

# SISTEMAS DE REPRODUCCIÓN Y FLUJO GENÉTICO EN ESPECIES FORESTALES: APLICACIÓN A LA MEJORA GENÉTICA DE *Pinus pinaster* Ait.

S.C. GONZÁLEZ MARTÍNEZ<sup>1,2</sup>, J. BURCZYK<sup>3</sup>, J.J. ROBLEDO<sup>2</sup>, L. GIL<sup>2</sup> y R. ALÍA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Mejora Genética y Biotecnología, CIFOR-INIA, Ctra. de La Coruña km 7, 28.040 Madrid.

<sup>2</sup> Unidad de Anatomía, Fisiología y Genética, ETSIM, Ciudad Universitaria s/n, 28.040 Madrid.

<sup>3</sup> Department of Biology and Environmental Protection, Pedagogical University, Chodkiewicza 30, 85.064 Polonia.

## RESUMEN

El estudio del flujo genético y del sistema reproductivo de una especie puede aportar datos útiles para las actividades de conservación y mejora de sus recursos genéticos. Se han sugerido diversos métodos para abordar este tipo de análisis. En este estudio se aplica un modelo de vecindario (*Neighbourhood model*) a una parcela de pino negral de la Meseta Castellana. Se realizan además simulaciones para estimar el efecto del flujo genético en la ganancia genética en producción de resina obtenida tras la regeneración natural de un rodal con distintas intensidades de selección fenotípica de los árboles padre. Los resultados muestran la existencia de un elevado flujo genético (56% de semilla y 85% de polen) en la parcela de estudio y una reducción de la ganancia genética de producción de resina bajo distintos niveles de flujo genético.

**P.C.:** flujo genético, selección fenotípica, ganancia genética, pino negral.

## SUMMARY

Studies dealing with gene flow and mating system of forest species provide useful data for breeding and conservation of forest genetic resources. Several models and methodologies have been developed in the last decade to estimate mating parameters. In this paper, we use the *Neighbourhood model* to estimate gene flow and female reproductive success in a maritime pine plot (*Pinus pinaster* Ait.) located in Central Spain (Meseta Castellana). Additionally, the impact of gene flow on genetic gain after a phenotypic selection for resin production (for instance, after the regeneration cuttings) was analysed by means of simulated populations. The gene flow both by seed and pollen was very high (56% and 86%, respectively) in the study plot and a reduction of genetic gain in resin production is expected with increasing levels of gene flow.

**K.W.:** gene flow, phenotypic selection, genetic gain, maritime pine.

## INTRODUCCIÓN

La aplicación de las técnicas de análisis genético mediante marcadores viene abordando la caracterización de las distintas especies forestales bajo dos puntos de vista: (i) la estructura de la variabilidad genética dentro y entre poblaciones y los niveles de flujo genético histórico y (ii) los procesos genéticos que condicionan dicha estructura. Este segundo punto de vista dinámico, centrado en el estudio del flujo genético actual a distintas escalas y en el sistema reproductivo de cada especie, puede proporcionar información útil sobre la incidencia de las actuaciones humanas en estos procesos e informar la toma de decisiones en la gestión, conservación y mejora de los recursos genéticos forestales (BOSHIER, 2000). En este sentido, se viene considerando el impacto de la contaminación polínica en áreas de conservación *in situ* (ADAMS & BURCZYK, 2000), el efecto de la selvicultura sobre la dinámica genética del rodal y la diversidad genética del regenerado (THOMAS *et al.*, 1999; ADAMS *et al.*, 1997; NASON & HAMRICK, 1997; MURAWSKI *et al.*, 1994) o el diseño óptimo de los muestreos incluidos en las estrategias de conservación de los recursos genéticos basados en información sobre la estructura y los procesos genéticos (SAVOLAINEN, 2000; BALFOURIER *et al.*, 1998; ERIKSSON *et al.*, 1993).

Tradicionalmente, se han utilizado tres tipos de métodos para la estimación del flujo genético actual (ADAMS, 1992): (1) *basados en alelos raros*; seguimiento de la pista del polen o de las semillas de árboles individuales mediante el estudio de alelos raros presentes en uno o más progenitores; (2) *análisis de parentesco*; realiza estimaciones de flujo genético analizando las relaciones de parentesco entre los árboles padre y la progenie mediante el uso de la probabilidad de exclusión (EP), es decir, la probabilidad de excluir a los posibles progenitores sobre la base de la incompatibilidad genética con las semillas o el regenerado y (3) *modelos globales*; tratan de estimar parámetros de flujo genético mediante el ajuste de modelos probabilísticos que pueden incorporar información relativa al éxito reproductivo individual de los distintos pies en función de su posición espacial, fenología floral, etc. Los trabajos realizados hasta el momento con *Pinus pinaster* Ait. mediante análisis de parentesco en un rodal situado en Coca (Segovia), muestran un elevado flujo genético (un 86% de las plántulas incluidas en una parcela circular de 50 m de radio tenían al menos un progenitor fuera de la misma) y una débil estructura intrapoblacional debida a la dispersión restringida de la semilla (GONZÁLEZ MARTÍNEZ *et al.*, 2001).

En el presente trabajo se aplica un *modelo global* denominado modelo de vecindario (*Neighbourhood model*) a la misma parcela de Coca para contrastar los resultados obtenidos mediante análisis de parentesco. Además, con posible aplicación a la gestión, se realizan simulaciones teóricas para estimar la ganancia genética en producción de resina y volumen de madera obtenida tras la regeneración natural de un rodal de 30 ha bajo diversos supuestos de selección fenotípica y de flujo genético procedente del exterior del rodal.

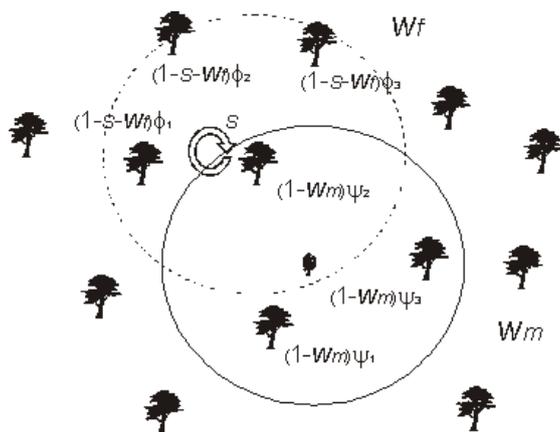
## MATERIAL Y MÉTODOS

La parcela de estudio está situada en el tranzón 1 del cuartel A de la sección 2ª del monte nº 105 del C.U.P. de Segovia, propiedad de la Comunidad de Villa y Tierra de Coca. La parcela elegida tiene un radio de 50 m (0,78 ha). En ella se han determinado las edades, alturas y circunferencias normales de todos los árboles adultos (76) y del regenerado de altura superior a 20 cm presente en una subparcela concéntrica de la anterior de 25 m de radio (132 individuos). De cada árbol, ya sea adulto o regenerado, se ha obtenido su genotipo usando tres microsatélites nucleares (*nSSRs*) altamente polimórficos (GONZÁLEZ MARTÍNEZ *et al.*, 2001): *Itp4516* (13 alelos;  $He=0,89$ ), *Frpp91* (22 alelos;  $He=0,91$ ) y *Frpp94* (8 alelos;  $He=0,73$ ). Una descripción detallada del modelo de vecindario para cosechas de semilla recogidas de árboles individuales puede consultarse en ADAMS & BIRKES (1991) y BURCZYK *et al.* (1996). Dicho modelo ha sido adaptado para el caso particular de Coca, es decir para el análisis de progenies ya establecidas, incluyendo un vecindario alrededor de cada plántula para la identificación del parental femenino (50 m) y un vecindario del mismo tamaño alrededor de cada parental femenino para la identificación del parental masculino (Figura 1):

$$P(G_j) = w_m \cdot P(G_j|B) + (1 - w_m) \cdot \sum_k \psi_k \cdot \left[ s \cdot P(G_j|M_{jk}M_{jk}) + w_p \cdot P(G_j|M_{jk}B) + (1 - s - w_p) \cdot \sum_i \phi_{ki} \cdot P(G_j|M_{jk}F_{ki}) \right]$$

Donde  $w_m$  es el flujo genético debido a la dispersión de semilla;  $w_p$  es el flujo genético debido a la dispersión de polen;  $s$  es el porcentaje de autopolinización;  $\psi$  son los factores que influyen en el éxito reproductor femenino;  $\phi$  son los factores que influyen en el éxito reproductor masculino; y  $P$  representa probabilidades de transición del genotipo de una plántula a partir de una combinación de

parentales. Como posibles factores que pudieran influir en el éxito reproductor masculino y femenino se han incluido la altura total, el diámetro normal y la distancia entre el árbol y el regenerado. Para la selección del modelo definitivo, se han realizado gran número de ajustes con diferente combinación de parámetros, seleccionándose aquel que producía un mejor ajuste por máxima verosimilitud (mínimo  $-2 \log\text{-likelihood}$ ).



**Figura 1.** Modelo de vecindario (*Neighbourhood model*) basado en regeneración natural (ver texto para una explicación de los parámetros del modelo).

La estimación de parámetros relacionados con el sistema reproductor de la especie permite la creación de escenarios próximos a la realidad en campo. Se ha simulado un rodal de 30 ha con densidad media de 150 pies/ha (pies con diámetro superior a 35 cm, que es el diámetro a partir del cual comienza la resinación), y una distribución de la producción de resina que sigue una Weibull con parámetro de escala de 3,27 y de forma de 2,81 (NANOS *et al.*, 2000). En la simulación se ha considerado una correlación entre producción de resina y volumen con corteza de 0,45 (TADESSE *et al.*, 2001), unas heredabilidades en sentido estricto ( $h^2$ ) de 0,5 y 0,2 para producción de resina y madera, respectivamente, y una correlación del valor genético y el fenotípico de 0,6. En dicha población simulada se ha calculado la ganancia genética obtenida en la producción de resina y madera tras la regeneración natural del rodal mediante cortas de diferente intensidad (disminución de la densidad a 20, 60 y 100 pies/ha) suponiendo la selección fenotípica de los mayores productores de miera como árboles padre y bajo un flujo genético procedente del exterior del rodal de 0%, 20%, 40%, 60% y 80%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la parcela estudiada se ha obtenido una estimación del flujo genético muy elevada tanto para flujo de semilla ( $56,35 \pm 7,84 \%$ ) como polen ( $84,96 \pm 13,32 \%$ ) y una tasa de autopolinización que no era significativamente diferente de cero. El mejor modelo incluye como factores importantes en el éxito reproductor individual la distancia (parentales masculinos y femeninos) y el diámetro normal (sólo parentales femeninos). Los valores de flujo genético obtenidos son similares a los procedentes del análisis de parentesco realizado en la misma parcela (GONZÁLEZ MARTÍNEZ *et al.*, 2001) y concuerdan con la bibliografía reciente de especies forestales. En huertos semilleros del género *Pinus*, el flujo genético por polen generalmente supera el 40%, incluso en aquellos casos donde las parcelas están aisladas varios kilómetros con respecto a los rodales naturales de la especie (ADAMS & BURCZYK, 2000). Utilizando un modelo similar al de este estudio, BURCZYK *et al.* (1996) estimaron un flujo genético del 56% en un rodal natural de *Pinus attenuata*. De forma similar, en un huerto semillero de *Pseudotsuga menziesii*, la proporción de polen que venía de fuera de un vecindario de 30 m de radio era 54.4% (BURCZYK & PRAT, 1997). Con respecto a los parámetros que influyen en el éxito reproductor, destaca la significación del diámetro en los parentales femeninos. Dichos resultados no concuerdan con la bibliografía existente, que señala la altura como un importante factor reproductivo, ya que los árboles más altos producen más polen y éste se dispersa a mayor distancia (BURCZYK *et al.*, 1996). En ambientes mediterráneos, de gran irregularidad climática y donde la diferenciación en altura no tiene un claro valor selectivo, la amplitud de la copa de los árboles progenitores y la cantidad de estróbilos femeninos producida podría tener gran importancia en el éxito reproductor individual. En dicho caso y considerando la buena correlación entre diámetro normal y anchura de la copa, la relación encontrada no es sorprendente.

De las simulaciones realizadas se deduce el importante efecto del flujo genético para cualquiera de las intensidades de selección ensayadas. De hecho, incluso una baja cantidad de flujo genético (20%) produce una notable reducción en la ganancia genética en producción de resina: del 29,50% al 18,71% en el caso con mayor intensidad de selección fenotípica (Figura 2). Un escenario más probable, según los resultados obtenidos con el modelo de vecindario, consideraría un flujo genético del 60%, lo que supone, en el mejor de los casos, una ganancia genética en la producción de resina de aproximadamente un 9%. Por otra parte, la selección fenotípica para la producción de resina lleva asociada una ganancia en la producción de madera en volumen con corteza (Figura 3). Dicha ganancia es inapreciable en los supuestos de flujo genético elevado ( $< 0,6\%$ ).

El efecto del flujo genético puede, por tanto, resultar negativo cuando el objetivo en la gestión de una masa sea su mejora genética para la producción de resina. No obstante, el flujo genético local puede compensar la posible pérdida de alelos derivada de un reducido número de árboles padre durante la regeneración. En este sentido, se ha considerado que el flujo genético puede ser beneficioso, siempre que la población que lo origine esté bien adaptada a las condiciones locales (FRANKEL *et al.*, 1995).

## CONCLUSIONES

El flujo genético tanto de polen como de semilla es muy elevado en el rodal de pino negral estudiado y coincide con estimaciones previas basadas en análisis de parentesco. A pesar de ello, sería interesante estudiar si las pautas de flujo detectadas se mantienen en otras situaciones selvícolas como, por ejemplo, en el caso de que se practicaran cortas de regeneración. Con respecto a la ganancia genética obtenida tras la selección fenotípica en una corta, ésta se ve influida por el flujo genético local y sólo parece interesante con intensidades de selección altas (reducción de la densidad de 150 a 20 pies/ha) y en variables con una importante heredabilidad.

## AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento a M. Allué por su valiosa colaboración en la instalación del dispositivo experimental y su discusión de los aspectos selvícolas del Proyecto, y a N. Alba que realizó una lectura crítica del manuscrito. S.C. González Martínez y J.J. Robledo disfrutaron de becas predoctorales del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte y de la Universidad Politécnica de Madrid, respectivamente. Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto INIA SC97-118.

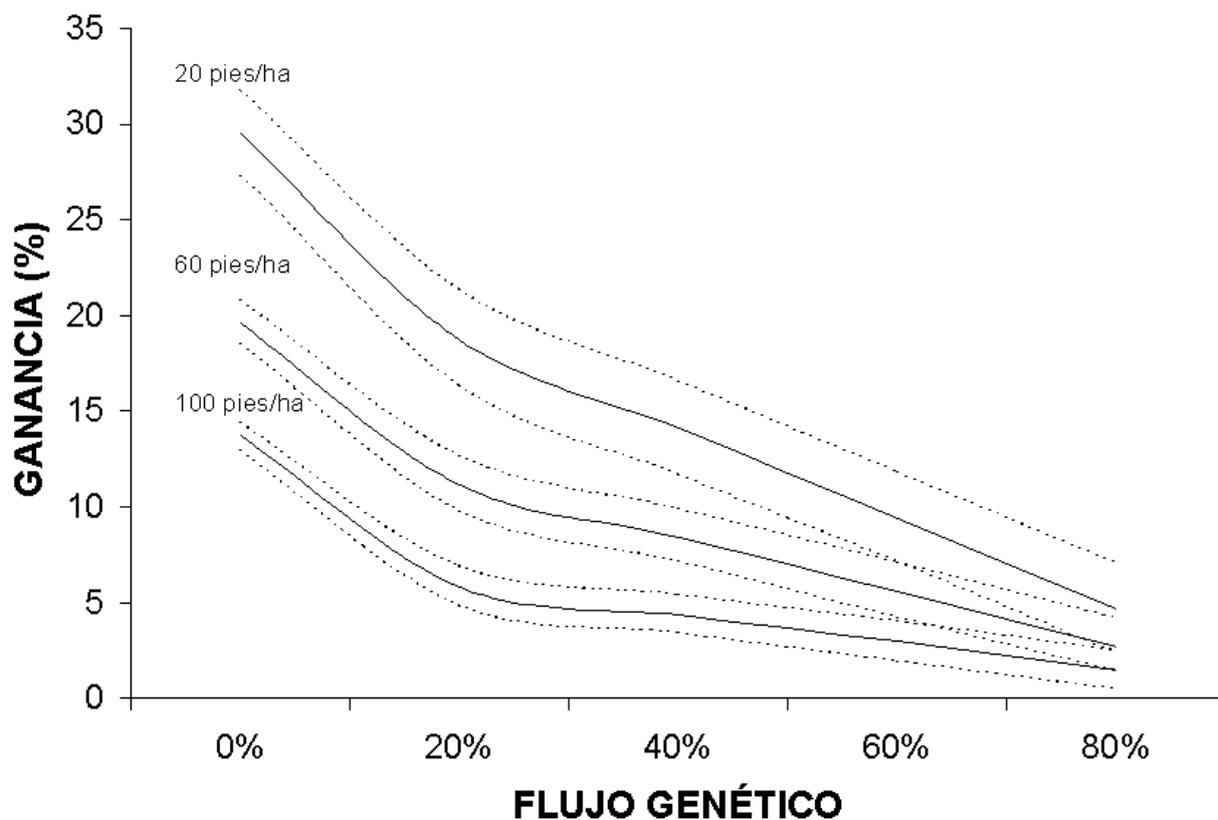


Figura 2. Ganancia genética en producción de resina obtenida tras una corta en un rodal de 30 ha bajo diversos supuestos de intensidad de selección fenotípica y de flujo genético procedente del exterior del rodal.

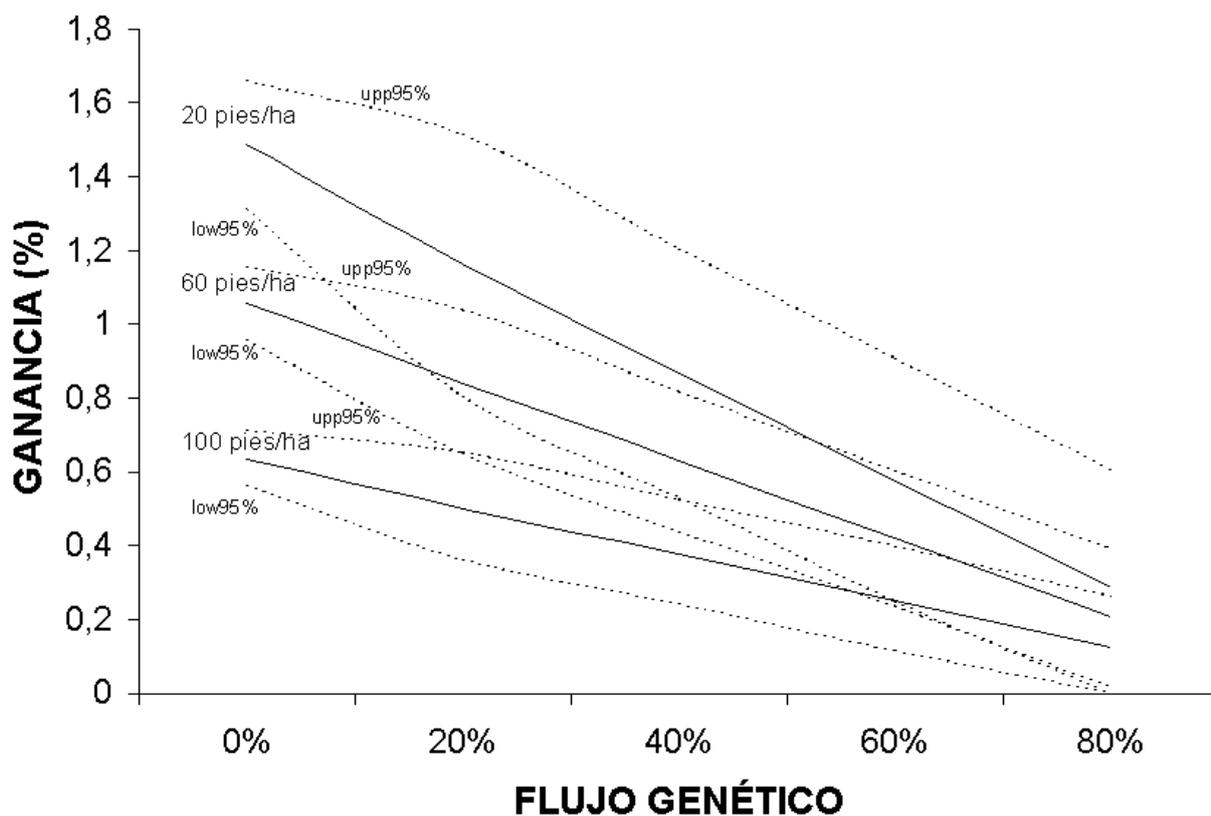


Figura 3. Ganancia genética en producción de madera (volumen con corteza) obtenida tras una corta en un rodal de 30 ha bajo diversos

supuestos de intensidad de selección fenotípica para la producción de resina y de flujo genético procedente del exterior del rodal.

## BIBLIOGRAFÍA

- ADAMS, W.T.; (1992). *Gene dispersal within forest tree populations*. New Forests 6: 217-240.
- ADAMS, W.T., BIRKES, D.; (1991). *Estimating mating patterns in forest tree populations*. Pp. 157-172. En: Fineschi, S., Malvolti, M., Cannata, F., Hattmer, H. (eds.) *Biochemical markers in the population genetics of forest trees*. SPB Academic Publishing. The Hague, Netherlands.
- ADAMS, W.T., BURCZYK, J.; (2000). *Magnitude and implication of gene flow in gene conservation reserves*. En: Young, A., Boshier, D., Boyle, T. (eds.). *Forest conservation genetics*. Pp. 215-226. CSIRO Publishing, Collingwood.
- ADAMS, W.T., ZUO, J., SHIMIZU, J.; (1997). *Impact of alternative regeneration methods on genetic diversity in coastal douglas-fir*. Forest Science 44(3): 390-396.
- BALFOURIER, F., CHARMET, G., PROSPERI, J.M., GOULARD, M., MONESTIEZ, P.; (1998). *Comparison of different spatial strategies for sampling a core collection of natural populations of fodder crops*. Genet. Sel. Evol. 30(1): 215-235.
- BOSHIER, D.; (2000). *Mating systems*. En: Young, A., Boshier, D., Boyle, T. (eds.). *Forest conservation genetics*. Pp. 63-79. CSIRO Publishing, Collingwood.
- BURCZYK, J., ADAMS, W.T., SHIMIZU, J.Y.; (1996). *Mating patterns and pollen dispersal in a natural knobcone pine (*Pinus attenuata*) stand*. Heredity 77: 251-260.
- BURCZYK, J., PRAT, D.; (1997). *Male reproductive success in *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco: the effects of spatial structure and flowering characteristics*. Heredity 79: 638-647.
- ERIKSSON, G., NAMKOONG, G., ROBERDS, J.; (1993). *Dynamic gene conservation for uncertain futures*. Forest Ecology and Management 62: 15-37.
- FRANKEL, O., BROWN, A., BURDON, J.; (1995). *The conservation of plant biodiversity*. Cambridge University Press. Cambridge.
- GONZÁLEZ MARTÍNEZ, S.C., GERBER, S., CERVERA, M., MARTÍNEZ ZAPATER, J., GIL, L., ALÍA, R.; (2001). *Seed dispersal and parentage of saplings in a Mediterranean pine (*Pinus pinaster* Ait.) using nuclear microsatellite markers*. Pendiente de publicación.
- MURAWSKI, D., NIMAL, I., BAWA, K.; (1994). *The effects of selective logging on inbreeding in *Shorea megistophylla* (Dipterocarpaceae) from Sri Lanka*. Conservation Biology 8(4): 997-1002.
- NANOS, N., TADESSE, W., MONTERO, G., GIL, L., ALÍA, R.; (2000). *Modelling resin production distributions for *Pinus pinaster* Ait. using two probability functions*. Ann. For. Sci. 57: 369-377.
- NASON, J., HAMRICK, J.; (1997). *Reproductive and genetic consequences of forest fragmentation: two cases studies of neotropical canopy trees*. J. Hered. 88(4): 264-276.
- SAVOLAINEN, O.; (2000). *Guidelines for gene conservation based on population genetics*. En: Krishnapillay, B. et al. (eds.). IUFRO World Congress. Forest and society: the role of research (1): 100-109. Malaysian XXI IUFRO World Congress Organising Committee. Malasia.
- TADESSE, W., AUÑÓN, F.J., PARDOS, J.A., GIL, L., ALÍA, R.; (2001). *Evaluación precoz de la producción de miera en *Pinus pinaster* Ait.*. Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales. En prensa.
- THOMAS, B., MACDONALD, S., HICKS, M., ADAMS, D., HODGETTS, R.; (1999). *Effects of reforestation methods on genetic diversity of lodgepole pine: an assessment using microsatellite and randomly amplified polymorphic DNA markers*. Theor Appl Genet 98: 793-801.