

ANÁLISIS DE ESTABILIDAD EN GENOTIPOS HÍBRIDOS DE *POPULUS* L. PARA PRODUCCIÓN DE BIOMASA

Paula M. Gil Hernández¹, Jordi Voltas Velasco², Mariola Sánchez-González¹, Manuel M. Sánchez Martín¹, Francesc Camps Sagner³, Pilar Ciria Ciria⁴, Isabel Cañellas Rey de Viñas¹ y Hortensia Sixto Blanco¹

¹Dep. Selvicultura y Gestión de Sistemas Forestales. CIFOR-INIA. Ctra. de la Coruña km 7,5. 28040-MADRID (España)

²Dep. Producción Vegetal y Ciencia Forestal. Universidad de Lleida. C/ Rovira Roure 191. 25198-LLEIDA(España)

³Fundacio Mas Badia. La Tallada. 17134-GIRONA (España)

⁴Centro de Desarrollo de Energías Renovables. CEDER-CIEMAT. Crta.N-111 km 206. 42290-LUBIA (Soria-España)

Resumen

Se analiza la estabilidad del comportamiento de nueve clones híbridos del género *Populus* L. en diferentes condiciones ambientales. Los caracteres evaluados fueron biomasa total (BT) y sus fracciones de fustes (BF) y ramas (BR). Se aplicaron distintos modelos mixtos de estabilidad genotípica que se compararon mediante estadísticos de bondad de ajuste ($-2LL_R$, AIC, BIC). El modelo que mejor aproximó los datos fue la regresión de Eberhart-Russell, a partir del cual pudieron identificarse genotipos estables e inestables. Asimismo, se observó que el patrón de respuesta ante una mejora potencial del ambiente fue similar para la biomasa total y de fustes, y distinto para la fracción de ramas. Los genotipos 'I-214' y 'Monviso' se mostraron estables para los tres tipos de respuesta. Para BT y BF, '2000verde' y 'AF2' destacaron como genotipos inestables con mayor capacidad de reacción ante una hipotética mejora del ambiente.

Palabras clave: Modelos mixtos, Adaptación, Chopo, Interacción genotipo-ambiente

INTRODUCCIÓN

El incremento de la demanda de energía a nivel mundial y la acuciante necesidad de reducir la emisión de gases de efecto invernadero están propiciando un cambio de modelo productivo menos emisor en el que las energías renovables adquieren un papel relevante (EUROPEAN COMMISSION, 2010). En este contexto, la obtención de energía a partir de biomasa lignocelulósica está cobrando un fuerte protagonismo,

perfilándose como uno de los sectores clave en el que sustentar el crecimiento previsto en renovables. Sin embargo, en aquellos aspectos relacionados con la producción de la materia prima, la consolidación definitiva del sector estará condicionada, entre otros, por la capacidad de generar una producción sostenible a costes apropiados.

La adecuación del chopo para la producción de biomasa mediante el cultivo en alta densidad y corta rotación está solidamente fundamentada (SCARASCIA-MUGNOZZA et al., 1997;

LAUREYSENS et al., 2004; PARIS et al., 2005, 2010), así como también las excelentes características de su madera para distintas aplicaciones energéticas (KLASS, 1998; RAGAUSKAS et al., 2006). En países del ámbito mediterráneo la producción de energía a partir de biomasa obtenida del cultivo de chopo en corta rotación se ha considerado una alternativa interesante (ARAVANOPOULOS 2010; SIXTO et al., 2011). No obstante, el comportamiento de los diferentes genotipos de *Populus* L. utilizados en plantaciones puede ser muy variable en función de las diferencias ambientales (BERGANTE et al., 2010), lo que genera incertidumbre en las producciones esperadas. La interacción entre genotipo y ambiente puede además afectar a la eficiencia de la mejora, de modo que la respuesta clonal para una determinada característica (por ejemplo, producción de biomasa) puede resultar poco previsible bajo ciertas condiciones particulares, implicando por tanto diversidad de patrones adaptativos en los genotipos seleccionados.

Así, el presente trabajo tiene como objetivo analizar la estabilidad de comportamiento en producción de biomasa de nueve genotipos híbridos de chopo ensayados en diferentes ambientes en nuestro país.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal, localidades y ambientes de ensayo

Se han empleado nueve genotipos pertenecientes a diferentes híbridos interespecíficos de chopo: *Populus deltoides* March. x *P. nigra* L. ('I-214', 'MC', 'Guardi', '2000 verde' y 'AF2'), *Populus trichocarpa* T. & G. x *P. deltoides* ('Unal' y 'USA49-177') y *P. nigra* x [*P. deltoides* x *P. trichocarpa*] ('Monviso' y 'Pegaso'). En general, estos genotipos fueron seleccionados por su aptitud al desarrollo y posible empleo en la industria del tablero contrachapado, con la excepción de los clones 'AF2', 'Monviso' y 'Pegaso' que lo fueron específicamente para la producción de biomasa con fines energéticos (NARDIN & ALASIA, 2004).

Los genotipos se han plantado en cuatro localidades diferentes ubicadas en los municipios de La Tallada (Girona), Villafer (León),

Alcalá de Henares (Madrid) y Cubo de la Solana (Soria), y han crecido bajo tres condiciones distintas generadas por la aplicación de diferentes tratamientos (fertilización adicional, herbicida adicional y control) generando sub-parcelas de evaluación. Cada ensayo fue fertilizado previamente a la realización de la plantación con N:P:K (8:15:15) a 600 kg·ha⁻¹, así como también controlada la presencia de hierba inmediatamente después de la misma mediante oxifluorfen 24% p/v. Los tratamientos adicionales se realizaron a mitad de junio y consistieron en la aplicación, en las correspondientes sub-parcelas, de fertilización con N:P:K (12:12:17) a 800 kg·ha⁻¹ y control de malas hierbas con glifosato 12% p/v mediante aplicaciones dirigidas.

El diseño empleado en todos los sitios experimentales fue de parcelas divididas en cuatro bloques completos al azar evaluando 108 pies por genotipo, tratamiento y sitio de los 300 plantados, de manera que se evitaran los efectos de borde. Al final del turno (3 años) se pesaron en verde y de forma independiente las fracciones biomasa de fustes (BF) y biomasa de ramas (BR), calculando después la biomasa total (BT). El peso seco se estimó a partir de una submuestra de nueve plantas tomadas de cada bloque, clon y sitio, y pesando en estufa a 100°C hasta peso constante. El análisis de estabilidad se realizó para tres variables respuesta evaluadas en nueve genotipos y 12 ambientes distintos (4 sitios x 3 tratamientos).

Análisis estadístico

Para evaluar la estabilidad genotípica en cuanto a producción de biomasa se aplicaron diferentes modelos lineales mixtos de estabilidad (CRUSET Y VOLTAS, 2009). Como modelo general, se aplicó el siguiente análisis de la varianza considerando una matriz general de doble entrada genotipo-ambiente:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} \quad [1]$$

Donde, Y_{ij} es la respuesta del genotipo i en el ambiente j , μ es la media general, α_i es el efecto fijo del genotipo i , β_j , j es el efecto aleatorio del ambiente j , y $(\alpha\beta)_{ij}$ es el efecto aleatorio de la interacción entre el genotipo i y el ambiente j . Posteriormente se aplicaron los siguientes modelos mixtos:

- i) Estabilidad de la varianza (SHUKLA, 1972).
Difiere de [1] simplemente en que el factor

aleatorio $(a\beta)_{ij}$ requiere de varianzas independientes (o estabildades genotípicas) estimadas para cada genotipo (es decir, $\sigma^2_{a\beta(i)}$). En este caso, los componentes de varianza a ajustar equivalen a $I+1$, siendo I el número de genotipos ensayados. Una varianza elevada se interpreta como inestabilidad genotípica, y al contrario en el caso de una varianza pequeña.

- ii) Regresión de Finlay-Wilkinson (FINLAY & WILKINSON, 1963). Este modelo se expresa como:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \lambda_i w_j + d_{ij}$$

donde α_i es la sensibilidad del genotipo i a una variable ambiental latente w_j , derivada de los propios datos y sin naturaleza explícita, y d_{ij} es la desviación aleatoria de la interacción entre i y j . En este caso, un genotipo estable suele definirse como aquél que presenta un valor de λ medio (en comparación con el resto de genotipos). También aquí los parámetros aleatorios a ajustar equivalen a $I+1$, siendo I el número de genotipos ensayados.

- iii) Regresión de Eberhart-Russell (EBERHART & RUSSELL, 1966). Se basa en la combinación de los dos modelos anteriores, donde las desviaciones d_{ij} presentan una varianza separada para cada genotipo (al estilo de la estabilidad genotípica de Shukla). En este caso, los parámetros aleatorios a ajustar equivalen a $2I$.

La selección del modelo para la interpretación de los datos se realizó a partir de la comparación de los estadísticos de ajuste $-2LL_R$ (-2 veces el logaritmo de la máxima verosimilitud restringida), AIC (Criterio de Información de Akaike) y BIC (Criterio de Información

Bayesiano). Todos los análisis fueron realizados con el procedimiento MIXED del programa estadístico SAS (SAS Institute Inc. 2004).

RESULTADOS

En la Tabla 1 se observan los valores medios genotípicos de la biomasa producida por los nueve clones estudiados. El análisis de varianza multiamiente para las variables BT y BF, considerando inicialmente un modelo estrictamente fijo, mostró significación para los factores genotipo y localidad, así como también para las interacciones localidad x genotipo y localidad x genotipo x tratamiento. Para la variable BR el análisis mostró además significación para el efecto del tratamiento y para sus interacciones con el genotipo. La significación de las interacciones sugiere una respuesta genotípica altamente dependiente de la localidad y del tratamiento aplicado.

Los tres modelos de estabilidad convergieron para las tres variables respuesta, con la excepción del modelo de estabilidad de la varianza en la fracción biomasa de fustes. La comparación de los valores de los estadísticos de ajuste resultantes en cada modelo dio como resultado valores más bajos de $-2LL_R$, AIC y BIC en las regresiones de Finlay-Wilkinson y Eberhart-Russell (Tabla 2). En líneas generales, el modelo de estabilidad que mejor aproximó los datos originales fue el de Eberhart-Russell, al obtener un mayor número de estadísticos de bondad de ajuste con valores mínimos. El modelo explicó el comportamiento de los clones en términos de reactividad

Genotipo	BT (g/planta) (DE)	BF (g/planta) (DE)	BR (g/planta) (DE)
AF2	1.511,9 ($\pm 240,9$)	1.312,8 ($\pm 201,8$)	204,3 ($\pm 49,5$)
2000 verde	1.384,1 ($\pm 243,9$)	1.129,3 ($\pm 204,1$)	269,5 ($\pm 50,6$)
MC	1.378,9 ($\pm 233,5$)	1.191,8 ($\pm 195,6$)	188,6 ($\pm 47,8$)
Monviso	1.302,8 ($\pm 246,6$)	1.068 ($\pm 206,4$)	236,3 ($\pm 50,9$)
Guardi	1.119,2 (± 248)	959,6 ($\pm 207,4$)	161,8 ($\pm 51,8$)
I-214	1.098,4 ($\pm 245,6$)	938 ($\pm 205,5$)	162 ($\pm 51,2$)
USA49/177	1.044,8 ($\pm 241,5$)	902,2 ($\pm 202,1$)	146,2 ($\pm 49,9$)
Unal	1.002 ($\pm 236,8$)	837,5 ($\pm 198,4$)	168,7 ($\pm 48,7$)
Pegaso	598,2 ($\pm 248,4$)	518,4 (± 208)	81,9 ($\pm 51,2$)

BT: Biomasa Total, BF: Biomasa de Fustes, BR: Biomasa de Ramas

Tabla 1. Medias ajustadas de producción para la biomasa total y sus fracciones en los diferentes genotipos

Respuesta	Estadísticos	ANOVA (2)	Estabilidad Varianza (10)	Finlay-Wilkinson (10)	Eberhart-Russell (18)
Biomasa Total (BT)	-2 LL _R	1.517,7	1.488,6	1.480	1.462,7
	AIC	1.521,7	1.508,6	1.500	1.498,7
	BIC	1.522,7	1.513,4	1.504,8	1.507,4
Biomasa de Fustes (BF)	-2 LL _R	1.486,8	-	1.449,6	1.434
	AIC	1.490,8	-	1.469,6	1.470
	BIC	1.491,8	-	1.474,5	1.478,7
Biomasa de Ramas (BR)	-2 LL _R	1.173,5	1.104,5	1.121,6	1.082,3
	AIC	1.177,5	1.124,5	1.141,6	1.118,3
	BIC	1.178,4	1.129,4	1.146,4	1.127

Tabla 2. Estadísticos de bondad de ajuste en cada modelo para las tres variables respuesta (BT, BF, BR). Entre paréntesis se señalan los parámetros a ajustar en cada modelo y en sombreado los valores más bajos de los estadísticos de bondad de ajuste

a la mejora potencial del ambiente, y permitió asimismo valorar la estabilidad genotípica relativa como desviación de dicha reactividad según la estimación de los componentes de varianza del modelo. Por tanto, la estabilidad de la respuesta genotípica pudo explicarse a partir del coeficiente de regresión (b_i) y la varianza estimada (σ_i^2) propios de cada clon.

La representación de las pendientes de cada genotipo para cada respuesta (BT, BF y BR) ayudó a identificar los genotipos más estables según su mayor o menor capacidad de reacción ante una hipotética mejora del ambiente (Figura 1).

Considerando el valor de b , mayor o menor que 1, las gráficas situadas en la parte superior de la Figura 1 muestran genotipos con una capacidad de reacción positiva al ambiente ($b > 1$), las centrales muestran genotipos que ajustan su respuesta al ambiente ($b \sim 1$) y las situadas en la parte inferior presentan genotipos con baja capacidad de reacción al ambiente ($b < 1$).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La variabilidad experimental, tanto para BT como para las fracciones BF y BR, se explicó mayoritariamente por el factor genotipo, el factor localidad y la interacción genotipo x ambiente (GE), de modo que la producción de biomasa estuvo condicionada por los ambientes de ensayo establecidos. La interacción GE añade complejidad al sistema y puede dificultar la recomendación de genotipos en la medida en

que el ambiente en el que se realiza la evaluación puede diferir del ambiente en el que éstos se utilizan. En este sentido, conocer la estabilidad genotípica del comportamiento frente a modificaciones ambientales facilita el manejo práctico de este inconveniente.

Para explicar el comportamiento de los genotipos en términos de estabilidad se seleccionó el modelo de Eberhart-Russell. Este modelo se ha mostrado muy adecuado en otros estudios similares realizados sobre especies de interés agrícola (SHARIF et al., 1998) o forestal (GONÇALVES et al., 2003; KOO et al., 2005), al identificar genotipos estables como aquéllos que muestran valores de regresión muy próximos a 1 y mínima desviación de la varianza estimada ($b_i = 1$ y $\sigma_i^2 = 0$). La elección del modelo de Eberhart-Russell ajustando un modelo mixto resulta además ventajosa al considerar los genotipos como efecto fijo y no requerir el modelo de datos balanceados (PIEPHO, 1999).

Considerando el patrón de respuesta genotípica en términos de rendimiento, se podrían distinguir tres posibles grupos de genotipos en función de una hipotética mejora del ambiente:

- Clones estables como 'I-214' y 'Monviso', que muestran una respuesta de acuerdo al incremento potencial del ambiente. Según los valores de varianza σ_i^2 , 'I-214' muestra además mayor estabilidad, comportamiento ya citado por CRUSET Y VOLTAS (2009). Probablemente este tipo de comportamiento, que hace más predecible la respuesta del clon, haya con-

tribuido a su mayor utilización por parte de los selvicultores de países mediterráneos.

- Clones inestables como ‘2000verde’, ‘MC’, ‘AF2’ y ‘Guardi’, pero que incrementan sensiblemente su rendimiento ante la mejora potencial del ambiente y muestran, por tanto, un comportamiento particularmente interesante en ambientes muy productivos.
- Clones inestables como ‘Unal’, ‘USA49/177’ y ‘Pegaso’, con baja reactividad frente a la mejora potencial del ambiente. Sin embargo, algunos de estos clones podrían resultar interesantes en estaciones de baja calidad.

El patrón de respuesta genotípica para la biomasa total, BT, fue similar para la fracción BF, pero no para la fracción BR. Los clones ‘AF2’ y ‘Guardi’ presentaron un comportamiento más

estable en la producción de ramas que en la biomasa de fustes o total, ya que ajustaron mejor sus pendientes al incremento potencial del ambiente (Figura 1). Esta característica puede ser de utilidad a la hora de la selección de genotipos con fines de producción energética por su influencia en la composición de la biomasa final. Los clones ‘I-214’ y ‘Monviso’ se mostraron siempre estables para los tres tipos de respuesta, por lo que su producción puede ser considerada más previsible en cualquiera de los ambientes establecidos. No obstante, la recta correspondiente a Monviso para BR podría indicar un patrón diferente para esta fracción al ajustarse menos a la media que el resto de genotipos estables.

En general, conocer la estabilidad de comportamiento de los genotipos frente a la producción

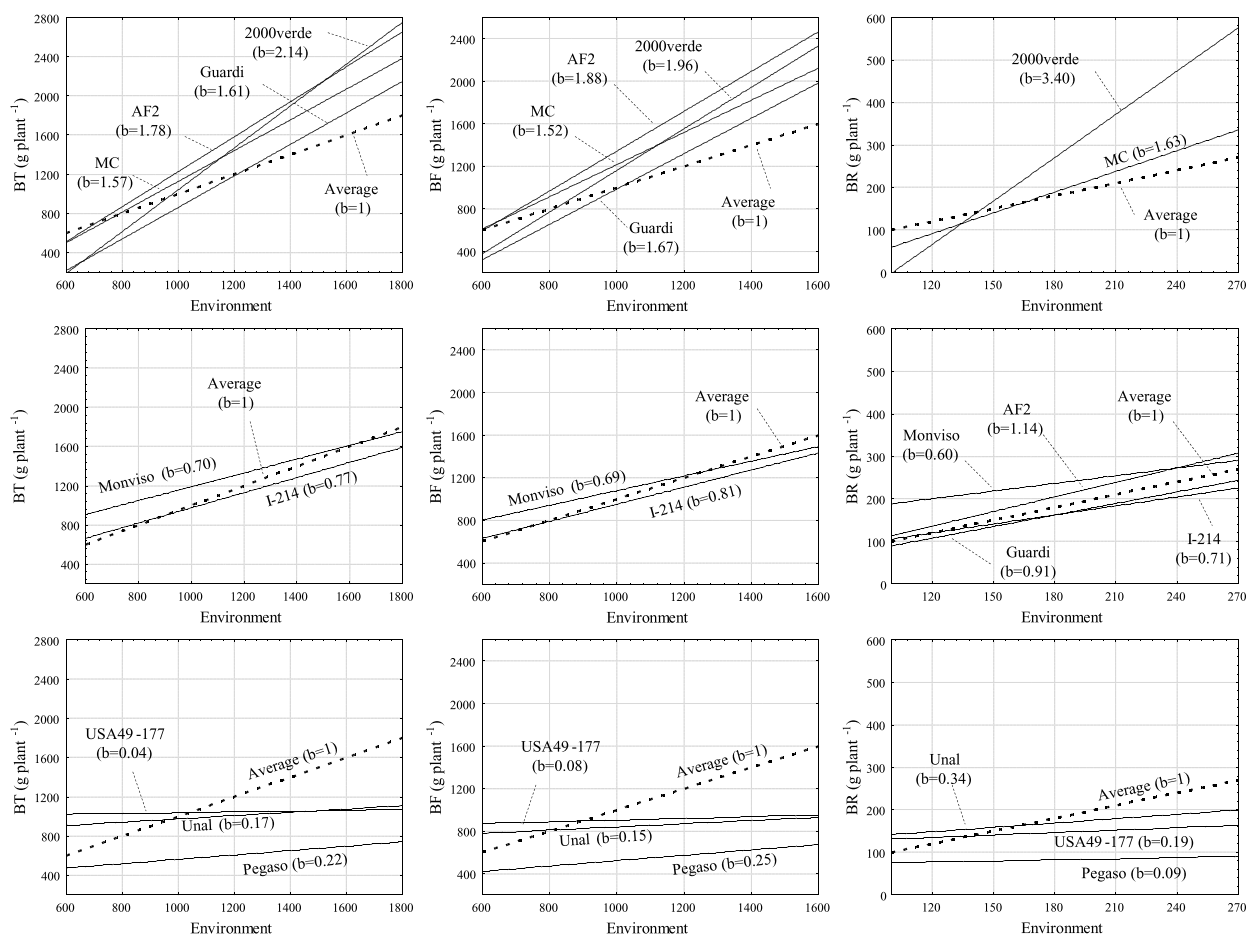


Figura 1. Rectas de reactividad genotípica representadas a partir de las pendientes (coeficiente de regresión, b) para las fracciones BT, BF y BR. Gráficas de la parte superior: genotipos inestables con respuesta positiva (mayor reactividad). Gráficas de la parte media: genotipos estables (de pendiente próxima a la unidad). Gráficas de la parte inferior: genotipos inestables con respuesta negativa (menor reactividad). Las líneas punteadas expresan la mejora potencial del ambiente, donde $b=1$ (EBERHART-RUSSELL, 1966)

es un carácter de interés, no sólo a nivel práctico a la hora de implementar plantaciones, sino también en la medida en que éstos se utilicen como genitores en futuros programas de mejora.

BIBLIOGRAFÍA

- ARAVANOPOULOS, F.A.; 2010. Breeding of fast growing forest tree species for biomass production in Greece. *Biomass Bioenerg.* 34: 1531-1537.
- BERGANTE, S.; FACCIOTTO, G. & MINOTTA, G.; 2010. Identification of the main site factors and management intensity affecting the establishment of Short-Rotation-Coppices (SRC) in Northern Italy through Stepwise regression analysis. *Cent. Eur. J. Biol.* 5(4): 522-530.
- CRUSET, J.E. Y VOLTAS, J.A.; 2009. Adaptación de clones de chopo en el Valle del Ebro: análisis retrospectivo de la Red Experimental establecida en la década de los 80 mediante modelos mixtos. *En: S.E.C.F.- Junta de Castilla y León (eds.), Actas del 5º Congreso Forestal Español.* CD-Rom.SCFE01-262: 2-12. Sociedad Española de Ciencias Forestales. Pontevedra. Online [www.congresoforestal.es/index.php?men=81&ord=t&cri=a].
- EBERHART, S.A. & RUSSELL, W.A.; 1966. Stability parameters for comparing varieties. *Crop Sci.* 6: 36-40.
- EUROPEAN COMMISSION; 2010. *Europe 2020. A strategy for smart, sustainable and inclusive growth.* Communication from the Commission. Brussels. COM(2010) 2020.
- FINLAY, K.W. & WILKINSON, G.N.; 1963. The analysis of adaptation in a plant breeding programme. *Aust. J. Agric. Res.* 14: 742-754.
- GONÇALVES, P.S.; NELSON BORTOLETTO, N.; MELLO MARTINS, A.L.; BRITO DA COSTA, R. & BOLLER GALLO, P.; 2003. Genotype-environment interaction and phenotypic stability for girth growth and rubber yield of Hevea clones in São Paulo State, Brazil. *Genet. Mol. Biol.* 26(4): 441-448.
- KLASS, D.; 1998. *Biomass for renewable energy, fuels, and chemicals.* Academic Press, xv. San Diego.
- KOO, Y.B.; YEO, J.K.; WOO, K.S. & KIM, T.S.; 2005. Selection of superior clones by stability analysis of growth performance in *Populus davidiana* Dode at age 12. *Silvae Genet.* 56: 3-4.
- LAUREYSENS, I.; BOGAERT, J.; BLUST, R. & CEULEMANS, R.; 2004. Biomass production of 17 poplar clones in short-rotation coppice culture on a waste disposal site and its relation to soil characteristics. *Forest Ecol. Manage.* 187: 295-309.
- NARDIN, F. & ALASIA, F.; 2004. Use of selected fast growth poplar trees for a woody biomass production die along the Po valley. *2nd Proceeding of the World Biomass Conference I:* 247-257.
- PARIS, P.; PISANELLI, A.; SABATTI, M.; MARESCHI, L.; CANNATA, F. & SCARASCIA-MUGNOZZA, G.; 2005. *Short rotation forestry in Italy.* II Sino-Italian Workshop on Agroforestry. Beijing.
- PARIS, P.; MARESCHI, L.; SABATTI, M.; PISANELLI, A.; ECOSSE, A.; NARDIN, F. & SCARASCIA-MUGNOZZA, G.; 2010. Comparing hybrid *Populus* clones for SRF across northern Italy after two biennial rotation: Survival, growth and yield. *Biomass Bioenerg.* 35: 1524-1532.
- PIEPHO, H.P. 1999. Stability Analysis Using the SAS System. *Agron Jour* 91: 154-160.
- RAGAUSKAS, A.J.; WILLIAMS, C.K.; DAVISON, B.H. et al.; 2006. The Path forward for bio-fuels and biomaterials. *Science* 27: 484-489.
- SAS INSTITUTE INC.; 2004. SASA/ETS® 9.1.2. *User's guide.* SAS Institute Inc, Cary, USA.
- SCARASCIA-MUGNOZZA, G.E.; CEULEMANS, R.; HEILMAN, P.E.; ISEBRANDS, J. G.; STETTLER, R.F. & INCKEY, T.M.; 1997. Production physiology and morphology of *Populus* species and their hybrids grown under short rotation.II. Biomass components and harvest index of hybrid and parental species clones. *Can. J. For. Res.* 27: 285-294.
- SHARIF, A.; TAJAMMAL, A.M. & HUSSAIN, A.; 1998. Genotype x Environment interaction and stability analysis of yield and grain characters in spring wheat (*Triticum aestivum*). *Sci. Tech. Dev.* 17: 6-12.
- SHUKLA, G.K.; 1972. Some statistical aspects of partitioning genotype-environmental components of variability. *Heredity* 29, 237-245.
- SIXTO, H.; SALVIA, J.; BARRIO, M.; CIRIA, M.P. & CAÑELLAS, I.; 2011. Genetic variation and genotype-environment interactions in short rotation *Populus* plantations in southern Europe. *New Forest* 42(2): 163-177.