



UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA
CENTRO UNIVERSITARIO DE PLASENCIA



Curso 2022/2023

Convocatoria: septiembre

**Resiliencia ante estrés térmico e hídrico en
diferentes poblaciones de *Castanea sativa* Mill.**

Trabajo presentado para optar al Título Oficial de

**GRADO EN
INGENIERÍA FORESTAL Y DEL MEDIO NATURAL
POR LA UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA**

POR

Óscar Chaves Masero

TUTELADO POR

Alejandro Solla Hach

PLASENCIA, SEPTIEMBRE DE 2023

AGRADECIMIENTOS

Cuatro años realizando una carrera de fondo que ha marcado mi vida. Mucho tiempo pensando en finalizar mi Trabajo Fin de Grado, pasando por infinidad de emociones cargadas de risas y alguna que otra lágrima. Esta carrera me ha permitido conocer a personas realmente especiales que siempre recordaré con una sonrisa.

En primer lugar, quiero agradecer a mi tutor, Alejandro, por su guiado personalizado y sus sabias sugerencias aportadas durante todo el proceso de investigación. Sus conocimientos y experiencia en el sector agronómico y forestal han posibilitado el desarrollo de este estudio de investigación. Cómo no, agradecer también a Tragsa por poder colaborar con ellos en el estudio.

Por supuesto, reservo unas líneas para María, Javi y Edu. Valoro significativamente la disposición prestada para escucharme y comprender mis necesidades. Vuestra desinteresada ayuda durante innumerables horas me ha permitido sacar adelante este trabajo. No solo eso, me habéis enseñado valores dignos de agradecer como constancia y disciplina.

Además, me gustaría reconocer a todo el equipo multidisciplinar de profesores y becarios que componen el Grado en Ingeniería Forestal y del Medio Natural presentes en el Centro Universitario de Plasencia. Su íntegra dedicación me ha dotado de multitud de conocimientos relevantes para rebasar el mundo académico y enfrentarme al ámbito profesional.

Asimismo, mencionar a mis compañeros de clases y amigos. Estas personas no han parado de brindarme su apoyo y comprensión durante la totalidad de cursos académicos.

Por último, pero no por ello menos importante, quiero agradecer de corazón a mi familia (Manuel, Reme y Manuel Bautista) y a mi pareja (Ángela) por su respaldo, paciencia y amor incondicional. Vosotros y solo vosotros sois el pilar donde se asientan mis cimientos porque no dejáis de demostrarlo cada día.

Sin más demora, estoy muy agradecido con todos y cada uno de ustedes. Sin vuestro apoyo, nada de esto hubiese sido posible, GRACIAS.

RESUMEN

El castaño (*Castanea sativa* Mill.) es un árbol termófilo de clima templado ampliamente extendido por las regiones mediterráneas y valorado por sus diversos aprovechamientos en el sector forestal. No obstante, los episodios continuados y frecuentes de altas temperaturas junto con la falta de precipitaciones merman su productividad e incluso supervivencia. El presente Trabajo Fin de Grado tiene como objetivo analizar las respuestas en diferentes poblaciones de *Castanea sativa* ante estrés térmico e hídrico, de forma individual y simultánea, simulando los efectos del cambio climático. El material vegetal a estudiar fueron castañas recolectadas de cuatro poblaciones de Extremadura y dos del sur de Italia. El estudio se realizó con plantas de una savia en condiciones controladas de invernadero. Los brinzales manifestaron una elevada capacidad de tolerancia ante el estrés térmico, pero una escasa tolerancia ante el estrés hídrico cuando no quedó humedad en el suelo en términos volumétricos. Se confirma que existe variabilidad de respuesta al estrés térmico y al estrés hídrico entre las poblaciones principales de castaño de Extremadura y entre dos poblaciones del sur de Italia. Parámetros relevantes para caracterizar la tolerancia al estrés térmico e hídrico fueron 'puntisecado' y 'tiempo en rebrotar', respectivamente. La ola de calor simulada produjo en castaño un alivio frente al estrés hídrico, que actuó después. Es la primera vez que se estudian en castaño ambos estreses simultáneamente y se confirma que existe cierta variabilidad de respuesta a ambos entre las poblaciones de castaño de Extremadura. Las poblaciones del sur de Italia no toleraron mejor el estrés térmico e hídrico que las poblaciones de Extremadura. Entre las 6 poblaciones estudiadas destaca la tolerancia de Valle de Matamoros ante los tres tipos de estrés, tal vez por ser la más cálida y xérica. Valle de Matamoros resulta la población más interesante para iniciar la mejora del castaño ante el cambio climático en Extremadura, sin que haga falta utilizar material vegetal del sur de Italia para reforzar dicha mejora.

Palabras clave: castaño, poblaciones, estrés térmico e hídrico, cambio climático.

ABSTRACT

Chestnut (*Castanea sativa* Mill.) is a thermophilic tree of temperate climate widely spread in Mediterranean regions and valued for its various uses in the forestry sector. However, the continuous and frequent episodes of high temperatures together with the lack of rainfall reduce its productivity and even its survival. The aim of this Final Degree Project is to analyze the responses of different populations of *Castanea sativa* to heat and water stress, individually and simultaneously, simulating the effects of climate change. The plant material to be studied were chestnuts collected from four populations in Extremadura and two in southern Italy. The study was carried out with single-sap plants under controlled greenhouse conditions. The saplings showed a high tolerance capacity to heat stress, but a low tolerance to water stress when there was no moisture left in the soil in volumetric terms. It is confirmed that there is variability of response to heat and water stress among the main chestnut populations in Extremadura and between two populations in southern Italy. Relevant parameters to characterize the tolerance to heat and water stress were 'dotted' and 'time to regrowth', respectively. The simulated heat wave produced in chestnut an alleviation of water stress, which acted afterwards. This is the first time that both stresses have been studied simultaneously in chestnut and it is confirmed that there is some variability of response to both stresses among chestnut populations in Extremadura. Populations from southern Italy did not tolerate heat and water stress better than populations from Extremadura. Among the 6 populations studied, the tolerance of Valle de Matamoros to the three types of stress stands out, perhaps because it is the warmest and most xeric. Valle de Matamoros is the most interesting population to initiate the improvement of chestnut in the face of climate change in Extremadura, without the need to use plant material from southern Italy to reinforce this improvement.

Key words: chestnut, populations, heat and water stress, climate change.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	7
2. OBJETIVOS.....	12
3. MATERIAL Y MÉTODOS	14
3.1. Material vegetal y cultivo	14
3.2. Caracterización climática de las poblaciones.....	21
3.3. Diseño experimental.....	24
3.4. Medición y evaluación de las plantas	26
3.5. Análisis estadístico	32
4. RESULTADOS.....	34
4.1. Emergencia y desarrollo de castaños de cuatro poblaciones de Extremadura y dos poblaciones del sur de Italia	34
4.2. Estrés térmico en brinzales de seis poblaciones de castaño	37
4.3. Estrés hídrico en brinzales de seis poblaciones de castaño	41
4.4. Estrés térmico seguido de estrés hídrico en brinzales de seis poblaciones de castaño	44
5. DISCUSIÓN	50
5.1. Emergencia y desarrollo de castaños de cuatro poblaciones de Extremadura y dos poblaciones del sur de Italia	50
5.2. Estrés térmico en brinzales de seis poblaciones de castaño	52
5.3. Estrés hídrico en brinzales de seis poblaciones de castaño	54
5.4. Estrés térmico seguido de estrés hídrico en brinzales de seis poblaciones de castaño	55
6. CONCLUSIONES.....	59
7. BIBLIOGRAFÍA	62

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La influencia de las actividades humanas en el cambio climático, incluidos los componentes atmosféricos, oceánicos y terrestres, es inequívoca (IPCC, n.d.). Desde la Revolución Industrial, el aumento continuo del volumen de gases de efecto invernadero que se emite a la atmósfera (Díaz, 2012), sumado a los cambios en el uso del suelo (Granados-Sánchez et al., 2013), han provocado un incremento en 0,86 °C de la temperatura global de la superficie, y se proyecta un incremento de 1,4-5,8 °C para finales de este siglo (Díaz, 2012). Como consecuencia, se está incrementando la intensidad y duración de las olas de calor, definiéndose ésta como un período de al menos cinco días consecutivos en los que las temperaturas máximas diarias superan el promedio normal (Molina et al., 2020). El cambio climático, aparte de vincularse con el incremento en la temperatura global, también está relacionado con cambios en los patrones de precipitación, manifestándose en períodos de sequías más prolongadas y frecuentes, así como en episodios de precipitaciones extremadamente intensas (Díaz, 2012).

Los bosques han mostrado una patente sensibilidad a los desequilibrios causados por los fenómenos del cambio climático. Los nuevos esquemas de temperatura y precipitación pueden alcanzar, en especies forestales, los bordes de su umbral climático en determinadas regiones, llegando a producir modificaciones poblacionales a favor de las especies más adaptadas (Castro et al., 2004; Vilà-Cabrera et al., 2011). Sin embargo, la exposición prolongada a olas de calor y sequías severas pueden vulnerar la adaptabilidad de las especies forestales (Gómez-Aparicio et al., 2011; Hereş et al., 2018), modificando la dinámica del ecosistema, incluso llegando a producir la desertificación del mismo en casos extremos (Lavee et al., 1998).

La conservación de los bosques es un tema prioritario. Constituyen una enorme importancia ecológica, social, económica y ambiental al desempeñar un papel complejo e interactivo en el medio ambiente (FAO & PNUMA, 2020). En el contexto del cambio climático, los bosques cumplen la función de sumideros de carbono, siendo un elemento indispensable para la mitigación de las propias acciones del cambio climático (Rojo-Martínez et al., 2003).

No obstante, los bosques, cada vez más mermados ante la agravante persistencia del cambio climático, continúan representando una notable superficie. A nivel mundial, los bosques cubren el 30,8 % de la superficie terrestre, aproximadamente unas 4.060 millones de hectáreas (ha), distribuidos discontinuamente por el planeta (FAO & PNUMA, 2020). Los bosques de España ocupan alrededor del 36,3 % de la nación, que supone 18.343.530 ha, habiendo 1.974.403 ha en la comunidad autónoma de Extremadura (MITECO, 2021). Italia presenta una extensión boscosa de 10.900.000 ha, el 36,4 % de la superficie nacional (MITECO, 2019).

El castaño (*Castanea sativa* Mill.) es una especie forestal asociada a clima templado en Europa, y está distribuida en masas naturales y seminaturales. Se ubica en hábitat con temperatura media anual oscilante ente 8 y 15 °C, con precipitaciones mínimas que se encuadren entre los 600 y 800 mm. Es un árbol reconocido por su valor ambiental, cultural y económico. Se trata de una especie valorada por sus recursos madereros y frutícolas, así como su contribución al medio ambiente y sus destacables subproductos melíferos y micológicos (Dorado, 2023). La especie es ampliamente distribuida por las inmediaciones del mar Mediterráneo (Fernández & Alía, 2008), ocupando superficies del sur de Europa, norte de África, noroeste de Europa y este de Asia occidental (Dorado, 2023). El castaño se distribuye por notables masas en Grecia, Italia, Portugal, España, Francia, Turquía y Reino Unido, abarcando 1.700.000 ha en el territorio de Europa meridional (Fernández & Alía, 2008). La masa de mayor tamaño se ubica en Italia con 800.000 ha (Higarza, 2020). También, el castaño ocupa en España una reseñable superficie de unas 300.000 ha de masa pura, según datos del Tercer y Cuarto Inventario Forestal Nacional. Las mayores concentraciones de *Castanea sativa* se sitúan en la zona húmeda septentrional. Sin embargo, se dispersan esporádicamente por el centro y sur de nación, con disposición inferior de humedad (Dorado, 2023). La región extremeña dispone de una representación superficial de 6.000 hectáreas (JUNTAEX, n.d.). A pesar de ello, los bosques de castaño presentan especial vulnerabilidad al cambio climático por su complicada adaptación a las olas de calor y a la falta de agua.

El estrés por calor atiende al aumento de la temperatura por encima de un umbral, que es suficiente para causar daños irreversibles a la planta (Wahid, 2007). Los daños visibles observados por estrés térmico incluyen efectos como quemaduras de hojas y ramas, así como senescencia y abscisión de hojas, o inhibición del crecimiento de brotes y raíces (Dorado et al., 2023), mermando las funciones de la planta en términos fisiológicos y bioquímicos (Wahid, 2007). Los estomas de las plantas son cerrados ante la exposición al calor (Marchin et al., 2021), de forma que las plantas ralentizan sus funciones hidráulicas y fotosintéticas, minimizando la acción de transpiración y asimilación de carbono (Ruehr et al., 2015). Dorado et al. (2023) realizaron el primer estudio que aborda los efectos de estrés térmico en la fisiología y bioquímica en la variabilidad interpoblacional del castaño. Sus resultados indican que la diferenciación genética controla el fenotipo ante el estrés por calor.

Las plantas sometidas a estrés hídrico manifiestan estrategias que tienden a evitarlo, o bien tolerarlo mediante mecanismos de adaptación. El estrés por falta de agua en las plantas genera el decaimiento e incluso muerte de la misma (Valladares et al., 2004). Al igual que en el estrés térmico, se produce la falla hidráulica y la falta de carbono que derivan a la mortalidad inducida por sequía (Camisón et al., 2020). Ante períodos de sequía severa, la tensión del xilema aumenta por encima de un umbral crítico, causando la embolia del vaso (Hammond et al., 2019). Los rangos máximos permisibles se deben a la diferenciación genética cuantitativa de las poblaciones, lo que indica que la tolerancia a la sequía en árboles de castaño actúa espacialmente de manera heterogénea (Alcaide et al., 2019).

Escasamente, ha sido analizado el estrés térmico en castaño mediante el efecto de la temperatura en su comportamiento de cultivares concretos (Gomes-Laranjo et al., 2006). Sin embargo, el conocimiento ante estrés hídrico es más amplio al estudiar las variaciones morfológicas, fisiológicas, metabólicas y hormonales derivables de la sequía (Camisón et al., 2020, 2021; Míguez-Soto & Fernández-López, 2015; Míguez-Soto et al., 2019). Aunque, aparece algún estudio reciente relacionado con la resiliencia del castaño ante factores de estrés relacionados con el cambio global (Dorado, 2023), no se acota en regiones de diferentes países con características climáticas semejantes.

Con motivo de los Fondos de Resiliencia de la Unión Europea, la Junta de Extremadura ha decidido invertir dinero en mejorar cuatro especies de importancia forestal ante el cambio climático. Junto a encina, alcornoque y piñonero, se pretende mejorar al castaño ante factores de cambio global. En particular, ante la actual situación de cambio climático que afecta a Extremadura surge la necesidad de evaluar, frente a estrés térmico e hídrico, material vegetal de poblaciones extremeñas junto a las de otras regiones cálidas y secas provenientes de Italia. Sólo así se podrá comprobar si es suficiente contar, para la mejora, con material vegetal regional o es preciso incorporar material vegetal de otras regiones.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

El objetivo general del presente Trabajo Fin de Grado es analizar las respuestas de poblaciones de *Castanea sativa* extremeñas e italianas ante estrés térmico e hídrico, simulando al cambio climático. Los objetivos específicos del estudio son evaluar en plantas de castaño, en condiciones controladas de invernadero:

1. Si existe variabilidad de respuesta de cuatro poblaciones principales de castaño de Extremadura al estrés térmico.
2. Si existe variabilidad de respuesta de cuatro poblaciones principales de castaño de Extremadura al estrés hídrico.
3. Si existe variabilidad de respuesta de cuatro poblaciones principales de castaño de Extremadura al estrés térmico e hídrico combinados.
4. Si las poblaciones de Extremadura toleran el estrés térmico e hídrico de manera similar a las poblaciones del sur de Italia.

MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Este capítulo trata de aportar información relativa a la descripción del material y métodos empleados, así como su momento de aplicación para la realización del estudio.

3.1. Material vegetal y cultivo

Se utilizaron castañas procedentes de Extremadura (Nuñomoral, Hervás, Guadalupe y Valle de Matamoros) y sur de Italia (Serra San Bruno y Petralia Sottana), a fin de comparar respuestas entre poblaciones de similar latitud. En octubre-noviembre de 2022, el equipo de Tragsa recogió la totalidad del material vegetal extremeño. Además, en esa misma época, por mediación de la investigadora Olga Santina Cacciola (Universidad de Catania), el postdoc Mario Riolo recolectó castañas de una única población de Calabria, y de una única población de Sicilia. La Tabla 1 y Figura 1 indican las 6 poblaciones silvestres a los que pertenecen los 48 árboles madre objeto de estudio, detallándose su posición geográfica y respectiva identificación.

Tabla 1. Árboles y poblaciones de castaño utilizados para la recogida de fruto.

País	Región	Provincia	Población	ID ¹ Árbol madre
España	Extremadura	Cáceres	Nuñomoral	1, 5, 6, 7, 8, 10
			Hervás	13, 14, 16, 18, 19, 20
			Guadalupe	23, 24, 25, 27, 28, 30
		Badajoz	Valle de Matamoros	39, 40, 41, 42, 43, 44, 45
Italia	Calabria	Vibo Valentia	Serra San Bruno	53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64
	Sicilia	Palermo	Petralia Sottana	65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 73, 74, 75, 76

¹Identificador

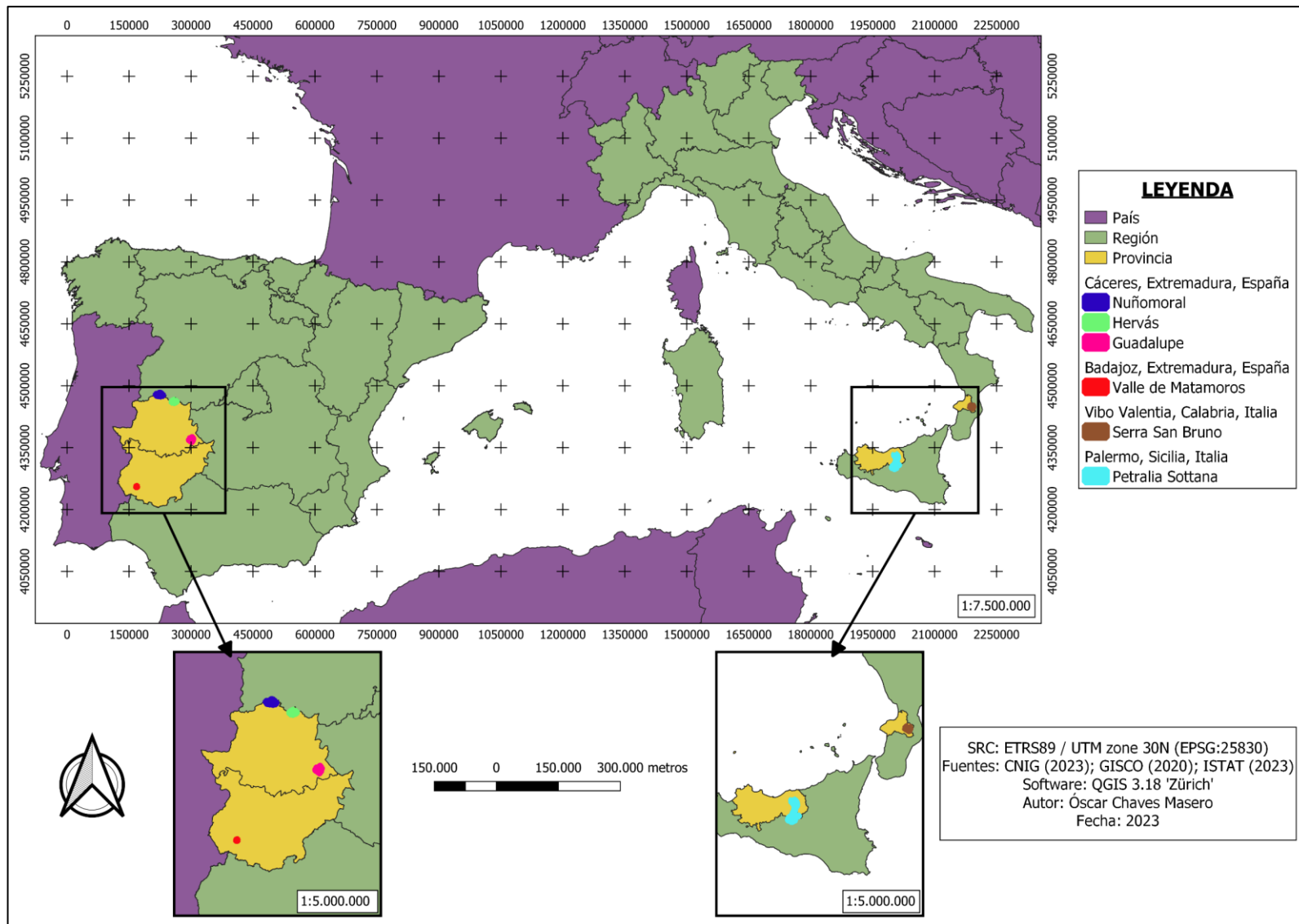


Figura 1. Ubicación de las 6 poblaciones de castaño utilizadas (ordenadas norte-sur). Se señalan en amarillo las provincias de origen.

En diciembre de 2022, se procedió a la desinfección de 16 bandejas (Figura 2a) y 16 contenedores (Figura 2b) con agua rebajada en lejía durante al menos 48 horas. Se trató de bandejas para siembra de semillas con 48 alvéolos autorrepicantes de 30 cl (Figura 3a y b). Seguidamente, se realizó una mezcla de turba (Figura 4a) y fertilizante (Figura 4b) como sustrato para rellenar los alvéolos de cada bandeja (Figura 4c y d). La mezcla consistió en 400 gramos de fertilizante por 100 litros de turba.

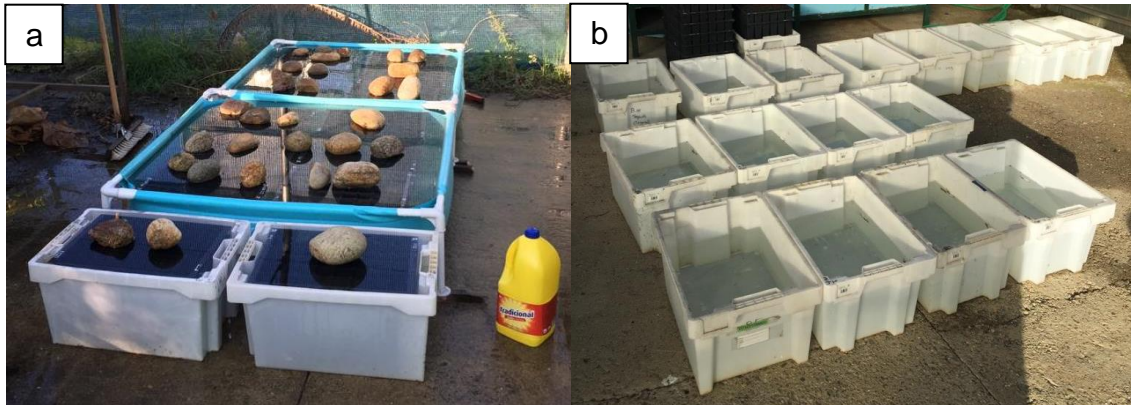


Figura 2. Desinfección durante al menos 48 horas de bandejas (a) y contenedores (b) con agua y lejía (4%).

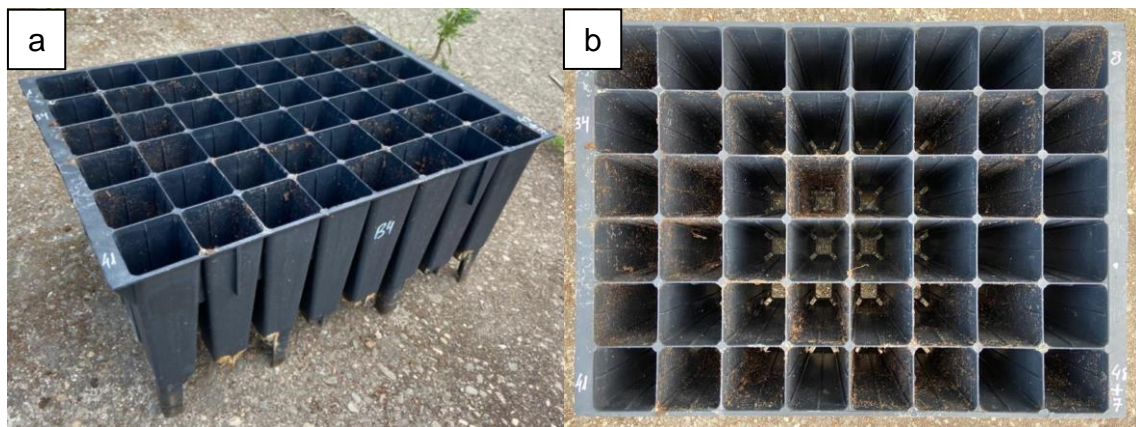


Figura 3. Vista general (a) y cavidades (b) de bandeja de 48 alvéolos autorrepicantes de 30 cl para la siembra de castañas.



Figura 4. Preparación del sustrato a emplear en la siembra: sacos con especificaciones de turba (a) y fertilizante (b), mezclado (c) y bandejas rellenas (d).

El día 13 de enero de 2023 se hizo la siembra con la llegada del material vegetal (Figura 5a), incluyendo semillas aptas (Figura 5b) y descartando las deterioradas (Figura 5c). El lugar de la siembra y posterior establecimiento de las plantas fue el laboratorio de ‘Hidráulica y Motores’ del Centro Universitario de Plasencia (Figura 6). El procedimiento de siembra fue introducir una castaña por árbol madre en cada alvéolo, aplicando una moderada presión y logrando hundirla, y cubrir con un poco de sustrato para que la semilla estuviera a 0,5 cm enterrada, seguido de un riego generoso (Figura 7a). Se aplicó un riego cada 3 días para lograr la germinación y emergencia óptima (Figura 7b). La temperatura a la que se encontró el laboratorio durante el ensayo careció de oscilaciones bruscas, prestando especial atención a la humedad del sustrato para garantizar el correcto desarrollo de las plántulas (Figura 7c).



Figura 5. Material vegetal para la siembra: clasificación por árbol madre (a), semilla apta (b) y semilla deteriorada (c).



Figura 6. Laboratorio de 'Hidráulica y Motores' del Centro Universitario de Plasencia, lugar de la siembra y emergencia de las plantas.



Figura 7. Evolución del material vegetal: finalización del procedimiento de siembra (a); germinación (abajo) y emergencia (arriba) (b); desarrollo de las plántulas, a fecha de 10 de febrero de 2023 (c).

El 17 de febrero y 5 de mayo de 2023 se aplicó un tratamiento con piretroide (Figura 8a y b) ante la abundancia de ‘moscas de la turba’ (Figura 8c), perteneciente al orden de los dípteros. Todas las bandejas fueron tratadas por igual y el problema remitió. El 31 de marzo de 2023, tras la germinación de las castañas, las bandejas se trasladaron al invernadero con malla de sombreado del Centro Universitario de Plasencia (Figura 9a y b). El motivo fue buscar el endurecimiento y aclimatación de las plantas a las condiciones externas.

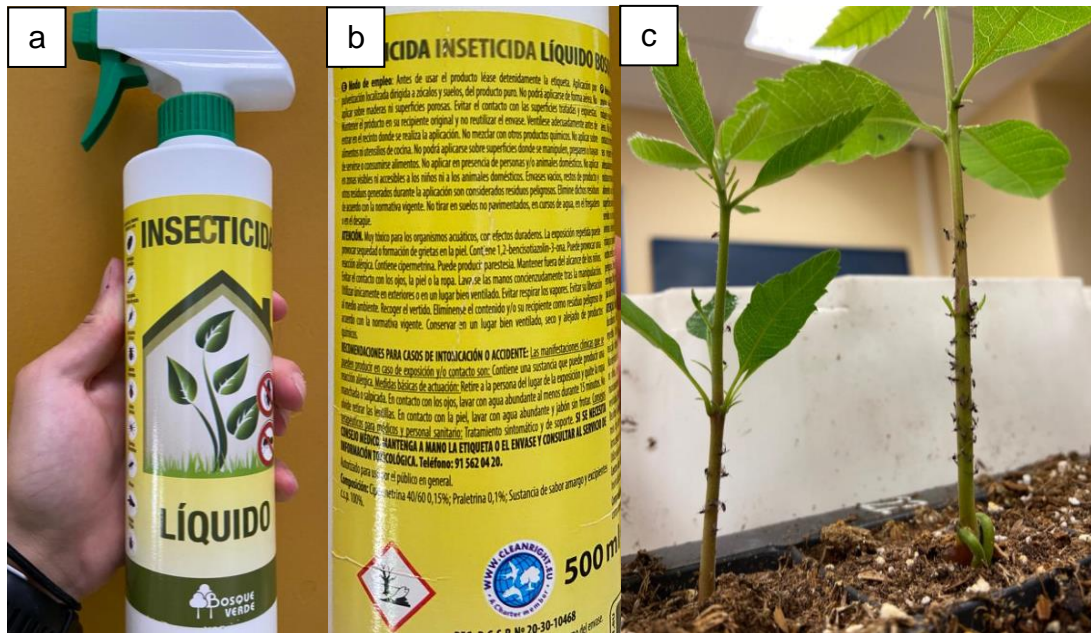


Figura 8. Piretroide a emplear como tratamiento ante las ‘moscas de la turba’ (a), especificaciones (b) y plantas más afectadas (c).



Figura 9. Invernadero con malla de sombreado del Centro Universitario de Plasencia (a), lugar al que se trasladan las plantas para el endurecimiento y aclimatación de las mismas a las condiciones externas (b).

3.2. Caracterización climática de las poblaciones

Las poblaciones manifiestan características climáticas particulares dependiendo de su distribución geográfica. Para ello, fue necesario remontarse a datos climáticos de al menos 15 años. Se realizaron las Figuras 10 y 11 mediante la información disponible y recopilada durante 30 años (1991-2021) por la página web 'Climate-Data'. Los datos climáticos procedieron de las estaciones meteorológicas más cercanas y de similar cota a las poblaciones de estudio. Las estaciones utilizadas se ubican en: Caminomorisco (analiza Nuñomoral), Baños de Montemayor (analiza Hervás), Guadalupe, Jerez de los Caballeros (analiza Valle de Matamoros), Serra San Bruno y Petralia Sottana.

Las poblaciones con precipitación media anual más elevada (expuestas en orden decreciente) fueron: Hervás (1131 mm), Serra San Bruno (894 mm), Nuñomoral (803 mm), Guadalupe (751 mm), Petralia Sottana (644 mm) y Valle de Matamoros (531 mm); según datos de Climate-Data (n.d.).

También, cabe destacar que la temperatura media anual es mayor en Valle de Matamoros (16,5 °C), disminuyendo en Guadalupe (14,3 °C), Nuñomoral (13,8 °C) Serra San Bruno (13,8 °C), Petralia Sottana (13,2 °C) y Hervás (12,4 °C); conforme a lo dispuesto por Climate-Data (n.d.).

Además, Nuñomoral presenta sequía durante los meses junio, julio y agosto (Figura 10a); Hervás en julio y agosto (Figura 10b); Guadalupe en junio, julio y agosto (Figura 10c); Valle de Matamoros en junio, julio, agosto y septiembre (Figura 10d); Serra San Bruno en junio, julio y agosto (Figura 10e); y Petralia Sottana en junio, julio y agosto (Figura 10f). Resalta Valle de Matamoros por manifestar 4 meses de período seco (junio-septiembre), muy superiores a los 2 de Hervás (julio-agosto), y superiores a los 3 meses de sequía (junio-agosto) de las poblaciones restantes.

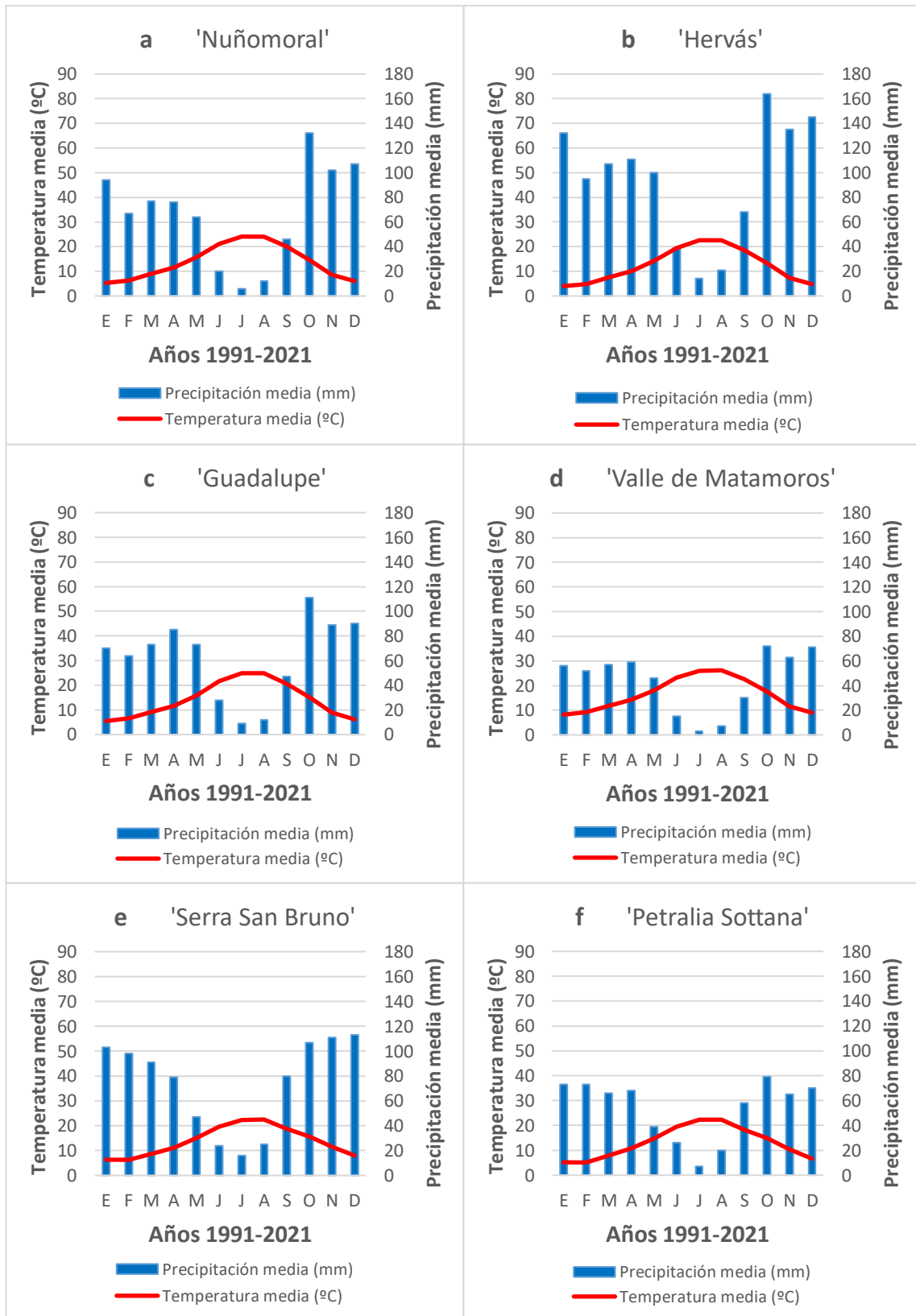


Figura 10. Climogramas de Walter-Lieth para analizar las características climáticas mensuales (años 1991-2021) de las 6 poblaciones de *Castanea sativa* estudiadas: Nuñomoral (a), Hervás (b), Guadalupe (c), Valle de Matamoros (d), Serra San Bruno (e) y Petralia Sottana (f).

Según la Figura 11, la población Valle de Matamoros presenta una temperatura notablemente superior en los meses estivales, y escasa precipitación. En Hervás ocurre lo contrario; por consiguiente, se constata que el período de sequía es mayor en Valle de Matamoros que en Hervás, y el resto de poblaciones se encuadran entre ambas.

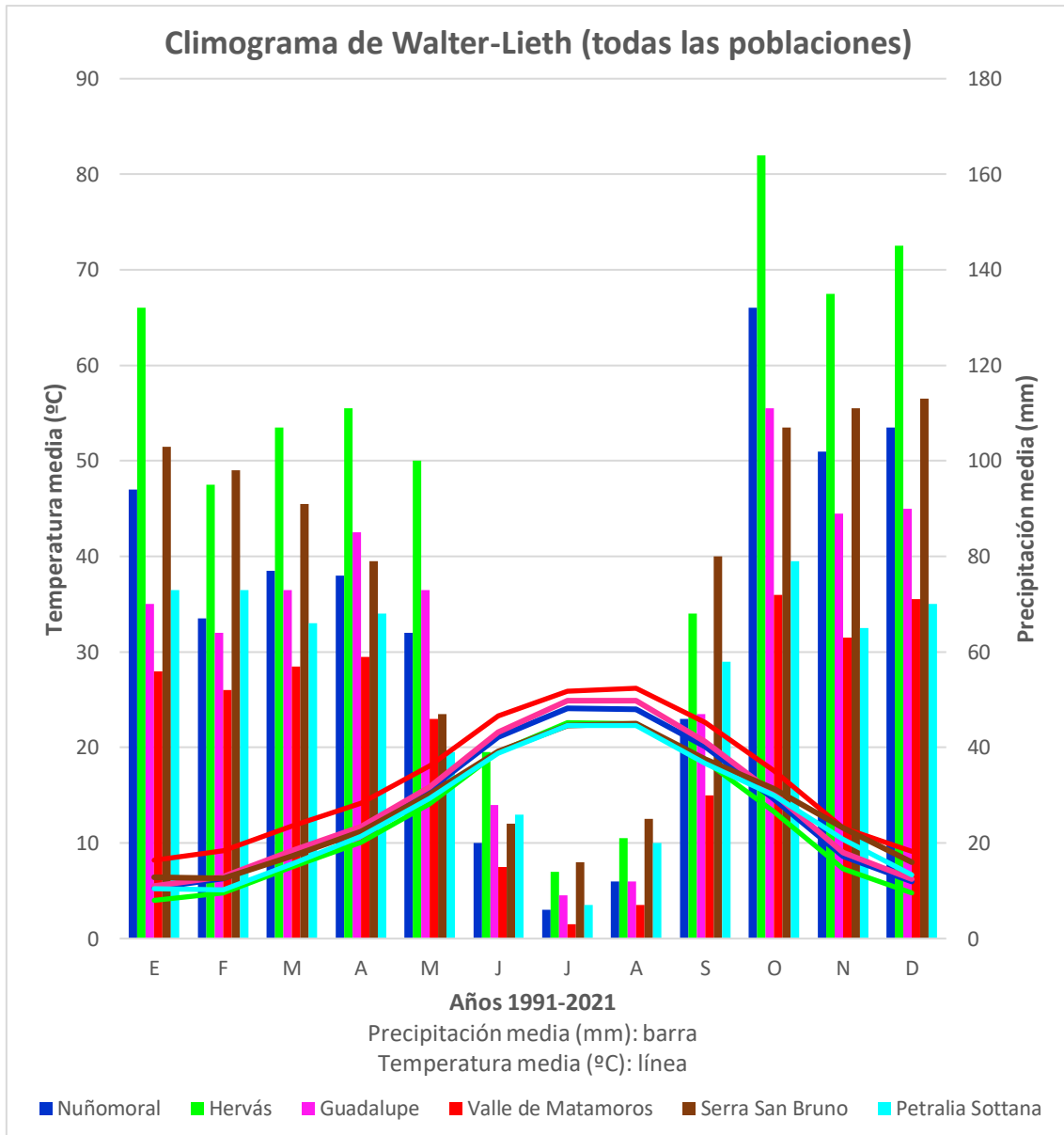


Figura 11. Climograma de Walter-Lieth refundido para comparar las características climáticas mensuales (años 1991-2021) de las 6 poblaciones de *Castanea sativa*.

3.3. Diseño experimental

El ensayo estuvo compuesto por 16 bandejas que se dividieron en cuatro grupos iguales, denominados bloques, de 4 bandejas seleccionadas al azar cada uno. El material vegetal se distribuyó de manera similar en cada una de las 4 bandejas por bloque: en cada bandeja se sembró, al azar, una castaña por árbol madre (Tabla 1) en cada alvéolo. El patrón aleatorio fue distinto en cada bloque, pero idéntico entre las bandejas de cada bloque. Cada bloque fue dividido en cuatro, de modo que una bandeja por bloque fue sometida a los siguientes tratamientos: **'control'**, **'estrés térmico'**, **'estrés hídrico'** y **'estrés térmico + estrés hídrico'**. Por tanto, el experimento lo conformaron 4 bloques, cada uno de los cuales tuvo una unidad experimental por tratamiento. Durante el experimento, se cambiaron al azar las bandejas de ubicación, de modo que los bloques actuaron más bien como repeticiones.

El tratamiento control trató de cubrir las necesidades básicas de las plantas mediante la simulación de condiciones ideales de crecimiento. Este tratamiento posibilita la comparación de efectos con el resto de los tratamientos. Las bandejas 1, 3, 6 y 12 se incluyeron en este tratamiento.

El tratamiento estrés térmico pretendió evaluar los efectos de una ola de calor en las plantas que podrían sufrir ante cambio climático. El 8 de mayo de 2023, las plantas se sometieron a la exposición controlada de temperaturas elevadas (46 °C) mediante una cámara climática (Figura 12a-c). La duración del tratamiento fue de 5 días consecutivos con la aplicación de calor constante de 11-17:00 horas (Figura 12d), aplicándose un riego somero después de dicho período. Durante las horas del resto del día, las plantas estuvieron a temperatura similar respecto a las plantas control. Las bandejas 4, 5, 8 y 13 se sometieron al tratamiento en cuestión.

El tratamiento estrés hídrico se ajustó a simular escasez de agua en las plantas, condiciones de déficit hídrico a las que podrían ser sometidas ante episodios de sequía severa, esperable con el cambio climático. El tratamiento suprimió el riego el 8 de mayo de 2023 con la intención de conocer en qué momento la planta llega al 0 % de humedad y en qué momento se marchita completamente. Las bandejas 9, 10, 14 y 16 se sometieron a este tratamiento.

El tratamiento estrés térmico + estrés hídrico simuló un estrés de cambio climático consistente en ola de calor (Figura 12) seguida de sequía extrema. Las plantas que experimentaron calor en la cámara climática (a partir del 8 de mayo de 2023) no recibieron aporte hídrico posterior, siendo estresadas hídricamente según se indica arriba. Las bandejas 2, 7, 11 y 15 se sometieron al mencionado tratamiento.



Figura 12. Cámara climática ubicada en el invernadero de metacrilato del Centro Universitario de Plasencia: vista anterior con plantas perteneciente al bloque de estrés térmico (4 bandejas de la derecha) y estrés térmico + hídrico (4 bandejas de la izquierda) (a), vista posterior (b), termostato (c) y temporizador (d).

Tras los tres tipos de estrés que se le inducen a las plantas, con la finalización de cada tratamiento, se devuelven a condiciones óptimas de temperatura y humedad para medir y evaluar su recuperación, si procede.

3.4. Medición y evaluación de las plantas

Este apartado comprende la toma de datos de las plantas a lo largo del experimento, tales como peso de castaña, momento de emergencia, altura pre-tratamiento, marchitamiento, altura post-tratamiento, momento en alcanzar el sustrato 0 % de humedad relativa, tiempo de brotación de yemas, mortalidad, altura final del ensayo y biomasa total. La totalidad de datos, medidas y registros fueron anotados en un estadillo para cada bandeja (Figura 13), y posteriormente informatizados en una hoja Excel.

1	44	27	23	41	53	55	16	5
9	74	64	66	43	71	1	20	65
17	60	40	19	13	68	76	59	45
25	8	30	67	70	10	7	6	73
33	58	57	75	62	39	54	18	25
41	14	61	72	56	24	63	69	28

Figura 13. Estadillo de la 'Bandeja 1' para anotar datos, medidas y registros.

El 13 de enero de 2023 se evaluó el peso de cada castaña con una báscula de precisión de tres decimales (Figura 14a). Por motivos de limitación de tiempo, solo se midió la masa de las castañas en las bandejas 1, 2, 3 y 4.

Una vez realizada la siembra, se anotó el día en los que emergieron plántulas de manera visual (Figura 14b), con dos revisiones por semana (lunes y viernes). En cada revisión, se aleatorizan las bandejas de ubicación.

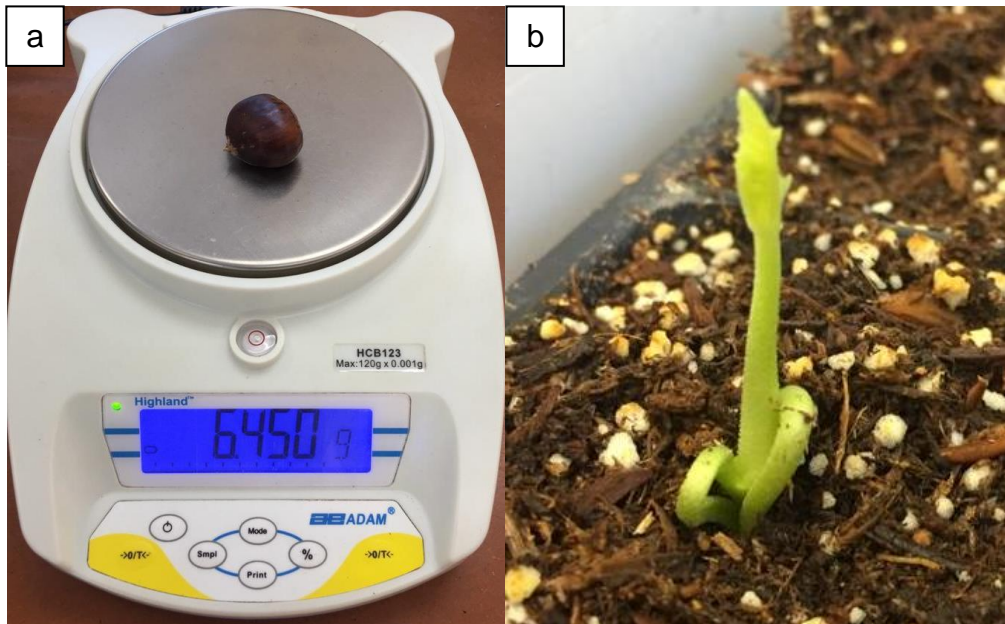


Figura 14. Báscula de precisión de tres decimales para el pesaje de las castañas (a) y emergencia de plántula con diferenciación de las primeras hojas (b).

El día 7 de mayo de 2023 (día previo a los tratamientos) deja de medirse la emergencia aérea, y se evalúa la altura pre-tratamiento de cada planta con una regla (Figura 15a). La altura post-tratamiento y porción apical de tallo seco (Figura 15b) se obtuvieron el 12 de mayo de 2023. A partir de este dato se calculó el puntisecado, expresado en porcentaje, o parte seca del tallo de la planta respecto a la altura total de la misma.

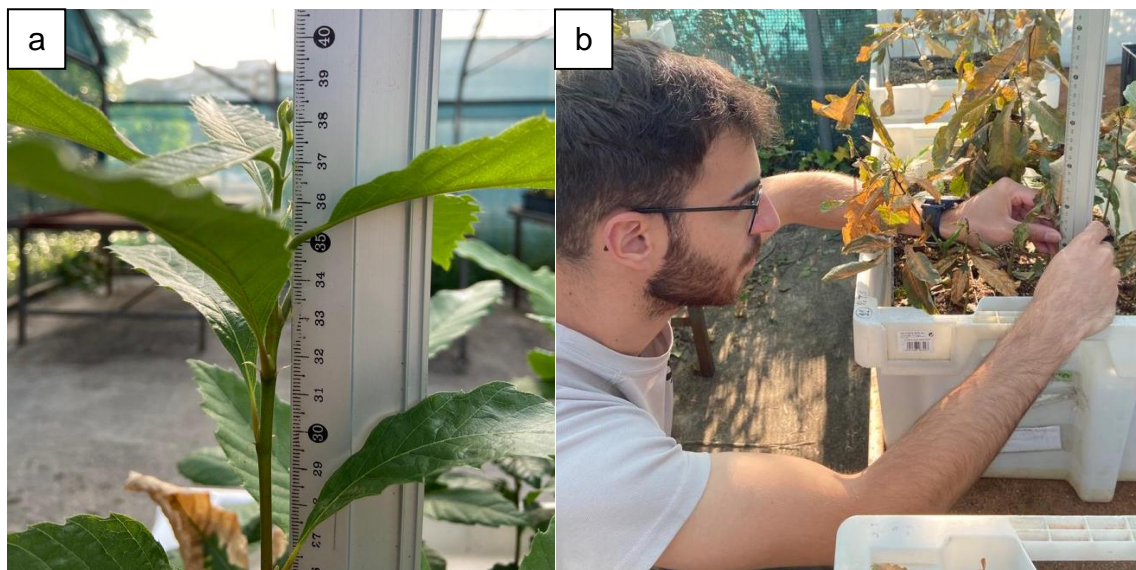


Figura 15. Medición de alturas de las plantas (con regla graduada en el sistema métrico decimal) durante el pre-tratamiento (a) y la porción de tallo seco durante el post-tratamiento (b).

El marchitamiento, expresado en porcentaje de hojas secas, se cuantificó en la totalidad de las plantas y de los tratamientos, a excepción del control. Este parámetro se evaluó diariamente en 5 días consecutivos, del 8 al 12 de mayo de 2023, con especial cuidado en los tratamientos estrés térmico y estrés térmico + hídrico (Figura 16) tras la aplicación de 46 °C durante 6 horas diarias incesantes.



Figura 16. Estado de las plantas durante la cuantificación del marchitamiento tras estrés térmico + hídrico (4 bandejas de la izquierda) y estrés térmico (4 bandejas de la derecha).

En las plantas sometidas a estrés hídrico y estrés térmico + hídrico se anotó el día exacto en el que el sustrato alcanzó 0 % de humedad relativa. Para ello, se empleó diariamente una sonda TDR 100 (Figura 17a) que evaluó la humedad relativa del sustrato en términos volumétricos (Figura 17b y c). A partir de ese momento, se anota el día en que la planta marchita al 100 % (Figura 17d), y se devuelven a condiciones óptimas de temperatura y humedad, en cada caso (Figura 17e y f).



Figura 17. Medición y evaluación de tratamientos que impliquen estrés hídrico: sonda TDR 100 para la medición de humedad relativa del sustrato (a); medición del marchitamiento con la obtención del 0 % de humedad edáfica (b) sin evidencias de marchitamiento (c); marchitamiento completo de la planta (d), y seguida recuperación de la misma (bloque estrés hídrico, e; bloque estrés térmico + hídrico, f).

El día en que se produjo la brotación de yemas (Figura 18a), si es que la hubo, también se anotó. Esta variable, apreciada de modo visual, es una manera de cuantificar resiliencia de planta ante los tratamientos de estrés térmico, estrés hídrico y estrés térmico + hídrico, frente a mortalidad. La mortalidad (Figura 18b) se apreció fácilmente al visualizar la totalidad de la planta con sus tejidos necrosados.

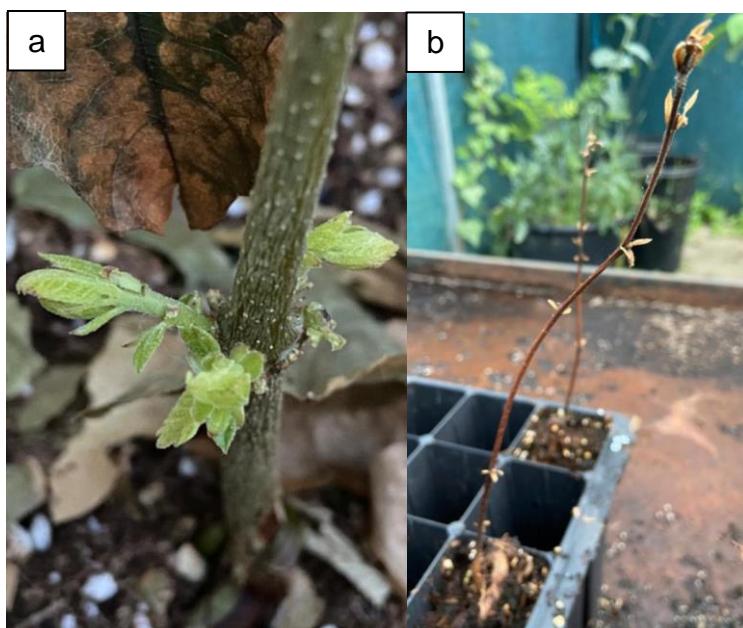


Figura 18. Recuperación y mortalidad de plantas ante los tratamientos: brotación de yemas (a) y mortalidad (b).

El 3-4 de julio de 2023 se levantó el experimento. En aquellas plantas vivas se midió su altura (Figura 19a), y se evaluó la biomasa seca (Figura 19b) en gramos de tallo principal, hojas, raíz principal (diámetro > 2 mm) y raíces secundarias (diámetro < 2 mm). Los tejidos se sometieron previamente a estufa durante 48 horas seguidas (Figura 20a y b), antes de ser pesadas el 7 de julio de 2023 con una balanza de precisión de cuatro decimales. A partir de la suma de valores por tejidos (Figura 20c y d) se obtuvo la biomasa total seca de cada planta.



Figura 19. Levantamiento del experimento y últimas mediciones: altura final de la planta viva (a) y evaluación de biomasa seca de las plantas supervivientes (b).

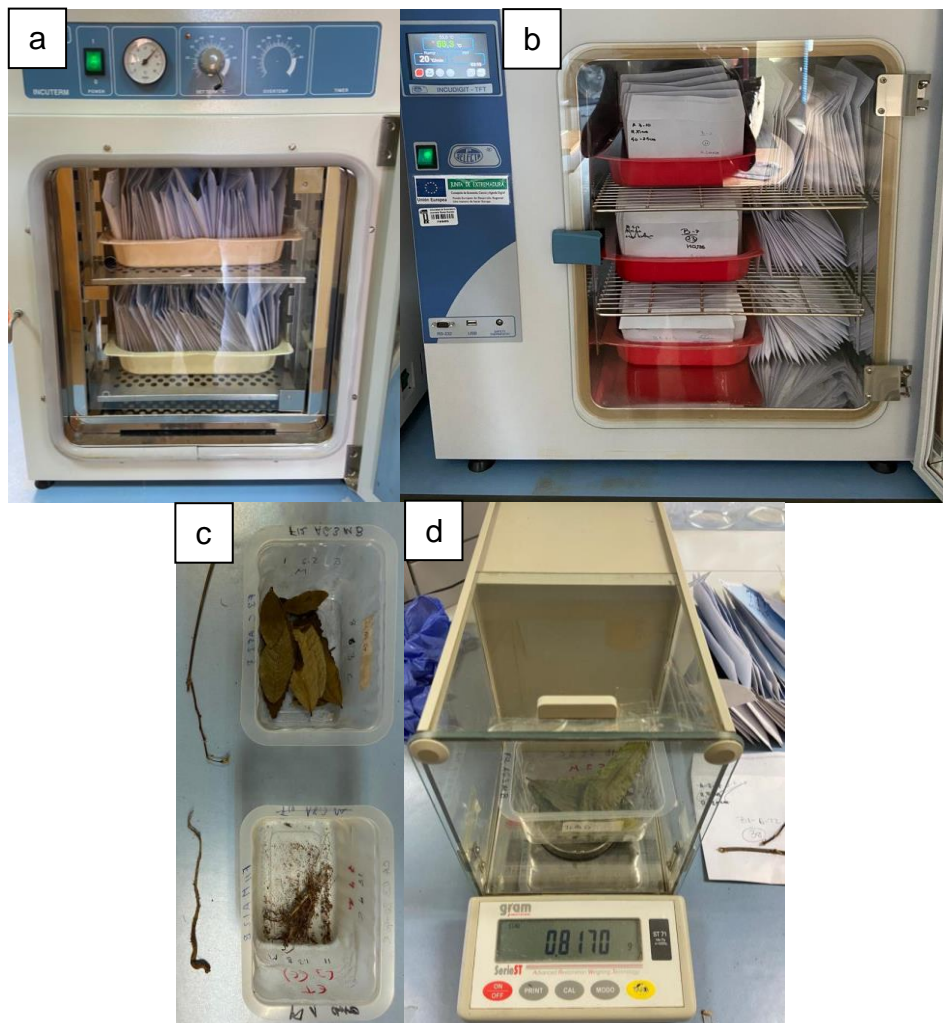


Figura 20. Estufas para secar la biomasa a 55 °C durante 48 horas seguidas (a y b). Evaluación de la biomasa seca: diferenciación de tallo principal, hojas, raíz principal y raíces secundarias (c); y balanza de precisión de cuatro decimales para su pesaje (d).

3.5. Análisis estadístico

Las diferencias en peso de castañas entre poblaciones fueron analizadas mediante el test de Tukey, dado que los datos seguían una distribución normal. La normalidad de los datos se testó mediante la prueba de Shapiro-Wilk, que es adecuada para grupos con $n < 50$ observaciones. En todos los análisis se obvió el efecto del 'árbol madre' dado que los modelos no solían correr por falta de grados de libertad, posiblemente debido al escaso número de réplicas. Por tanto, se apela a las 'poblaciones'.

La emergencia y mortalidad de las plantas (variable binomial de 0 y 1) se evaluó mediante un modelo lineal GLZ. En este modelo la 'población' se anidó al 'país', y estas variables fueron consideradas aleatoria y fija, respectivamente. Se utilizó el 'peso del fruto' como covariable. Para evaluar el tiempo en emerger y la altura de los castaños se utilizaron modelos lineales GLM, donde la 'población' también se anidó al 'país', y el 'peso del fruto' se utilizó como covariable.

El marchitamiento de las plantas ante el estrés térmico se evaluó a partir de GLM de medidas repetidas, donde el 'día' fue la variable dependiente. La 'población' se anidó al 'país', y fueron considerados efectos aleatorio y fijo, respectivamente. El 'peso del fruto', el 'tiempo en emerger' y la 'altura pre-tratamiento' se utilizaron como covariables. Se consideraron las interacciones día x país y día x población.

Para los datos de puntisechado del tallo, tiempo en rebrotar, incremento en altura (altura final – altura pre-tratamiento), tiempo en alcanzar humedad del 0 %, tiempo en marchitar, tiempo en rebrotar y biomasa (variables independientes), se utilizaron GLM mixtos similares a los descritos arriba. La 'población' siempre se anidó al 'país', que fueron considerados efectos aleatorio y fijo, respectivamente. Se utilizaron como covariables los parámetros de interés que iban surgiendo a lo largo del experimento. Si alguna covariable resultó significativa se procedió a relacionarla con la variable dependiente mediante una correlación de mínimos cuadrados. La validez de la relación se indicó mediante la r de Pearson y su significación. Valores de $p < 0,05$ se consideraron significativos. Todos los análisis se hicieron con Statistica v.12 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Emergencia y desarrollo de castañas de cuatro poblaciones de Extremadura y dos poblaciones del sur de Italia

Los pesos medios de las castañas de Extremadura y del sur de Italia fueron $8,3 \pm 0,22$ y $6,4 \pm 0,24$, respectivamente ($n=297$). Los dos valores difirieron significativamente entre sí según el test de Tukey ($p < 0,001$). Las castañas de mayor y menor peso fueron las de Guadalupe y Valle de Matamoros, respectivamente (Figura 21). El peso del fruto de cada población fue homogéneo entre bandejas. Por tanto, el efecto 'bandeja' en el peso de los frutos no fue significativo ($p > 0,05$).

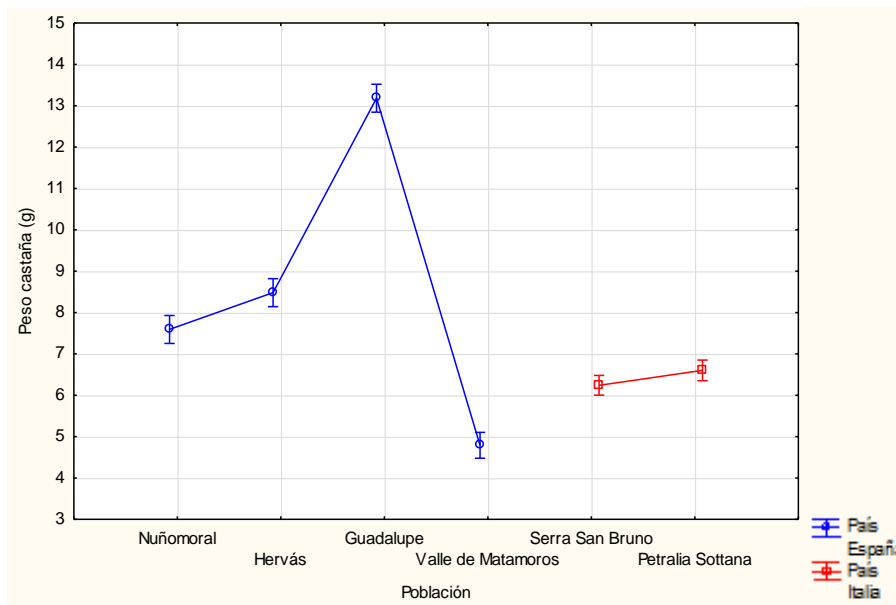


Figura 21. Pesos de castaña según poblaciones. Las barras verticales indican errores estándar y letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

La emergencia (proxy de germinación) de castañas de Extremadura vs sur de Italia fue del 54,1 vs 7,9 %, respectivamente ($n \sim 800$). Según un modelo lineal y un test de Tukey, la emergencia de castañas del sur de Italia fue significativamente menor a la emergencia de castaña de Extremadura ($p < 0,001$) (Tabla 2). La emergencia no se vio influida por la bandeja, pero sí por el peso del fruto (Tabla 2). En poblaciones de Extremadura, Calabria y Sicilia frutos de mayor peso germinaron más que frutos de menor peso (valores r de Pearson de 0,26, 0,48 y 0,34, respectivamente; siempre $p < 0,05$). Las castañas de Nuñomoral fueron las que mayor emergencia mostraron, cercana al 100 % (Figura 22a).

El tiempo en emerger y las alturas de las plantas a fecha de 7 de mayo de 2023, antes de los tratamientos, fueron similar entre países, pero distinto entre las poblaciones de cada país, al menos en Extremadura (Tabla 2, Figura 22b y c). El peso del fruto influyó significativamente positivamente en los días en los que tardó el fruto en emerger (valores r de Pearson para poblaciones de Extremadura, Calabria y Sicilia de 0,24, 0,40 y 0,26, respectivamente; siempre $p < 0,05$), pero no en la altura de las plantas (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados de analizar la emergencia, tiempo en emerger y altura de castaños, a partir de modelos lineales, uno por variable. La ‘población’ se anidó al ‘país’, que fueron considerados efectos aleatorio y fijo, respectivamente. Valores p en negrita fueron significativos.

Variable	Efecto	Grados de libertad	F ratio / Wald stat	Valor p
Emergencia (%)	País	1	9,3	0,039
	Población [País]	4	10,9	<0,001
	Peso del fruto (covariable)	1	36,4	<0,001
Tiempo en emerger (días)	País	1	4,5	0,104
	Población [País]	4	7,4	<0,001
	Peso del fruto (covariable)	1	24,3	<0,001
Altura (cm)	País	1	0,1	0,777
	Población [País]	4	7,0	<0,001
	Peso del fruto (covariable)	1	2,2	0,144
	Tiempo en emerger (covariable)	1	0,3	0,556

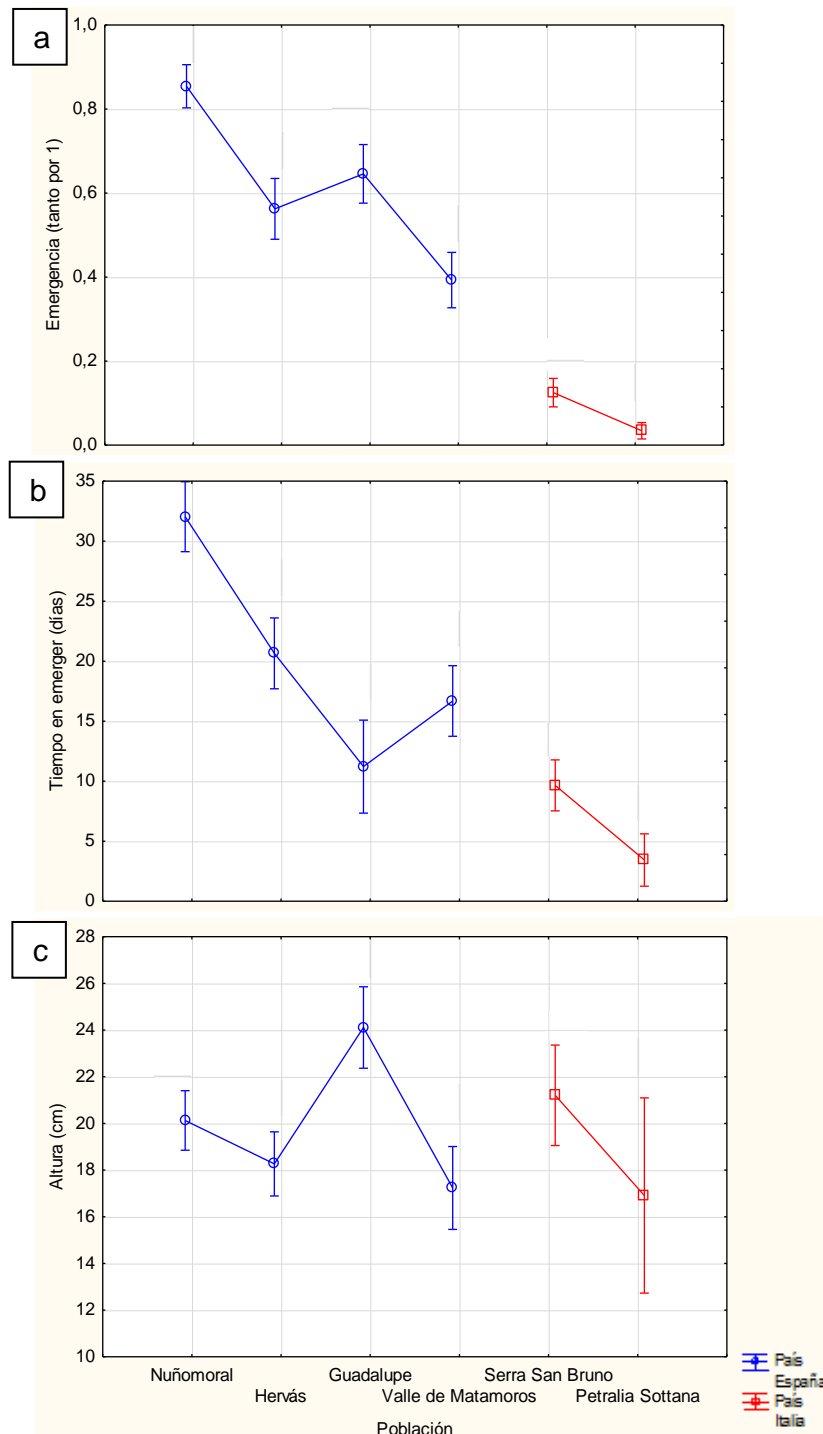


Figura 22. Emergencia expresada en tanto por uno (a), tiempo en emerger reflejado en días (b) y altura antes de tratamientos expresada en cm (c) de plantas según poblaciones. Las barras verticales indican errores estándar y letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

A 7 de mayo de 2023, se dispuso de 360 castaños para evaluar el estrés térmico e hídrico: 89 plantas de Guadalupe, 64 de Hervás, 97 de Nuñomoral, 59 de Valle de Matamoros, 44 de Serra San Bruno y 7 de Petralia Sottana.

4.2. Estrés térmico en brinzales de seis poblaciones de castaño

El marchitamiento de las plantas incrementó según los días de exposición al calor ($p = 0,005$ en Tabla 3) y fue significativamente mayor en las plantas de mayor altura ($p = 0,034$ en Tabla 3), pero no varió ni entre países ni poblaciones. No obstante, el marchitamiento al estrés térmico fue sustancialmente menor (aunque no de forma significativa) en las plantas de ‘Valle de Matamoros’ y ‘Petralia Sotana’ (Figura 23).

Tabla 3. Resultados de analizar el marchitamiento a estrés térmico, durante 5 días sin carencia de riego, a partir de GLM de medidas repetidas. La ‘población’ se anidó al ‘país’, que fueron considerados efectos aleatorio y fijo, respectivamente. Valores p en **negrita** fueron significativos.

Efecto	Grados de libertad	F ratio / Wald stat	Valor p
País	1	0,0	0,940
Población [País]	4	1,0	0,452
Peso castaña (g)	1	0,0	1,000
Tiempo en emerger (días)	1	1,6	0,222
Altura (cm)	1	5,4	0,034
Día	4	4,2	0,005
Día x País	4	0,1	0,985
Día x Población [País]	16	0,4	0,980

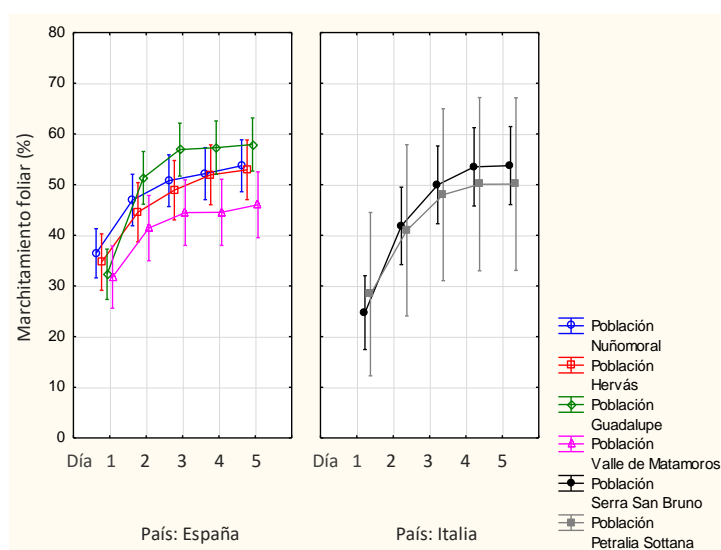


Figura 23. Evolución del marchitamiento en días de exposición a estrés térmico (cámara climática a 46 °C durante 6 h diarias continuadas, sin carencia de riego) de brinzales de castaño de diferentes países y poblaciones.

Los tallos se secaron de arriba-abajo a medida que pasaron los días. El puntisecado al día 5, expresado en proporción de tallo seco respecto a la altura total de las plantas, fue indiferente según el país, y marginalmente significativo según la población de los castaños ($p = 0,085$; Figura 24).

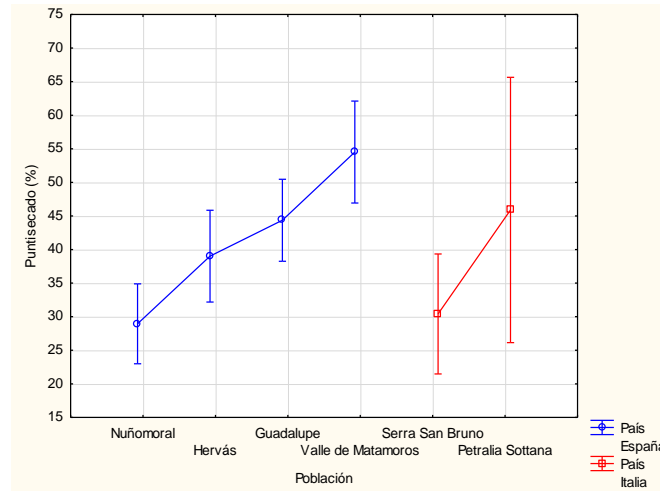


Figura 24. Puntisecado del tallo de brinzales de castaño de diferentes países y poblaciones tras su exposición a estrés térmico (cámara climática a 46 °C durante 6 h diarias continuadas) sin carencia de riego.

Tras el puntisecado evaluado el 12 de mayo de 2023, las plantas tardaron entre dos y diez días en rebrotar, sin que se observaran diferencias de tiempo entre la brotación de poblaciones y países (Figura 25). El momento del rebrote resultó indiferente al porcentaje de defoliación de las plantas. No obstante, resultó interesante observar que las plantas que antes rebrotaron fueron las que más se puntisecaron (valor r de Pearson de - 0,31, $p < 0,05$).

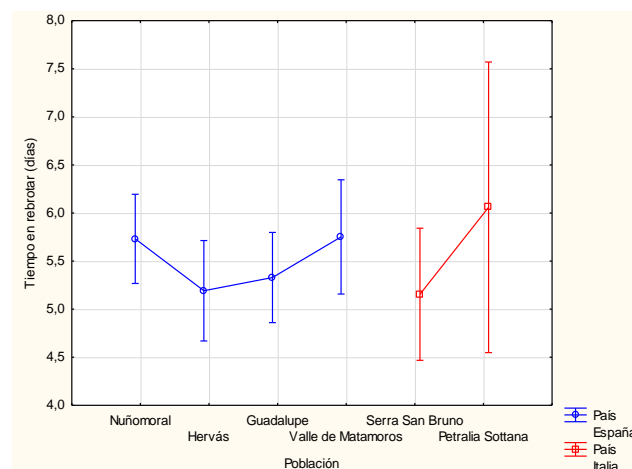


Figura 25. Tiempo de brotación de yemas de castaños tras el último día de exposición a estrés térmico (cámara a 46 °C durante 6 h diarias continuadas), sin carencia de riego.

Al final del experimento, las plantas que menos acusaron el estrés térmico en su incremento en altura fueron las de Valle de Matamoros y Petralia Sottana (Figura 26). Plantas de estas tres poblaciones tuvieron un crecimiento algo mayor (marginamente significativo, $p = 0,079$ en Tabla 4) que las plantas de Hervás, Guadalupe y Pretralia Sottana (Figura 26). El peso de la castaña, el marchitamiento a los 5 días de iniciarse el estrés y el tiempo en rebrotar influyeron significativamente en el incremento en altura (Tabla 4), de modo que las plantas a partir de castañas de mayor peso, las plantas más marchitas, y las que tardaron más en rebrotar, tuvieron un menor incremento en altura (valores r de Pearson de - 0,32, - 0,44 y - 0,22, respectivamente; siempre $p < 0,05$). En otras palabras, sufrieron en mayor medida el efecto del calor.

Tabla 4. Resultados de analizar el incremento en altura (altura final – altura previa al estrés térmico) de brinzales de castaño, a partir de un GLM mixto. La ‘población’ se anidó al ‘país’, que fueron considerados efectos aleatorio y fijo, respectivamente. Valores p en negrita fueron significativos.

Efecto	Grados de libertad	F ratio / Wald stat	Valor p
País	1	0,3	0,590
Población [País]	4	2,5	0,079
Peso castaña (g)	1	5,0	0,045
Tiempo en emerger (días)	1	2,6	0,132
Altura (cm)	1	1,0	0,330
Marchitamiento día 5 tras estrés (%)	1	7,7	0,017
Puntisecado (%)	1	1,5	0,251
Tiempo en rebrotar (días)	1	6,3	0,027

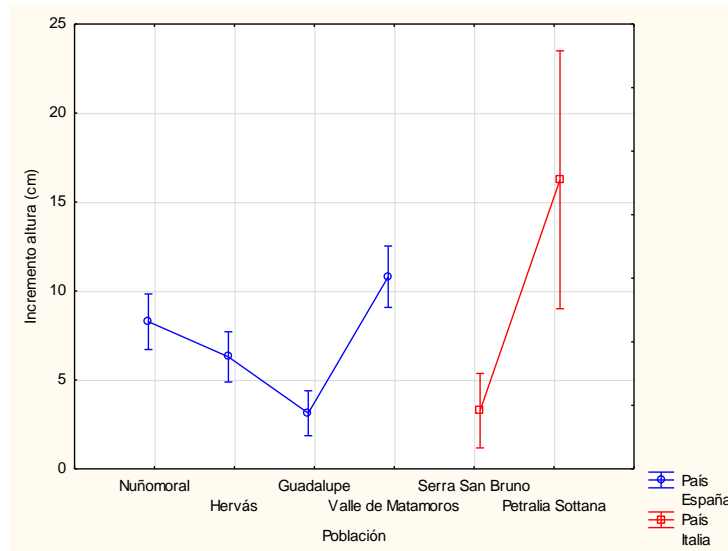


Figura 26. Incremento en altura (altura final – altura previa al tratamiento) de brinzales de castaño tras estrés térmico sin carencia de riego.

Ninguna planta murió por el tratamiento de estrés térmico. Los efectos del calor en la biomasa de las plantas, respecto a las plantas control, se representan en la Figura 27. Plantas de Nuñomoral, Hervás y Petralia Sottana acusaron la mayor reducción de la biomasa total debido al calor (Figura 27). Las plantas de Valle de Matamoros crecieron de media 1,5 cm respecto a las plantas control.

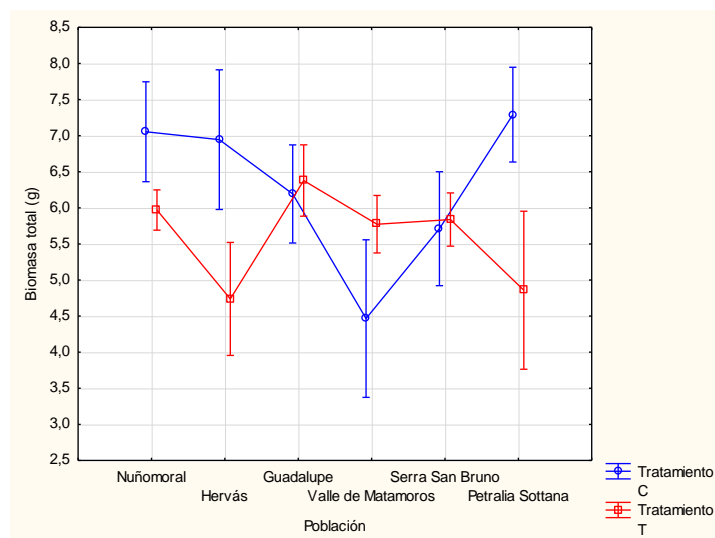


Figura 27. Biomasa total de plantas de castaño sometidas a estrés térmico vs control.

4.3. Estrés hídrico en brinzales de seis poblaciones de castaño

Los castaños de origen Extremadura y sur de Italia tardaron de media $13,2 \pm 0,8$ y $7,2 \pm 1,3$ días (media \pm error estándar) en llegar a 0 % de humedad en su sustrato (valor volumétrico), respectivamente. Ambos valores fueron distintos significativamente entre sí (test de Tukey, $p = 0,033$). No se apreciaron diferencias entre poblaciones de Extremadura y sí entre poblaciones de Italia, siendo la población de Serra San Bruno la que antes llegó a secar el sustrato ($p < 0,05$; Figura 28a). Las plantas de mayor altura secaron antes el sustrato que las plantas de menor altura (coeficiente de Pearson $r = - 0,55$, $p < 0,05$).

Una vez alcanzado el 0 % de humedad, los castaños de origen Extremadura y sur de Italia tardaron $7,6 \pm 0,5$ y $7,3 \pm 1,1$ días (media \pm error estándar) en llegar al 100 % de marchitamiento, respectivamente. Ambos valores fueron iguales significativamente entre sí (test de Tukey, $p > 0,05$). No se apreciaron diferencias en el tiempo en que los castaños de las diferentes poblaciones tardaron en marchitarse ($p > 0,05$; Figura 28b). Las plantas de mayor altura y las que más tarde lograron secar el sustrato (0 % de humedad relativa en volumen) fueron las que antes alcanzaron el pleno marchitamiento (coeficientes r de Pearson de $- 0,19$ y $- 0,27$, respectivamente, $p < 0,05$).

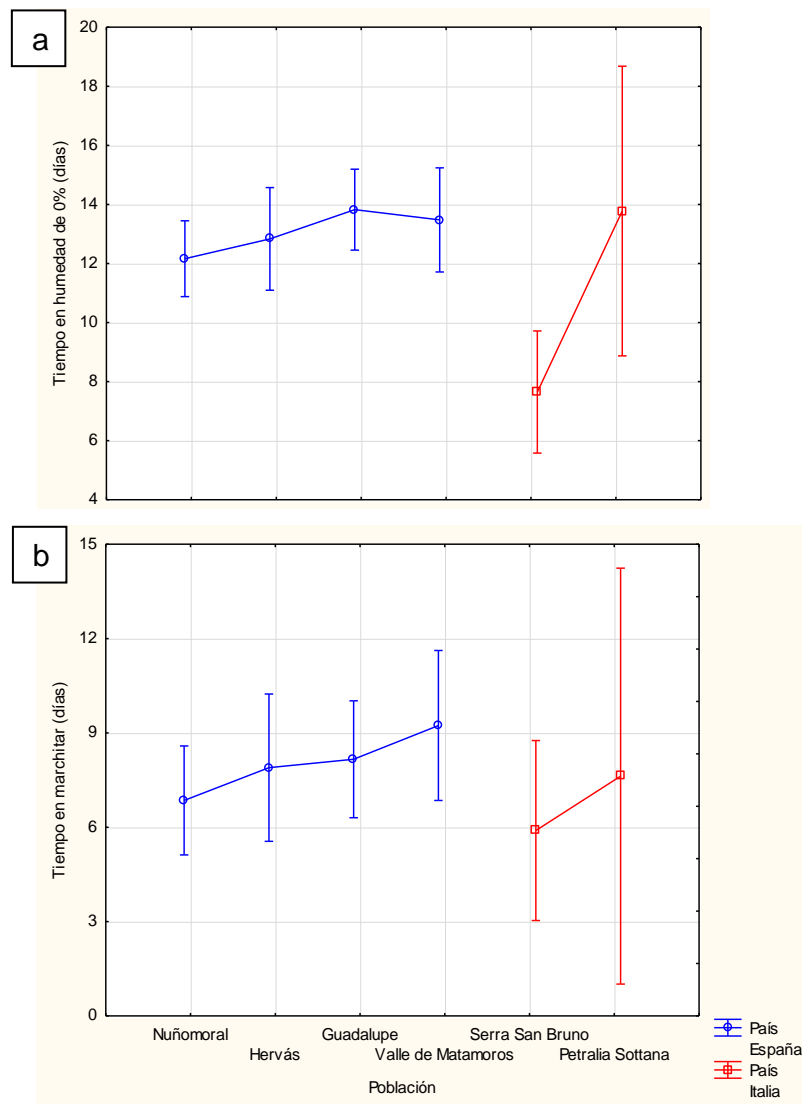


Figura 28. Tiempo (días) necesario para alcanzar la turba del alvéolo 0 % de humedad relativa (en términos volumétricos) tras la interrupción de riego (a) y tiempo (días) necesario para mostrar la planta pleno marchitamiento tras alcanzar la turba del alvéolo 0 % de humedad relativa (b).

Tras llegar al pleno marchitamiento las plantas fueron regadas individualmente, pero la mayoría no brotaron. La mortalidad de castaños de origen Extremadura y sur de Italia tras el pleno marchitamiento fue de 78 y 94 %, respectivamente. Ambos valores fueron distintos significativamente entre sí según un test LSD aplicado a partir de un modelo GLZ binomial ($p = 0,037$). Las poblaciones de Hervás y de Valle de Matamoros son las que menor mortalidad mostraron ($p < 0,05$; Figura 29a). Entre las plantas que sobrevivieron, las que tardaron menos tiempo en rebrotar fueron las de Valle de Matamoros ($p = 0,014$; Figura 29b).

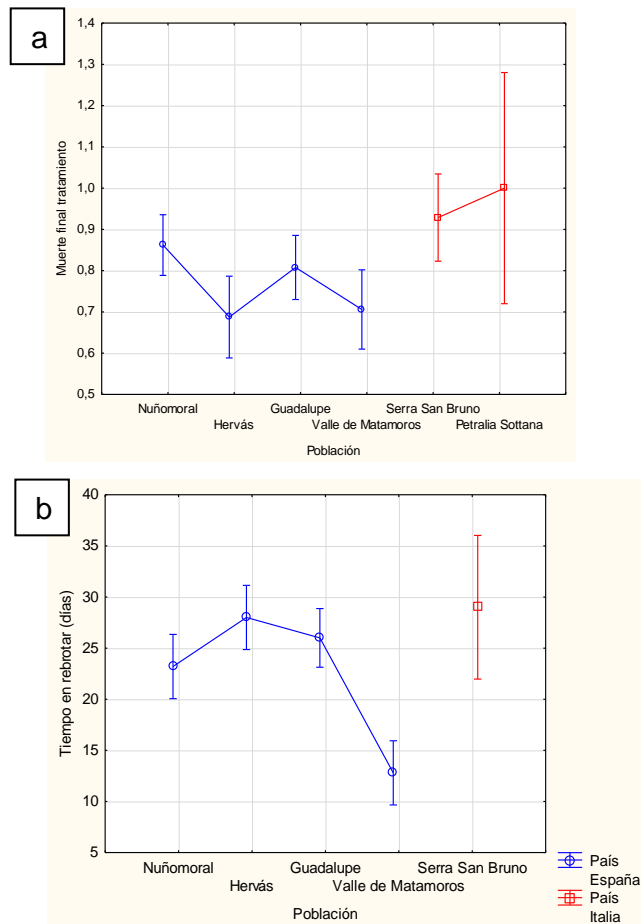


Figura 29. Porcentajes de mortalidad (a) y tiempo en rebrotar (b) de castaños sometidos a estrés hídrico severo (0 % de humedad en sustrato y posterior marchitamiento).

Los efectos del estrés hídrico en la biomasa de las plantas, respecto a las plantas control, se representan en la Figura 30. Plantas de Valle de Matamoros acusaron la menor reducción de la biomasa total debido al estrés hídrico severo (Figura 30).

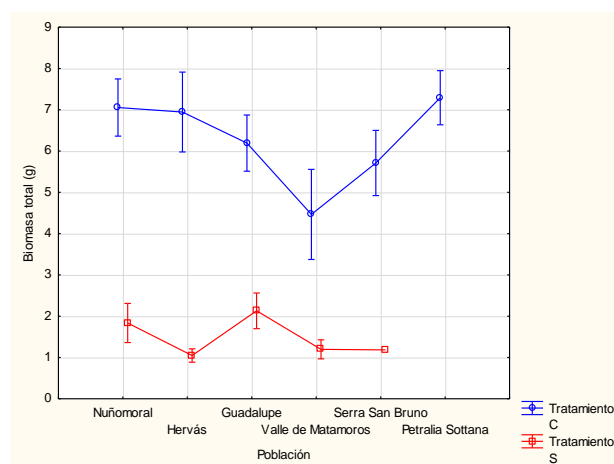


Figura 30. Biomasa total de plantas supervivientes de castaño sometidas a estrés hídrico severo vs control.

4.4. Estrés térmico seguido de estrés hídrico en brinzales de seis poblaciones de castaño

El marchitamiento de las plantas incrementó según los días de exposición ($p < 0,001$ en Tabla 5) y fue significativamente mayor en las plantas emergidas antes y de mayor altura ($p = 0,022$ y $p < 0,001$ en Tabla 5, respectivamente). El marchitamiento de las plantas no varió entre países, pero sí entre poblaciones de Extremadura. A los días 3, 4 y 5 del inicio del estrés, el marchitamiento fue significativamente menor en las plantas de origen 'Valle de Matamoros' que en las plantas de origen 'Nuñomoral' (Figura 31). El marchitamiento generado por el tratamiento estrés térmico seguido de estrés hídrico fue significativamente superior al marchitamiento generado por el estrés térmico (efecto tratamiento con $p < 0,001$), y fue especialmente diferente al día 5 (efecto día x tratamiento con $p < 0,001$; Figura 32).

Tabla 5. Resultados de analizar el marchitamiento, a estrés térmico, durante 5 días con carencia de riego, a partir de GLM de medidas repetidas. La 'población' se anidó al 'país', que fueron considerados efectos aleatorio y fijo, respectivamente. Valores p en negrita fueron significativos.

Efecto	Grados de libertad	F ratio / Wald stat	Valor p
País	1	0,4	0,537
Población [País]	4	5,1	0,023
Peso castaña (g)	1	0,1	0,808
Tiempo en emerger (días)	1	5,5	0,022
Altura (cm)	1	34,5	<0,001
Día	4	12,2	<0,001
Día x País	4	1,5	0,197
Día x Población [País]	16	2,7	<0,001

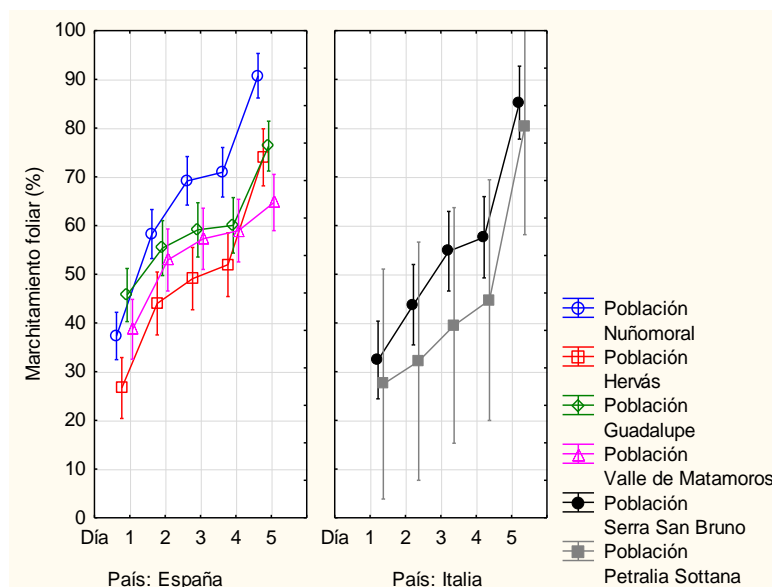


Figura 31. Evolución del marchitamiento en días de exposición a estrés térmico e hídrico (cámara climática a 46 °C durante 6 h diarias continuadas, con carencia de riego) de brinzales de castaño de diferentes países y poblaciones.

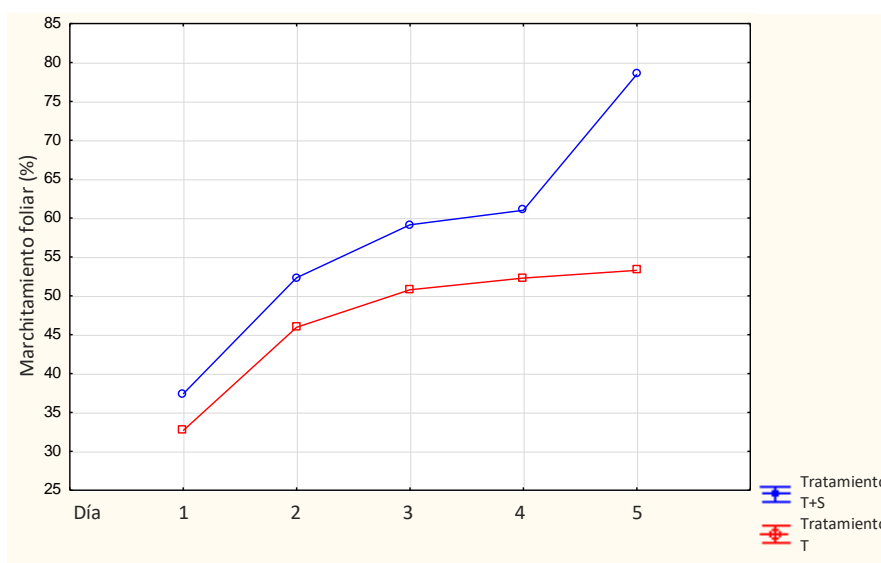


Figura 32. Evolución del marchitamiento en días de exposición a estrés térmico (en rojo) y a estrés térmico e hídrico (en azul) de brinzales de castaño.

El puntisecado al día 5, expresado en proporción de tallo seco respecto a la altura total de las plantas, fue dependiente del tiempo de las plantas en emerger ($p = 0,049$), pero indiferente según el país ($p = 0,630$) y población ($p = 0,068$) de los castaños (Figura 33). El puntisecado generado por el tratamiento estrés térmico seguido de estrés hídrico no fue superior al puntisecado generado por el estrés térmico.

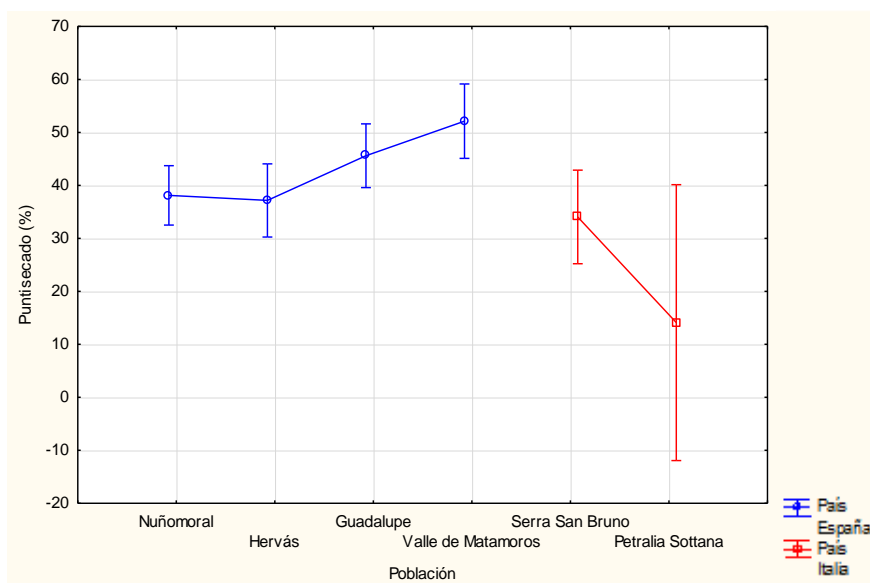


Figura 33. Puntisecado del tallo de brinzales de castaño de diferentes países y poblaciones tras su exposición a estrés térmico (cámara climática a 46 °C durante 6 h diarias continuadas) con carencia de riego.

Los castaños de origen Extremadura y sur de Italia tardaron de media $17,9 \pm 0,9$ y $15,1 \pm 3,0$ días (media \pm error estándar) en llegar a 0 % de humedad en su sustrato (valor volumétrico), respectivamente. Ambos valores fueron iguales significativamente entre sí (test de Tukey, $p = 0,373$). No se apreciaron diferencias entre poblaciones (Figura 34a). Las plantas de mayor marchitamiento (día 5) secaron antes el sustrato que las plantas de menor marchitamiento (coeficiente de Pearson $r = -0,50$, $p < 0,05$).

Una vez alcanzado el 0 % de humedad, los castaños de origen Extremadura y sur de Italia tardaron $3,7 \pm 0,6$ y $4,1 \pm 1,7$ días (media \pm error estándar) en llegar al 100 % de marchitamiento, respectivamente. Ambos valores fueron iguales significativamente entre sí (test de Tukey, $p > 0,05$). No se apreciaron diferencias en el tiempo en que los castaños de las diferentes poblaciones tardaron en marchitarse ($p > 0,05$; Figura 34b).

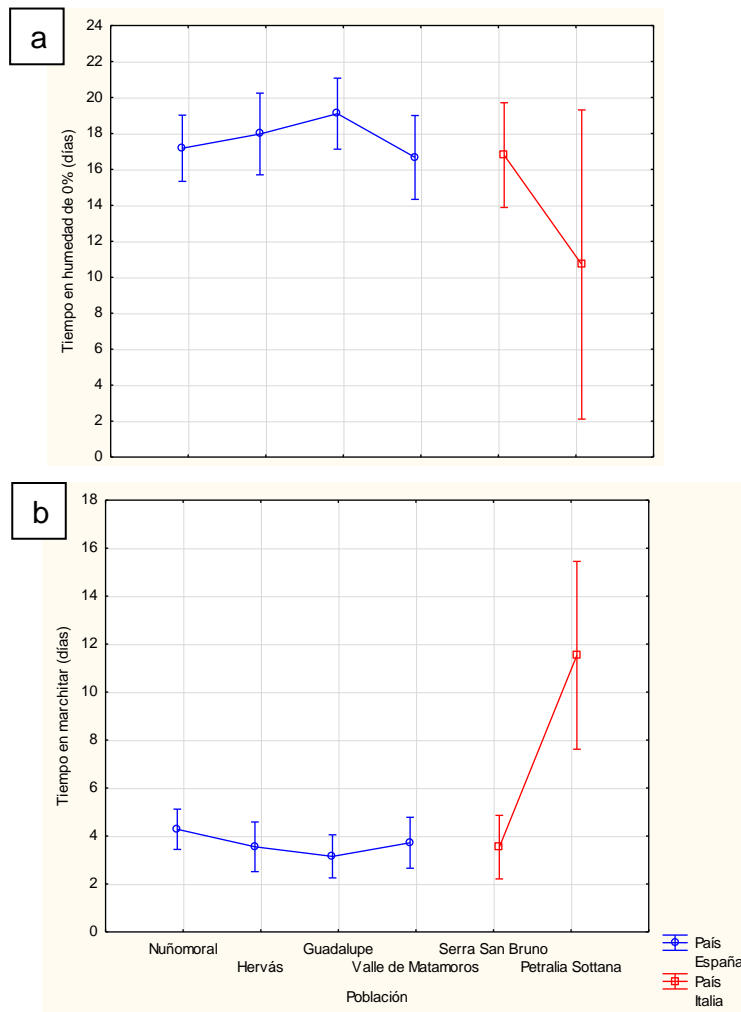


Figura 34. Tiempo (días) necesario para alcanzar la turba del alvéolo 0 % de humedad relativa (en términos volumétricos) tras estrés térmico e interrupción de riego (**a**) y tiempo (días) necesario para mostrar la planta pleno marchitamiento tras alcanzar la turba del alvéolo 0 % de humedad relativa (**b**).

La mortalidad de castaños de origen Extremadura y sur de Italia tras el pleno marchitamiento fue de 44 y 40 %, respectivamente. Ambos valores fueron idénticos significativamente entre sí según un test LSD aplicado a partir de un modelo GLZ binomial ($p = 0,267$). Las poblaciones Serra San Bruno y Valle de Matamoros mostraron menor mortalidad que las plantas de Petralia Sottana, con valores respectivos de 33, 35 y 100 % ($p < 0,05$; Figura 35a). Entre las que sobrevivieron, las plantas que tardaron menos tiempo en rebrotar fueron las de Valle de Matamoros ($p = 0,002$; Figura 35b).

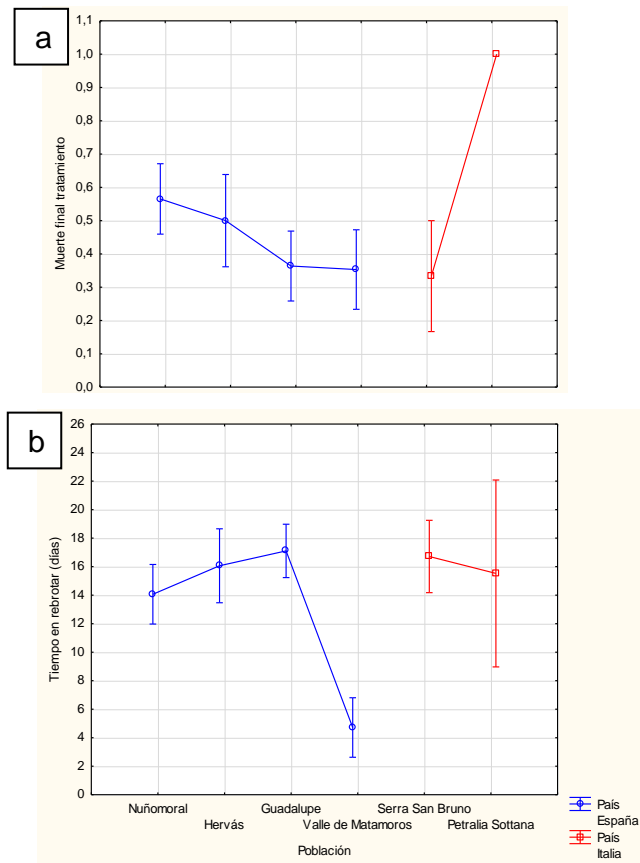


Figura 35. Porcentajes de mortalidad (a) y tiempo en rebrotar (b) de castaños sometidos a estrés hídrico severo (0 % de humedad en sustrato y posterior marchitamiento).

Los efectos de los cuatro tratamientos según las poblaciones se representan en la Figura 36. Al igual que lo observado en 4.2 (estrés térmico) y 4.3 (estrés hídrico), ante estrés térmico seguido de estrés hídrico las plantas de Valle de Matamoros acusaron la menor reducción de la biomasa total respecto a las plantas control (Figura 36).

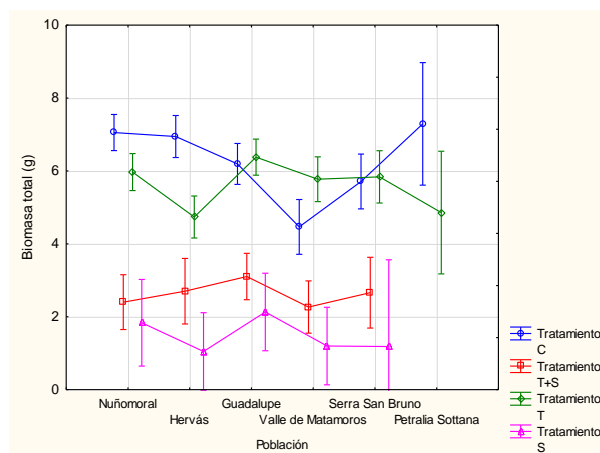


Figura 36. Biomasa total de plantas supervivientes de castaño sometidas a cuatro tratamientos.

DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

5.1. Emergencia y desarrollo de castaños de cuatro poblaciones de Extremadura y dos poblaciones del sur de Italia

Las procedencias mostraron diferencias significativas en cuanto al peso de la castaña, tasa de emergencia, tiempo en emerger y altura de las plantas. Esto es explicable por la diferente calidad del fruto, por las condiciones particulares de clima de origen y por la diferente adaptación de las poblaciones al clima de origen por selección natural.

Vargas et al. (2003) reportaron con su estudio de poblaciones silvestres de *Phaseolus lunatus* que las diferencias de clima, procedencia y árbol madre presentan un efecto importante sobre el peso de las semillas. Las castañas fueron significativamente superiores en peso en Extremadura que en el sur de Italia. Tal vez durante el transporte y manipulación se secaron. En Extremadura, donde la recogida y manipulación fue más cuidadosa, las castañas de mayor peso fueron originarias de la población de Guadalupe. Guadalupe es, junto al Jerte, la zona más apta para el cultivo del castaño; lo cual indica la importancia de los factores climáticos en los resultados del estudio. En 2002, Dalling aseguró que el tamaño del fruto de diversas especies varió según las condiciones ambientales de origen. Las semillas con mayor endospermo pueden mostrar un desarrollo radicular superior a fin de aumentar su capacidad de exploración, profundizando en la búsqueda de recursos hídricos del suelo (Corcobado, 2013). De este modo, el crecimiento de las plantas según poblaciones estuvo asociado a las castañas más pesadas (mayor tejido embrionario), puesto que las plántulas más desarrolladas disponen de un mayor reservorio que las pequeñas (Pérez et al., 2006; Vargas et al., 2003).

Huerta-Paniagua y Rodríguez-Trejo (2011) reportaron que las semillas de mayor peso tuvieron un mayor porcentaje de emergencia, y este efecto se observó aquí en castaño a nivel poblacional. A nivel de país, la emergencia de castañas del sur de Italia fue menor respecto a Extremadura, y estuvo condicionada por el peso del fruto. Las castañas de Nuñomoral emergieron prácticamente todas, tal vez por los factores ambientales favorables de esa zona (Matilla, 2008).

El ensayo denotó que el tiempo en emerger y las alturas de las plantas fueron similares entre países (no significativo), pero distintos entre las poblaciones de cada país (significativo). Ello denota variabilidad. El peso del fruto influyó significativa y positivamente en los días en los que tardó el fruto en emerger (a mayor peso, menor tiempo para emerger), pero no en la altura de las plantas. A diferencia de este ensayo, Muñoz y Vega (2020) señalan que las semillas de mayor peso necesitan más tiempo para emerger, pero generan plantas de mayor altura.

Por un lado, el presente estudio junto a Zammit y Zedler (1990) corroboran que las semillas pesadas tardan menos tiempo en emerger, presentando ventajas competitivas sobre las pequeñas (Stamp, 1990). En contraposición, Stamp (1990) asienta que las semillas pequeñas tienden a germinar antes debido a la mayor disponibilidad hídrica a través de la relación superficie/volumen.

Por otro lado, la menor altura consecuente del menor peso del fruto (Moegenburg, 1996) no ha sido realmente significativo en el ensayo. Aun así, la población de Valle de Matamoros presenta el menor peso medio de castañas y menor altura media de las plantas. El estudio de Moegenburg (1996) en *Sabal palmetto* acusa la correlación positiva entre el peso de la semilla y tamaño inicial de la planta. Por consiguiente, el estudio anterior enlaza la citada correlación positiva con la supervivencia de las plantas y su respectivo vigor, de acuerdo con Leishman et al. (2000). Es posible que la variable de la altura se vea alterada por la plasticidad fenotípica de la planta, dependiente de la capacidad genotípica y adaptativa de las poblaciones a los cambios ambientales (Boyd et al., 2022), asunto que se va a abordar a continuación.

5.2. Estrés térmico en brinzales de seis poblaciones de castaño

Es necesario resaltar la poca probabilidad actual de sufrir 5 días consecutivos temperaturas de 46°C durante 6 horas diarias incesantes, con aporte hídrico. Ello podría ocurrir en zonas muy húmedas o en huertos irrigados. Los 46°C no se alcanzan en sombra, pero en sol sí se llega, incluso más. Desde una perspectiva futura, podrían darse las condiciones de este tratamiento en zonas de hábitat húmedo o con riego. Un período de altas temperaturas prolongadas sí que podría darse en época estival, tal y como ha ocurrido este verano en cuatro ocasiones.

Resalta que el tratamiento de estrés térmico mostrara escasa repercusión nociva entre las diferentes plantas de castaño utilizadas. Wahid et al. (2007) señalan efectos de estrés por calor como quemaduras en hojas y ramas, senescencia y abscisión de hojas e inhibición del crecimiento de raíces y brotes. Los parámetros fueron diferentes y crecientes entre el primer y quinto días, similar a los resultados de Dorado et al. (2023). Esta evidencia encaja con la hipótesis de Dorado et al. (2023) de que las plantas de castaño tienen una elevada la adaptación a temperaturas elevadas. Es de resaltar que aquí no se han utilizado poblaciones del norte de España ni del norte de Italia, que probablemente hubieran mostrado mayor sensibilidad a la exposición prolongada de calor.

En términos generales, el estrés térmico provoca cambios en los compuestos del metabolismo primario y secundario del castaño (Dorado et al., 2023). A nivel fenotípico, el tratamiento de calor fue menos perjudicial para las poblaciones de Valle de Matamoros y Petralia Sottana que en el resto de las poblaciones. El marchitamiento fue dependiente de la altura de las plantas y los días de exposición, de modo que ambos parámetros fueron significativamente influyentes. Los días de exposición al calor severo permiten el marchitamiento acumulativo (como se esperaba), debido al incremento de la respiración y vaciado de reservas de la planta ante la temperatura (Atkin & Tjoelker, 2003; Dorado et al., 2023). El menor daño en las plantas de menor altura se explica por su menor demanda transpirativa (Dorado et al., 2023; Gomes-Laranjo et al., 2012). Otra hipótesis es la mayor acumulación de calor en la zona alta de la

cámara climática, lo que beneficiaría a las plantas de menor altura, claro que la fuente de calor en nuestra cámara proviene de abajo.

Muy relevante resultó que, aunque sin ser significativo el efecto 'población', los valores extremos de marchitamiento (menor), puntisecado (mayor) e incremento en altura (mayor) se dieron en plantas de Valle de Matamoros. De hecho, las plantas menos afectadas por el tratamiento calor fueron de Valle de Matamoros. Resulta que es en esa zona donde se alcanza una mayor temperatura media y se recibe menor pluviometría anual. Además, los castaños de Valle de Matamoros reciben las olas de calor estivales con mayor temperatura (Figura 11), por lo que esta singularidad ambiental explica la mayor adaptación al estrés térmico en semillas provenientes de esa población. Entre las dos poblaciones italianas, los castaños de la procedencia ubicada más al sur mostraron una tendencia similar a la de Valle de Matamoros.

Respecto al puntisecado evaluado en el tratamiento de calor, se esperaba que esta variable fuera directamente proporcional a la altura de las plantas. Las plantas más altas presentan una mayor demanda transpirativa (Dorado et al., 2023; Gomes-Laranjo et al., 2012), y es de esperar que se sequen más. Aquí no ocurrió exactamente así, y hubo mayor puntisecado en las poblaciones de origen más cálido, de modo que la proporción de tallo seco fue indiferente según el país, pero marginalmente significativo según la población de los castaños, destacando Valle de Matamoros y Petralia Sottana. Por tanto, esta medida resultó útil para detectar las plantas más tolerantes, y esta respuesta se identifica por primera vez como un indicador fenotípico de tolerancia al calor.

La brotación de yemas de castaño tras el estrés térmico evidencia recuperación de las plantas tal y como reportaron Dorado et al. (2023) en castaño y lo observado en otras especies forestales (Correia et al., 2018; Escandón et al., 2016). El tiempo en rebrotar (comprendido entre 2 y 10 días) no marcó diferencias de tiempo significativas entre países y poblaciones. No obstante, las plantas que antes rebrotaron fueron las que acusaron mayor puntisecado. Al igual que el puntisecado, la brotación de yemas resaltó de nevo en Valle de Matamoros y Petralia Sottana, donde fue menor en tiempo.

El tratamiento de estrés térmico no causó mortalidad, al igual que en el estudio realizado por Dorado et al. (2023), pero sí reducción de altura y de biomasa respecto a las plantas control. Las plantas que destacaron por su incremento en altura, a pesar del tratamiento pertenecieron a Petralia Sottana, Valle de Matamoros y Nuñomoral. En cuanto a biomasa total, las plantas de las poblaciones de Valle de Matamoros fueron las únicas que mostraron incremento de biomasa respecto a las control, un 30% aproximadamente. De las poblaciones estudiadas, destacan por su tolerancia las plantas de Valle de Matamoros; por consiguiente, es la población más resiliente ante estrés térmico, superior incluso a la ubicada más al sur de Italia.

5.3. Estrés hídrico en brinzales de seis poblaciones de castaño

El estrés hídrico no arrojó diferencias entre el marchitamiento de las poblaciones de Extremadura, pero sí entre las poblaciones de Italia, siendo la población de Serra San Bruno la que antes llegó a secar el sustrato y la que antes marchitó la planta al 100 %. La ausencia de variabilidad del marchitamiento entre poblaciones extremeñas pudo deberse al similar cierre estomático como respuesta general de las plantas ante sequía (Camisón et al., 2020; Reeksting et al. 2014; Trifilò et al., 2017). Como es lógico, las plantas de mayor altura secaron antes el sustrato que las de menor altura debido a la mayor demanda transpirativa de las altas (Dorado et al., 2023; Gomes-Laranjo et al., 2012), mostrando también un marchitamiento completo más rápido.

Aunque no se obtuvieron diferencias significativas entre los valores medios del tiempo necesario para el pleno marchitamiento (tras alcanzarse 0% de humedad en el sustrato), las plantas de Valle de Matamoros fueron las que alcanzaron valores más altos (Figura 28b). Valle de Matamoros es la población de castaños con menor precipitación media anual (Figura 11). Esta población pacense está sujeta a severas condiciones de sequía en período estival, por lo que parece lógico que las plantas allí aclimatadas tarden más tiempo en alcanzar el marchitamiento completo. Lo anterior fue observado por Alcaide et al. (2019) en las poblaciones ubicadas más al sur.

Tras llegar al pleno marchitamiento, la mayoría de las plantas no brotaron, a pesar de encontrarse de nuevo ante riego. La sequía severa pudo inducir la embolia irreversible de los vasos del xilema (Hammond et al. 2019; Nardini et al., 2011; Tomasella et al., 2017; Trugman et al., 2018) y agotar la reserva de carbohidratos (Camisón et al., 2020), lo que condujo a la mortalidad de los castaños. La mortalidad difirió significativamente entre países, y dado que fue mayor en Italia (de hecho, ninguna planta de Petralia Sottana sobrevivió), no se recomienda hacer mejora con material procedente del sur de ese país.

Las poblaciones de Hervás y de Valle de Matamoros son las que menor mortalidad mostraron (sin ser significativas las diferencias; Figura 29a). Entre las plantas que sobrevivieron, las que tardaron menos tiempo en rebrotar fueron las de Valle de Matamoros, esta vez significativamente. Además, las plantas de la población de Valle de Matamoros acusaron la menor disminución de biomasa (en términos absolutos) respecto a las plantas control, no tratadas.

5.4. Estrés térmico seguido de estrés hídrico en brinzales de seis poblaciones de castaño

El 'estrés térmico + estrés hídrico' resulta un tratamiento complicado de interpretar pues incluye a ambos y a sus sinergias, tanto positivas como negativas. En *C. sativa* existen estudios previos que examinan ambos estreses por separado (Alcaide et al., 2019; Camisón et al., 2020; Dorado et al., 2022, 2023), pero hasta la fecha ninguno lo ha hecho conjuntamente. Por tanto, el presente trabajo es original y pionero.

Era de esperar que el 'estrés térmico + estrés hídrico' produjera en castaño un efecto más dañino a ambos estreses por separado, pero no ocurrió así. Las mortalidades finales medias de los estreses térmico, hídrico, y térmico + hídrico fueron cercanas al 0, 90 y 50 %, respectivamente. Respecto a la biomasa final de las plantas según tratamientos (Figura 36), también se observó esta tendencia. En las plantas sometidas a 'estrés térmico + estrés hídrico', se sospecha que probablemente la pérdida foliar inicial generada por estrés térmico

amortiguó el subsecuente estrés hídrico. El estrés térmico actuó primero por ser más inmediato (marchitamiento al día 1) frente a los efectos del hídrico térmico que se aprecian cuanto es individual a los 8-12 días en sustrato y a los 6-9 días subsiguientes en planta (Figura 28). Dado que el sustrato en cámara climática todavía estaba húmedo, a pesar del calor, las plantas padecieron los efectos del estrés hídrico (combinado) más tarde, de 11-19 en el sustrato (Figura 34). Las plantas quedaron marchitas y afectadas; por tanto, se adaptaron al siguiente estrés, tardando más en secar el sustrato y generando probablemente una estrategia de 'tolerancia inducida'. Lo extraño es que las plantas de mayor marchitamiento (día 5) secan antes el sustrato que las plantas de menor marchitamiento, tal vez porque ya lo tenían más seco en cámara climática, pero esto no se evaluó. Se desconocen los mecanismos detrás de esta 'tolerancia' y ello anima a que se hagan nuevos estudios, pero en ningún caso fueron objeto de este trabajo.

El marchitamiento de las plantas se incrementó según los días de exposición y fue significativamente mayor en las plantas emergidas antes y de mayor altura, en consonancia con anteriores trabajos (Atkin & Tjoelker, 2003; Dorado et al., 2023; Gomes-Laranjo et al., 2012). El marchitamiento de las plantas no varió entre países, pero sí entre poblaciones de Extremadura, especialmente durante los últimos días de cámara climática. Al día 5, tanto el marchitamiento (significativamente) como el puntisecado (marginamente significativo) observado fueron mayores en las plantas Valle de Matamoros. Los brinzales no exhibieron diferencias entre países y poblaciones en cuanto a tiempo en alcanzar la humedad 0 % y en marchitar, pero las plantas que tardaron menos tiempo en rebrotar fueron las de Valle de Matamoros.

Valle de Matamoros resulta la población más interesante para iniciar la mejora del castaño ante el cambio climático en Extremadura. En base a los resultados obtenidos en este trabajo, no es necesario utilizar material vegetal (germoplasma) del sur de Italia para reforzar la mejora.

Este ensayo se hizo simultáneamente en Maceda (Ourense), salvo que la planta no fue destruida para obtener el parámetro de biomasa. Con los castaños seleccionados a finales de 2023 en el vivero de Maceda por Tragsa se pretende

obtener material vegetal mejorado y resiliente para su uso en plantaciones en Extremadura. A largo plazo, una vez evaluada su adaptación se procederá o no a su incorporación a las parcelas de producción (huertos semilleros y bancos clonales) que se pretenden instalar en los venideros años por la Junta de Extremadura. Si los genotipos seleccionados tuvieran una aptitud de adaptación y propagación muy favorables, se consideraría proceder a su registro como Materiales de Base del MITECO (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico).

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

Las conclusiones obtenidas del presente estudio de investigación son:

1. Las poblaciones de *Castanea sativa* de Extremadura y sur de Italia muestran características de fruto y de plántula diferentes, como son el peso de la castaña, tiempo y tasa de emergencia, y altura de las plantas. Posiblemente, esta variabilidad esté relacionada con la diferente genética, disponibilidad de recursos y/o condiciones ambientales de los parentales.
2. Se constata que brinzales de una savia de *C. sativa* manifiestan una elevada capacidad de tolerancia ante el estrés térmico. Además, se confirma que existe variabilidad de respuesta al estrés térmico entre las poblaciones principales de castaño de Extremadura y entre dos poblaciones del sur de Italia. Parámetros útiles para caracterizar la tolerancia al estrés térmico fueron 'puntisecado', 'altura final – altura previa al tratamiento' y 'biomasa final – biomasa de plantas control'.
3. Se aprecia que brinzales de una savia de *C. sativa* manifiestan una escasa capacidad de tolerancia ante el estrés hídrico cuando no queda humedad en el suelo. Además, se confirma que existe variabilidad de respuesta al estrés hídrico entre las poblaciones de castaño de Extremadura y entre dos poblaciones del sur de Italia. Con vistas a la mejora, parámetros útiles para caracterizar la tolerancia al estrés hídrico fueron 'tiempo en marchitar' y 'tiempo en rebrotar'.
4. Un estrés térmico u ola de calor produce en castaño un alivio previo a un estrés hídrico severo. Es la primera vez que se estudian en castaño ambos estreses simultáneamente y se confirma que existe cierta variabilidad de respuesta al estrés hídrico entre las poblaciones de castaño de Extremadura. Los parámetros que permitieron discriminar poblaciones ante el estrés combinado fueron 'marchitamiento foliar' y 'tiempo en rebrotar'.

5. Las poblaciones del sur de Italia no toleran mejor el estrés térmico e hídrico que las poblaciones de Extremadura. Entre las 6 poblaciones estudiadas destaca la tolerancia de Valle de Matamoros ante los tres tipos de estrés. Será por la adaptación a las condiciones cálidas y áridas de los parentales que allí habitan, dado que es la ubicación más cálida y xérica. Valle de Matamoros resulta la población más valiosa e interesante para iniciar la mejora del castaño ante el cambio climático en Extremadura. En base a los resultados obtenidos en este trabajo, no será necesario utilizar material vegetal del sur de Italia para reforzar la mejora del castaño ante el cambio climático.

BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

- Alcaide, F., Solla, A., Mattioni, C., Castellana, S., & Martín, M. Á. (2019). Adaptive diversity and drought tolerance in *Castanea sativa* assessed through EST-SSR genic markers. *Forestry: An International Journal of Forest Research*, 92(3), 287-296. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpz007>
- Atkin, O. K., & Tjoelker, M. G. (2003). Thermal acclimation and the dynamic response of plant respiration to temperature. *Trends in plant science*, 8(7), 343-351. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(03\)00136-5](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(03)00136-5)
- Boyd, J. N., Odell, J., Cruse-Sanders, J., Rogers, W., Anderson, J. T., Baskauf, C., & Brzyski, J. (2022). Phenotypic plasticity and genetic diversity elucidate rarity and vulnerability of an endangered riparian plant. *Ecosphere*, 13(4), e3996. <https://doi.org/10.1002/ecs2.3996>
- Camisón, Á., Martín, M. Á., Dorado, F. J., Moreno, G., & Solla, A. (2020). Changes in carbohydrates induced by drought and waterlogging in *Castanea sativa*. *Trees*, 34, 579-591. <https://doi.org/10.1007/s00468-019-01939-x>
- Camisón, Á., Martín, M. Á., Flors, V., Sánchez-Bel, P., Pinto, G., Vivas, M., Rolo, V., & Solla, A. (2021). Exploring the use of scions and rootstocks from xeric areas to improve drought tolerance in *Castanea sativa* Miller. *Environmental and Experimental Botany*, 187, 104467. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104467>
- Castro, J., Zamora, R., Hódar, J. A., & Gómez, J. M. (2004). Seedling establishment of a boreal tree species (*Pinus sylvestris*) at its southernmost distribution limit: consequences of being in a marginal Mediterranean habitat. *Journal of Ecology*, 92(2), 266-277. <https://doi.org/10.1111/j.0022-0477.2004.00870.x>
- Climate-Data. (n.d.). Datos climáticos de España e Italia: Caminomorisco, Baños de Montemayor, Guadalupe, Jerez de los Caballeros, Serra San Bruno y Petralia Sottana. *Climate-Data*. <https://es.climate-data.org/>

- CNIG. (2023). Límites municipales, provinciales y autonómicos. *IGN. CNIG (Centro Nacional de Información Geográfica). Escala 1:1 millón (formato shapefile)*. <https://centrodedescargas.cnig.es/CentroDescargas/index.jsp>
- Corcobado, T. (2013). Influencia de "*Phytophthora cinnamomi*" Rands en el decaimiento de "*Quercus ilex* L." y su relación con las propiedades del suelo y las ectomicorrizas. *Repositorio Institucional de la Universidad de Extremadura. Tesis doctoral*. <https://dehesa.unex.es:8443/handle/10662/689>
- Correia, B., Hancock, R. D., Amaral, J., Gomez-Cadenas, A., Valledor, L., & Pinto, G. (2018). Combined drought and heat activates protective responses in *Eucalyptus globulus* that are not activated when subjected to drought or heat stress alone. *Frontiers in Plant Science*, 9, 819. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00819>
- Dalling, J. W. (2002). Ecología de semillas. *Ecología y Conservación de Bosques Neotropicales*. 345-375. <https://es.scribd.com/document/254648892/Dalling-J-W-2002-Ecologia-de-Semillas-Ecologia-y-Conservacion-de-Bosques-Neotropicales-Costa-Rica-Ediciones-LUR-345-375>
- Díaz, G. (2012). El cambio climático. *Ciencia y sociedad*, 37(2), 227-240. <http://repositoriobiblioteca.intec.edu.do/handle/123456789/1392>
- Dorado, F. J. (2023). Resiliencia de *Castanea sativa* Mill. ante factores de estrés relacionados con el cambio global. *Repositorio Institucional de la Universidad de Extremadura. Tesis doctoral*. <https://dehesa.unex.es:8443/handle/10662/16573>
- Dorado, F. J., Pinto, G., Monteiro, P., Chaves, N., Alías, J. C., Rodrigo, S., Camisón, Á., & Solla, A. (2023). Heat stress and recovery effects on the physiology and biochemistry of *Castanea sativa* Mill. *Frontiers in Forests and Global Change*, 5, 1072661. <https://doi.org/10.3389/ffgc.2022.1072661>

- Dorado, F. J., Solla, A., Alcaide, F., & Martín, M. Á. (2022). Assessing heat stress tolerance in *Castanea sativa*. *Forestry*, 95(5), 667-677. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpac021>
- Escandón, M., Cañal, M. J., Pascual, J., Pinto, G., Correia, B., Amaral, J., & Meijón, M. (2016). Integrated physiological and hormonal profile of heat-induced thermotolerance in *Pinus radiata*. *Tree physiology*, 36(1), 63-77. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpv127>
- FAO & PNUMA. (2020). El estado de los bosques del mundo 2020: los bosques, la biodiversidad y las personas. *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA)*, 224. <https://doi.org/10.4060/ca8642es>
- Fernández, J., & Alía, R. (2008). Guía técnica para la conservación genética y utilización del castaño (*Castanea sativa*). *Euforgen. Foresta*, 1-6. https://www.euforgen.org/fileadmin/templates/euforgen.org/upload/Countries/Spain/Technical_guidelines/Castanea_sativa_ESP.pdf
- GISCO. (2020). Países. *Eurostat. GISCO (Sistema de Información Geográfica de la Comisión Europea)*. <https://ec.europa.eu/eurostat/web/gisco/geodata/reference-data/administrative-units-statistical-units/countries>
- Gomes-Laranjo, J., Dinis, L. T., Martins, L., Portela, E., Pinto, T., Ciordia, M., Díaz, I., Majada, J., Peixoto, F., Pereira, S., Ramos, A. M., Zhang, C., Marints, A., & Cost, R. (2012). Characterization of chestnut behavior with photosynthetic traits. *Appl. Photosynth*, 3, 47-80. https://www.researchgate.net/profile/Mohammad-Najafpour/publication/235764997_Applied_Photosynthesis/links/0deec5193682b9f555000000/Applied-Photosynthesis.pdf#page=57
- Gomes-Laranjo, J., Peixoto, F., Sang, H. W. W. F., & Torres-Pereira, J. (2006). Study of the temperature effect in three chestnut (*Castanea sativa* Mill.) cultivars' behaviour. *Journal of Plant Physiology*, 163(9), 945-955. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.06.020>

- Gómez-Aparicio, L., García-Valdés, R., Ruíz-Benito, P., & Zavala, M. A. (2011). Disentangling the relative importance of climate, size and competition on tree growth in Iberian forests: implications for forest management under global change. *Global Change Biology*, 17(7), 2400-2414. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02421.x>
- Granados-Sánchez, D., Hernández-García, M. Á., Vázquez-Alarcón, A., & Ruíz-Puga, P. (2013). Los procesos de desertificación y las regiones áridas. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 19(1), 45-66. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rcscfa/v19n1/v19n1a5.pdf>
- Hammond, W. M., Yu, K., Wilson, L. A., Will, R. E., Anderegg, W. R., & Adams, H. D. (2019). Dead or dying? Quantifying the point of no return from hydraulic failure in drought-induced tree mortality. *New Phytologist*, 223(4), 1834-1843. <https://doi.org/10.1111/nph.15922>
- Hereş, A. M., Kaye, M. W., Granda, E., Benavides, R., Lázaro-Nogal, A., Rubio-Casal, A. E., Valladares, F., & Yuste, J. C. (2018). Tree vigour influences secondary growth but not responsiveness to climatic variability in Holm oak. *Dendrochronologia*, 49, 68-76. <https://doi.org/10.1016/j.dendro.2018.03.004>
- Higarza, V. (2020). Especies de interés forestal en la península Ibérica: el castaño (*Castanea sativa*). *Universidad de Oviedo. Trabajo Fin de Grado*. https://www.researchgate.net/publication/344783569_Spanish_Especies_de_interes_forestal_en_la_peninsula_iberica_el_castano_Castanea_sativa_English_Species_of_forest_interest_in_the_Iberian_Peninsula_chestnut_Castanea_sativa
- Huerta-Paniagua, R., & Rodríguez-Trejo, D. A. (2011). Efecto del tamaño de semilla y la temperatura en la germinación *Quercus rugosa* Née. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 17(2), 179-187. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rcscfa/v17n2/v17n2a1.pdf>
- IPCC. (n.d.). El IPCC. *Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITECO)*. <https://www.miteco.gob.es/es/cambio-climatico/temas/el-proceso-internacional-de-lucha-contr-el-cambio-climatico/naciones-unidas/ipcc.html>

- ISTAT. (2023). Límites administrativos 2023. *ISTAT (Istituto Nazionale di Statistica)*. <https://www.istat.it/it/archivio/222527>
- JUNTAEX. (n.d.). Bosques extremeños: castaños. *Junta de Extremadura (JUNTAEX)*. *Extremambiente*, 8, 177-185. http://extremambiente.juntaex.es/pdf/BosquesCap8_peq.pdf
- Lavee, H., Imeson, A. C., & Sarah, P. (1998). The impact of climate change on geomorphology and desertification along a Mediterranean-arid transect. *Land degradation & development*, 9(5), 407-422. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-145X\(199809/10\)9:5<407::AID-LDR302>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-145X(199809/10)9:5<407::AID-LDR302>3.0.CO;2-6)
- Leishman, M. R., Wright, I. J., Moles, A. T., & Westoby, M. (2000). The evolutionary ecology of seed size. In *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*, 31-57. <https://doi.org/10.1079/9780851994321.0031>
- Marchin, R. M., Backes, D., Ossola, A., Leishman, M. R., Tjoelker, M. G., & Ellsworth, D. S. (2021). Extreme heat increases stomatal conductance and drought-induced mortality risk in vulnerable plant species. *Global Change Biology*, 28(3), 1133-1146. <https://doi.org/10.1111/gcb.15976>
- Matilla, Á. J. (2008). Desarrollo y germinación de las semillas. *Libro de Fundamentos de Fisiología Vegetal*, 2, 537-558. https://www.researchgate.net/publication/271512205_Desarrollo_y_germinacion_de_las_semillas
- Míguez-Soto, B., & Fernández-López, J. (2015). Variation in adaptive traits among and within Spanish and European populations of *Castanea sativa*: selection of trees for timber production. *New forests*, 46(1), 23-50. <https://doi.org/10.1007/s11056-014-9445-5>
- Míguez-Soto, B., Fernández-Cruz, J., & Fernández-López, J. (2019). Mediterranean and Northern Iberian gene pools of wild *Castanea sativa* Mill. are two differentiated ecotypes originated under natural divergent selection. *PLoS One*, 14(2), e0211315. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211315>

- MITECO. (2019). Un estudio sobre el estado de los bosques revela el constante aumento de las superficies forestales en Italia. *Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITECO)*, 432, 1. https://www.mapa.gob.es/images/en/_bne43207italiaag-silvybosq_tcm38-512998.pdf
- MITECO. (2021). Anuario de Estadística Forestal 2019. *Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITECO)*, 178. https://www.miteco.gob.es/content/dam/miteco/es/biodiversidad/estadisticas/aef2019_completo_estandar_tcm30-534526.pdf
- Moegenburg, S. M. (1996). Sabal palmetto seed size: causes of variation, choices of predators, and consequences for seedlings. *Oecologia*, 106, 539-543. <https://doi.org/10.1007/BF00329713>
- Molina, M. O., Sánchez, E., & Gutiérrez, C. (2020). Future heat waves over the Mediterranean from an Euro-CORDEX regional climate model ensemble. *Scientific reports*, 10(1), 8801. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65663-0>
- Muñoz, M., & Vega, M. L. (2020). Efecto del genotipo y tamaño de semilla en la germinación y crecimiento de plántulas de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch). *Tesis de licenciatura*. <http://riaa.uaem.mx/handle/20.500.12055/3600>
- Nardini, A., Lo Gullo, M. A., & Salleo, S. (2011). Refilling embolized xylem conduits: is it a matter of phloem unloading? *Plant Science*, 180(4), 604-611. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.12.011>
- Pérez, C., Hernández, A., González, F. V., García de los Santos, G., Carballo, A., Vásquez, T. R., & Tovar, M. R. (2006). Tamaño de semilla y relación con su calidad fisiológica en variedades de maíz para forraje. *Agricultura técnica en México*, 32(3), 341-352. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0568-25172006000300010&lng=es&tlng=es

- Reeksting, B. J., Taylor, N. J., & Van den Berg, N. (2014). Flooding and *Phytophthora cinnamomi*: Effects on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in shoots of non-grafted *Persea americana* (Mill.) rootstocks differing in tolerance to *Phytophthora* root rot. *South African Journal of Botany*, 95, 40-53. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2014.08.004>
- Rojo-Martínez, G. E., Jasso-Mata, J., & Velásquez-Martínez, A. (2003). Las masas forestales como sumideros de CO₂ ante un cambio climático global. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 9(1), 57-67. <https://www.redalyc.org/pdf/629/62990106.pdf>
- Ruehr, N. K., Gast, A., Weber, C., Daub, B., & Arneith, A. (2015). Water availability as dominant control of heat stress responses in two contrasting tree species. *Tree Physiology*, 36(2), 164-178. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpv102>
- Stamp, N. E. (1990). Production and effect of seed size in a grassland annual (*Erodium brachycarpum*, Geraniaceae). *American Journal of Botany*, 77(7), 874-882. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1990.tb15182.x>
- Tomasella, M., Häberle, K. H., Nardini, A., Hesse, B., Machlet, A., & Matyssek, R. (2017). Post-drought hydraulic recovery is accompanied by non-structural carbohydrate depletion in the stem wood of Norway spruce saplings. *Scientific Reports*, 7(1), 14308. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14645-w>
- Trifilò, P., Casolo, V., Raimondo, F., Petrusa, E., Boscutti, F., Gullo, M. A. L., & Nardini, A. (2017). Effects of prolonged drought on stem non-structural carbohydrates content and post-drought hydraulic recovery in *Laurus nobilis* L.: the possible link between carbon starvation and hydraulic failure. *Plant Physiology and Biochemistry*, 120, 232-241. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.10.003>
- Trugman, A. T., Detto, M., Bartlett, M. K., Medvigy, D., Anderegg, W. R. L., Schwalm, C., Schaffer, B., & Pacala, S. W. (2018). Tree carbon allocation explains forest drought-kill and recovery patterns. *Ecology letters*, 21(10), 1552-1560. <https://doi.org/10.1111/ele.13136>

- Valladares, F., Vilagrosa, A., Peñuelas, J., Ogaya, R., Camarero, J. J., Corcuera, L., Sisó, S., & Gil-Pelegrín, E. (2004). Estrés hídrico: ecofisiología y escalas de la sequía. *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*, 2, 165-192.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8349442>
- Vargas, E. M., Castro, E., Macaya, G., & J Rocha, O. (2003). Variación del tamaño de frutos y semillas en 38 poblaciones silvestres de *Phaseolus lunatus* (Fabaceae) del Valle Central de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 51(3-4), 707-724.
https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442003000300011
- Vilà-Cabrera, A., Rodrigo, A., Martínez-Vilalta, J., & Retana, J. (2011). Lack of regeneration and climatic vulnerability to fire of Scots pine may induce vegetation shifts at the southern edge of its distribution. *Journal of Biogeography*, 39(3), 488-496. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02615.x>
- Wahid, A. (2007). Physiological implications of metabolite biosynthesis for net assimilation and heat-stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. *Journal of plant Research*, 120, 219-228.
<https://doi.org/10.1007/s10265-006-0040-5>
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and experimental botany*, 61(3), 199-223. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.05.011>
- Zammit, C., & Zedler, P. H. (1990). Seed yield, seed size and germination behaviour in the annual *Pogogyne abramsii*. *Oecologia*, 84, 24-28.
<https://doi.org/10.1007/BF00665590>