



**2025** | **16-20**  
**GIJÓN** | **JUNIO**

**9º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL**

**9CFE-1477**

Actas del Noveno Congreso Forestal Español  
Edita: **Sociedad Española de Ciencias Forestales. 2025.**  
ISBN: **978-84-941695-7-1**

Organiza





## Plasticidad fenotípica y aclimatación de cuatro genotipos de olmo (*Ulmus minor*) catalogados por su resistencia a la grafiosis

VENTURAS, M. D. (1), LÓPEZ, R. (1), DOMÍNGUEZ DE PALACIOS, J. (2), MIRANDA GARCÍA-ROVES, J. C. (1), MARTÍN, J. A. (1) y VALBUENA CARABAÑA, M. (1)

(1) Grupo de Investigación FORESCENT, Departamento de Sistemas y Recursos Naturales, Universidad Politécnica de Madrid.

(2) Centro Nacional de Recursos Genéticos Forestales Puerta de Hierro. TRAGSA., Ctra. de la Coruña, Km 7.5, 28040 Madrid.

### Resumen

Dos de los mayores retos a los que se enfrentan las olmedas son la enfermedad de la grafiosis y el calentamiento global. Desde el Programa Nacional de Conservación y Mejora de los Recursos Genéticos de los Olmos Ibéricos se han obtenido genotipos de olmos resistentes a la grafiosis, que han sido registrados como material forestal de reproducción cualificado. Para poder emplear estos clones en restauraciones a gran escala es necesario entender la plasticidad fenotípica de sus rasgos funcionales. En este trabajo analizamos estos aspectos en cuatro genotipos plantados en seis parcelas con climas contrastados. Los rasgos estudiados incluyen, la capacidad fotosintética ( $V_{\max 25}$ ,  $J_{\max 25}$ ), máxima conductividad hidráulica de los tallos ( $K_{s\max}$ ), la relación entre el área foliar y el área basal de los tallos (LA:BA), el área foliar específica (SLA), la densidad estomática (SD), densidad de la madera (WD) y potenciales hídricos al amanecer y mediodía ( $\Psi_{pd}$ ,  $\Psi_{md}$ ). Los rasgos funcionales presentaron plasticidades fenotípicas moderadas a altas, siendo las mayores para  $\Psi_{pd}$ ,  $K_{s\max}$ ,  $\Psi_{pd}$  y LA:BA. Se observaron diferencias significativas según los factores clon, parcela y su interacción. Estos resultados son indicativos de que algunos clones podrán adaptarse mejor que otros según las condiciones del lugar de restauración forestal.

### Palabras clave

Hidráulica, fenotipo, fotosíntesis, rasgos funcionales, restauración.

### 1. Introducción

Los dos mayores retos a los que se enfrentan las olmedas de olmo común (*Ulmus minor* Mill.) en España son la enfermedad de la grafiosis, causada por el patógeno *Ophiostoma novo-ulmi* (BRASIER & KIRK, 2010), y la aridificación del clima debida al cambio climático (IPCC, 2023). La vulnerabilidad de las olmedas depende de la exposición a las amenazas (i.e., grafiosis y cambio climático) y de la sensibilidad y capacidad de adaptación de las olmedas (POLSKY et al, 2007). Poco se puede hacer para minimizar la exposición de las olmedas a la grafiosis y al cambio climático. Sin embargo, los programas de mejora genética forestal pueden ayudar a reducir la vulnerabilidad de las olmedas actuando sobre la resistencia de la especie al patógeno y potenciando la capacidad de adaptación de la especie ante a nuevas condiciones ambientales.



La Universidad Politécnica de Madrid (UPM) y la Dirección General de Biodiversidad, Bosques y Desertificación (Ministerio de Transición Ecológica y del Reto Demográfico) han desarrollado el Programa Nacional de Conservación y Mejora de los Recursos Genéticos de los Olmos Ibéricos desde 1986 (MARTÍN GARCÍA et al, 2012). Uno de los logros de este programa ha sido la obtención de siete genotipos de *U. minor* resistentes a la grafiosis, que han sido registrados como material forestal de reproducción (MARTÍN et al, 2015). Este material permite reintroducir en bosques de ribera clones de olmo resistentes a la grafiosis, disminuyendo su vulnerabilidad a este patógeno. A largo plazo, mediante reproducción sexual estos clones pueden transmitir los genes de resistencia al germoplasma local. No obstante, antes de emplear los clones resistentes a gran escala es necesario predecir su comportamiento bajo distintas condiciones climáticas, tanto actuales como futuras. Para ello se debe determinar la plasticidad fenotípica de sus rasgos funcionales y su capacidad de adaptación a distintos ambientes (BRADSHAW, 1965).

Los árboles tienen que encontrar un equilibrio entre la capacidad de transporte de agua desde el suelo a las hojas y la capacidad fotosintética de sus hojas (SPERRY et al, 2019). Este equilibrio permite a los árboles aprovechar la disponibilidad de agua en el suelo, maximizando su fotosíntesis, sin llegar a sufrir niveles elevados de estrés hídrico causados por la pérdida de agua a través de sus hojas (COWAN & FARQUHAR, 1977; FARQUHAR et al, 1980). El estrés hídrico al que una planta se ve expuesto depende de la disponibilidad de agua en el suelo, la demanda evapotranspirativa de la atmósfera y de la estrategia de uso de agua de la planta (BHASKAR & ACKERLY, 2006; FLO et al, 2021). Los rasgos funcionales hidráulicos de las plantas determinan su estrategia en el uso del agua y, por lo tanto, también su sensibilidad y vulnerabilidad a la sequía (MARTÍNEZ-VILALTA & PIÑOL, 2002; ANDEREGG et al, 2015; VENTURAS et al, 2016; CHOAT et al, 2018).

Los rasgos funcionales hidráulicos de los olmos ibéricos presentan adaptaciones a los ambientes en los que habitan (VENTURAS et al. 2013). El diámetro de los vasos del xilema varía según el tamaño de las plantas, el órgano en que se encuentran los vasos y los factores ambientales en los que crece la planta (SPERRY et al, 2006; HACKE et al, 2017). Un patrón predominante es que los vasos de mayor diámetro son más eficientes en el transporte de agua, pero a su vez más vulnerables a la cavitación por estrés hídrico y por heladas (HACKE et al, 2017; JACOBSEN et al. 2019). En *U. minor* se ha observado que los genotipos con mayor diámetro medio de los vasos del xilema y con mayor conductividad hidráulica tienden a ser más susceptibles a la grafiosis (SOLLA et al, 2005; VENTURAS et al, 2014). Asimismo, en *U. minor* se ha observado una alta plasticidad fenotípica en crecimiento apical, fenología y caracteres anatómicos del xilema. Esta plasticidad fenotípica afecta a su vez a la resistencia a la grafiosis, que también es plástica y muestra interacciones entre el genotipo del olmo y el ambiente (DOMÍNGUEZ et al, 2024). Considerando las relaciones existentes entre las características anatómicas del xilema de los olmos y su vulnerabilidad a la grafiosis y a la cavitación por estrés hídrico es importante conocer cómo varían los rasgos funcionales hidráulicos y fotosintéticos de los clones registrados como material forestal de reproducción bajo distintas condiciones ambientales.

## 2. Objetivos

El objetivo general de este estudio es conocer cuál es la plasticidad fenotípica de los rasgos funcionales hidráulicos y fotosintéticos de cuatro clones de *U. minor* resistentes a la grafiosis y cómo estos rasgos se adaptan a distintas condiciones ambientales.

## 3. Metodología

### a. Material vegetal y poblaciones seleccionadas

De los siete clones de olmo catalogados como material cualificado (MARTÍN et al, 2015) se seleccionaron cuatro genotipos (Tabla 1) que han sido plantados con mayor frecuencia en restauraciones forestales y parcelas de adaptación. Asimismo, se seleccionaron seis plantaciones en las que se habían plantado y georreferenciado seis o más réplicas de los cuatro clones (Tabla 2) cubriendo un amplio gradiente climático (Tabla 3). Las parcelas seleccionadas se plantaron entre 2014 y 2019.

*Tabla 1. Clones de U. minor tolerantes a la grafiosis seleccionados para estudiar su adaptación en ambientes contrastados y datos sobre el origen geográfico de los genotipos (coordenadas en WGS84).*

ID	Nombre	Provincia	Latitud	Longitud	Elevación (m)
AD	Ademuz	Valencia	40,0811	-1,2819	720
VI	Dehesa de la Villa	Madrid	40,4580	-3,7333	642
AM	Dehesa de Amanuel	Madrid	40,4603	-3,7214	709
RE	Retiro	Madrid	40,4156	-3,6861	663

La información climática para las parcelas se obtuvo de WorldClim version 2.1 con datos climáticos del periodo 1970-2000 (FICK & HIJMANS, 2017; Tabla 3). Se extrajo la información de los datos de la rejilla de 30 segundos (~1 km<sup>2</sup>). Las variables empleadas para caracterizar las parcelas fueron la temperatura mínima anual (Tmin, °C), temperatura máxima anual (Tmax, °C), temperatura media anual (TMA, °C), la precipitación media anual (PMA, mm), la radiación solar media anual (RSM, kJ m<sup>-2</sup> día<sup>-1</sup>), el déficit de presión de vapor medio anual (DPV, kPa) y la velocidad de viento media anual (VV, m s<sup>-1</sup>). Se calculó la evapotranspiración potencial anual (ETP, mm) a partir de los datos mensuales de temperatura mínima, temperatura máxima, radiación solar, velocidad de viento y latitud con la fórmula de Penman-Monteith (MONTEITH, 1965; ALLEN et al, 1994). Se usó el paquete SPEI de R para calcular la ETP (BEGUERÍA & VICENTE-SERRANO, 2023). El balance hídrico anual (BH) se calculó con la fórmula BH = PM – ETP. Se calculó el número de meses áridos (NMA, meses) en base a Walter-Leith (aquellos meses en los que la precipitación media mensual es menor al doble de la temperatura media mensual).

*Tabla 2. Plantaciones de olmos en las que se han realizado mediciones y tomado muestras en 2024. En la tabla se indica el identificador que se emplea en todas las muestras y la fecha de realización de las mediciones y recogida de muestras.*

*Coordenadas en WGS84.*





ID	Nombre	Provincia	Latitud (WGS84)	Longitud (WGS84)	Elevación (m)	Fechas (días/mes)
PH	Puerta de Hierro	Madrid	40,4562	-3,7516	598	03-05/06
PA	Piñel de Abajo	Valladolid	41,6777	-4,1457	783	11-12/06
CR	Ciudad Rodrigo	Salamanca	40,5966	-6,5398	614	18-19/06
BE	Berantevilla	Álava	42,6857	-2,8561	471	24-26/06
VC	Vivero del Cubillas	Granada	37,2956	-3,6619	647	01-03/07
VI	Villapresente	Cantabria	43,3583	-4,1209	43	15-17/07



La temperatura media anual (TMA) de las poblaciones seleccionadas varió entre los 12.1 y 16.1 °C y la precipitación media anual (PMA) entre 382 y 980 mm (Tabla 3). La presión de déficit de vapor de agua media anual varió entre 1.2 kPa y 4.1 kPa. Teniendo en cuenta diversos indicadores (TMA, PMA, PDV, NMA, ETP, BH) se puede determinar que la plantación con las condiciones más húmedas es Villapresente y la de las condiciones más áridas es Vivero de Cubillas (Tabla 3). No obstante, cabe mencionar que la plantación de Vivero de Cubillas se riega semanalmente durante el verano para evitar la sequía edáfica.

*Tabla 3. Características climáticas de las poblaciones muestreadas en 2024 en base a los datos de WorldClim (periodo 1970-2000).*



ID	Tmin (C)	TMA (C)	Tmax (C)	PMA (mm)	RSM (kJ m <sup>2</sup> día <sup>-1</sup> )	DPV (kPa)	VV (m s <sup>-1</sup> )	ETP (mm)	BH (mm)	NMA
PH	1,5	14,4	31,7	390	15.954	3,3	2,3	1134	-744	4
PA	-0,5	12,0	29,6	382	15.029	2,9	2,7	1105	-723	3
CR	2,2	13,2	28,2	943	16.051	2,5	2,7	1082	-139	2
BE	1,2	12,1	26,8	668	13.404	2,1	2,6	974	-306	2
VC	2,3	16,1	35,0	399	17.029	4,1	2,9	1416	-1017	5
VI	4,0	13,7	24,1	980	12.623	1,2	2,9	918	63	0

3.

### a. Rasgos funcionales y variables fisiológicas evaluados

En cada plantación se realizaron las mediciones y tomaron muestras de 3-6 ejemplares por clon. Las mediciones y la recolección de muestras en las seis plantaciones se realizaron en un margen de dos meses al principio del periodo vegetativo (junio y julio de 2024; Tabla 2) para minimizar, en la medida de lo posible, diferencias entre las poblaciones debidas al avance del periodo vegetativo y para minimizar el riesgo de que los olmos estuvieran expuestos a sequía edáfica antes de realizar las mediciones. En cada plantación se emplearon dos o tres días para realizar las mediciones de intercambio gaseoso y de potenciales hídricos *in situ*. A continuación, se emplearon otros dos días consecutivos para preparar las muestras recolectadas y realizar las mediciones hidráulicas y anatómicas en un laboratorio de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería de Montes, Forestal y del Medio Natural de la UPM (Madrid).

#### Intercambio gaseoso y curvas A-C<sub>i</sub>

Se construyeron curvas de asimilación fotosintética frente a la concentración de CO<sub>2</sub> interno (curvas A-C<sub>i</sub>) con un Li-6800 (Licor Environmental, Lincoln, Nebraska, Estados Unidos de América) para 3-6 plantas de cada clon por población. De cada planta se eligió una hoja de la parte baja y soleada de la copa para realizar las mediciones. Tras conectar el cabezal del Li-6800 a las hojas las condiciones ambientales establecidas dentro de la cámara fueron 25 °C para la temperatura del aire, 55 % de humedad relativa del aire y 1200 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de radiación fotosintéticamente activa (PAR). A continuación, se mantuvieron esas variables ambientales constantes y se realizaron mediciones siguiendo la secuencia de concentraciones de CO<sub>2</sub> en la cámara de 400, 300, 200, 100, 50, 0, 400, 400, 600, 800, 1000 y 1200 ppm. Cada curva tarda en medirse unos 45 minutos. Se midieron las curvas A-C<sub>i</sub> preferentemente por las mañanas para evitar el cierre estomático por los ciclos circadianos que se puede producir por las tardes. Se intercalaban olmos de distintos clones a la hora de realizar las mediciones para que el muestreo fuera equilibrado en el tiempo para todos los genotipos. Siempre se conectaba el cabezal del Li-6800 a hojas que recibían irradiación solar directa. Las curvas A-C<sub>i</sub> se emplearon para obtener mediante ajustes la máxima capacidad de carboxilación (V<sub>max25</sub>) y la máxima capacidad de transporte de electrones (J<sub>max25</sub>) a 25 °C empleando las mismas ecuaciones y parámetros de ajuste para la temperatura y curvatura (COLLATZ et al, 1991; BERNACCHI et al, 2001; MEDLYN et al, 2002; LEUNING, 2002) que emplea el modelo Sperry (SPERRY et al, 2017).

#### Potenciales hídricos al amanecer (Ψ<sub>pd</sub>) y al mediodía (Ψ<sub>md</sub>)

Se midió el potencial hídrico antes del amanecer (Ψ<sub>pd</sub>) y al mediodía (Ψ<sub>md</sub>) de una hoja por árbol con una cámara de Scholander (Modelo 1505D, PSM Instruments Company, Estados Unidos de América).



### Índice SPAD

Se empleó el índice de verdor SPAD (Minolta SPAD 502 plus) que está relacionado con la concentración de nitrógeno de las hojas y su capacidad fotosintética. Se realizaron medidas en 6 hojas por planta.

### Conductividad hidráulica ( $K_{smax}$ )

Se cortaron ramas de 1,5 a 2,0 m de longitud de la parte soleada de las copas para las mediciones de conductividad hidráulica. Las ramas se transportaron desde las plantaciones al laboratorio con su base inmersa en un cubo de agua para evitar su desecación. Se obtuvo un segmento de tallo de 2-3 savias y unos 14 cm de largo realizando cortes con la rama sumergida en agua para evitar inducir embolismos (VENTURAS et al, 2015). Se revirtieron los embolismos acumulados en los vasos del xilema mediante la técnica de infiltración con bomba de vacío durante un periodo de 12 horas (HACKE et al, 2015). La conductividad hidráulica de las muestras se midió con una solución de 10 mmol de KCl desgasificada y ultrafiltrada (filtro de 0.2  $\mu$ m). Se empleó un conductímetro (SPERRY et al, 1988) para medir los flujos de solución para una diferencia de presión de 2-3 kPa entre la entrada (depósito superior) y salida de la muestra (balanza de precisión). Se registraron los datos de conductividad hidráulica máxima estandarizada por la longitud de la muestra y su sección transversal ( $K_{smax}$ ). Todas las mediciones se realizaron en un periodo de entre 24 y 48 horas desde la recogida de la muestra.

### Densidad de la madera (WD)

La densidad de la madera se midió empleando el principio de Arquímedes. Para ello, se quitó la corteza de las muestras y se sumergió la muestra en un vial con agua destilada situado sobre una balanza de precisión. El incremento de peso corresponde al volumen de agua desplazado por la muestra. A continuación, se secó la muestra en una estufa a 70 ° C durante 72 horas y se obtuvo el peso seco de la muestra. La densidad de la madera (WD, g cm<sup>-3</sup>) se calculó como el cociente del peso seco de la muestra entre el volumen fresco.

### Superficie foliar específica (SLA) y área foliar por área basal (LA:BA)

La superficie foliar específica (SLA, cm<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) se obtuvo de las hojas del brote de un año por encima del segmento utilizado para las mediciones hidráulicas ( $K_{smax}$ ). Las hojas se escanearon para calcular la superficie con el programa WinFOLIA (Regent Instruments Inc., Canadá). Posteriormente las muestras se secaron en un horno a 70 °C durante al menos 72 h y se midió su peso seco. El SLA resulta de dividir la superficie de las hojas por su peso seco. Asimismo, se recolectaron todas las hojas distales del segmento de 2 años empleado para las mediciones hidráulicas y se secaron en la estufa con el mismo protocolo. Se pesaron y con el valor de SLA de



las hojas del ramillo de 1 año se calculó el área foliar total distal de la muestra de hidráulica. Este valor se empleó para calcular LA:BA ( $\text{m}^2$  hoja  $\text{m}^{-2}$  área basal del tallo).

### Densidad estomática (SD)

Se seleccionaron tres hojas por árbol y se realizó una impronta con acetato para medir la densidad estomática (SD). Al secarse, el acetato aplicado sobre el envés se despega de la hoja con un trozo de cinta adhesiva y se fija a un portaobjetos. Se tomaron fotografías con un microscopio (Olympus BX51) con objetivo X10 conectado a una cámara digital. Se empleó un programa de análisis de imágenes (ImageJ; SCHNEIDER et al, 2012) para contar los estomas de una región representativa de las imágenes.

### 3.

#### a. Análisis estadísticos

Se realizaron análisis descriptivos univariantes para cada variable. Se estudió el efecto de los factores “Plantación” y “Clon” y su interacción sobre los rasgos funcionales mediante análisis de varianza (ANOVA). Se transformaron mediante la raíz cuadrada cuarta de las variables ( $V_{\text{max}25}$ , SLA,  $\Psi_{\text{pd}}$  y  $\Psi_{\text{md}}$ ) para que los requisitos de los residuos de la ANOVA tuvieran distribución normal. Tres de las variables (LA:BA, SPAD y  $K_{\text{smax}}$ ) no cumplieron con de normalidad de los residuos (test de Shapiro-Wilks) ni transformando las variables, no obstante, se considera que la ANOVA es un test suficientemente robusto para determinar diferencias entre los factores. Se realizaron análisis de componentes principales (PCA) para ver la relación entre rasgos funcionales, clones y plantaciones. Para realizar el PCA se empleó el valor medio por planta de las variables de las que se disponía de más de una medición por planta y se normalizaron los datos. También se realizó un análisis de correlación de Pearson entre las variables climáticas obtenidas en WordClim y el valor medio de los rasgos funcionales para cada parcela.

Se calculó el índice de plasticidad fenotípica (IPF) para cada rasgo funcional y clon como la diferencia entre el máximo valor medio y el mínimo valor medio de la variable de las 6 plantaciones dividido por el máximo valor medio de la variable para las 6 plantaciones (VALLADARES et al, 2000). El IPF varía entre 0 (ninguna plasticidad) y 1 (máxima plasticidad). A cada clon se le asignó un IPF medio calculado como la media del IPF de las 10 variables.

Todos los análisis se realizaron en R (R CORE TEAM, 2018).

### 4. Resultados

Se observaron diferencias significativas para la mayoría de los rasgos funcionales según los factores Clon, Parcela y su interacción (Figura 1, Tabla 4). El factor Clon fue significativo para todos los rasgos funcionales excepto  $V_{\text{max}25}$  y WD. La interacción entre Clon y Parcela sólo fue significativa en 6 rasgos funcionales.



Los valores más bajos de  $V_{\max25}$  fueron los de Ciudad Rodrigo (CR) y los más altos los de Puerta de Hierro (PH) (Figura 1A). Los olmos de Ciudad Rodrigo (CR) presentaron los valores más bajos de  $J_{\max25}$  y las muestras de Piñel de Abajo (PA) los valores más elevados (Figura 1B). Los clones Ademuz (AD) y Retiro (RE) tenían mayor  $J_{\max25}$ . El índice de verdor SPAD, pese a estar relacionado con la cantidad de nitrógeno en las hojas y su capacidad fotosintética, no siguió los mismos patrones de variación que  $V_{\max25}$  y  $J_{\max25}$  (Figura 1E). El clon con menor SPAD fue Dehesa de la Villa y el de mayor SPAD Ademuz.

La parcela con mayor SLA fue Puerta de Hierro (PH) y la de menor SLA Vivero del Cubillas (VC; Figura 1C). Hubo diferencias en SLA entre los clones y una interacción significativa clon x parcela. La ratio LA:BA fue mayor para el clon Retiro (RE) en casi todas las parcelas (Figura 1D). La densidad estomática (SD) del envés de las hojas fue muy elevada en el clon Dehesa de Amaniel (AM). El clon con mejor SD fue Ademuz (AD; Figura 1F).

La conductividad hidráulica específica máxima ( $K_{s\max}$ ) del clon Dehesa de la Villa (DV) por lo general fue mayor que la del resto de los clones, siendo esta disparidad muy llamativa en la población de Villapresente (VI; Figura 1G). Se comprobaron los datos de  $K_{s\max}$  para confirmar que no se debían a un error de medición. Esta gran disparidad tampoco puede atribuirse a una diferencia de diámetro de las ramas muestreadas puesto que los ramillos tenían un diámetro similar en todas las parcelas salvo en Puerta de Hierro donde tenían un diámetro menor. Cuando se estudien las características de los vasos del xilema con los cortes transversales se podrá determinar si esta diferencia se debe a que el genotipo Dehesa de la Villa tiene vasos de mayor diámetro. La densidad de la madera (WD) fue mayor en las parcelas PH, VC y VI (Figura 1H), no existiendo diferencias entre clones (Tabla 4).

El potencial hídrico al amanecer ( $\Psi_{pd}$ ) fue menor en Piñel de Abajo (PA) y Vivero del Cubillas (VC), indicando que estas fueron las parcelas que presentaron mayor sequía edáfica al realizarse las mediciones (Figura 1I). Los potenciales hídricos al mediodía ( $\Psi_{md}$ ) más bajos se registraron en Puerta de Hierro (PH) y Vivero de Cubillas (VC; Figura 1K). En todas las parcelas y clones  $\Psi_{md} < \Psi_{pd}$  lo que indica que los olmos tenían sus estomas abiertos y estaban transpirando durante el mediodía. Cabe destacar que el factor Clon es significativo tanto para  $\Psi_{pd}$  como para  $\Psi_{md}$  (Tabla 4).

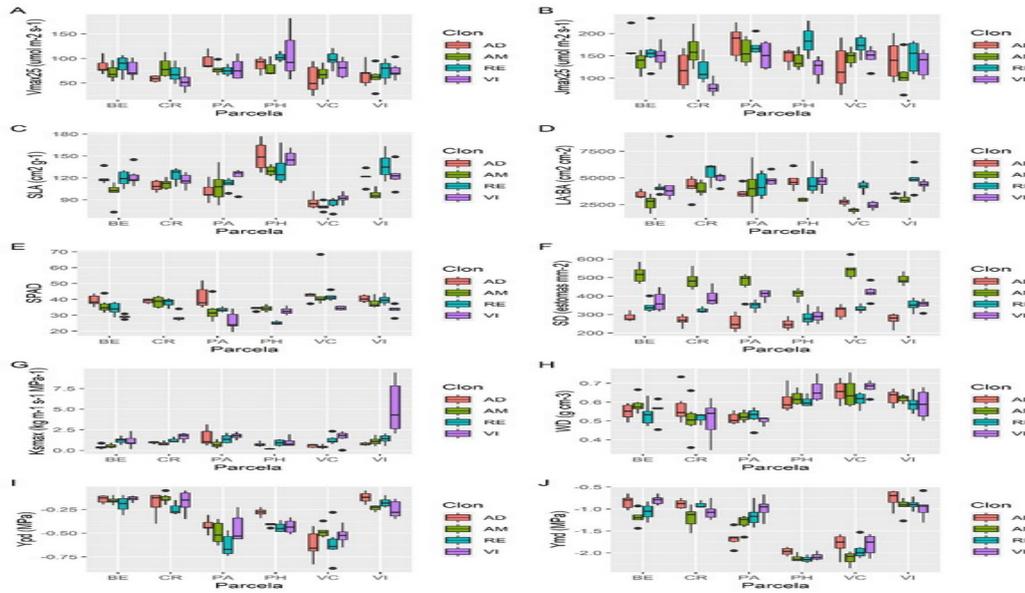


Figura 1. Rasgos funcionales en función de la parcela y clon: (A) Máxima capacidad de carboxilación a 25 °C,  $J_{max25}$ ; (B) Máxima capacidad de transporte de electrones a 25 °C,  $J_{max25}$ ; (C) Superficie foliar específica, SLA; (D) Ratio entre el área foliar y área basal de los tallos, LA:BA; (E) Índice de verdor, SPAD; (F) Densidad estomática, SD; (G) Máxima conductividad hidráulica específica,  $K_{smax}$ ; (H) Densidad de la madera, WD; (I) Potencial hídrico al amanecer,  $\Psi_{pa}$ ; y (J) Potencial hídrico al mediodía,  $\Psi_{md}$ .

Tabla 4. Resumen de los análisis de varianza realizados en los 10 rasgos funcionales. Nivel de significación de los factores: ns ( $p > 0.05$ ), \* ( $p < 0.05$ ), \*\* ( $p < 0.01$ ), \*\*\* ( $p < 0.001$ ).



Factor	$V_{max25}$	$J_{max25}$	SPAD	SLA	LA:BA	SD	$K_{smax}$	WD	$\Psi_{pd}$	$\Psi_{md}$
<b>Clon</b>	ns	*	***	***	***	***	***	ns	***	***
<b>Parcela</b>	**	***	***	***	***	***	***	***	***	***
<b>Clon * Parcela</b>	ns	ns	***	*	ns	*	***	ns	*	***

Las dos primeras componentes principales explicaron el 44,9 % de la varianza (Figura 2). Las variables que más influyeron en PC1 fueron SLA, LA:BA,  $\Psi_{md}$  y SPAD. Las variables con mayor peso en PC2 fueron  $V_{max25}$ ,  $J_{max25}$  y SD. El análisis de componentes principales pone de manifiesto que existen diferencias en los rasgos funcionales de Vivero de Cubillas (VC) respecto al resto de poblaciones (Figura 2A). Asimismo, se observa cierta segregación espacial para las dos primeras componentes principales de los distintos clones, presentando el menor solape entre si Dehesa de Amaniél (AM) y Retiro (RE, Figura 2B).

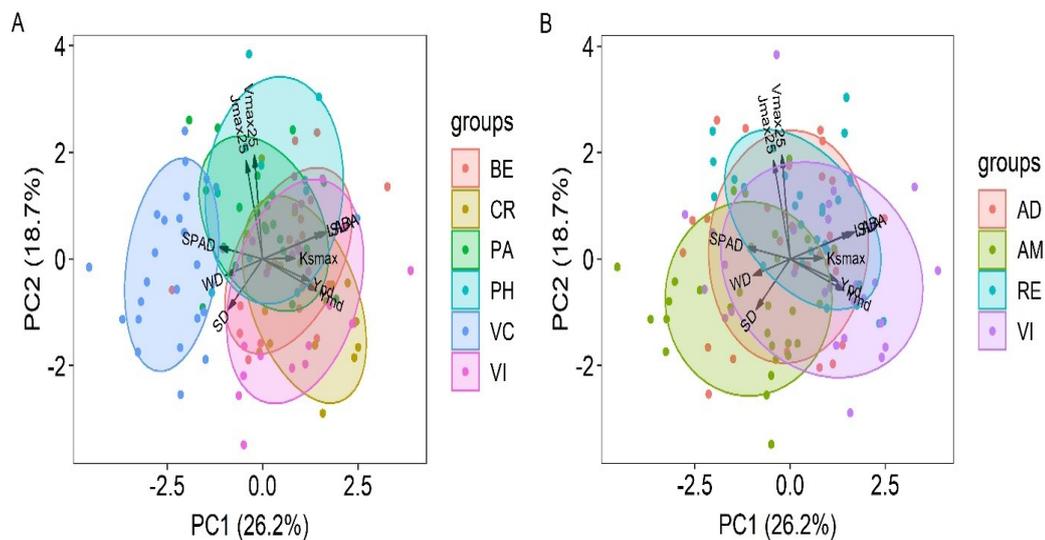


Figura 2. Análisis de componentes principales (PCA) de los 10 rasgos funcionales. (A) Primera (PC1) y segunda (PC2) componentes principales de los árboles agrupados por la parcela de estudio. (B) PC1 y PC2 con los árboles agrupados por clones.

Excepcionalmente la velocidad del viento media (VV) y temperatura mínima (Tmin) el resto de variables climáticas presentaron correlaciones entre sí como cabría esperar, puesto que la mayoría de las variables seleccionadas están interrelacionadas o representan distintos aspectos de la aridez de un clima (Figura 3). Los rasgos funcionales que están más correlacionados son SPAD, SLA, LA:BA y SD (Figura 3), presentando tanto correlaciones positivas como negativas. Por otro lado,  $\Psi_{pd}$  y  $\Psi_{md}$  también presentan una correlación positiva y son los rasgos funcionales más correlacionados con las variables climáticas (Figura 3).

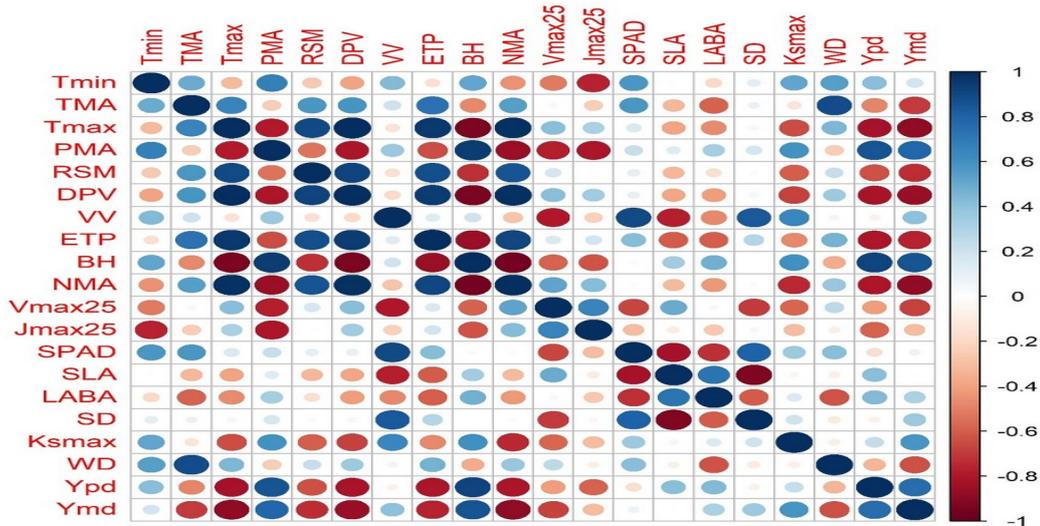


Figura 3. Análisis de correlación de Pearson entre las 10 variables climáticas obtenidas de WorldClim para las 6 parcelas y el valor medio por parcela de los 10 rasgos funcionales estudiados. El tamaño del círculo y color indican el coeficiente de correlación entre dos variables.

Los rasgos funcionales estudiados presentaron plasticidades fenotípicas de moderadas a altas (Figura 4). El índice de plasticidad fenotípica (IPF) permitió ordenar los rasgos funcionales de menor a mayor plasticidad: WD (IPF=0,21), SD (IPF=0,24), SPAD (IPF=0,27),  $V_{max25}$  (IPF=0,37),  $J_{max25}$  (IPF=0,38), SLA (IPF=0,39), LA:BA (IPF=0,43),  $\Psi_{md}$  (IPF=0,59),  $K_{smax}$  (IPF=0,68) y  $\Psi_{pd}$  (IPF=0,75). Asimismo, el clon con mayor plasticidad fenotípica fue Dehesa de la Villa (IPF=0,48) y Retiro presentó la menor plasticidad (IPF=0,37).

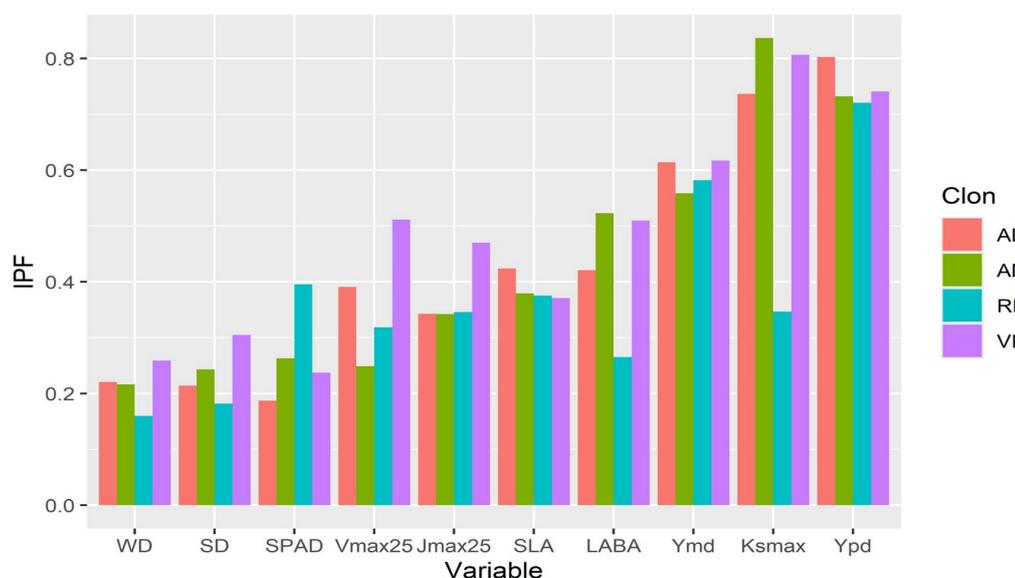


Figura 4. Índice de plasticidad fenotípica (IPF) para los diez rasgos funcionales y los cuatro clones.

## 5. Discusión

En base al balance hídrico anual (BH) y número de meses áridos (NMA) las parcelas se pueden ordenar de menor a mayor aridez: VI, CR, BE, PA, PH, VC (Tabla 3). Este orden también se corresponde al de la demanda evaporativa de la atmósfera (VPD), por lo que podemos usar esta categorización para interpretar los resultados, aunque algunas de las poblaciones dispongan de riegos de apoyo o acceso al agua del freático. El factor parcela fue significativo para todos los rasgos funcionales (Tabla 4). No obstante, no fue fácil determinar cómo afectó la aridez a cada rasgo funcional debido a la falta de correlación entre algunos rasgos funcionales y las variables climáticas (Figura 3). Asimismo, la interpretación se complica debido a las interacciones entre los factores clon y parcela.

Los rasgos funcionales con mayor plasticidad fenotípica fueron  $\Psi_{pd}$ ,  $\Psi_{md}$ ,  $K_{smax}$  y LA:BA, es decir, los más directamente relacionados con el transporte y uso de agua. Esta plasticidad permite a los clones estudiados adaptarse a la disponibilidad hídrica de los distintos ambientes. Los potenciales hídricos ( $\Psi_{pd}$ ,  $\Psi_{md}$ ) se ven muy afectados tanto por las condiciones ambientales como por los rasgos funcionales y las estrategias de uso de agua de las plantas (BHASKAR & ACKERLY, 2006; MARTÍNEZ-VILALTA & GARCÍA FORNER, 2016). Asimismo, potenciales hídricos muy bajos inducen el cierre estomático, pérdidas de productividad, pérdidas de conductividad hidráulica por cavitación y, en última instancia, la muerte de las plantas por fallo hidráulico (ANDEREGG et al, 2015; CHOAT et al, 2018).

La plasticidad fenotípica y diferencias entre clones de los rasgos más directamente relacionados con la asimilación fotosintética ( $V_{max25}$ ,  $J_{max25}$ , LA:BA,  $K_{smax}$ ) pueden afectar la cantidad de carbohidratos de los que disponen las plantas. La cantidad de almidón almacenado en los tallos está relacionada con la susceptibilidad de los olmos a la grafiosis, siendo más susceptibles aquellos ejemplares con menor cantidad de almidón (MARTÍN et al. 2005, 2008; DOMINGUEZ et al, 2024). Los olmos con mayor capacidad fotosintética ( $V_{max25}$  y  $J_{max25}$ ) y mayor área foliar (LA:BA) potencialmente podrían disponer de más carbohidratos para destinar a crecimiento y a la producción de metabolitos secundarios de defensa. Las reservas de carbohidratos no estructurales también son importantes para la supervivencia de las plantas bajo condiciones de estrés hídrico (MCDOWELL et al, 2013; ANDEREGG et al, 2015).

La conductividad hidráulica específica máxima ( $K_{smax}$ ) depende de la estructura del xilema (SPERRY & HACKE, 2004; SPERRY et al, 2006; JACOBSEN et al. 2024). La conductividad de los vasos es proporcional al diámetro del lumen a la cuarta potencia siguiendo la ecuación de Hagen-Poiseuille (LEWIS & BOOSE, 1995). Es por ello, que la elevada plasticidad de  $K_{smax}$  observada en este estudio probablemente se deba principalmente a variaciones en el diámetro de los vasos del xilema. Como la vulnerabilidad de los olmos a la grafiosis aumenta con el diámetro de los vasos (SOLLA et al, 2005; VENTURAS et al, 2014), la gran plasticidad de  $K_{smax}$  podría reducir la resistencia de estos clones a la grafiosis en algunos ambientes. Por ejemplo, la elevada plasticidad en  $K_{smax}$  del clon Dehesa de la Villa (VI) podría estar relacionada con la gran plasticidad observada en este clon en la resistencia a la



grafiosis, según el año de inoculación (unos años se han observado marchitamientos inferiores 30% de la copa y otros superiores al 60% de la copa).

La superficie foliar específica (SLA) de los clones estudiados fue mayor que los valores reportados con anterioridad para la especie (VENTURAS et al. 2013). El patrón general es que valores bajos de SLA se asocian con ambientes áridos (NIINEMETS, 2001; WRIGHT et al, 2005). Este patrón se cumple en las parcelas de estudio si se excluye del análisis a la parcela PH (Figura 1), puesto que SLA fue significativamente más bajo en VC, la parcela más árida, y mayor VI, la más húmeda. Asimismo, SLA presenta una correlación negativa con la evapotranspiración potencial (Figura 3). Sin embargo, PH presentó los mayores valores de SLA siendo la segunda parcela más árida. Esto podría deberse a que PH se regó con frecuencia durante el periodo vegetativo. La correlación negativa de SLA con la velocidad de viento puede deberse a que los clones inviertan en más carbono estructural en los lugares ventosos para protegerlas de daños mecánicos.

Se ha postulado una hipótesis de cómo han de variar  $V_{cmax}$  y LA:BA en función de las condiciones ambientales (humedad del suelo, radiación solar, temperatura y humedad relativa) y el coste de producción de hojas (SPERRY et al, 2019). La hipótesis establece que las plantas maximizarán su capacidad de asimilación fotosintética sin alcanzar estrés hídrico significativo manteniendo una homeostasis de ratio de 0.7 entre la concentración de  $CO_2$  intercelular de las hojas y concentración de  $CO_2$  ambiental. Por lo general, los árboles que tienen gran capacidad fotosintética en las hojas requieren menor superficie de hojas por unidad de área basal para asegurar el suministro de agua a las mismas para realizar la fotosíntesis. De no ser así, no sería provechoso invertir tanto en la capacidad fotosintética. El empleo de una hipótesis para la aclimatación de los árboles permite por un lado establecer si los valores óptimos pueden ser alcanzados en vistas de la plasticidad de los clones y, por otro, permite modelizar cómo se comportarán los clones bajo condiciones climáticas futuras o en ambientes donde todavía no se han plantado o evaluado. Dada la gran plasticidad de los rasgos funcionales de estos clones, sería muy interesante para los proyectos de restauración determinar si el algoritmo de aclimatación propuesto por SPERRY et al, 2019, es capaz de predecir cómo se adaptan los rasgos funcionales de los clones de olmo a las condiciones ambientales de las parcelas estudiadas.

La elevada plasticidad fenotípica de los clones complica la selección de clones a emplear en cada ambiente (DOMINGUEZ et al, 2024). Puede darse el caso de que la adaptación de algún rasgo funcional a las condiciones ambientales favorezca el crecimiento y resistencia de los olmos frente a factores climáticos, pero los haga más vulnerables frente a la grafiosis. Por ejemplo, mayores valores de  $K_{smax}$  podrían ser favorables para el crecimiento de la planta y la acumulación de carbohidratos no estructurales al permitir altas tasas de fotosíntesis cuando la disponibilidad de agua en el suelo es elevada, pero a su vez favorece la dispersión de *O. novo-ulmi* si la planta es infectada.

## 6. Conclusiones

Existen diferencias en los rasgos funcionales de los cuatro clones estudiados y



estos rasgos presentan plasticidad fenotípica lo que permite que los clones se adapten a distintos ambientes. No obstante, como la respuesta fisiológica de las plantas frente a la grafiosis y el estrés hídrico no depende de un único rasgo funcional, sino de la combinación de múltiples rasgos funcionales, todavía no disponemos de información suficiente para determinar qué clon es más apropiado para cada ambiente.

## 7. Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. Agradecemos a Paula Cruces Estepa, Alexandra Oliveira Pereira, Alba Rodríguez Iglesias, David Manso Martínez, Beatriz Cervigón Recuero y Ana María Martín Murillo su ayuda para la realización de mediciones y el procesado de muestras. Agradecemos el apoyo de los gestores de las poblaciones estudiadas por facilitarnos el acceso a las mismas y proporcionarnos la información necesaria sobre su plantación.

## 8. Bibliografía

ALLEN, R. G.; SMITH, M.; PEREIRA, L. S.; PERRUER, A.; 1994. An update for the calculation of reference evapotranspiration. *ICID Bulletin* 43(2): 35 – 92.

ANDEREGG, W. R.; HICKE, J. A.; FISHER, R. A.; ALLEN, C. D.; AUKEMA, J.; BENTUZ, B.; ... ZEPPEL, M.; 2015. Tree mortality from drought, insects, and their interactions in a changing climate. *New Phytol.* 208(3), 674-683.

BHASKAR, R.; ACKERLY, D. D.; 2006. Ecological relevance of minimum seasonal water potentials. *Physiol. Plant.* 127(3): 353 – 359.

BEGUERÍA, S.; VICENTE-SERRANO, S. M.; 2023. SPEI: Calculation of the Standardized Precipitation-Evapotranspiration Index\_. R package version 1.8.1, <https://CRAN.R-project.org/package=SPEI>

BERNACCHI, C. J.; SINGSAAS, E. L.; PINENTEL, C.; PORTIS, A. R.; LONG, S. P.; 2001. Improved temperature response functions for models of Rubisco-limited photosynthesis. *Plant Cell Environ.* 24: 253 – 259.

BRADSHAW, A. D.; 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Adv. Genet.* 13: 115 – 155.

BRASIER, C. M.; KIRK, S. A.; 2010. Rapid emergence of hybrids between two subspecies of *Ophiostoma novo-ulmi* with a high level of pathogenic fitness. *Plant Pathol.* 59: 186 – 199.

CHOAT, B.; BRODRIBB, T. J.; BRODERSEN, C. R.; DUURSMA, R. A.; LÓPEZ, R.; MEDLYN, B. E.; 2018. Triggers of tree mortality under drought. *Nature* 558(7711):



531 – 539.

COLLATZ, G. J.; BALL, J. T.; GRIVET, C.; BERRY, J. A.; 1991. Physiological and environmental regulation of stomatal conductance, photosynthesis and transpiration: a model that includes a laminar boundary layer. *Agric. For. Meteorol.* 54: 107 – 136.

COWAN, I. R.; FARQUHAR, G. D.; 1977. Stomatal function in relation to leaf metabolism and environment. In *Integration of Activity in the Higher Plant* (ed Jennings D.H.), pp. 471 – 505. *Cambridge University Press*, Cambridge.

DOMÍNGUEZ, J.; MACAYA-SANZ, D.; RAMÍREZ-VALIENTE, J. A.; MARTÍN, J. A.; 2024. Genotype-by-environment interaction in Dutch elm disease resistance. *Agric. For. Meteorol.* 359: 110294.

FARQUHAR, G. D.; SCHULZE, E. D.; KUPPERS, M.; 1980. Responses to humidity by stomata of *Nicotiana glauca* L. and *Corylus avellana* L. are consistent with the optimization of carbon dioxide uptake with respect to water loss. *Aust. J. Plant Physiol.* 7: 315 – 327.

FICK, S. E.; HIJMANS, R. J.; 2017. WorldClim 2: new 1km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *Int. J. Climatol.* 37(12): 4302 – 4315.

FLO, V.; MARTÍNEZ-VILALTA, J.; MENCUCCINI, M.; GRANDA, V.; ANDEREGG, W. R.; POYATOS, R.; 2021. Climate and functional traits jointly mediate tree water-use strategies. *New Phytol.* 231(2), 617-630.

HACKE, U. G.; SPICER, R.; SCHREIBER, S. G.; PLAVCOVÁ, L.; 2017. An ecophysiological and developmental perspective on variation in vessel diameter. *Plant Cell Environ.* 40(6), 831 – 845.

HACKE, U.G.; VENTURAS, M. D.; MACKINNON, E. D.; JACOBSEN, A. L.; SPERRY, J. S.; PRATT, R. B.; 2015. The standard centrifuge method accurately measures vulnerability curves of long-vesselled olive stems. *New Phytol.* 205: 116 – 127.

IPCC; 2023. *Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.* IPCC, Geneva, Switzerland, 184 pp.

JACOBSEN, A. L.; PRATT, R. B.; VENTURAS, M. D.; HACKE, U. G.; 2019. Large volume vessels are vulnerable to water-stress-induced embolism in stems of poplar. *IAWA J.* 40: 4 – 22.



JACOBSEN, A. L.; VENTURAS, M. D.; HACKE, U. G.; PRATT, R. B.; 2024. Sap flow through partially embolized xylem vessel networks. *Plant Cell Environ.* 47(9): 3375 – 3392.

LEUNING, R; 2002. Temperature dependence of two parameters in a photosynthesis model. *Plant Cell Environ.* 25: 1205 – 1210.

LEWIS, A.M.; BOOSE, E.R.; 1995. Estimating volume flow rates through xylem conduits. *Am. J. Bot.* 82: 1112 – 1116.

MARTÍN GARCÍA, J. A.; COLLADA COLLADA, C.; VENTURAS, M.; DOMÍNGUEZ PALACIOS, J.; MIRANDA GARCÍA-ROVÉS, E.; DÍEZ RODRÍGUEZ, J.; IGLESIAS SAUCE, S.; GIL SÁNCHEZ, L.; 2012. El programa español del olmo: 25 años de mejora e investigación frente a la grafiosis. *Cuad. Soc. Esp. Cienc. For.* 36: 127 – 140.

MARTÍN, J. A.; SOLLA, A.; COIMBRA, M. A.; GIL, L.; 2005. Metabolic distinction of *Ulmus minor* xylem tissues after inoculation with *Ophiostoma novo-ulmi*. *Phytochemistry* 66: 2458–2467.

MARTÍN, J. A.; SOLLA, A.; DOMINGUES, M. R.; COIMBRA, M. A.; GIL, L.; 2008. Exogenous phenol increase resistance of *Ulmus minor* to Dutch elm disease through formation of suberin-like compounds on xylem tissues. *Environ. Exp. Bot.* 64: 97–104.

MARTÍN, J. A.; SOLLA, A.; VENTURAS, M. D.; COLLADA, C.; DOMÍNGUEZ, J.; MIRANDA, E.; FUENTES. P.; BURÓN, M.; IGLESIAS, S.; GIL, L.; 2015. Seven *Ulmus minor* clones tolerant to *Ophiostoma novo-ulmi* registered as forest reproductive material in Spain. *iForest* 8: 172 – 180.

MARTÍNEZ-VILALTA, J.; GARCÍA-FORNER, N.; 2017. Water potential regulation, stomatal behaviour and hydraulic transport under drought: deconstructing the iso/anisohydric concept. *Plant Cell Environ.* 40(6): 962 – 976.

MARTÍNEZ-VILALTA, J.; PIÑOL, J.; 2002. Drought-induced mortality and hydraulic architecture in pine populations of the NE Iberian Peninsula. *For. Ecol. Manage.* 161: 247 – 256.

MCDOWELL, N. G.; FISEHER, R. A.; XU, C.; DOMEK, J. C.; HÖLTTÄ, T.; MACKAY, D. S.; ... POCKMAN, W. T.; 2013. Evaluating theories of drought-induced vegetation mortality using a multimodel–experiment framework. *New Phytol.* 200(2): 304 – 321.

MEDLYN, B. E.; DREYER, E.; ELLSWORTH, D. S.; FORSTREURER, M.; HARLEY, P. C.;



KIRSCHABAUM, M. U. F.; ... LOUSTAU, D.; 2002. Temperature response of parameters of a biochemically based model on photosynthesis. II. A review of experimental data. *Plant Cell Environ.* 25: 1167 – 1179.

MONTEITH, J. L.; 1965. Evaporation and environment. *Symposia of the Society for Experimental Biology* 19: 205 – 234.

NIINEMETS, Ü.; 2001. Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density, and thickness in trees and shrubs. *Ecology* 82(2): 453 – 469.

POLSKY, C.; NEFF, R.; YARNAL, B.; 2007. Building comparable global change vulnerability assessments: The vulnerability scoping diagram. *Glob. Environ. Change* 17(3-4): 472 – 485.

R CORE TEAM; 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. R v.3.5.0.

SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICERI, K. W.; 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat. Methods* 9: 671 – 675.

SOLLA, A.; MARTÍN, J. A.; CORRAL, P.; GIL, L.; 2005. Seasonal changes in wood formation of *Ulmus pumila* and *U. minor* and its relation with Dutch elm disease. *New Phytol.* 166: 1025 – 1034.

SPERRY, J. S.; DONNELLY, J. R.; TYREE, M. T.; 1988. A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant Cell Environ.* 11: 35 – 40.

SPERRY, J. S.; HACKE, U. G.; 2004. Analysis of circular bordered pit function I. Angiosperm vessels with homogenous pit membranes. *Am. J. Bot.* 91: 369 – 385.

SPERRY, J. S.; HACKE, U. G.; PITTERMANN, J.; 2006. Size and function in conifer tracheids and angiosperm vessels. *Am. J. Bot.* 93: 1490 – 1500.

SPERRY, J. S.; VENTURAS, M. D.; ANDEREGG, W. L. R.; MENCUCINI, M.; MACKAY, D. S.; WANG, Y.; LOVE, D. M.; 2017. Predicting stomatal responses to the environment from the optimization of photosynthetic gain and hydraulic cost. *Plant Cell Environ.* 40: 816 – 830.

SPERRY, J. S.; VENTURAS, M. D.; TODD, H. N.; TRUGMAN, A. T.; ANDEREGG, W. R. L.; WANG, Y.; TAI, X.; 2019. The impact of rising CO<sub>2</sub> and acclimation on the response of US forests to global warming. *PNAS* 116(51): 25734 – 25744.



VALLADARES, F.; WRIGHT, S. J.; LASSO, E.; KITAJIMA, K.; PEARCY, R. W.; 2000. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology* 81(7): 1925 – 1936.

VENTURAS, M. D.; LÓPEZ, R.; GASCÓ, A.; Gil, L.; 2013. Hydraulic properties of European elms: Xylem safety-efficiency tradeoff and species distribution in the Iberian Peninsula. *Trees-Struct. Funct.* 27: 1691 – 1701.

VENTURAS, M. D.; LÓPEZ, R.; MARTÍN, J. A.; GASCÓ, A.; GIL, L.; 2014. Heritability of *Ulmus minor* resistance to Dutch elm disease and its relationship to vessel size, but not to xylem vulnerability to drought. *Plant Pathol.* 63: 500 – 509.

VENTURAS, M. D.; MACKINNON, E. D.; JACOBSEN, A. L.; PRATT, R. B.; 2015. Excising stem samples underwater at native tension does not induce xylem cavitation. *Plant Cell Environ.* 38: 1060 – 1068

WRIGHT, I. J.; REICH, P. B.; CORNELISSEN, J. H.; FALSTER, D. S.; GROOM, P. K.; HIKOSAKA, K.; ... WESTOBY, M.; 2005. Modulation of leaf economic traits and trait relationships by climate. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 14(5): 411 – 421.