Elsevier B.V. doi:10.1016/j.foreco.2014.08.014.
- Lynch, M., y Walsh, B. 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits.* Sinauer Assoc, Sunderland.
- Magnussen, S., y Kremer, A. 1993. Selection an optimum tree growth curve. *Silvae Genet.* **42**(6): 322-335.
- Magnussen, S., y Yeatman, C.W. 1989. Height growth components in inter- and intra-provenance jack pine families. *Can. J. For. Res.* **19**(8): 962-972.
- Martínez-Vilalta, J., Cochard, H., Mencuccini, M., Sterck, F., Herrero, A., Korhonen, J.F.J., Llorens, P., Nkinmaa, E., Nole, A., Poyatos, R., Ripullone, F., Sass-Klaassen, U., y Zweifel, R. 2009. Hydraulic adjustment of Scots pine across Europe. *New Phytol.* **184**: 353-364. doi:10.1111/j.1469-8137.2009.02954.x.
- Mátyás, C. 1994. Modelling climate change effects with provenance test data. *Tree Physiol.* **14**: 797-804. doi:10.1093/treephys/14.7-8-9.797.
- Mátyás, C. 1996. Climatic adaptation of trees: rediscovering provenance tests. *Euphytica* **92**(1-2): 45-54.
- Mccrady, R.L., y Jokela, E.J. 1996. Growth Phenology and Crown Structure of Selected Loblolly Pine Families Planted at Two Spacings ince their inception in the tree breeding. **42**(1): 46-

57. doi:10.1093/forestscience/42.1.46.
- McKay, J.K., y Latta, R.G. 2002. Adaptive population divergence: markers, QTL and traits. *Trends Ecol. Evol.* **17**: 285-291.
- Merilä, J., y Crnokrak, P. 2001. Comparison of marker gene and quantitative genetic differentiation among populations. *J Evol. Biol.* **14**: 892-903.
- Met Office. 2019. UK Climate Projections: Headline Findings. (September): 1-12.
- Mikola, J. 1982. Bud-set phenology as an indicator of climatic adaptation of Scots pine in Finland. *Silvae Fenn.* **16**: 178-184.
- MIMAM. 2006. Estrategia de Conservación y uso sostenible de los recursos genéticos forestales. Dirección General para la Biodiversidad. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid, España.
- Mullin, T.J., y Lee, S. 2013. Best practice for tree breeding in Europe. *Editado Por* T.J. Mullin y S. Lee. Skogforsk, Sweden, Uppsala.
- Muñoz, F., y Sanchez, L. 2020. breedR: Statistical Methods for Forest Genetic Resources Analysts.
- Muona, O., y Harju, A. 1989. Effective population sizes, genetic variability, and mating system in natural stands and seed orchards of *Pinus sylvestris*. *Silvae Genet.* **3**: 221-228.
- Notivol, E., Alía, R., y Gil, L. 1996. Variation and adaptation of *Pinus sylvestris* L. provenances in Spain. *En Diversity and Adap- tation in Forest Ecosystems in a Changing World.* Vancouver, B.C. p. 48.
- Notivol, E., Garcia-Gil, M.R., Alía, R., y Savolainen, O. 2007. Genetic variation of growth rhythm traits in the limits of a latitudinal cline in Scots pine. *Can. J. For. Res.* **37**(3): 540-551. doi:10.1139/X06-243.
- Oleksyn, J., Reich, P.B., Tjoelker, M.G., y Chalupka, W. 2001. Biogeographic differences in shoot elongation pattern among European Scots pine populations. *For. Ecol. Manage.* **148**(1-3): 207-220. doi:10.1016/S0378-1127(00)00537-5.
- Oleksyn, J., Tjoelker, M., y Reich, P. 1998. Adaptation to changing environment in Scots pine populations across a latitudinal gradient. *Silvae Genet.* **32**(2): 129-140.
- Partanen and Beuker, E., J. 1999. Effects of photoperiod and thermal time on the growth rhythm of *Pinus sylvestris* seedlings. *Scand. J. For. Res.* **14**: 487-497.
- Patterson, H.D., y Silvey, V. 1980. Statutory and recommended list trials of crop varieties in the UK (with discussion). *J. R. Stat. Soc. Series A*(143): 219-252.
- Peakall, R., y Smouse, P.E. 2012. GenALEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* **28**(19): 2537-2539. doi:10.1093/bioinformatics/bts460.
- Perry, T., Chi-Wu, W., y Schmitt, D. 1966. Height Growth for Loblolly Pine provenances in relation to photoperiod and growing season. *Silvae Genet.*
- Prober, S.M., Byrne, M., McLean, E.H., Steane, D.A., Potts, B.M., Vaillancourt, R.E., y Stock, W.D. 2015. Climate-adjusted provenancing: A strategy for climate-resilient ecological

- restoration. *Front. Ecol. Evol.* **3**(JUN): 1-5. doi:10.3389/fevo.2015.00065.
- Prout, T., y Barker, J.S.F. 1989. Ecological Aspects of Heritability of Body Size in *Drosophila buzzitii*. *Genetics* **23**: 803-813.
- Prus-Glowacki, B., Stephan, B., Alía, R., y Marciniak, A. 2001. Genetic differentiation among relic populations of *Pinus sylvestris* L. on the Iberian Peninsula. *J. Plant Syst.*
- Prus-Glowacki, W.B., Stephan, B.R., Bujas, E., Alia, R., Marciniak, A., y Stephan, R. 2003. Genetic differentiation of autochthonous populations of *Pinus sylvestris* (Pinaceae) from the Iberian peninsula. *Plant Syst. Evol.* **239**(1-2): 55-66. Springer. doi:10.1007/s00606-002-0256-3.
- Ratnam, W., Rajora, O.P., Finkeldey, R., Aravanopoulos, F., Bouvet, J.M., Vaillancourt, R.E., Kanashiro, M., Fady, B., Tomita, M., y Vinson, C. 2014. Genetic effects of forest management practices: Global synthesis and perspectives. *For. Ecol. Manage.* **333**: 52-65. Elsevier B.V. doi:10.1016/j.foreco.2014.06.008.
- Rehfeldt, G., y Wykoff, W. 1981. Periodicity in shoot elongation among populations of *Pinus contorta* from the northern Rocky Mountains. *Ann. Bot.* **48**(3): 371-377.
- Rehfeldt, G.E. 1992. EARLY SELECTION IN PINUS-PONDEROSA - COMPROMISES BETWEEN GROWTH-POTENTIAL AND GROWTH RHYTHM IN DEVELOPING BREEDING STRATEGIES. *For. Sci.* **38**: 661-677.
- Rehfeldt, G.E., Tchebakova, N.M., Parfenova, Y.I., Wykoff, W.R., Kuzmina, N. a., y Milyutin, L.I. 2002. Intraspecific responses to climate in *Pinus sylvestris*. *Glob. Chang. Biol.* **8**(9): 912-929. USDA, Forest Serv, Rocky Mt Res Stn, Moscow, ID 83843 USA. Russian Acad Sci, Sikachev Inst Forest, Siberian Branch, Krasnoyarsk 660036, Russia. Rehfeldt, GE, USDA, Forest Serv, Rocky Mt Res Stn, 1221 S Main, Moscow, ID 83843 USA. doi:10.1046/j.1365-2486.2002.00516.x.
- Rehfeldt, G.E., Ying, C.C., Spittlehouse, D.L., y Hamilton, D.A. 1999. Genetic responses to climate in *Pinus contorta*: Niche breadth, climate change, and reforestation. *Ecol Monogr.* **69**: 375-407.
- Reich, P., Oleksyn, J., y Tjoelker, M. 1994. Seed mass effects on germination and growth of diverse European Scots pine populations. *Can. J. For. Res.* **24**(2): 306-320.
- Repo, T., Zhang, G., Ryyppö, A., Rikala, R., y Vuorinen, M. 2000. The relation between growth cessation and frost hardening in Scots pines of different origins. *Trees* **14**(8): 456-464. doi:10.1007/s004680000059.
- Robledo-Arnuncio, J.J., Alía, R., y Gil, L.A. 2004a. Increased selfing and correlated paternity in a small population of a predominantly outcrossing conifer, *Pinus sylvestris*. *Mol. Ecol.* **13**(9): 2567-77. Blackwell Science Ltd. doi:10.1111/j.1365-294X.2004.02251.x.
- Robledo-Arnuncio, J.J., Smouse, P.E., Gil, L.A., y Alía, R. 2004b. Pollen movement under alternative silvicultural practices in native populations of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in central Spain. *For. Ecol. Manage.* **197**(1-3): 245-255. Elsevier, Francia. doi:10.1016/j.foreco.2004.05.016.
- Robledo-Arnuncio, J.J., y Unger, G.M. 2018. Measuring Viability Selection From Prospective Cohort Mortality Studies: a Case Study in Maritime Pine. *Evol. Appl.*: 0-2. doi:10.1111/eva.12729.

- Robledo-Arnuncio, J.J.J.J., Collada, C., Alía, R., y Gil, L.A. 2005. Genetic structure of montane isolates of *Pinus sylvestris* L. in a Mediterranean refugial area. *J. Biogeogr.* **32**(4): 595-605. Blackwell Science Ltd. doi:10.1111/j.1365-2699.2004.01196.x.
- Robledo-Arnuncio, J.J.J.J., y Gil, L.A. 2005. Patterns of pollen dispersal in a small population of *Pinus sylvestris* L. revealed by total-exclusion paternity analysis. *Heredity (Edinb.)*. **94**(1): 13-22. doi:10.1038/sj.hdy.6800542.
- Rojo-Alboreca, A., García-Villabrille, J.D., Corral-Rivas, J.J., Alía, R., y Montero, G. 2017. A new approach to defining rotation ages on the basis of productive and technological aspects. Application to natural *Pinus sylvestris* L. stands in central Spain. *For. Syst.* **26**(2). doi:10.5424/fs/2017262-10628.
- Rweyongeza, D.M., Yeh, F.C., Dancik, B.P., y Dhir, N.K. 2003. Genetic variation in height, branch and needle lengths of *Pinus sylvestris* L. from Siberia tested in Alberta, Canada. *Silvae Genet.* **52**(2): 52-60. Univ Alberta, Dept Renewable Resources, Edmonton, AB T6G 2H1, Canada. Rweyongeza, DM, 604F Michener Pk, Edmonton, AB T6H 5A1, Canada drweyong@ualberta.ca.
- Rweyongeza, D.M., Yeh, F.C., y Dhir, N.K. 2004. Genetic parameters for seasonal height and height growth curves of white spruce seedlings and their implications to early selection. *For. Ecol. Manage.* **187**(2-3): 159-172. doi:10.1016/S0378-1127(03)00329-3.
- Sánchez-Salguero, R., Camarero, J.J., Carrer, M., Gutiérrez, E., Alla, A.Q., Andreu-Hayles, L., Hevia, A., Koutavas, A., Martínez-Sancho, E., Nola, P., Papadopoulos, A., Pasho, E., Toromani, E., Carreira, J.A., y Linares, J.C. 2017. Climate extremes and predicted warming threaten Mediterranean Holocene firs forests refugia. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **114**(47): E10142-E10150. doi:10.1073/pnas.1708109114.
- SAS Institute. 1999. SAS OnlineDoc Version Eight. SAS Institute Inc, Cary, NC.
- Savolainen, O., Bokma, F., García-Gil, R., Komulainen, P., y Repo, T. 2004. Genetic variation in cessation of growth and frost hardiness and consequences for adaptation of *Pinus sylvestris* to climatic changes. *For. Ecol. Manage.* **197**(1-3): 79-89. doi:10.1016/j.foreco.2004.05.006.
- Savolainen, O., Pyhäjärvi, T., y Knürr, T. 2007. Gene Flow and Local Adaptation in Trees. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **38**(1): 595-619. doi:10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095646.
- Sgrò, C.M., y Blows, M.W. 2003. Evolution of additive and non additive genetic variance in development time along a cline in *Drosophila serrata*. *Evolution (N. Y.)*. **57**(8): 1846-1851. doi:10.1111/j.0014-3820.2003.tb00592.x.
- Sgrò, C.M., Lowe, A.J., y Hoffmann, A.A. 2011. Building evolutionary resilience for conserving biodiversity under climate change. *Evol. Appl.* **4**(2): 326-337. doi:10.1111/j.1752-4571.2010.00157.x.
- Skroppa, T., y Magnussen, S. 1993. PROVENANCE VARIATION IN SHOOT GROWTH COMPONENTS OF NORWAY SPRUCE. *Silvae Genet.* **42**: 111-120.
- Sokal, R., y Rohlf, F. 1995. *Biometry*. New York: W H Freeman and Co.
- Soto, A., Robledo-Arnuncio, J.J., González-Martínez, S.C., Smouse, P.E., y Alía, R. 2010. Climatic niche and neutral genetic diversity of the six Iberian pine species : a retrospective and prospective view. *Mol. Ecol.* **19**(7): 1396-1409. Blackwell Publishing Ltd.

doi:10.1111/j.1365-294X.2010.04571.x.

- Thomas, E., Jalonen, R., Loo, J., Boshier, D., Gallo, L., Cavers, S., Bordács, S., Smith, P., y Bozzano, M. 2014. Genetic considerations in ecosystem restoration using native tree species. *For. Ecol. Manage.* **333**: 66-75. Elsevier B.V. doi:10.1016/j.foreco.2014.07.015.
- Unger, G.M., Heuertz, M., Vendramin, G.G., y Robledo-Arnuncio, J.J. 2016. Assessing early fitness consequences of exotic gene flow in the wild: A field study with Iberian pine relicts. *Evol. Appl.* **9**(2). doi:10.1111/eva.12333.
- Ununger, J., Ekberg, I., y Kang, H. 1988. Causal relationship between juvenile shoot growth characters in picea abies. *Scand. J. For. Res.* **3**(1-4): 147-156. doi:10.1080/02827588809382505.
- Vaartaja, O. 1959. Evidence of photoperiodic ecotypes in trees. *Ecol. Monogr.* **29**: 91-111.
- Visscher, P.M. 1998. On the sampling variance of intraclass correlations and genetic correlations. *Genetics* **149**: 1605-1614.
- Vizcaíno-Palomar, N., Revuelta-Eugercios, B., Zavala, M. a M.A., Alía, R., Gonzalez-Martínez, S.C., y González-Martínez, S.C. 2014. The Role of Population Origin and Microenvironment in Seedling Emergence and Early Survival in Mediterranean Maritime Pine (*Pinus pinaster* Aiton). *PLoS One* **9**(10): e109132. doi:10.1371/journal.pone.0109132.
- de Vries, S.M.G., Alan, M., Bozzano, M., Burianek, V., Collin, E., Cottrell, J., Ivankovic, M., Kelleher, C.T., Koskela, J., Rotach, P., Vietto, L., y Yrjänä, L. 2015. Pan-European strategy for genetic conservation of forest trees and establishment of a core network of dynamic conservation units. European Forest Genetic Resources Programme (EUFORGEN). ioversity International, Rome, Italy.
- Waldmann, P., García-Gil, M.R., y Sillanpää, M.J. 2005. Comparing Bayesian estimates of genetic differentiation of molecular markers and quantitative traits: an application to *Pinus sylvestris*. *Heredity (Edinb.)* **94**: 623-629.
- Weemstra, M., Eilmann, B., Sass-klaassen, U.G.W., y Sterck, F.J. 2013. Forest Ecology and Management Summer droughts limit tree growth across 10 temperate species on a productive forest site. **306**: 142-149.
- Weir, B., y Cockerman, C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structures. *Evolution (N. Y.)* **38**: 1358-1370.
- Williams, E.R., Matheson, A.C., y Harwood, C.E. 2002. Experimental design and analysis for tree improvement. *En* 2nd. ed. CSIRO Publishing. Collingwood, Australia.
- Wolfram, S. 1999. The Mathematica Book (3rd ed.)991 The Mathematica Book (3rd ed.) . Cambridge University Press, 1996. 1395 pp, ISBN: 0-521-58888-X £35.00. *Assem. Autom.* **19**(1): 77-77. doi:10.1108/aa.1999.19.1.77.1.
- Wright, S. 1934. The Method of Path Coefficients. *Ann. Math. Stat.* **5**(3): 161.215.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugenetics* **15**: 323-354.

## ANEXO 1

En el apartado 4.2, se han realizado análisis de la varianza para las distintas variables tanto de forma individualizada para cada sitio de ensayo y año como para el conjunto global de sitios y años y distintas agrupaciones de datos (tres sitios un año y tres sitios dos años consecutivos)

Con un planteamiento similar se abordaron análisis multivariantes para conjuntos de variables propios de las curvas de crecimiento (parámetros) así como de variables derivadas de ellos (t10, t90, dur).

Los modelos lineales generalizados para cada uno de los análisis se plantean con distinta finalidad y difieren en el número y tipología de los factores considerados. A continuación se presenta la Tabla 31, explicativa con los distintos tipos análisis realizados y su finalidad básica:

Tabla 31: Tipología de los análisis de varianza realizados

	Univariantes	Multivariantes
Individuales	A.1 Clasificación y diferenciación de procedencias en función de variables. Valoración genética de las variables (significación)	A.2 Agrupamientos y similitudes de procedencias.
Conjuntos por sitio	A.3 Estudio de influencias ambientales y de la interacción GxE	
Global	Clasificación y diferenciación de procedencias en función de variables. Parámetros genéticos	Correlaciones de las variables

### A.1.- Análisis individuales univariantes

La información estadística descriptiva de forma específica por sitio y año de ensayo se presenta en la *Tabla 32*.

Tabla 32: Valores descriptivos medios de los parámetros por sitio de ensayo y año

Sitio y año	Variable	Media	Desv Std	N	Mínimo	Máximo	Coef Variación
<b>Aragüés 6º</b>							
	h	28.899	6.706	159	6.817	46.797	23.21
	c	172.343	55.682	159	69.819	335.650	32.31
	b	0.088	0.017	159	0.058	0.158	19.61
	m	149.754	4.059	159	134.384	159.248	2.71
	ht	201.242	60.190	159	88.716	373.896	29.91
	T10	139.962	5.176	159	121.389	152.252	3.70
	T90	176.174	4.747	159	161.179	188.773	2.69
	dur	36.212	6.816	159	19.509	53.633	18.82
<b>Aragüés 7º</b>							
	h	20.998	6.103	239	8.577	48.467	29.07
	c	135.345	63.921	239	21.887	383.726	47.23
	b	0.084	0.015	239	0.058	0.201	17.48
	m	143.527	5.193	239	126.937	159.591	3.62
	ht	156.344	68.962	239	31.092	432.193	44.11
	T10	133.304	5.768	239	115.823	151.733	4.33
	T90	171.109	5.821	239	156.925	190.865	3.40
	dur	37.805	5.726	239	15.326	52.990	15.15
<b>Curueño 6º</b>							
	h	60.879	27.639	118	9.570	154.548	45.40
	c	118.282	41.775	118	38.306	218.494	35.32
	b	0.118	0.036	118	0.066	0.379	30.80
	m	146.671	3.684	118	127.221	155.667	2.51
	ht	179.161	61.933	118	47.876	347.938	34.57
	T10	139.094	4.535	118	116.497	148.447	3.26
	T90	167.113	5.338	118	149.692	181.922	3.19
	dur	28.019	6.806	118	8.128	46.660	24.29
<b>Curueño 7º</b>							
	h	16.573	7.258	172	5.298	53.743	43.79
	c	124.658	52.355	172	33.424	270.747	42.00
	b	0.080	0.021	172	0.036	0.152	25.94
	m	134.516	4.659	172	122.427	150.500	3.46
	ht	141.232	56.771	172	45.200	306.796	40.20
	T10	123.403	3.787	172	114.568	143.392	3.07
	T90	164.502	10.748	172	139.991	206.447	6.53
	dur	41.099	10.067	172	20.350	86.250	24.49
<b>Navafría 6º</b>							
	h	30.129	12.854	167	5.150	62.244	42.66
	c	148.445	77.856	167	10.691	386.206	52.45
	b	0.110	0.044	167	0.040	0.311	39.90
	m	144.419	4.768	167	128.596	154.347	3.30
	ht	178.574	89.115	167	22.093	444.068	49.90
	T10	135.785	6.868	167	116.146	151.329	5.06
	T90	167.717	6.784	167	151.233	195.202	4.04
	dur	31.932	11.059	167	9.927	76.691	34.63
<b>Navafría 7º</b>							

	<b>h</b>	25.762	9.676	217	6.854	76.084	37.56
	<b>c</b>	181.744	80.693	217	21.774	619.045	44.40
	<b>b</b>	0.077	0.018	217	0.025	0.117	23.27
	<b>m</b>	138.738	6.982	217	120.875	168.665	5.03
	<b>ht</b>	207.506	86.456	217	28.627	653.471	41.66
	<b>T10</b>	127.123	6.889	217	105.403	144.045	5.42
	<b>T90</b>	170.077	14.325	217	149.891	256.665	8.42
	<b>dur</b>	42.953	14.480	217	26.400	123.855	33.71

Previamente a la realización de análisis de varianza individualizados para conjunto de datos se ha realizado una analítica descriptiva de cada variable con el objetivo de comprobar los requerimientos básicos para el análisis de la varianza. Para el estudio de la normalidad se ha aplicado el estadístico de Shapiro-Wilk W para cada subconjunto de mediciones por variable, sitio de ensayo, año y procedencia. Dado el reducido número de observaciones por muestra en cada uno de los subconjuntos indicados (10-16), la escasa potencia de este tipo de pruebas para detectar alejamientos de la normalidad importantes y que pequeñas desviaciones de la normalidad no afectan severamente la validez de los análisis de varianza, los resultados de esta prueba han sido cotejados en los casos de alejamiento de normalidad (valores inferiores a 0.8 de W y niveles de significación inferiores a 0.1) con otros estimadores de la desviación como la asimetría, kurtosis y representaciones gráficas de sus distribuciones (gráficos hoja-tallo).

Para la comprobación de homocedasticidad, se han descartado tests clásicos como Barlett incluso Levene por ser excesivamente estrictos para la potencia y plasticidad del análisis de la varianza. En su lugar se ha adoptado un enfoque pragmático y se han comprobado los ratios de varianzas por grupos de análisis. Tras comprobar que dichos ratios no superan el valor de 10 no se ha considerado transformación alguna para ninguna de las variables.

Comprobados los requerimientos básicos para el análisis de la varianza de normalidad y homogeneidad de varianzas y asumiendo que los residuos o errores experimentales son independientes y normales  $(0, \sigma^2)$ , para cada parcela y año se han realizado análisis de la varianza para todos los parámetros y variables implicadas en el estudio. A partir del diseño original, los análisis se han realizado considerando un diseño de bloques completos al azar siguiendo el siguiente modelo:

$$y_{ijk} = \mu + \beta_i + P_j + \beta_i P_j + \varepsilon_{ijk}$$

donde,

$y_{ijk}$  : es el valor de la variable en el bloque i de la procedencia j

$\mu$  : representa el valor medio global de la variable

$\beta_i$  : representa el efecto del bloque i

$P_j$  : representa el efecto de la procedencia j

$\beta_i P_j$  : representa el efecto de la interacción del bloque i con la procedencia j

$\varepsilon_{ijk}$  : es residuo o término de error

El modelo ha sido analizado como un modelo mixto de efectos fijos (procedencia) y aleatorios (bloque, interacción procedencia x bloque y error) en el que los componentes de la varianza han sido obtenidos mediante el método de máxima verosimilitud restringida (REML) y obteniendo los mejores estimadores y predictores lineales insesgados (BLUE y BLUP) del modelo.

Para la comparación de medias, se han realizado comparaciones dos a dos basadas en las diferencias de las medias ajustadas por mínimos cuadrados (lsmeans) y el error estándar de la estimación obtenido del modelo.

Para el estudio de la distribución global de varianza en función de los distintos factores incluidos en el modelo se han considerado todos los efectos como aleatorios y los componentes de la varianza se han obtenido igualmente por el método de máxima verosimilitud restringida (REML).

#### **A.1.1.- Análisis de la varianza individuales univariantes**

De acuerdo con el modelo expuesto se presentan en la Tabla 33 los tests tipo III para los efectos fijos del análisis de la varianza. En general se observa que el efecto procedencia no es altamente significativo en todas situaciones y variables estudiadas, pero se puede observar que para las variables relacionadas con el crecimiento global cuantitativamente esta diferenciación poblacional se da en más casos que para aquellas variables relacionadas con la fenología del crecimiento o con su ritmo. Es de señalar asimismo la invariabilidad del parámetro b de la curva de crecimiento, que se encuentra relacionado con la pendiente de la curva en su fase lineal, en todos los ensayos menos en uno (Curueño 6º), mostrando ser una característica propia de la especie con poca variación entre poblaciones.

Tabla 33: Tests tipo III para los efectos fijos del análisis de la varianza individuales y valores de  $t'$  (Qst con  $h^2=1$ ) (Kremer, 1994)

sitio	año	Efecto	NumDF	DenDF	FValue	ProbF	$t'_{\{Q_{st}(h^2=1)\}}$
<b>c</b>							
Aragüés	6º	proc	10	20	5.866274	<b>0.000397</b>	<b>0.14</b>
Aragüés	7º	proc	15	30	3.098359	<b>0.004068</b>	<b>0.19</b>
Curueño	6º	proc	7	21	3.23662	<b>0.017213</b>	<b>0.15</b>
Curueño	7º	proc	10	30	1.555902	0.16856	
Navafría	6º	proc	10	30	1.913282	0.082863	
Navafría	7º	proc	13	39	1.716558	0.095936	
<b>b</b>							
Aragüés	6º	proc	10	20	0.868973	0.5748	
Aragüés	7º	proc	15	30	1.108154	0.3904	
Curueño	6º	proc	7	21	1.45957	0.2351	
Curueño	7º	proc	10	30	2.238036	<b>0.0431</b>	<b>0.07</b>
Navafría	6º	proc	10	30	0.936048	0.5154	
Navafría	7º	proc	13	39	1.825007	0.0735	
<b>m</b>							
Aragüés	6º	proc	10	20	0.895667	0.5537	
Aragüés	7º	proc	15	30	1.185257	0.3340	
Curueño	6º	proc	7	21	1.267551	0.3129	
Curueño	7º	proc	10	30	2.266509	<b>0.0407</b>	<b>0.09</b>
Navafría	6º	proc	10	30	2.821342	<b>0.0136</b>	<b>0.10</b>
Navafría	7º	proc	13	39	3.508512	<b>0.0012</b>	<b>0.11</b>
<b>h</b>							
Aragüés	6º	proc	10	20	4.094862	<b>0.0035</b>	<b>0.11</b>
Aragüés	7º	proc	15	30	1.838452	0.0760	
Curueño	6º	proc	7	21	5.668475	<b>0.0009</b>	<b>0.20</b>
Curueño	7º	proc	10	30	5.695573	<b>0.0001</b>	<b>0.16</b>
Navafría	6º	proc	10	30	1.632369	0.1451	
Navafría	7º	proc	13	39	2.031966	<b>0.0440</b>	<b>0.08</b>
<b>ht</b>							
Aragüés	6º	proc	10	20	5.765302	<b>0.0004</b>	<b>0.14</b>
Aragüés	7º	proc	15	30	2.978671	<b>0.0053</b>	<b>0.18</b>
Curueño	6º	proc	7	21	4.372913	<b>0.0039</b>	<b>0.19</b>
Curueño	7º	proc	10	30	1.795755	0.1049	
Navafría	6º	proc	10	30	1.925515	0.0809	
Navafría	7º	proc	13	39	1.629636	0.1184	
<b>t10</b>							
Aragüés	6º	proc	10	20	0.900579	0.5499	
Aragüés	7º	proc	15	30	1.228069	0.3054	
Curueño	6º	proc	7	21	1.157478	0.3673	
Curueño	7º	proc	10	30	1.497818	0.1887	
Navafría	6º	proc	10	30	2.33424	<b>0.0356</b>	<b>0.08</b>
Navafría	7º	proc	13	39	4.683946	<b>0.0001</b>	<b>0.14</b>
<b>t90</b>							
Aragüés	6º	proc	10	20	0.932251	0.5255	
Aragüés	7º	proc	15	30	1.23445	0.3013	
Curueño	6º	proc	7	21	1.11547	0.3901	

Curueño	7º	proc	10	30	2.202415	<b>0.0463</b>	<b>0.09</b>
Navafría	6º	proc	10	30	0.825149	0.6080	
Navafría	7º	proc	13	39	1.995917	<b>0.0481</b>	<b>0.04</b>
<b>dur</b>							
Aragüés	6º	proc	10	20	1.261046	0.3147	
Aragüés	7º	proc	15	30	1.429823	0.1965	
Curueño	6º	proc	7	21	0.931442	0.5032	
Curueño	7º	proc	10	30	1.814155	0.1011	
Navafría	6º	proc	10	30	1.178933	0.3427	
Navafría	7º	proc	13	39	2.149329	<b>0.0328</b>	<b>0.04</b>

En resumen, el efecto procedencia ha resultado altamente significativo en 18 casos de los 56 análisis y en 38 no ha alcanzado el 95 % de probabilidad. Con todo a continuación se muestran las representaciones de las medias de cada procedencia y variable por sitio de ensayo con sus errores estándar (Figura 26, Figura 27, Figura 28, Figura 29, Figura 30, Figura 31, Figura 32 y Figura 33). Los datos de las medias han sido presentados en orden descendente y se puede comprobar un cierto patrón de ordenación de las medias en función de las condiciones ecológicas de las procedencias.

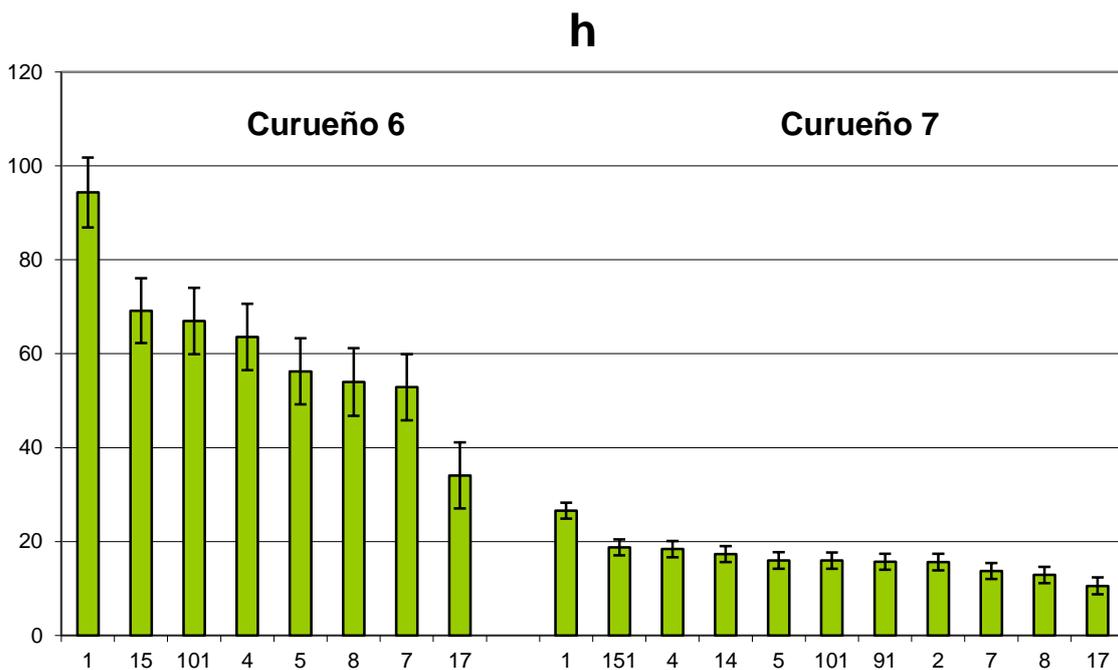


Figura 26: Valores medios de h por y procedencia por sitio de ensayo en los casos que el análisis de la varianza ha señalado diferencias significativas

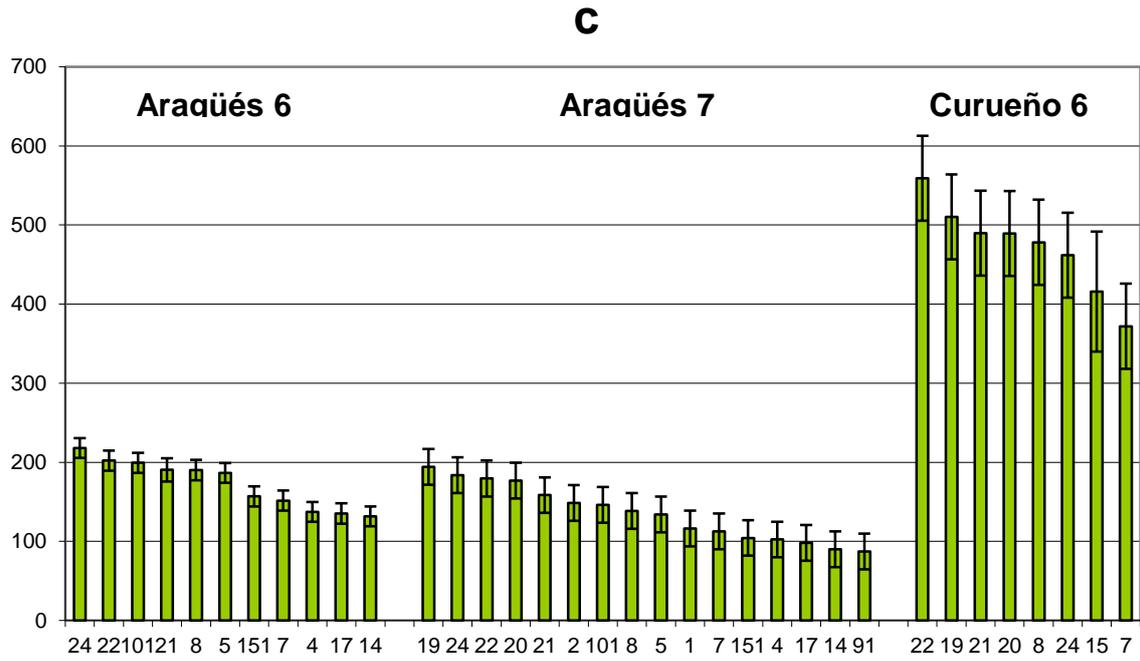


Figura 27: Valores medios de *c por y procedencia* por sitio de ensayo en los casos que el análisis de la varianza ha señalado diferencias significativas

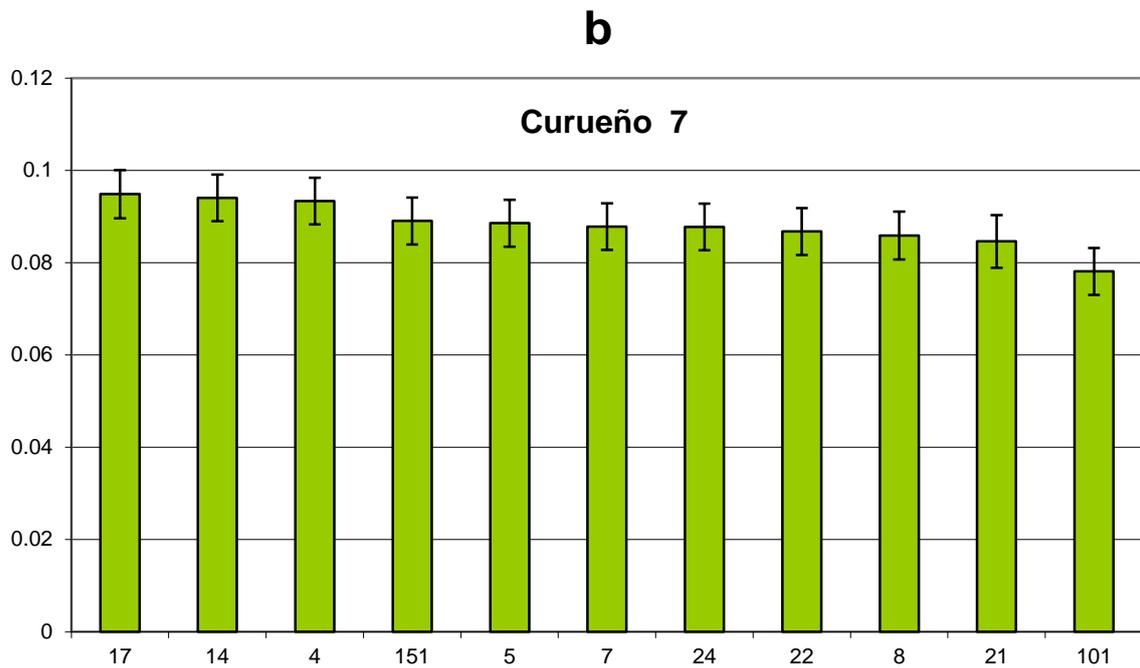


Figura 28: Valores medios de *b por y procedencia* por sitio de ensayo en los casos que el análisis de la varianza ha señalado diferencias significativas

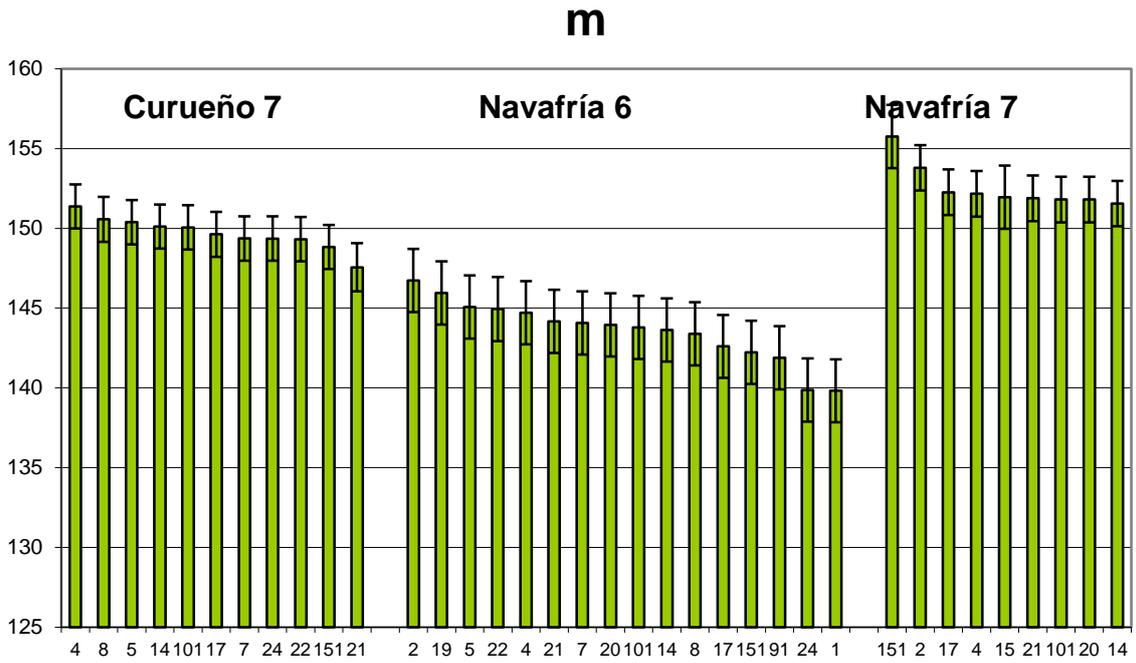


Figura 29: Valores medios de m por y procedencia por sitio de ensayo en los casos que el análisis de la varianza ha señalado diferencias significativas

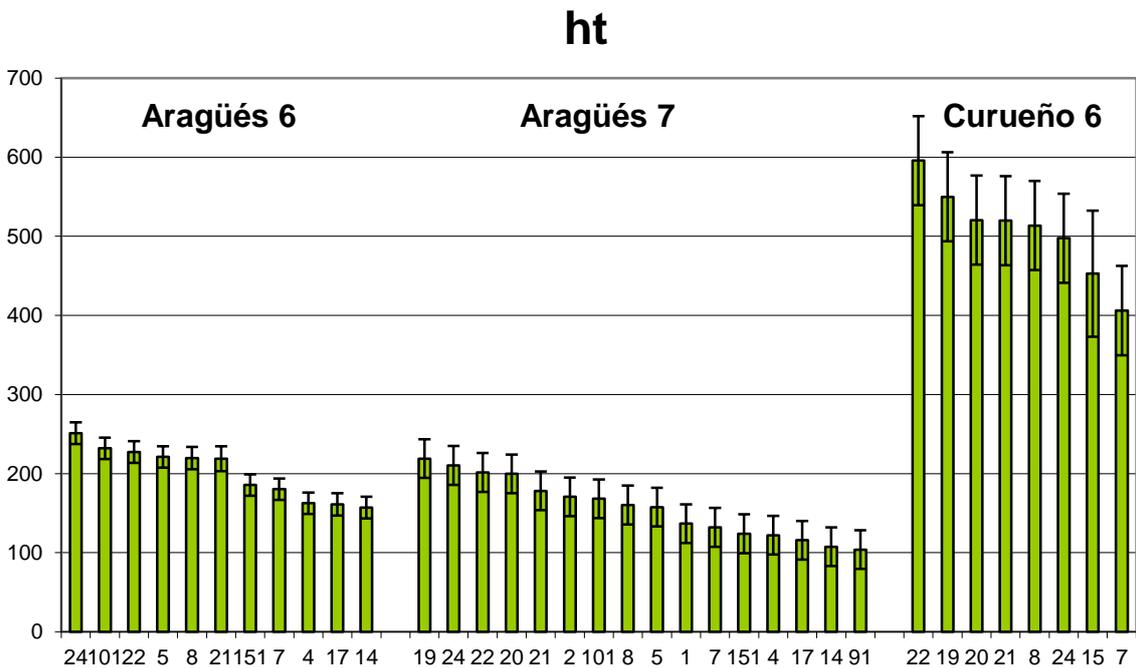


Figura 30: Valores medios de ht por y procedencia por sitio de ensayo en los casos que el análisis de la varianza ha señalado diferencias significativas

## t10

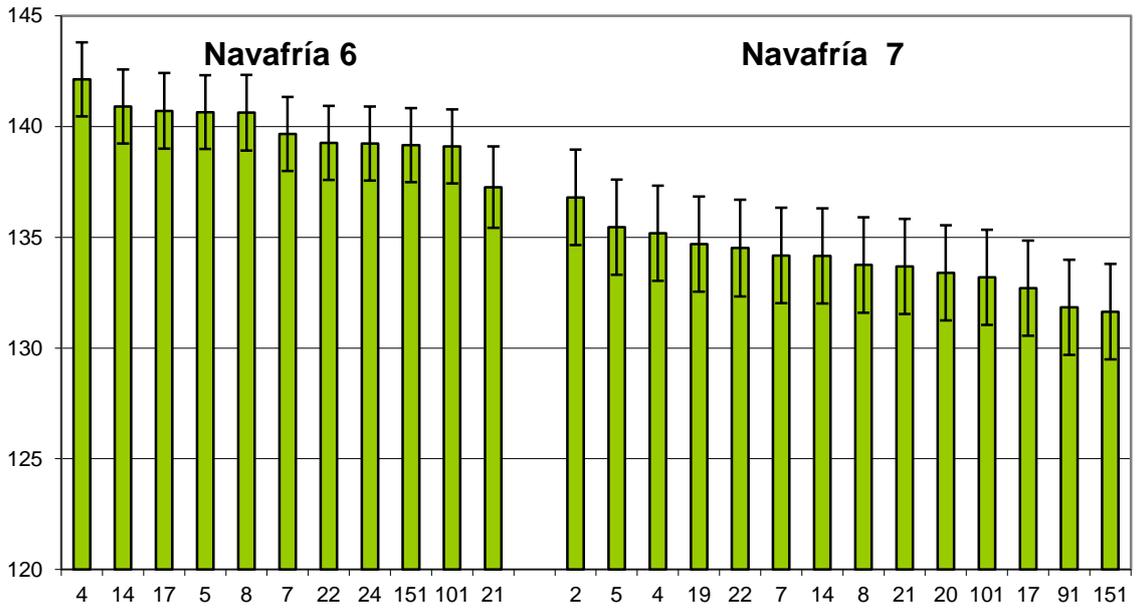


Figura 31: Valores medios de t10 por y procedencia por sitio de ensayo en los casos que el análisis de la varianza ha señalado diferencias significativas

## t90

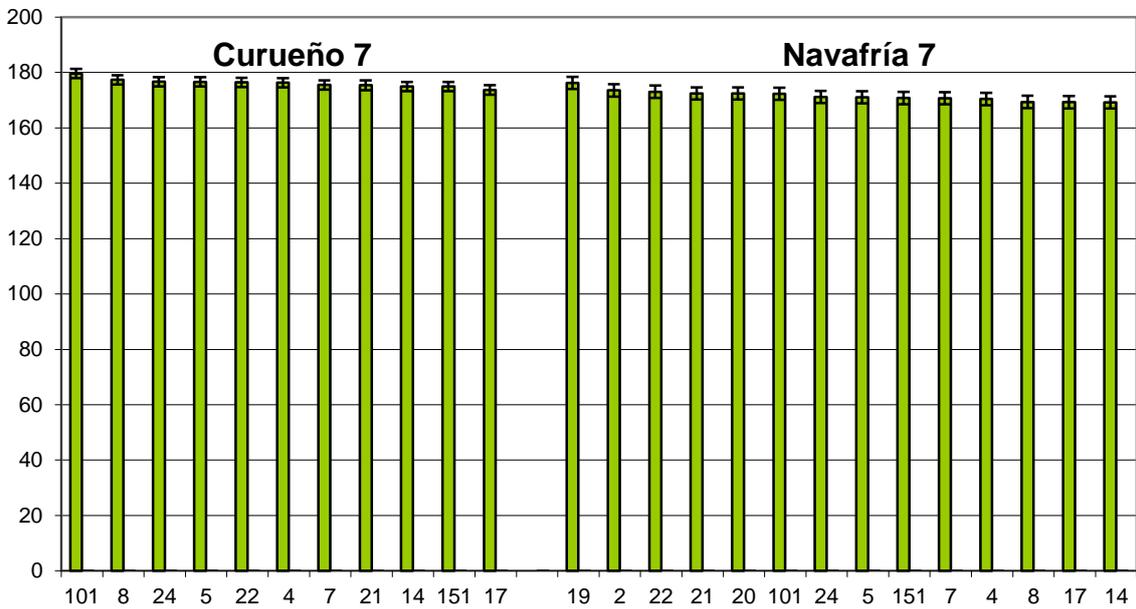


Figura 32: Valores medios de t90 por y procedencia por sitio de ensayo en los casos que el análisis de la varianza ha señalado diferencias significativas

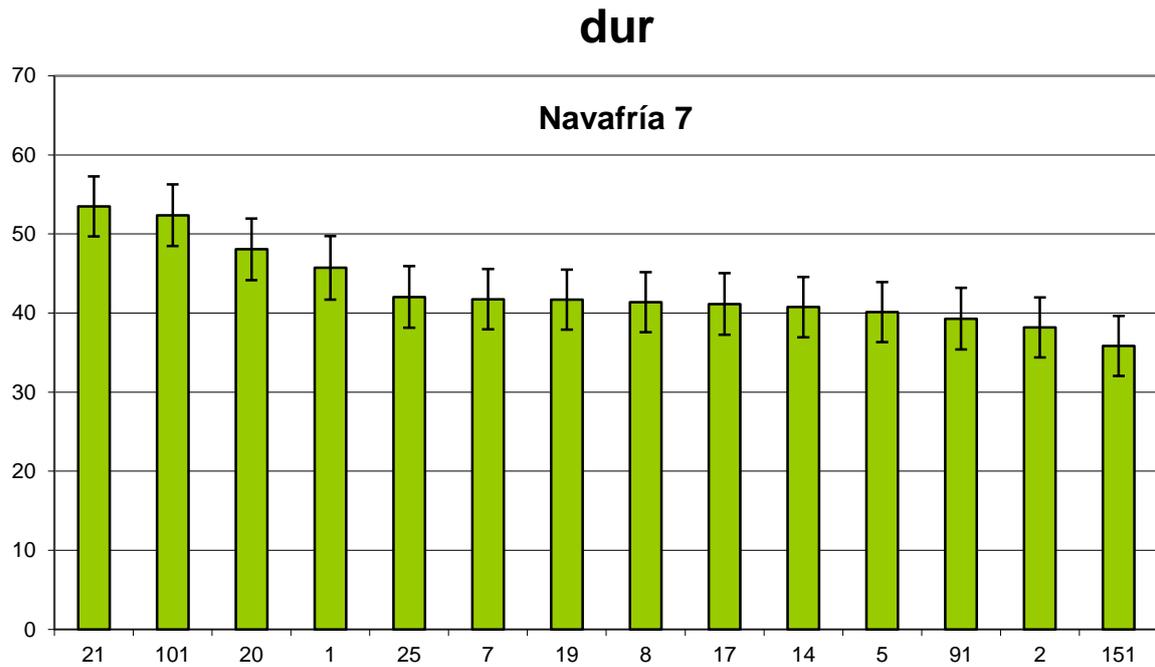


Figura 33: Valores medios de dur por y procedencia por sitio de ensayo en los casos que el análisis de la varianza ha señalado diferencias significativas

Los componentes de la varianza estimados mediante el algoritmo REML pueden verse en la Tabla 34 en porcentaje y señalado en **negrita** los componentes que superan el 15% del total.

Tabla 34: Componentes de la varianza en porcentaje para cada factor por ensayo y año. En negrita aquellos valores que superan el 15%

Sitio y año	Comp Var	h	c	b	m	ht	t10	t90	dur
Aragüés 6	Var(proc)	<b>19.16</b>	<b>24.96</b>	0.00	0.00	<b>24.55</b>	0.00	0.00	2.03
	Var(blq)	0.27	0.00	0.00	<b>16.13</b>	0.00	12.13	3.80	0.00
	Var(proc*blq)	2.64	0.00	5.79	0.00	0.00	0.00	<b>16.71</b>	2.51
	Var(Error)	77.93	75.04	94.21	83.87	75.45	87.87	79.49	95.46
Aragüés 7									
	Var(proc)	8.74	<b>20.10</b>	1.21	2.10	<b>19.23</b>	2.54	2.66	4.59
	Var(blq)	6.87	7.08	2.05	8.69	7.14	7.41	8.33	3.36
	Var(proc*blq)	<b>17.84</b>	<b>17.39</b>	<b>16.40</b>	<b>19.25</b>	<b>17.74</b>	<b>18.71</b>	<b>18.89</b>	<b>16.65</b>
Var(Error)	66.55	55.43	80.34	69.96	55.88	71.33	70.11	75.40	
Curueño 6									
	Var(proc)	<b>29.91</b>	<b>18.21</b>	3.04	2.57	<b>26.07</b>	1.35	0.71	0.00
	Var(blq)	0.00	3.67	0.87	3.74	0.11	3.19	1.03	0.74
	Var(proc*blq)	6.56	14.69	0.00	<b>16.40</b>	13.04	6.99	14.39	0.45
Var(Error)	63.53	63.44	96.09	77.28	60.77	88.48	83.87	98.80	
Curueño 7									
	Var(proc)	<b>25.75</b>	4.84	9.24	10.27	7.06	3.69	10.42	6.98
	Var(blq)	0.40	5.14	0.78	6.27	4.83	6.36	2.47	0.39
	Var(proc*blq)	4.11	<b>20.11</b>	9.41	<b>15.02</b>	<b>19.83</b>	7.77	<b>16.83</b>	14.21
Var(Error)	69.74	69.91	80.57	68.44	68.28	82.18	70.27	78.43	
Navafria 6									
	Var(proc)	4.94	8.15	0.00	13.81	8.15	10.74	0.00	1.68
	Var(blq)	7.50	6.79	0.00	0.00	7.20	0.00	0.23	0.00
	Var(proc*blq)	11.53	<b>17.11</b>	11.55	10.53	<b>16.71</b>	12.17	6.45	12.12
Var(Error)	76.04	67.95	88.45	75.66	67.94	77.09	93.32	86.20	
Navafria 7									
	Var(proc)	8.70	6.53	5.64	<b>17.11</b>	5.99	20.99	6.73	6.63
	Var(blq)	5.21	7.28	4.73	1.15	7.81	6.36	0.33	4.72
	Var(proc*blq)	<b>15.68</b>	<b>19.73</b>	6.45	7.58	<b>22.12</b>	4.97	3.48	0.41
Var(Error)	70.42	66.46	83.18	74.15	64.07	67.68	89.46	88.23	

En forma gráfica en las figuras a continuación (Figura 34, Figura 35 y Figura 36) se presentan los valores de los componentes de la varianza para cada factor del modelo en cada sitio de ensayo y año para todas las variables

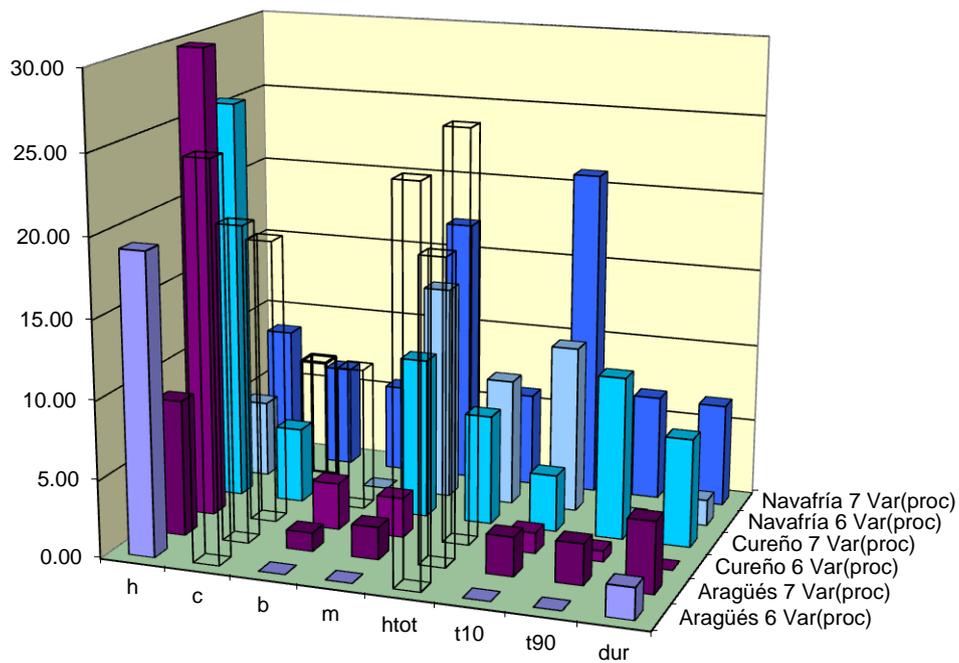


Figura 34: Componentes de la varianza porcentuales de todas las variables para el factor procedencia en todos los sitios de ensayo y año

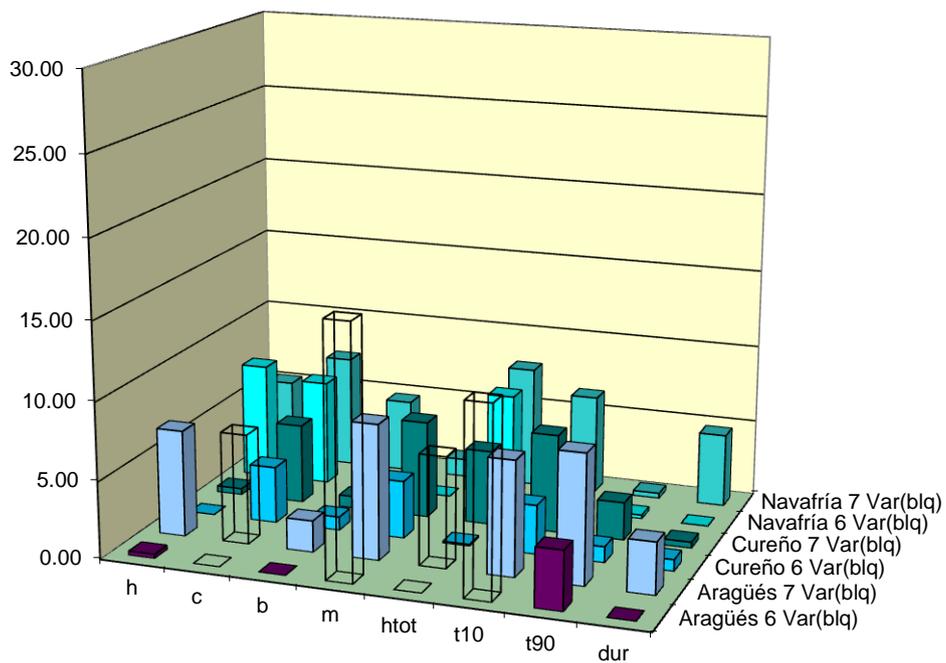


Figura 35: Componentes de la varianza porcentuales de todas las variables para el factor bloque en todos los sitios de ensayo y año

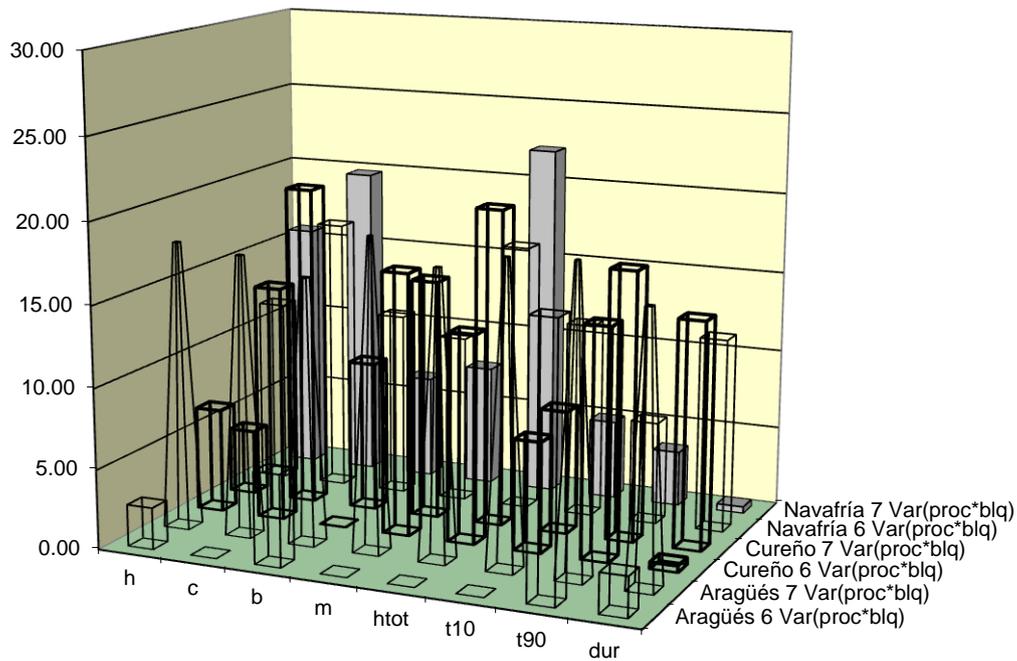


Figura 36: Componentes de la varianza porcentuales de todas las variables para el factor interacción procedenciaxbloque en todos los sitios de ensayo y año

## A.2.- Análisis individuales multivariantes

Para cada sitio de ensayo y año se ha realizado un análisis multivariante de la varianza con las variables obtenidas directamente del ajuste de las curvas de crecimiento (parámetros: h, c, b, y m) para mantener su independencia.

Los análisis de la varianza multivariante Tabla 35 realizados para el conjunto de las variables arrojó unos valores de lambda de Wilks, trazas de Pillai, de Hotelling-Lawley y raíces máximas de Roy (Cuadras, 1981) altamente significativos con valores superiores al 99 %, para todos los efectos del modelo lo que indica una clara influencia de todos ellos si se considera el conjunto de las parámetros que definen la curva de crecimiento primario.

Tabla 35: Test de análisis multivariante de la varianza

<b>SITIO</b>					
Statistic	Value	F Value	Num DF	Den DF	Pr > F
Wilks' Lambda	0.55353206	68.96	10	2004	<.0001
Pillai's T.	0.49730577	66.39	10	2006	<.0001
Hotelling-Lawley T.	0.71473745	71.57	10	1500.3	<.0001
Roy's Greatest Root	0.54676191	109.68	5	1003	<.0001
<b>AÑO</b>					
Statistic	Value	F Value	Num DF	Den DF	Pr > F
Wilks' Lambda	0.39214400	310.64	5	1002	<.0001
Pillai's T.	0.60785600	310.64	5	1002	<.0001
Hotelling-Lawley T.	1.55008363	310.64	5	1002	<.0001
Roy's Greatest Root	1.55008363	310.64	5	1002	<.0001
<b>PROCEDENCIA</b>					
Statistic	Value	F Value	Num DF	Den DF	Pr > F
Wilks' Lambda	0.67219246	5.19	80	4827.9	<.0001
Pillai's T.	0.37311793	5.07	80	5030	<.0001
Hotelling-Lawley T.	0.42382316	5.30	80	3713.7	<.0001
Roy's Greatest Root	0.19084790	12.00	16	1006	<.0001
<b>SITIO X PROCEDENCIA</b>					
Statistic	Value	F Value	Num DF	Den DF	Pr > F
Wilks' Lambda	0.75505647	2.64	110	4913.6	<.0001
Pillai's T.	0.27062886	2.62	110	5030	<.0001
Hotelling-Lawley T.	0.29192153	2.66	110	3984.1	<.0001
Roy's Greatest Root	0.11354729	5.19	22	1006	<.0001
<b>AÑO X PROCEDENCIA</b>					
Statistic	Value	F Value	Num DF	Den DF	Pr > F
Wilks' Lambda	0.87114438	2.01	70	4774.6	<.0001
Pillai's T.	0.13473951	1.99	70	5030	<.0001
Hotelling-Lawley T.	0.14128571	2.02	70	3587.5	<.0001
Roy's Greatest Root	0.07243644	5.21	14	1006	<.0001
<b>SITIO X AÑO</b>					
Statistic	Value	F Value	Num DF	Den DF	Pr > F
Wilks' Lambda	0.51711035	78.28	10	2004	<.0001
Pillai's T.	0.50953448	68.58	10	2006	<.0001
Hotelling-Lawley T.	0.88229680	88.35	10	1500.3	<.0001
Roy's Greatest Root	0.81941487	164.37	5	1003	<.0001
<b>BLOQUE (SITIO)</b>					
Statistic	Value	F Value	Num DF	Den DF	Pr > F
Wilks' Lambda	0.84143092	4.41	40	4370.4	<.0001
Pillai's T.	0.16738065	4.36	40	5030	<.0001
Hotelling-Lawley T.	0.17819421	4.46	40	2992	<.0001
Roy's Greatest Root	0.09135533	11.49	8	1006	<.0001

El análisis discriminante canónico (presentado en el Apartado 4.2) busca de combinaciones lineales de dichas variables que proporcionen la máxima separación entre procedencias. Dicho análisis proporciona asimismo unas variables canónicas que agrupan y concentran la variación entre grupos (procedencias) así como las distancias de Mahalanobis al cuadrado de las medias de dichas variables canónicas (Tabla 36 y Tabla 37).

Tabla 36: Correlaciones canónicas y valores propios con sus proporciones acumuladas del análisis discriminante canónico

	Canonical	Eigenvalues of Inv(E)*H				Test of H0: The canonical correlations in the current row and all that follow are zero				
	Correlation	= CanRsq/(1-CanRsq)				Likelihood	Approximate	Num DF	Den DF	Pr > F
		Eigenvalue	Difference	Proportion	Cumulative	Ratio	F Value			
1	0.391303	0.1808	0.0339	<b>0.436</b>	<b>0.436</b>	0.67854494	6.7	64	4120.7	<.0001
2	0.357892	0.1469	0.0773	<b>0.3542</b>	<b>0.7902</b>	0.80122724	5.39	45	3129	<.0001
3	0.255072	0.0696	0.0522	0.1678	<b>0.958</b>	0.91892976	3.25	28	2108	<.0001
4	0.130854	0.0174		0.042	1	0.98287729	1.41	13	1055	0.1459

Tabla 37: Estructuras canónicas y distancias (coordenadas) de las procedencias

Total Canonical Structure				Class Means on Canonical Variables				
Variable	Can1	Can2	Can3	proc	Can1	Can2	Can3	
h	-0.222513	0.520486	0.824365	1	-0.7210	0.8285	0.0480	
c	0.754181	0.604478	0.199334	2	0.3451	-0.0119	-0.4177	
b	-0.319797	-0.102066	0.206164	4	-0.2631	-0.3335	0.3694	
m	0.476271	-0.490755	0.696198	5	-0.2115	-0.0139	0.1588	
				7	0.0275	-0.2569	0.1866	
<b>Between Canonical Structure</b>				8	-0.108	-0.068	0.0641	
Variable	Can1	Can2	Can3	14	-0.0155	-0.4126	-0.2700	
h	-0.296055	0.633381	0.714967	17	-0.3918	-0.5850	-0.1778	
c	0.797529	0.584642	0.137404	19	0.4974	0.1484	-0.1743	
b	-0.676424	-0.197454	0.284254	20	0.3541	0.1279	-0.2666	
m	0.595534	-0.561249	0.567459	21	0.8479	0.1867	0.0051	
				22	1.0375	-0.2393	0.0788	
<b>Pooled Within Canonical Structure</b>				24	0.7801	0.2800	0.1545	
Variable	Can1	Can2	Can3	25 <td>-0.2319</td> <td>1.0493</td> <td>-0.4214</td>	-0.2319	1.0493	-0.4214	
h	-0.214245	0.508499	0.83398	91	-0.3327	-0.1265	-0.6822	
c	0.747073	0.607566	0.207466	101	0.2278	0.2967	0.2802	
b	-0.299466	-0.09698	0.202846	151	-0.2642	-0.1308	0.2102	
m	0.461472	-0.482482	0.708769					

### A.3.- Análisis conjuntos univariantes

Dada la naturaleza de los datos y su desequilibrio en cuanto a poblaciones, sitios y años se han realizado dos análisis combinados (multisitio) para el 6º y 7º periodo vegetativo, en el que se evalúa el efecto del ambiente (sitio) relacionado con su variabilidad geográfica.

La Tabla 38 y la Tabla 39 muestran los tests de significación tipo III para los efectos fijos de los análisis de la varianza para los periodos vegetativos 6º y 7º.

Tabla 38: Análisis de la varianza conjunto para el año 6 en los tres sitios de ensayo

AÑO 6º	h		c		b		m		ht		t10		t90		dur			
	NumDF	DenDF	F	Prob	F	Prob	F	Prob	F	Prob	F	Prob	F	Prob	F	Prob		
Sitio	2	8	71.52	<b>0.0000</b>	5.75	<b>0.0283</b>	14.55	<b>0.0022</b>	11.79	<b>0.0041</b>	1.06	0.3895	5.29	<b>0.0343</b>	41.84	<b>0.0001</b>	18.18	<b>0.0011</b>
Proc	15	71	3.75	<b>0.0001</b>	3.70	<b>0.0001</b>	1.09	0.3810	1.93	<b>0.0339</b>	3.67	<b>0.0001</b>	1.82	<b>0.0490</b>	1.31	0.2200	1.38	0.1800
sitio*proc	12	71	4.37	<b>0.0000</b>	1.18	0.3113	0.83	0.6231	2.03	<b>0.0338</b>	1.52	0.1386	1.89	<b>0.0507</b>	0.39	0.9617	0.76	0.6860

Tabla 39: Análisis de la varianza conjunto para el año 7 en los tres sitios de ensayo

AÑO 7º	h		c		b		m		ht		t10		t90		dur			
	NumDF	DenDF	F	Prob	F	Prob	F	Prob	F	Prob	F	Prob	F	Prob	F	Prob		
Sitio	2	8	18.64	<b>0.0010</b>	6.72	<b>0.0194</b>	3.16	0.0976	31.90	<b>0.0002</b>	7.37	<b>0.0153</b>	31.51	<b>0.0002</b>	6.73	<b>0.0193</b>	4.45	<b>0.0502</b>
Proc	16	99	3.22	<b>0.0002</b>	3.28	<b>0.0001</b>	1.68	0.0619	3.89	<b>0.0000</b>	3.11	<b>0.0003</b>	4.26	<b>0.0000</b>	2.37	<b>0.0049</b>	1.97	<b>0.0227</b>
sitio*proc	22	99	1.86	<b>0.0203</b>	1.28	0.2039	1.64	<b>0.0523</b>	1.21	0.2581	1.32	0.1785	1.39	0.1405	1.38	0.1460	1.67	<b>0.0457</b>

Salvo pequeñas diferencias, algunas claramente debidas a las condiciones anuales como la duración de periodo vegetativo, y a pesar no ser los mismos conjuntos de procedencias para los años, se puede comprobar que los patrones de variación se repiten en ambos años para las variables estudiadas.

Los estimadores de los componentes de la varianza en forma porcentual para todos los factores pueden observarse en la Figura 37 y Figura 38 para el año 6º y 7º respectivamente.

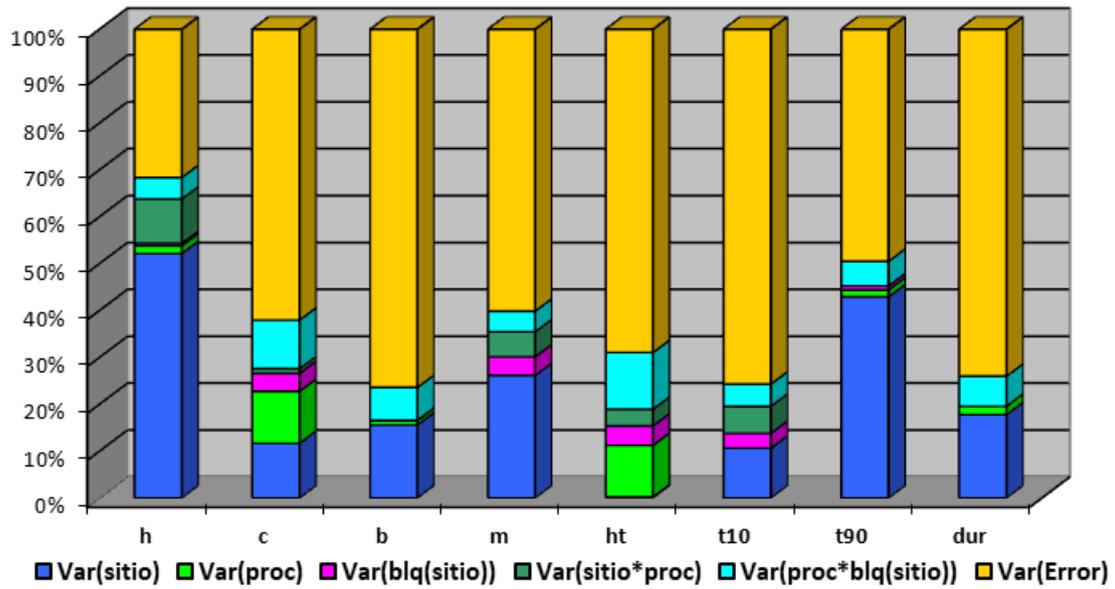


Figura 37: Componentes de la varianza en porcentaje de todos los factores para el año 6 en los tres sitios de ensayo

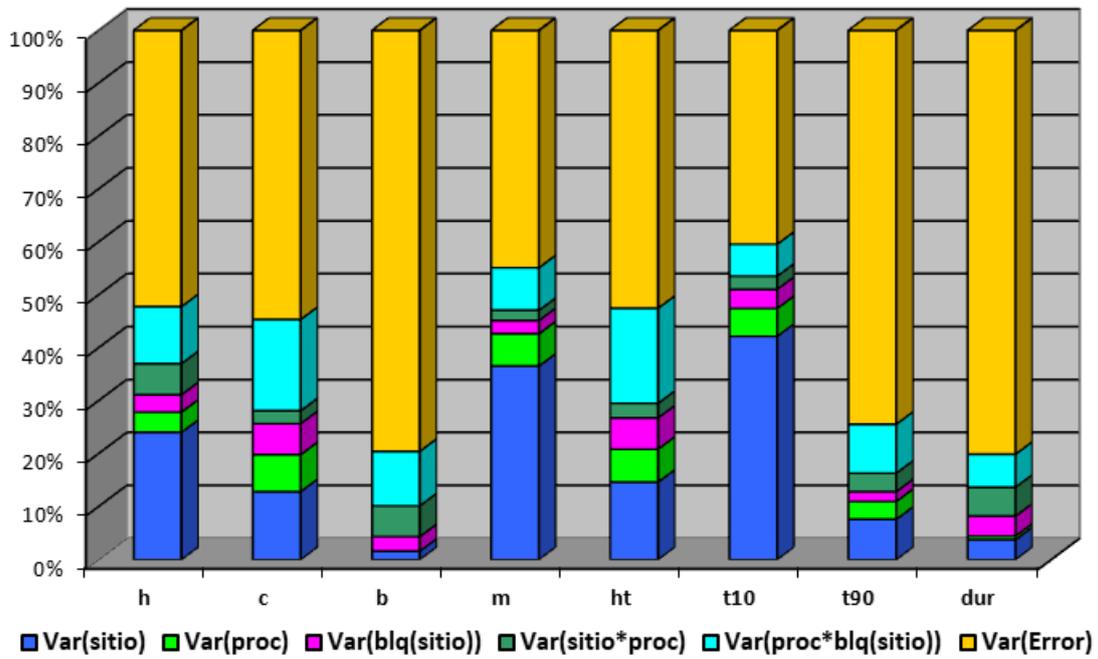
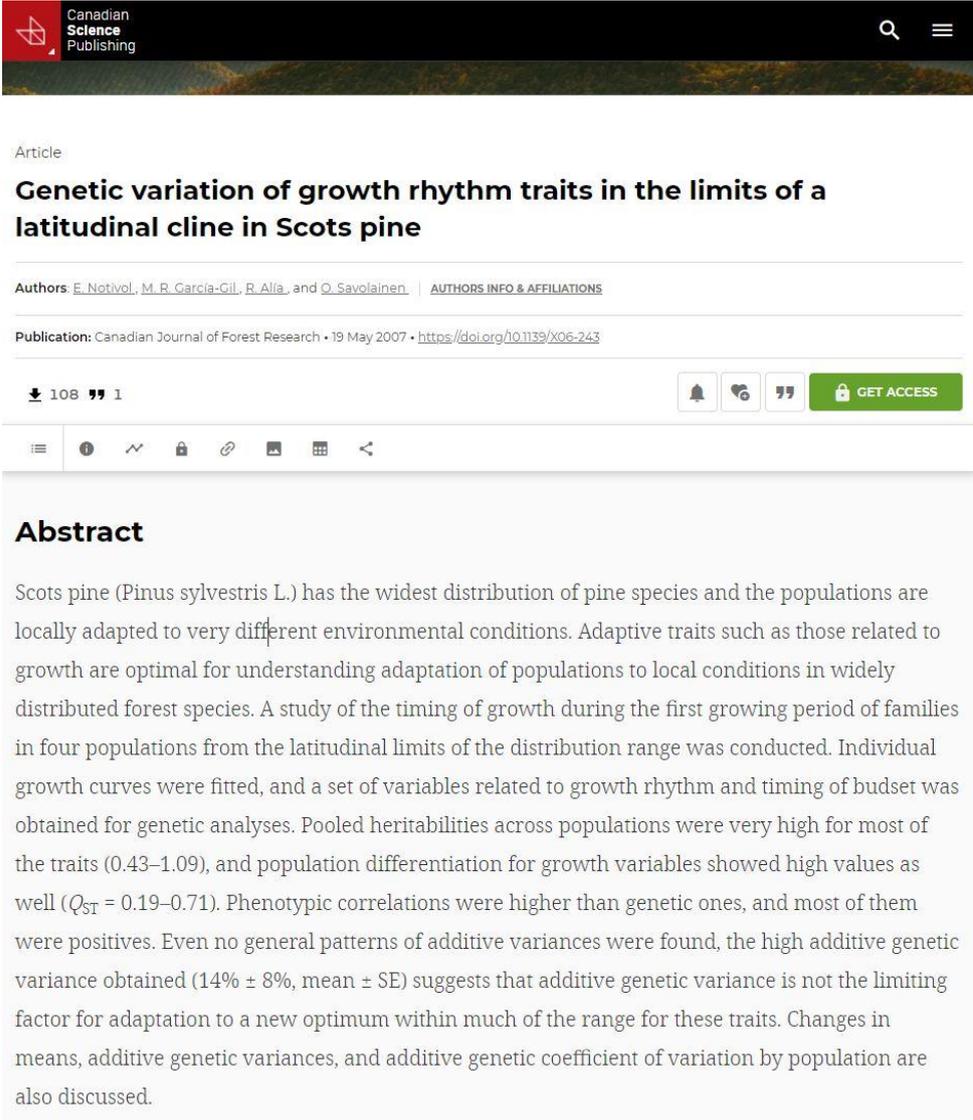


Figura 38: Componentes de la varianza en porcentaje de todos los factores para el año 7 en los tres sitios de ensayo



## ANEXO 2: Artículos publicados relacionados con esta Tesis

Por derechos de acceso para el artículo publicado en el Canadian Journal of Forest Research, sólo se adjunta la referencia en web, doi: <https://doi.org/10.1139/X06-243> y una imagen de la primera página. El artículo publicado en *Forests* 2020, 11(11), 1222; <https://doi.org/10.3390/f11111222> es de libre acceso en <https://www.mdpi.com/1999-4907/11/11/1222/htm> y se presenta la primera página igualmente



Canadian Science Publishing

Article

### Genetic variation of growth rhythm traits in the limits of a latitudinal cline in Scots pine

Authors: [E. Notivol](#), [M. R. García-Gil](#), [R. Alía](#), and [O. Savolainen](#) | [AUTHORS INFO & AFFILIATIONS](#)

Publication: Canadian Journal of Forest Research • 19 May 2007 • <https://doi.org/10.1139/X06-243>

108 1

GET ACCESS

#### Abstract

Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) has the widest distribution of pine species and the populations are locally adapted to very different environmental conditions. Adaptive traits such as those related to growth are optimal for understanding adaptation of populations to local conditions in widely distributed forest species. A study of the timing of growth during the first growing period of families in four populations from the latitudinal limits of the distribution range was conducted. Individual growth curves were fitted, and a set of variables related to growth rhythm and timing of budset was obtained for genetic analyses. Pooled heritabilities across populations were very high for most of the traits (0.43–1.09), and population differentiation for growth variables showed high values as well ( $Q_{ST} = 0.19–0.71$ ). Phenotypic correlations were higher than genetic ones, and most of them were positives. Even no general patterns of additive variances were found, the high additive genetic variance obtained ( $14\% \pm 8\%$ , mean  $\pm$  SE) suggests that additive genetic variance is not the limiting factor for adaptation to a new optimum within much of the range for these traits. Changes in means, additive genetic variances, and additive genetic coefficient of variation by population are also discussed.



## Genetic variation of growth rhythm traits in the limits of a latitudinal cline in Scots pine

E. Notivol, M. R. García-Gil, R. Alía, and O. Savolainen

**Abstract:** Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) has the widest distribution of pine species and the populations are locally adapted to very different environmental conditions. Adaptive traits such as those related to growth are optimal for understanding adaptation of populations to local conditions in widely distributed forest species. A study of the timing of growth during the first growing period of families in four populations from the latitudinal limits of the distribution range was conducted. Individual growth curves were fitted, and a set of variables related to growth rhythm and timing of budset was obtained for genetic analyses. Pooled heritabilities across populations were very high for most of the traits (0.43–1.09), and population differentiation for growth variables showed high values as well ( $Q_{ST} = 0.19–0.71$ ). Phenotypic correlations were higher than genetic ones, and most of them were positives. Even no general patterns of additive variances were found, the high additive genetic variance obtained ( $14\% \pm 8\%$ , mean  $\pm$  SE) suggests that additive genetic variance is not the limiting factor for adaptation to a new optimum within much of the range for these traits. Changes in means, additive genetic variances, and additive genetic coefficient of variation by population are also discussed.

**Résumé :** *Pinus sylvestris* L. possède la plus large distribution de toutes les espèces de pin et ses populations sont adaptées localement à des conditions environnementales très différentes. Les caractères adaptatifs comme ceux qui sont reliés à la croissance sont idéals pour comprendre l'adaptation des populations aux conditions locales chez les espèces forestières à large distribution. Les auteurs ont étudié le rythme de croissance durant la première saison de croissance de familles représentatives de quatre populations situées aux limites latitudinales de la distribution de l'espèce. Des courbes de croissance individuelles ont été développées et un ensemble de variables reliées au rythme de croissance et à l'apparition des bourgeons ont été obtenues pour les fins de l'analyse génétique. Les héritabilités estimées pour l'ensemble des populations étudiées étaient très élevées pour la plupart des caractères (0,43 à 1,09) et la différenciation de population pour les variables reliées à la croissance avait également des valeurs élevées ( $Q_{ST} : 0,19$  à  $0,71$ ). Les corrélations phénotypiques étaient plus fortes que les corrélations génétiques et la plupart d'entre elles étaient positives. Même si aucun patron général de variances additives n'a été observé, la forte variance génétique additive obtenue ( $14\% \pm 8\%$  en moyenne) indique que la variance génétique additive n'est pas le facteur limitant pour l'adaptation à un nouvel optimum parmi la majeure partie de l'étendue des valeurs pour ces caractères. Les auteurs discutent également des variations observées entre les populations quant aux moyennes, aux variances génétiques additives et aux coefficients génétiques additifs de variation.

[Traduit par la Rédaction]

### Introduction

How trait means and additive genetic variation respond to selection can be studied in distant natural populations. Within each population there is stabilizing selection for a local optimum (Barton 1999), but the optimum differs between populations across a gradient of natural conditions. There is little information available about the quantitative genetics of clines. Theoretical predictions show that the means will follow the local optima. It is more difficult to

make predictions about the patterns of genetic variance, as these can largely depend on the genetics of each trait, and on the relative strength of selection and migration (Crow and Nagylaki 1976; Barton and Turelli 1989; Barton 1999). Studies on the quantitative genetics of populations from the extremes of clines involving multiple traits and loci can provide information on the genetic basis of the divergence between populations. The documentation of the patterns of additive genetic variation on the extreme populations is a first step in this direction and should be accompanied by examination of single locus variation patterns at marker genes or candidate genes (García-Gil et al. 2003; Waldmann et al. 2005).

Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) is a good model forest species to address this question. Based on theoretical premises, the prediction for a species such as Scots pine, with large effective population size ( $N_e$ ) (no drift), extensive pollen flow, and outcrossing mating system (Muona and Harju 1989), is the absence of neutral differentiation. The empirical results of among-population differentiation at neutral level in Scots pine agree with this prediction (Karhu et al. 1996; Robledo-Arnuncio et al. 2005). On the other hand, steep clinal variation for the timing of budset and frost toler-

Received 18 May 2006. Accepted 2 September 2006. Published on the NRC Research Press Web site at cjfr.nrc.ca on 19 May 2007.

E. Notivol,<sup>1</sup> Unidad de Recursos Forestales, CITA-DGA, P.O. Box 727 E-50080 Zaragoza, Spain.

M. García-Gil<sup>2</sup> and O. Savolainen, Department of Biology, University of Oulu, P.O. Box 3000, FIN-90014, Finland.

R. Alía, CIFOR-INIA, Dpto. Sistemas y Recursos Forestales Ctra La Coruña Km 7.5, E-28040 Madrid, Spain.

<sup>1</sup>Corresponding author (e-mail: enotivol@aragon.es).

<sup>2</sup>Present address: SLU, Department of Forest Genetics and Plant Physiology, 90183, Umeå, Sweden.



Article

# Seed Sourcing Strategies Considering Climate Change Forecasts: A Practical Test in Scots Pine

Eduardo Notivol <sup>1,2,\*</sup>, Luis Santos-del-Blanco <sup>3,4,†</sup>, Regina Chambel <sup>3</sup>, Jose Climent <sup>3,4</sup> and Ricardo Alía <sup>3,4,\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Forest Resources, Agrifood Research and Technology Centre of Aragon (CITA), Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza, Spain

<sup>2</sup> ETSI de Montes, Forestal y del Medio Natural de la Universidad Politécnica de Madrid (UPM), 28040 Madrid, Spain

<sup>3</sup> INIA-CIFOR, Department of Ecology and Forest Genetics, Ctra. Coruña km 7.5, 28040 Madrid, Spain; luisaemf@gmail.com (L.S.-d.-B.); chambel.regina@inia.es (R.C.); climent@inia.es (J.C.)

<sup>4</sup> Sustainable Forest Management Research Institute, University of Valladolid, Av. Madrid s/n, 34004 Palencia, Spain

\* Correspondence: enotivol@cita-aragon.es (E.N.); alia@inia.es (R.A.)

† Those authors contributed equally.

Received: 19 October 2020; Accepted: 17 November 2020; Published: 20 November 2020



**Abstract:** *Research Highlights:* We experimentally tested different seed sourcing strategies (local, predictive, climate-predictive, climate-adjusted, composite and admixture) under a climate change high emissions scenario using a Scots pine multi-site provenance test. *Background and Objectives:* There is an urgent need to conserve genetic resources and to support resilience of conifer species facing expected changes and threats. Seed sourcing strategies have been proposed to maximize the future adaptation and resilience of our forests. However, these proposals are yet to be tested, especially in long-lived organisms as forest trees, due to methodological constraints. In addition, some methods rely on the transfer of material from populations matching the future conditions of the sites. However, at the rear edge of the species, some specific problems (high fragmentation, high genetic differentiation, role of genetic drift) challenge the theoretical expectations of some of these methods. *Materials and Methods:* We used a Scots pine multi-site provenance test, consisting of seventeen provenances covering the distribution range of the species in Spain tested in five representative sites. We measured height, diameter and survival at 5, 10 and 15 years after planting. We simulated populations of 50 trees by bootstrapping material of the provenance test after removing the intra-site environmental effects, simulating different seed sourcing strategies. *Results:* We found that local and predictive methods behaved better than methods based on the selection of future climate-matching strategies (predictive-climate and climate-adjusted) and those combining several seed sources (composite and admixture seed sourcing strategies). *Conclusions:* Despite the theoretical expectations, for Scots pine, a forest tree species at its rear edge of its distribution, seed-sourcing methods based on climate matching or a combination of seed sources do not perform better than traditional local or predictive methods or they are not feasible because of the lack of future climate-matching populations.

**Keywords:** genetic variation; seed sourcing; forest management; genetic conservation; *Pinus sylvestris*

## 1. Introduction

Forests are essential to the provision of ecosystem services, products and environmental assets of a country or region, providing important incomes when globally accounting for all indicators [1]. As a result, forests, and particularly conifer forests, have been widely exploited and transformed by