

CAUSAS, TENDENCIAS E IMPLICACIONES PARA EL CULTIVO EN VIVERO Y EL ÉXITO DE LAS REPOBLACIONES DE LA VARIABILIDAD FENOTÍPICA DE LAS PLANTAS LEÑOSAS: EL CASO DE *QUERCUS ILEX* Y *Q. COCCIFERA*

F. VALLADARES (1); L. BALAGUER (2); E. MARTINEZ-FERRI (2, 4); E. PEREZ-CORONA (3); E. MANRIQUE (4)

(1) Centro de Ciencias Medioambientales, C.S.I.C. Serrano 115, 28006 Madrid (e-mail: valladares@ccma.csic.es)

(2) Dept. Biología Vegetal I, Fac. Ciencias Biológicas, Universidad Complutense 28040 Madrid

(3) Dept. Ecología, Fac. Ciencias Biológicas, Universidad Complutense 28040 Madrid

(4) Dept. Biología Vegetal II, Fac. Farmacia, Universidad Complutense 28040 Madrid

RESUMEN

En este trabajo se ha analizado la respuesta a la luz y a la disponibilidad de nutrientes en brinzales de tres savias de *Quercus ilex* subespecie *ballota* y *Q. coccifera*. Los brinzales fueron mantenidos en vivero hasta el tercer año, momento en el que se realizaron las medidas de un total de 74 variables morfológicas y fisiológicas en 4-10 ejemplares de cada especie en cada tratamiento. Ambas especies toleraron condiciones de pleno sol estando bien regadas, pero su desarrollo fue mejor cuando la radiación solar se redujo en un 10-15%. La respuesta al tratamiento fue baja en ambas especies, especialmente ante la disponibilidad de nutrientes por lo que la fertilización en vivero debe ser moderada. La inestabilidad en el desarrollo tuvo una incidencia en la variabilidad fenotípica observada comparable a la respuesta plástica al ambiente. La baja plasticidad fenotípica de ambas especies se puso claramente de manifiesto cuando se comparó con la de matorrales siempreverdes del bosque tropical lluvioso. Esta reducida plasticidad de las dos especies de *Quercus* estudiadas podría tratarse de una respuesta adaptativa a las características del clima mediterráneo, en concreto al binomio impredecibilidad – adversidad.

P.C.: plasticidad fenotípica, inestabilidad en el desarrollo, luz, nutrientes, *Quercus ilex*, *Quercus coccifera*

SUMMARY

The response to light and nutrient availability of three year old seedlings of *Quercus ilex* and *Quercus coccifera* has been analysed in the present study. Seedlings were maintained in a nursery until the third year. A total of 74 morphological and physiological variables were measured in 4-10 individuals of each species from each treatment. Both species tolerated full sunlight being well-watered, but their development was better when solar radiation was reduced by 10-15%. Both species exhibited a low response to the treatments, especially to nutrient availability. Thus, fertilisation of seedlings in the nursery must be moderate. Developmental instability had an impact on the observed phenotypic variability comparable to the plastic response to the environment. The low phenotypic plasticity of the two species studied was evident when compared with evergreen shrubs from the tropical rain forest. The low plasticity of the two *Quercus* species studied could be an adaptive response to the main features of the Mediterranean climate, in particular to the combination of unpredictability and adversity.

K.W.: phenotypic plasticity, developmental instability, light, nutrients, *Quercus ilex*, *Quercus coccifera*

INTRODUCCIÓN

Las especies y los individuos de cada especie presentan distintos fenotipos y es bien sabido que esta variabilidad fenotípica es la base de la selección tanto natural como artificial (Darwin, 1980; Ridley 1996). La variabilidad de fenotipos de una especie tiene cuatro posibles causas: 1) diferencias genéticas infraespecíficas, 2) plasticidad fenotípica, 3) inestabilidad en el desarrollo 4) errores metodológicos. Mediante un diseño factorial en bloques en el que un genotipo determinado se expone a diferentes ambientes es posible separar cada una de estas causas de variación cuyas implicaciones tanto sobre su ecología y evolución como de cara a su cultivo en vivero y el éxito de las repoblaciones es muy diferente (Schlichting & Pigliucci 1998). Dada la convergencia de factores limitantes para el desarrollo de la vegetación en ambientes mediterráneos (Valladares & Percy 1997), se ha planteado

que las especies propias de estos ambientes tiene una baja plasticidad y un uso conservativo de los recursos (Valladares *et al.* 2000, Balaguer *et al.* 2001)

Los estudios sistemáticos de la capacidad de respuesta al ambiente de especies leñosas mediterráneas permiten extraer conclusiones de directa aplicación para la producción de planta en vivero a la vez que detectar tendencias evolutivas de gran valor predictivo. Dado que el genotipo óptimo para un proyecto de revegetación o reforestación depende del lugar al que se quiera transplantar, nuestra hipótesis es que los genotipos más apropiados para áreas críticas son aquellos poco plásticos al no producir fenotipos desproporcionados en respuesta a un periodo favorable transitorio, mientras que en áreas heterogéneas los genotipos plásticos reducirían el número de marras.

En este trabajo nos propusimos 1) explorar las causas no genéticas de la variabilidad fenotípica de plántulas de *Q. ilex* y *Q. coccifera*, 2) identificar tendencias en la plasticidad fenotípica de la vegetación leñosa mediterránea mediante la comparación con especies de otros biomas, 3) discutir las posibles implicaciones de estas tendencias para el cultivo en vivero y la repoblación con estas especies.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño experimental

Se plantaron bellotas de *Quercus ilex* L subsp. *ballota* y *Quercus coccifera* L. en Febrero de 1996 en el vivero Barbol (Torremocha del Jarama, Madrid). Tras la germinación inicial, las plántulas se dispusieron en macetas de 15 litros rellenas con arena de río lavada y se distribuyeron en dos niveles de radiación x dos niveles de fertilización en un diseño factorial. La mitad de las plántulas se dispusieron a pleno sol y la otra mitad en el interior de un umbráculo en el que la radiación PAR integrada a lo largo del día era 5 veces inferior al exterior (e.g. 9.1 vs 47.4 mol m⁻² day⁻¹ PAR durante el periodo de medidas en Agosto de 1998). A su vez, la mitad de las plantas se dejaron en arena de río sin fertilizar mientras que la otra mitad se enriquecieron con 3.1 Kg de Plantacote Mix 4 M (15/17/15 N/P/K) mas 4.4 Kg of Guanumus Angibaud (3/35/2 N/P/K) por m³ de arena. Al final del experimento (Agosto 1998), las plantas fueron recolectadas y separadas en hojas, tallos y raíces, las áreas foliares fueron medidas, parte del material se guardó para análisis de pigmentos fotosintéticos y a continuación el resto del material se secó en estufa a 65^o durante al menos 48 h. Una alícuota de cada muestra se molió para análisis de contenido en macronutrients. Los resultados de este estudio con las dos especies de *Quercus* se compararon con los datos obtenidos en un estudio similar realizado en la isla de Barro Colorado (Panamá) con 16 especies de arbustos siempreverdes del bosque tropical lluvioso del género *Psychotria*. Los datos del estudio de *Psychotria* se recalcularon de acuerdo con los protocolos del experimento de *Quercus*. Más detalles de estos experimentos pueden encontrarse en Valladares *et al.* (2000a, 2001).

Variables medidas

Un total de 75 variables fueron medidas en 4-8 plántulas de cada combinación especie-nivel de radiación-nivel de fertilización. Las variables abarcaron tanto el nivel foliar como el nivel de toda la planta y fueron tanto morfológicas (e.g. peso específico foliar, grado de lobulación de la hoja, altura de la parte aérea, proporción tallo-raíz) como fisiológicas (e.g. concentración de pigmentos, nutrientes, fotosíntesis). Los pigmentos fotosintéticos analizados fueron clorofilas y carotenoides (luteína, carotenos, neoxantina y los tres pigmentos del ciclo de la xantofilas). Los nutrientes analizados fueron nitrógeno, fósforo y potasio, y se midieron en hojas, tallos y raíces por separado. Las características fotosintéticas de las hojas se midieron tanto mediante intercambio gaseoso (ADC3, Analytical Development Co., Hoddesdon UK) como mediante fluorescencia *in situ* de clorofilas (PAM-2000, Walz, Alemania). Se realizaron curvas de respuesta fotosintética a la luz de las que se obtuvieron las tasas máximas de fotosíntesis y respiración, el rendimiento cuántico y el factor de curvatura. El intercambio gaseoso a nivel foliar se escaló hasta el nivel de planta mediante la

reconstrucción 3-D de la copa empleando el modelo Y-plant (Pearcy & Yang 1996, Valladares & Pearcy 1998) con lo que se obtuvo el grado de autosombreado, la tasa potencial de adquisición de carbono y la tasa potencial de transpiración y de eficiencia en el uso hídrico entre otros parámetros.

Estimadores de la variabilidad fenotípica, la plasticidad y la inestabilidad del desarrollo

La variabilidad fenotípica se estudió en ambas especies para las 75 variables y se estimó mediante el coeficiente de variación (desviación estándar / media), estimador empleado habitualmente con este fin (e.g. Handford, 1980). La variabilidad fenotípica estudiada se desdobló en dos de sus componentes principales, la plasticidad fenotípica (Valladares 1999, 2000) y la inestabilidad en el desarrollo (Moller & Swaddle 1997). La variabilidad entre tratamientos fue empleada como estimador de la plasticidad fenotípica mientras que la variabilidad dentro de un tratamiento se empleó como estimador de la inestabilidad del desarrollo. Se calculó un índice de plasticidad fenotípica para cada variable como la diferencia entre la media mas alta y mas baja entre tratamientos. Este índice oscila entre 0 y 1 y permite comparar variables de distintas unidades y rangos de variación por lo que ha sido empleado con éxito en otros trabajos (Valladares *et al.* 2000a, 2000b y 2001). Un índice similar se empleó para calcular la inestabilidad del desarrollo, si bien en este caso los valores máximos y mínimos se tomaron de individuos de la misma especie bajo un mismo tratamiento.

Análisis estadístico: path análisis

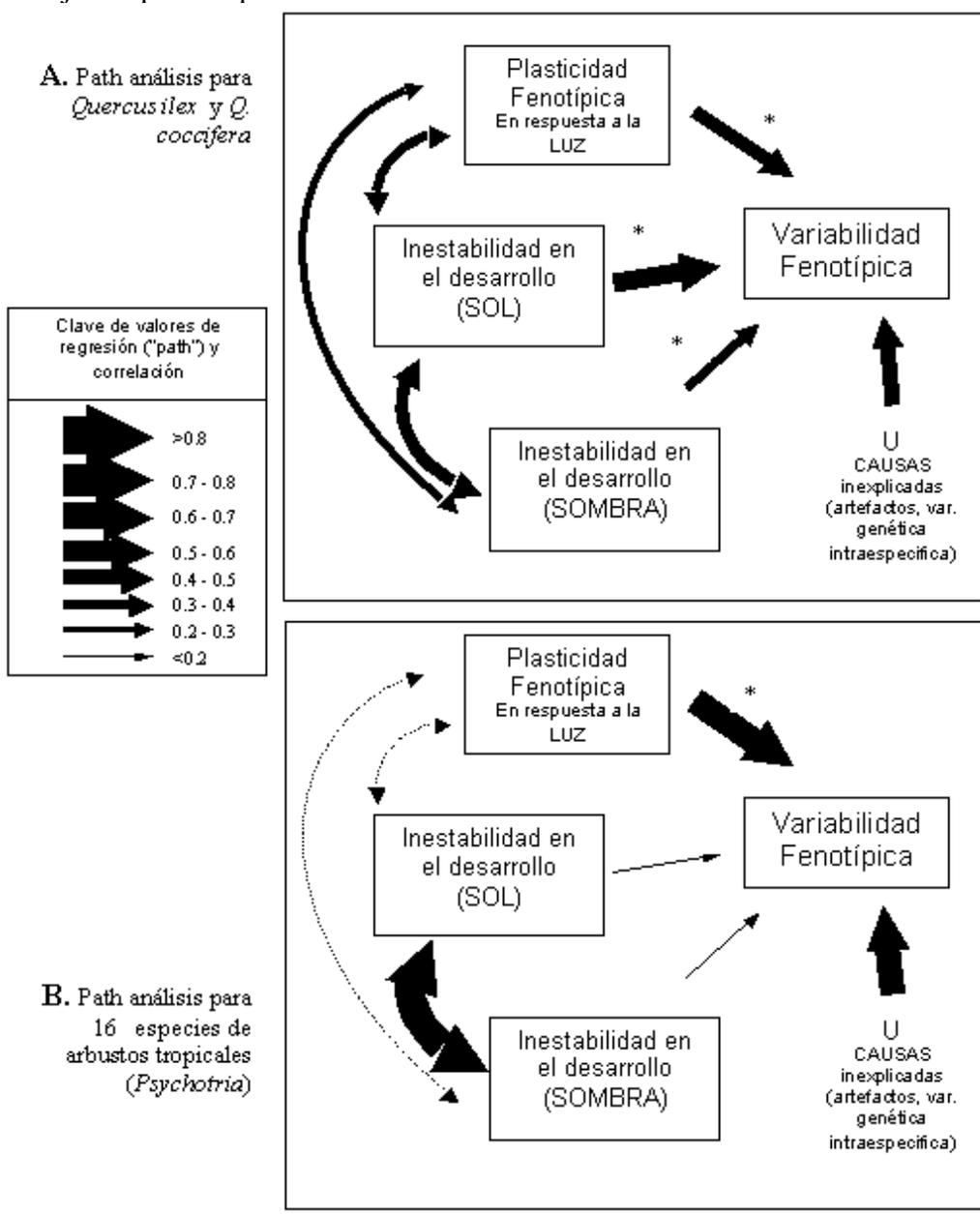
Las diferencia entre especies y tratamientos se exploraron mediante un ANOVA de tres vías y la importancia relativa de la plasticidad fenotípica y de la inestabilidad del desarrollo se estudió mediante *path* análisis. La dependencia de la variabilidad fenotípica en sus dos componentes principales (plasticidad e inestabilidad) se estudió mediante *path* análisis siguiendo los métodos de Mitchell (1993) y Bassow & Bazzaz (1998). *Path* análisis es una forma más general de la regresión múltiple que permite la consideración de diagramas causales complejos y que puede ser usado cuando las variables independientes no son totalmente independientes o están correlacionadas. Nuestro diagrama causal (Figura 1) fue creado deliberadamente simple a partir de conceptos básicos de variabilidad fenotípica (Schlichting & Pigliuci 1998, Moller 1997) y se centró en la plasticidad frente al ambiente lumínico para poder compararse con los datos de un experimento anterior realizado con plantas tropicales (Valladares *et al.* 2000b). El grosor de la flecha del *path* es proporcional al valor de la regresión o correlación lo que permite la comparación visual de las distintas relaciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ambas especies mostraron una respuesta similar a la disponibilidad de luz y nutrientes. Ambas toleraron condiciones de pleno sol estando bien regadas, pero su desarrollo fue mejor cuando la radiación solar se redujo en un 10-15%. La respuesta al tratamiento fue baja en ambas especies, especialmente ante la disponibilidad de nutrientes por lo que la fertilización en vivero debe ser moderada. La inestabilidad en el desarrollo tuvo una incidencia en la variabilidad fenotípica observada comparable a la respuesta plástica al ambiente. Esto puede observarse en el *path* análisis (Figura 1) donde la influencia relativa de la plasticidad y la inestabilidad en la variabilidad fenotípica registrada en las dos especies de *Quercus* se compara con los resultados de 16 especies de arbustos siempreverdes del bosque tropical (género *Psychotria*). En los matorrales siempreverdes del bosque tropical la inestabilidad en el desarrollo no tuvo un efecto significativo sobre la variabilidad fenotípica a diferencia del significativo efecto que tuvo en el caso de las dos especies de *Quercus*. Esta reducida plasticidad de las dos especies de *Quercus* estudiadas podría tratarse de una respuesta adaptativa a las características del clima mediterráneo, en concreto al binomio impredecibilidad – adversidad. El que la adversidad limite la plasticidad fenotípica ha sido planteado en la denominada hipótesis de la especialización en la plasticidad de las plantas (Lortie & Aarssen 1996, Valladares *et al.* 2000a, 2000b) y ha sido comprobado en un estudio con *Quercus coccifera* en el que se exploró la plasticidad fenotípica de tres poblaciones segregadas en un gradiente de adversidad (Balaguer *et al.* 2001). Una mayor heterogeneidad del hábitat y una mayor variabilidad genética dentro de las poblaciones de *Q. coccifera* estudiadas también explicaron una mayor plasticidad, pero dado que estos tres factores (adversidad, heterogeneidad ambiental y variabilidad genética) no pudieron

separarse y están frecuentemente correlacionados no es posible por el momento concluir sobre las relaciones causales entre ellos y plasticidad en esta especie.

Además de conclusiones directas sobre el más apropiado régimen lumínico y de fertilización para el cultivo de estas especies en vivero, la realización de mas estudios como el presente en otras especies y poblaciones permitirá recomendar con criterios más completos e integrados que los actuales aquellas que sean más apropiadas para cada proyecto de revegetación concreto. Ello se debe a que las actividades humanas generan hábitats que difieren en su nivel de heterogeneidad ambiental. En los casos en que la actividad humana lleva a un ambiente homogéneo, la especie y procedencia potencialmente más exitosa para una repoblación será aquella mejor adaptada al macroclima de la zona y a las características ambientales promedio. Sin embargo, en los casos en que se generan fuertes gradientes (e.g. ciertos taludes de carretera donde la disponibilidad de agua y nutrientes es muy contrastada entre las partes superior e inferior) podría ser más exitosa una repoblación con especies y procedencias de elevada plasticidad fenotípica. Si la intención es acelerar el crecimiento vegetal o si este se puede ver apoyado artificialmente mediante intervención humana también podría resultar mas aconsejable emplear especies o procedencias plásticas y no conservativas, aunque estas últimas puedan estar mejor dispuestas para tolerar las adversas condiciones del clima mediterráneo.



BIBLIOGRAFÍA

- DARWIN, E.; (1800). *Phytologia; or the philosophy of agriculture and gardening*. Johnson, London.
- BALAGUER, L., E. MARTÍNEZ-FERRI, F. VALLADARES, M. E. PÉREZ-CORONA, F. J. BAQUEDANO, F. J. CASTILLO, & E. MANRIQUE; (2001). Population divergence in the plasticity of the response of *Quercus coccifera* to the light environment. *Functional Ecology* 15:
- LORTIE, C. J., & L. W. AARSSSEN; (1996). The specialization hypothesis for phenotypic plasticity in plants. *International Journal of Plant Sciences* 157: 484-487.
- HANDFORD, P.; (1980). Heterozygosity at enzyme loci and morphological variation. *Nature* 286: 261-262.
- BASSOW, S. L., & F. A. BAZZAZ; (1998). How environmental conditions affect canopy leaf-level photosynthesis in four deciduous tree species. *Ecology* 79: 2660-2675.
- MITCHELL, R. J.; (1993). Path analysis: pollination. Páginas 211-231 en: S. M. Scheiner , & J. Gurevitch (editores). *Design and analysis of ecological experiments*. Chapman and Hall, New York.
- MOLLER, A. P.; (1997). Developmental stability and fitness: a review. *American Naturalist* 149: 916-932.
- MOLLER, A. P., & J. P. SWADDLE; (1997). *Asymmetry, developmental stability, and evolution*. Oxford University Press, New York.
- PEARCY, R. W., & W. YANG; (1996). A three-dimensional shoot architecture model for assessment of light capture and carbon gain by understory plants. *Oecologia* 108: 1-12.
- RIDLEY, M.; (1996). *Evolution*. Blackwell Science, Cambridge, Massachusetts.
- SCHLICHTING, C. D., & M. PIGLIUCCI; (1998). *Phenotypic evolution. A reaction norm perspective*. Sinauer Associates Inc., Sunderland.
- VALLADARES, F.; (1999). Architecture, ecology and evolution of plant crowns. Páginas 121-194 En: F. I. Pugnaire & F. Valladares (edirores) *Handbook of functional plant ecology*. Marcel Dekker, New York.
- VALLADARES, F.; (2000). Light and plant evolution: adaptation to the extremes versus phenotypic plasticity. En: H. Greppin (editor). *Advanced studies in plant biology*. University of Geneva, Ginebra.
- VALLADARES, F., & R. W. PEARCY; (1997). Interactions between water stress, sun-shade acclimation, heat tolerance and photoinhibition in the sclerophyll *Heteromeles arbutifolia*. *Plant, Cell and Environment* 20: 25-36.
- VALLADARES, F., & R. W. PEARCY; (1998). The functional ecology of shoot architecture in sun and shade plants of *Heteromeles arbutifolia* M. Roem., a Californian chaparral shrub. *Oecologia* 114: 1-10.
- VALLADARES, F., E. MARTINEZ-FERRI, L. BALAGUER, E. PEREZ-CORONA, & E. MANRIQUE; (2000a). Low leaf-level response to light and nutrients in Mediterranean evergreen oaks: a conservative resource-use strategy? *New Phytologist* 148: 79-91.
- VALLADARES, F., E. MARTINEZ-FERRI, L. BALAGUER, E. PEREZ-CORONA, & E. MANRIQUE; (2001). Dissecting the phenotypic plasticity in response to light and nutrients in two Mediterranean evergreen oaks. *Plant Cell and Environment* (en trámite)
- VALLADARES, F., S. J. WRIGHT, E. LASSO, K. KITAJIMA, & R. W. PEARCY; (2000b). Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology* 81: 1925-1936.