

BOSQUE

CONTENIDO

ARTÍCULOS

- Costa EA, AF Hess, CA Guimarães Finger. Estructura y crecimiento de los bosques de *Araucaria angustifolia* en el sur de Brasil. 229
- Zapata RM, C Azagra Malo, MS Karlin. Tratamientos pregerminativos para la ruptura de la dormición en semillas de tres poblaciones de *Ramorinoa girolae*, leñosa endémica de zonas áridas en Argentina. 237
- Martínez Pastur G, JM Cellini, MD Barrera, MV Lencinas, R Soler, PL Peri. Influencia de factores bióticos y abióticos en el crecimiento de la regeneración pre- y post-cosecha en un bosque de *Nothofagus pumilio*. 247
- Olmedo-Cobo JA, R Cunill-Artigas, E Martínez-Ibarra, J Gómez-Zotano. Paleocología de *Abies* sp. en Sierra Bermeja (sur de la Península Ibérica) durante el Holoceno medio a partir del análisis pedoantracológico. 259
- Santiago A, JM Herranz, MA Copete, P Ferrandis. Influencia de las condiciones de temperatura e iluminación en la rotura de latencia y germinación de los endemismos mediterráneos *Scilla paui* y *Scilla ramburei* (Liliaceae). 271
- Muñoz-Escobar C, V Jerez. Diversidad y composición de coleópteros del Parque Nacional Bernardo O'Higgins (región de Magallanes, Chile). 285
- Kumbasli M, E Makineci, A Keten, V Beskardes, E Özdemir. Efectos del material parental del suelo y de la especie de encina en la defoliación de las copas en bosques nativos de encina (*Quercus* spp.) en el norte de Tracia, Turquía. 299
- Campos VE, V Fernández Maldonado, P Balmaceda, S Giannoni. Riqueza de plantas, aves y mamíferos bajo el dosel de *Ramorinoa girolae*, una especie arbórea endémica y vulnerable del desierto. 307
- Viveros-Viveros H, K Quino-Pascual, MV Velasco-García, G Sánchez-Viveros, E Velasco Bautista. Variación geográfica de la germinación en *Enterolobium cyclocarpum* en la costa de Oaxaca, México. 317
- Valdovinos TM, R Cesar de Paula. Diversidad genética de *Handroanthus heptaphyllus* a partir de calidad fisiológica de semillas. 327
- Čortan D, D Vilotić, M Šijačić-Nikolić, D Miljković. Variación de las características de los estomas de las hojas dentro y entre álamos negros de poblaciones autóctonas en Serbia. 337
- Spyroglou G, K Radoglou. Efecto de tratamientos previos sobre la germinación de semillas de *Phillyrea latifolia* en Grecia. 347
- dos Santos Vieira D, ML Romarco de Oliveira, JR Vasconcelos Gama, EL Mendonça Machado, E Bastos Görgens. Fitosociología de un fragmento natural de bosque inundable en el Bajo Río Tapajós, Brasil. 357
- Carpenedo Aimi S, M Machado Araujo, T da Silva Tonetto, L Almeri Tabaldi, C Witt Saldanha, J Gomes Farias, G Gomez de Oliveira. Intensidad de sombra como condición para la plantación de especies forestales: estudio con *Apuleia leiocarpa*. 371
- Hernández-Vera D, M Pompa-García, JI Yerena-Yamalle, E Alanís-Rodríguez. Variación de la concentración de carbono en tres especies mexicanas de pino. 381
- Chávez-Gándara MP, J Cerano-Paredes, JA Nájera-Luna, V Pereda-Breceda, G Esquivel-Arriaga, R Cervantes-Martínez, VH Cambrón-Sandoval, F Cruz-Cobos, S Corral-Rivas. Reconstrucción de la precipitación invierno-primavera con base en anillos de crecimiento de árboles para la región de San Dimas, Durango, México. 387
- NOTAS
- Bueis T, F Bravo, V Pando, MB Turrión. Influencia de la densidad del arbolado sobre el desfronde y su reciclado en pinares de repoblación del norte de España. 401
- Espinoza SE, RE Santelices, AM Cabrera, CR Magni. Efectos combinados de la restricción hídrica, el tamaño de contenedor y la dosis de fertilizante en la supervivencia, intercambio gaseoso y atributos morfológicos en plantas de *Quillaja saponaria*. 409
- Pedreira PA, E Penon, M Borgnia. Descortezado en forestales producido por la ardilla introducida *Callosciurus erythraeus* (Sciuridae) en Argentina. 415
- Altamirano TA, JT Ibarra, F Novoa, A Vermehren, K Martin, C Bonacic. Registro de utilización de cavidades de árboles como refugios por un murciélago de bosque (*Histiotus magellanicus*) en ecosistemas templados andinos del sur de Chile. 421

BOSQUE es publicada por la Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales de la Universidad Austral de Chile. Fundada en 1975 con una periodicidad anual, a partir de 1985 aumentó su periodicidad a semestral. A partir de 2003 tres números al año (abril, agosto y diciembre).

BOSQUE is published by the Faculty of Forest Sciences and Natural Resources, Austral University of Chile. It was first published as a yearly journal in 1975. Since 1985 it has been issued twice a year and since 2003 it is issued three times a year (April, August and December).

Los artículos publicados en BOSQUE son indizados por:

Bibliografía Latinoamericana	WoS Web of Science (ISI)	SCOPUS
Cabi Publishing	Plant Growth Regulator Abstracts	Seed Abstracts
Forestry Abstracts	Review of Agricultural Entomology	Journal Citation Report (JCR)
Forest Products Abstracts	Scientific Electronic Library Online (SciELO)	

COMITÉ CIENTÍFICO/SCIENTIFIC COMMITTEE

Miren Alberdi Universidad de La Frontera, Chile; **Luis Apiolaza** University of Canterbury, Nueva Zelandia; **Claudia Bonomelli** Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile; **Roberto Carrillo** Universidad Austral de Chile, Chile; **Miguel Castillo** Universidad de Chile, Chile; **Luis Chauchard** Universidad Nacional del Comahue, Argentina; **Jordi Cortina** Universidad de Alicante, España; **Fred Cabbage** North Carolina State University, USA; **Guilherme de Castro Andrade** Centro Nacional de Pesquisa de Florestas EMBRAPA, Brasil; **Ignacio Díaz-Maroto** Universidad de Santiago de Compostela, España; **Claudio Donoso** Universidad Austral de Chile, Chile; **Jorge Etchevers** Colegio de Postgraduados, México; **Thomas Fox** Virginia Tech, USA; **Jorge Gayoso** Universidad Austral de Chile, Chile; **Roberto Godoy** Universidad Austral de Chile, Chile; **Anton Huber** Universidad Austral de Chile, Chile; **Andrés Iroumé** Universidad Austral de Chile, Chile; **Douglass Jacobs** Purdue University, USA; **Antonio Jurado Bellote** Centro Nacional de Pesquisa de Florestas EMBRAPA, Brasil; **Thomas Knoke** Technische Universität München, Alemania; **Ludmila La Manna** Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico CIEFAP, Argentina; **Antonio Lara** Universidad Austral de Chile, Chile; **María V. Lencinas** CADIC-CONICET, Argentina; **Rafael Navarro** Universidad de Córdoba, España; **Peter Niemz** Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich; **Mario Niklitschek** Universidad Austral de Chile, Chile; **Leif Nutto** Universidad de Freiburg, Alemania; **Ralph Nyland** SUNY College of Environmental Science and Forestry, USA; **Pablo L. Peri** Universidad Nacional de la Patagonia Austral, Argentina; **Benno Pokorny**, Albert-Ludwigs Universität Freiburg, Alemania; **Albert Reif** Universidad de Freiburg, Alemania; **Christian Salas** Universidad de La Frontera, Chile; **Luis Silveira** Universidad de La República, Uruguay; **Tom Veblen** University of Colorado, USA; **Alejandra Zúñiga** Universidad Austral de Chile, Chile.

Editor:

Víctor Gerding S., Universidad Austral de Chile

Coeditores:

Cristian Echeverría L., Universidad de Concepción, Chile

Pablo Donoso H., Universidad Austral de Chile

Aníbal Pauchard C., Universidad de Concepción, Chile

Leonardo Gallo, INTA - Bariloche, Argentina

José María Rey Benayas, Universidad de Alcalá, España

Asistente del Comité Editor: **Isabel Vives G.**, Universidad Austral de Chile

Revisora de Redacción: **Cecilia Iharreborde**

Revisora de Inglés: **Amapola López**

Oficina de la Revista: **Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, Casilla 567, Valdivia, Chile.**

Fono: 56 (63) 2221743. Correo Electrónico: revistabosque@uach.cl

Página web: <http://www.revistabosque.cl>

Toda correspondencia respecto a publicaciones debe ser remitida al editor (revistabosque@uach.cl), Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, Valdivia, Chile.

Office of publication: **Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile.**

Phone: 56 (63) 2221743, email: revistabosque@uach.cl

Web: <http://www.revistabosque.cl>

Correspondence dealing with publications must be sent to editor (revistabosque@uach.cl), Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, Valdivia, Chile.

BOSQUE es financiada por la Universidad Austral de Chile.

BOSQUE

CONTENTS

ARTICLES

- Costa EA, AF Hess, CA Guimarães Finger. **Structure and growth of araucaria forest in southern Brazil.** 229
- Zapata RM, C Azagra Malo, MS Karlin. **Pre-germinative treatments for seed dormancy breaking of three populations of *Ramorinoa girolae*, an endemic woody species from arid zones in Argentina.** 237
- Martínez Pastur G, JM Cellini, MD Barrera, MV Lencinas, R Soler, PL Peri. **Influence of biotic and abiotic factors on the growth of pre- and post-harvest regeneration in a *Nothofagus pumilio* forest.** 247
- Olmedo-Cobo JA, R Cunill-Artigas, E Martínez-Ibarra, J Gómez-Zotano. **Paleoecology of *Abies* sp. in Sierra Bermeja (southern Iberian Peninsula) during the mid-Holocene from a pedoanthracological analysis.** 259
- Santiago A, JM Herranz, MA Copete, P Ferrandis. **Influence of temperature and light conditions on dormancy break and germination of the Mediterranean endemism of *Scilla pauti* and *Scilla ramburei* (Liliaceae).** 271
- Muñoz-Escobar C, V Jerez. **Diversity and composition of beetles of Bernardo O'Higgins National Park (region of Magallanes, Chile).** 285
- Kumbasli M, E Makineci, A Keten, V Beskardes, E Özdemir. **Effects of parent material, stand type and oak species on defoliation of coppice-originated oak (*Quercus* spp.) forests in Northern Turkish Thrace.** 299
- Campos VE, V Fernández Maldonado, P Balmaceda, S Giannoni. **Richness of plants, birds and mammals under the canopy of *Ramorinoa girolae*, an endemic and vulnerable desert tree species.** 307
- Viveros-Viveros H, K Quino-Pascual, MV Velasco-García, G Sánchez-Viveros, E Velasco Bautista. **Geographic variation in germination of the *Enterolobium cyclocarpum* of the coast of Oaxaca, Mexico.** 317
- Valdovinos TM, R Cesar de Paula. **Genetic diversity of *Handroanthus heptaphyllus* from seed physiological quality.** 327
- Čortan D, D Vilotić, M Šijačić-Nikolić, D Miljković. **Leaf stomatal traits variation within and among black poplar native populations in Serbia.** 337
- Spyroglou G, K Radoglou. **Effect of pre-treatments on the germination of jasmin box (*Phillyrea latifolia*) seeds in Greece.** 347
- dos Santos Vieira D, ML Romarco de Oliveira, JR Vasconcelos Gama, EL Mendonça Machado, E Bastos Görgens. **Phytosociology of a natural fragment of the floodplain forest in the Lower Tapajós River, Brazil.** 357
- Carpenedo Aimi S, M Machado Araujo, T da Silva Tonetto, L Almeri Tabaldi, C Witt Saldanha, J Gomes Farias, G Gomez de Oliveira. **Shading as a conditioning factor to forest species planting: a study with *Apuleia leiocarpa*.** 371
- Hernández-Vera D, M Pompa-García, JI Yerena-Yamallel, E Alanís-Rodríguez. **Within-tree carbon concentration variation in three Mexican pine species.** 381
- Chávez-Gándara MP, J Cerano-Paredes, JA Nájera-Luna, V Pereda-Breceda, G Esquivel-Arriaga, R Cervantes-Martínez, VH Cambrón-Sandoval, F Cruz-Cobos, S Corral-Rivas. **Winter-spring precipitation reconstruction from tree-rings for San Dimas region, Durango, Mexico.** 387
- NOTES
- Bueis T, F Bravo, V Pando, MB Turrión. **Effects of stand density on litterfall and its turnover in pine plantations in northern Spain.** 401
- Espinoza SE, RE Santelices, AM Cabrera, CR Magni. **Interactive effects of water stress, container size and fertilizer on survival, gas exchange and morphological traits of *Quillaja saponaria* seedlings.** 409
- Pedreira PA, E Penon, M Borgnia. **Bark stripping caused by the introduced squirrel *Callosciurus erythraeus* (Sciuridae) in Argentina.** 415
- Altamirano TA, JT Ibarra, F Novoa, A Vermehren, K Martin, C Bonacic. **Roosting records in tree cavities by a forest-dwelling bat species (*Histiotus magellanicus*) in Andean temperate ecosystems of southern Chile.** 421

ARTÍCULOS

Estructura y crecimiento de los bosques de *Araucaria angustifolia* en el sur de Brasil

Structure and growth of araucaria forest in southern Brazil

Emanuel Arnoni Costa ^{a*}, André Felipe Hess ^a, César Augusto Guimarães Finger ^b

*Autor de correspondencia: ^a Universidad del Estado de Santa Catarina, Centro de Ciencias Agroveterinárias, Departamento de Ingeniería Forestal, Av. Luiz de Camões, 2090, CEP 88520-000, Lages, SC, Brasil, tel.: 55-49-32899255, emanuelarmonicost@gmail.com

^b Universidad Federal de Santa Maria, Departamento de Ciencias Rurales, Rio Grande do Sul, Brasil.

SUMMARY

The growth of individual trees can be simulated by multiplying a function that describes the potential by another modifier, the “modifying-potential”. Modeling of the potential function for trees growing without competition determines the limit of optimum growth to species, while a modifying function sets the decrease component taking in consideration the influence of environmental factors. Thus, the aim of the study was to adjust the modifier function to describe the periodic increment in the basal area of *Araucaria angustifolia* trees in sites with Araucaria Forest in southern Brazil. For this, we sampled 397 individual trees. Dendrometric and morphometric variables, competition indices and increment in diameter with the chronology of widths of the growth ring were measured. Periodic increment in basal area was described by a logarithmic function that explained 57 % of variance and correlated with the diameter at the beginning of the period, height, variable of crown size and competition indices. Results indicate that the modifier function can be used accurately to explain changes in growth and spatial and temporal structure of the species in the Araucaria Forest.

Key words: Parana pine, predicting growth, reductive function, forest management.

RESUMEN

El crecimiento de los árboles individuales se puede simular multiplicando una función que describe su potencial por otra modificadora “potencial-modificadora”. El modelado de la función potencial para árboles creciendo sin competencia determina el límite de crecimiento óptimo para una especie, mientras que la función modificadora establece el componente de descenso teniendo en cuenta la influencia de factores ambientales. Así, el objetivo del estudio fue ajustar la función modificadora para describir el incremento periódico en el área basal de árboles de *Araucaria angustifolia* en sitios de bosques con araucaria en el sur de Brasil. Para eso, se tomaron muestras de 397 árboles individuales y se midieron sus variables dendrométricas, morfométricas, sus índices de competencia y su incremento en diámetro con la cronología de los anchos de anillos de crecimiento. El incremento periódico en el área basal fue descrito por una función logarítmica que explicó el 57 % de la varianza y se correlaciona con el diámetro al inicio del periodo, altura, variable de dimensión de la copa y el índice de la competencia. Los resultados indican que se puede utilizar la función modificadora con precisión para explicar los cambios en el crecimiento, en la estructura espacial y temporal de la especie en el bosque de araucaria.

Palabras clave: pino brasileño, predicción del crecimiento, función reductora, manejo forestal.

INTRODUCCIÓN

Araucaria angustifolia (Bertol.) Kuntze (araucaria) es un árbol del bosque de araucaria en América del Sur. La araucaria es una especie pionera, intolerante a la sombra y domina el estrato superior del dosel. Originalmente los bosques de araucarias ocuparon 177.600 km² en Brasil y en Argentina 2.100 km² (Giraud *et al.* 2003) en un intervalo que incluye las coordenadas de 19°15' - 31°30' S y 41°30' - 54°30' O y altitudes de 200 a 1.800 m. En la exploración de los bosques de araucaria no se aplicaron planes

de manejo sostenible y, por lo tanto, su uso fue convertido en una legislación prohibitiva, como medida de precaución y “una forma de conservación” de sus remanentes.

En este sentido, para la elaboración de planes de manejo y las intervenciones sostenidas en el bosque, son necesarios los estudios sobre el crecimiento y desarrollo estructural (espacial y temporal) de los árboles. Así, el modelado del crecimiento de los árboles puede expresarse por una función “potencial-modificadora” (Zhang *et al.* 2004), pues el resultado lleva en cuenta la interacción de dos factores: la multiplicación de su potencial biótico

por un reductor que caracteriza los factores ambientales (Hasenauer 2006). La función del crecimiento potencial y modificadora representa el máximo posible en niveles de tasas de crecimiento, y los modificadores son una función del tamaño del árbol, de las condiciones del sitio, competencia y proporción de la copa (Weiskittel *et al.* 2011).

Por lo tanto, la importancia de los modelos de crecimiento es predecir el desarrollo de los árboles, pues es esencial para obtener informaciones consistentes, útiles al manejo de los bosques de manera racional, para la ejecución de los planes y prácticas dirigidas a las características de la especie (Costa *et al.* 2015). De esta manera, el ajuste de la función modificadora define un componente de descenso para el límite máximo fijado en el crecimiento potencial, proporcionando la base para la planificación de futuras intervenciones silvícolas.

El problema identificado es que la mayoría de los estudios de modelos de crecimiento para araucaria no tienen en cuenta las variables que caracterizan la calidad del sitio ni el efecto de la competencia. Así, se buscó agregar esas variables en los modelos para comprobar la influencia de estos elementos en el comportamiento biológico, en la densidad y en la estructura del bosque, con el objetivo de modelar una “función modificadora” asociada con variables dendrométricas, del sitio y de densidad (competencia), para representar el componente de descenso de las tasas del incremento periódico en área basal de la especie. En el modelado de la función modificadora de los árboles objetivo, se supone que el incremento periódico anual en área basal es una función del tamaño actual, la historia de vigor y la competencia actual.

Por lo anterior, se proponen las preguntas: 1) ¿cuáles variables explican mejor la relación con el incremento periódico en el área basal y cuál es el valor de su coeficiente de correlación? y 2) ¿el modelado de la función modificadora define un componente de descenso del crecimiento para el límite máximo establecido en potencial de crecimiento? Se plantea la hipótesis que cuando a los modelos de crecimiento se incorporan las variables de sitio, competencia y morfométricas, estas mejoran su desempeño y explican el desarrollo en la estructura individual de los árboles de araucaria. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es modelar una ecuación modificadora para describir el incremento periódico en área basal de árboles de araucaria.

MÉTODOS

Área de estudio. El estudio se realizó en dos sitios con bosque de araucaria en el sur de Brasil: Lages (LAG), en Santa Catarina, y São Francisco de Paula (SFP), en Rio Grande do Sul. El clima de los municipios, según la clasificación de Köppen, es subtropical húmedo, sin estación seca, el verano templado (Cfb) (Alvares *et al.* 2013) y con las siguientes características climáticas (cuadro 1):

El inventario fitosociológico en los dos sitios de estudio identificó a la especie araucaria como la de mayor valor de importancia (VI), siendo su valor el 28 % en LAG y el 36 % en SFP. En LAG, se identificaron a 28 especies y 10 especies representan el 82,9 % del total; en SFP, 10 especies corresponden a un 71,4 % del total. En LAG, el estudio se realizó en un bosque nativo de dominio privado, con densidad de 303 árboles por hectárea; en SFP, en un área de bosque nacional (FLONA) con densidad de 220 árboles por hectárea, establecida por el gobierno federal de Brasil.

Toma de datos. Fueron muestreados 397 árboles en un enfoque basado en árbol individual en la amplitud de distribución de diámetro en los dos sitios. Todos los árboles a partir de 10 cm de diámetro a la altura del pecho se midieron y se consideró una amplitud entre las clases de 10 cm. Los árboles de araucaria en competencia fueron llamados “árboles objetivo” y los que ejercen la competencia “competidores”. El criterio de selección de árboles “competidores” en relación con el árbol “objetivo” fue basado en la dimensión de la copa, y la altura de los árboles, en la capacidad de competir por la luz y el espacio de crecimiento. Así, todos los árboles en un radio de 360° del árbol objetivo y que tuvieron contacto entre las copas fueron considerados competidores, y su criterio de selección se obtuvo con la ecuación 1.

$$\text{dist}_{ij} < (rc_i + rc_j) \quad [1]$$

Donde: dist_{ij} : distancia horizontal entre el árbol objetivo (i) y el árbol competidor (j); rc_i , rc_j : radio de la copa de los árboles objetivo (i) y competidor (j) en metros.

El radio de la copa (rc) fue calculado dividiendo por dos el valor obtenido de la estimación del diámetro de la copa (dc) como una función del diámetro a la altura del pecho (DAP),

Cuadro 1. Coordenadas geográficas y características climáticas de los sitios de estudio.

Geographic coordinates and climatic characteristics of the study sites.

Municipios	Latitud S	Longitud O	Altitud (m)	TMA	PMA
Lages (LAG)	-27°48'	-50°19'	987,0	15,2	1.684,7
São Francisco de Paula (SFP)	-29°26'	-50°35'	854,0	15,0	2.016,4

TMA = temperatura media anual en °C; PMA = precipitación media anual en milímetros.

con ecuaciones para cada sitio. Para LAG: [dc = 1,3149 + 0,2112. DAP], con coeficiente de determinación (R²) = 0,838 y error estándar de estimación (S_{yx} %) de 13,7 y SFP: [dc = 0,8947 + 0,2032. DAP], con (R²) = 0,853 y (S_{yx} %) = 15,4.

De todos los árboles (objetivo y competidor) se midieron el diámetro a la altura del pecho (DAP), altura total (h), altura de inserción de la copa (hic) y ocho radios de la copa en las direcciones cardinales. Con los datos, se calcularon las variables morfométricas para araucaria, en los dos sitios de estudio (cuadro 2), y ocho índices de competencias independientes y dependientes de la distancia.

Cronologías de ancho de anillos. Para cada árbol en cada sitio, se tomaron dos tarugos de incremento en el diámetro a la altura del pecho, con barreno de Pressler. Los tarugos de incremento fueron pegados en soportes de madera, lijados y marcados sus anillos por un período de cinco años. Se escanearon las muestras y se almacenaron las imágenes a una resolución de 1.200 píxeles. Con la digitalización de las muestras, se midieron los incrementos con el software Imagen Pro-Plus, con escala en milímetros, y se hizo su registro en archivo de texto. El incremento periódico anual en área basal se obtuvo con la ecuación 2.

Cuadro 2. Características dendrométricas, morfométricas e índices de competencia utilizados para los dos sitios de estudio de *Araucaria angustifolia* en el sur de Brasil.

Dendrometric characteristics, morphometric and competition indices used for the two study sites of *Araucaria angustifolia* in southern Brazil.

Variable	Mínimo	Media	Máximo	CV%
DAP	9,9	40,2	93,0	43,8
h	7,2	17,3	25,1	21,8
hic	3,0	13,1	22,3	30,1
dc	2,2	9,5	22,6	40,9
APHC	3,8	82,6	401,1	78,9
Pc	5,1	25,6	75,0	50,4
cc	0,6	4,2	10,7	43,4
Fc	0,61	2,54	6,70	48,8
h/DAP	22,7	49,0	108,8	33,9
IA	0,16	0,54	1,15	31,3
IS	0,12	0,24	0,38	18,1

IC	Expresión	Variable	Fuente
IC1	$= DAP_i^2 \cdot n / (\sum_{j=1}^n DAP_j^2)$	DAP	Daniels <i>et al.</i> (1986)
IC2	$= \sum_{j=1}^n (DAP_j^2 / DAP_i^2)$	DAP	Corona y Ferrara (1989)
IC3	$= (\sum_{j=1}^n DAP_j) / DAP_i$	DAP	Lorimer (1983)
IC4	$= (\sum_{j=1}^n DAP_j / DAP_i) / n$	DAP	Mugasha (1989)
IC5	$= \sum_{j=1}^n [DAP_j / (DAP_i \cdot dist_{ij})]$	DAP, dist	Hegyí (1974)
IC6	$= \sum_{j=1}^n [DAP_j / (DAP_i \cdot dist_{ij}^{0,5})]$	DAP, dist	Hegyí (1974) – modificado
IC7	$= \sum_{j=1}^n [(DAP_j / DAP_i)^2 / dist_{ij}]$	DAP, dist	Rouvinen y Kuuluvainen (1997)
IC8	$= \sum_{j=1}^n (DAP_j / dist_{ij})$	DAP, dist	Rouvinen y Kuuluvainen (1997)

DAP: diámetro a la altura del pecho en cm; h: altura total en m; hic: altura de inserción de la copa en m; dc: diámetro de la copa en m; APHC: área de proyección horizontal de la copa en m²; Pc: proporción de la copa en %; cc: longitud de la copa en m; Fc: formal de copa; h/DAP: grado de esbeltez; IA: índice de amplitud; IS: índice saliente; CV% coeficiente de variación; IC1...IC8: índices de competencia; dist: distancia horizontal en m; DAP_i: diámetro del árbol objetivo; DAP_j: diámetro del árbol competidor.

$$IPAg = (g - g_5) / t \quad [2]$$

Donde: IPAg: incremento periódico anual en área basal (cm² año⁻¹); g: área basal del árbol individual al final del período (cm²); g₅: área basal del árbol individual al inicio del período (cm²); t: número de años evaluados.

Modelado del incremento periódico anual en área basal. Se utilizaron el análisis de correlación de Pearson, para indicar el grado de asociación entre las variables independientes para modelar el incremento periódico anual en área basal, y el procedimiento *stepwise*, para determinar las variables con mayor influencia y que pueden explicar los cambios estructurales y el crecimiento de los árboles de araucaria en su área de distribución natural. Para esta relación, se utilizó la ecuación 3, propuesta por Wykoff (1990).

$$IPAg = \beta_0 DAP_{-t}^{\beta_1} e^{-\beta_2 DAP^2-t} \quad [3]$$

Donde: IPAg: incremento periódico anual en área basal (cm² año⁻¹); DAP-t: diámetro a la altura del pecho al inicio del período en centímetros; DAP²-t: diámetro a la altura del pecho al cuadrado al inicio del período en centímetros, y que representa el componente de descenso, lo que provoca aumento o disminución e impide el crecimiento ilimitado para los árboles de gran diámetro; β's: coeficientes de regresión; e: base del logaritmo natural.

El histórico de vigor de los árboles objetivo fue valorado mediante la multiplicación de la ecuación 3 por exponenciales de las variables que caracterizan las dimensiones de la copa, siendo considerado el primer modificador del crecimiento (ecuación 4).

$$IPAg = \beta_0 DAP_{-t}^{\beta_1} e^{-\beta_2 DAP^2-t + \beta_3 VDC} \quad [4]$$

Donde: IPAg: incremento periódico anual en área basal (cm² año⁻¹); DAP-t: diámetro a la altura del pecho al inicio del período en centímetros; DAP²-t: diámetro a la altura del pecho al cuadrado al inicio del período en centímetros; VDC: variable de la dimensión de la copa; β's: coeficientes de regresión; e: base del logaritmo natural.

La intensidad de la competencia actual del árbol objetivo por sus competidores se evaluó mediante la multiplicación de la ecuación 4 por la exponencial del índice de competencia, siendo considerado el segundo modificador del crecimiento (ecuación 5).

$$IPAg = \beta_0 DAP_{-t}^{\beta_1} e^{-\beta_2 DAP^2-t + \beta_3 VDC - \beta_4 IC} \quad [5]$$

Donde: IPAg: incremento periódico anual en área basal (cm² año⁻¹); DAP-t: diámetro a la altura del pecho al inicio del período en centímetros; DAP²-t: diámetro a la altura del pecho al cuadrado al inicio del período en centímetros; VDC: variable de la dimensión de la copa; IC: índice de

competencia; β's: coeficientes de regresión; e: base del logaritmo natural.

Análisis de los datos. Los análisis estadísticos se realizaron en el Sistema de Análisis Estadístico (SAS 2004). La precisión de ajuste de los modelos se evaluó mediante el coeficiente de determinación (R²), error estándar de la estimación (S_{yx}) y análisis gráfico de los residuos. Se linealizó la ecuación 5, y las variables independientes incluidas en el modelo obtuvieron factor de inflación de varianza (FIV) menor que 10 y la transformación propuesta por Box y Cox (1964), con valor de lambda (λ = 0), indicó la transformación logarítmica adecuada para reducir la varianza de la variable dependiente (figura 1). Esta transformación en el modelado de crecimiento puede mejorar la estructura residual y reducir la heterogeneidad de los residuos del modelo. Debido a la discrepancia logarítmica, se volvió a calcular el error estándar de la estimación (S_{yx}) multiplicando su valor por el factor de corrección (F_{cor.} = e^{0,55yx²}), propuesto por Sprugel (1983).

RESULTADOS

Modelado del incremento periódico en área basal. Los cambios estructurales y de crecimiento de la especie indicaron correlación entre el incremento periódico anual en área basal (IPAg) y las variables descriptivas del diámetro al inicio del período (DAP-t), la altura (h), la historia de vigor (Pc%: proporción de la copa) y el índice de competencia (IC3), todas con valor de (P < 0,0001) (figura 2).

La correlación mostró que el aumento en el diámetro y la altura que describe el tamaño actual, así como la proporción de la copa, promovieron el aumento en el incremento periódico anual en área basal, lo que indica que los árboles con copas cortas y anchas tienen menor aumento en comparación con los árboles de copas largas y estrechas, que son más eficientes en el aumento de las tasas de incremento. Los resultados muestran también que la competencia provocó reducción en las tasas de incremento en área basal (figura 3).

El procedimiento *stepwise*, para modelar el incremento periódico anual en área basal, fue compuesto por las variables DAP en el inicio del período y la altura (30,37 %), la variable proporción de la copa (24,2 %) y el índice de la competencia (2,85 %), que en conjunto explicaron (R²) el 57,42 % de la variación del incremento, el valor del error estándar de la estimación (S_{yx}) de 0,46 y todos los coeficientes del modelo con valor de (P < 0,001). Por lo tanto, el incremento periódico anual en área basal de árboles individuales y sus cambios estructurales y el crecimiento en el bosque puede ser predicho con precisión por la ecuación 6, con sus respectivos coeficientes.

$$IPAg = 0,339963 DAP_{-t}^{0,879761} e^{-0,000084 DAP^2-t + 0,032871 h + 0,025326 Pc - 0,066910 IC3} \quad [6]$$

Donde: IPAg: incremento periódico anual en área basal en cm² año⁻¹; DAP-t: diámetro a la altura del pecho al inicio

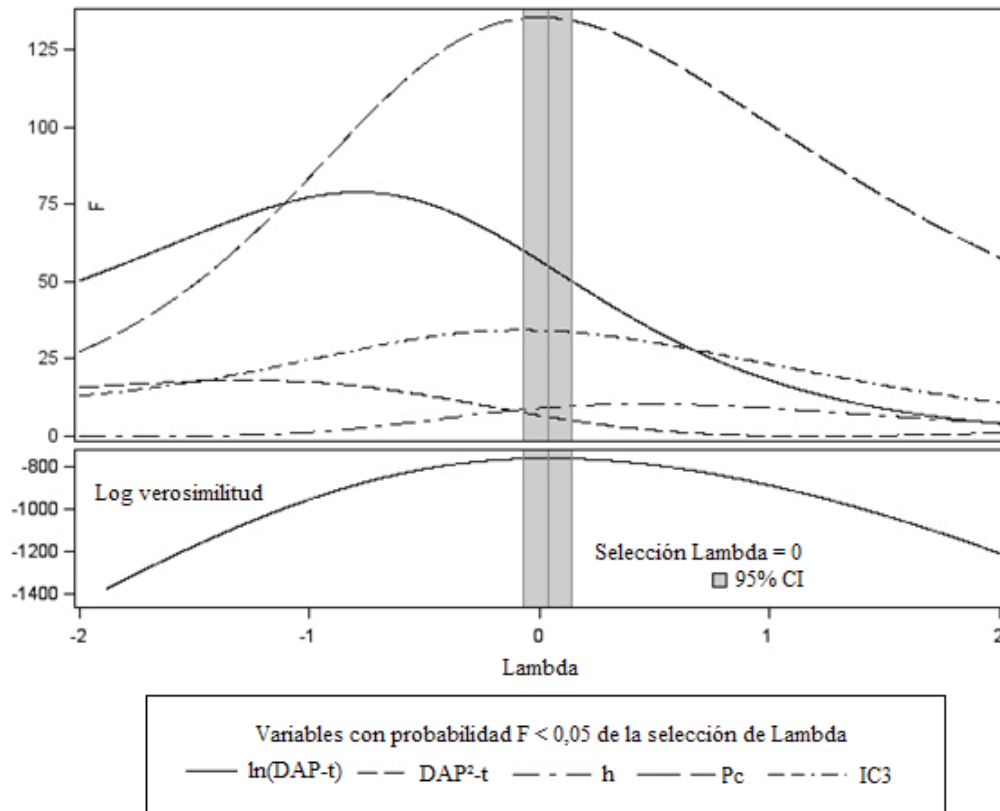


Figura 1. Variables con probabilidad $F < 0,05$ y el perfil de verosimilitud de la selección de valor de lambda para describir el incremento periódico en área basal de árboles muestreados en los sitios de estudio en el sur de Brasil.

Variables with probability $F < 0.05$ and likelihood profile of the lambda value selection to describe the periodic increment in basal area of trees sampled in the study sites in southern Brazil.

del período en centímetros; DAP^2-t : diámetro a la altura del pecho al cuadrado al inicio del período en centímetros; h : altura en metros; $Pc\%$: proporción de la copa; $IC3$: índice de competencia; e : base del logaritmo natural.

La competencia ejercida por otros árboles en el árbol objetivo, cuantificado por el índice de competencia (figura 3E), influyó en la morfometría, especialmente, en las variables asociadas con el tamaño de la copa. El análisis de los residuos en función del DAP al comienzo del período ($DAP-t$) (figura 3F) mostró una distribución homogénea sin la presencia de errores sistemáticos que sobrestiman o subestiman valores.

DISCUSIÓN

La función y sus correlaciones. La función modificadora ajustada presenta uso potencial para la construcción de modelos cuando se quiere lograr una mayor precisión de las estimaciones. Los resultados muestran la dependencia de la relación del incremento periódico anual en área basal con el diámetro al inicio del período y las variables de la copa, lo que indica que el crecimiento y la dinámica es-

tructural del bosque se ven afectados por los cambios en la forma de los árboles.

La correlación positiva del incremento periódico con esas variables muestra que el aumento de las tasas de incremento es proporcional al aumento de las variables y se puede utilizar como una relación de proximidad entre la asignación de recursos y el modelado de la dinámica del bosque. Pretzsch y Dieler (2011) demostraron con sus estudios que el modo de la competencia y las relaciones interdimensionales pueden cambiar con los gradientes ecológicos y, temporalmente, con el desarrollo del bosque.

La correlación entre el incremento y las variables de diámetro y de dimensión de copa muestra su importancia para indicar la capacidad de producción del bosque, pues cuanto mayor la dimensión de copa, mayor el área de copa, mejor su potencial fotosintético y mayor el incremento diamétrico. Para eso, los árboles necesitan mayor extensión de la copa y, por consiguiente, necesidad de espacio para su expansión y de recursos bióticos y abióticos (Lang *et al.* 2010) para su desarrollo. Además, con sus cambios estructurales (cambios en la forma con el tiempo, ingreso de nuevos individuos, sucesión forestal) se puede planificar la necesidad de las futuras intervenciones silvícolas.

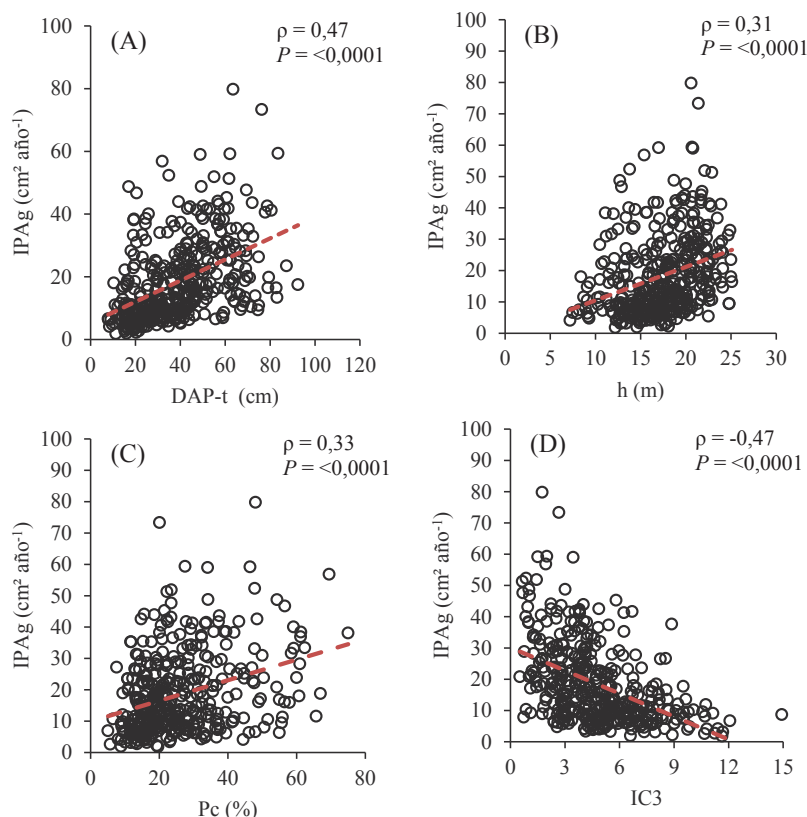


Figura 2. Correlación de Pearson (ρ) y análisis gráfico del incremento periódico anual en área basal (IPAg) en función de las variables: A) DAP-t: diámetro a la altura del pecho al inicio del período en centímetros; B) altura (h) en metros; C) proporción de la copa (Pc%); D) índice de competencia (IC3); de árboles muestreados en los sitios de estudio en el sur de Brasil.

Pearson correlation (ρ) and graphical analysis of the annual periodic increment in basal area (IPAg) as a function of variables: A) DAP-t: diameter at breast height at the beginning of the period in cm; B) height in m (h); C) proportion of the crown (Pc%); D) competition index (IC3); of the trees sampled in the study sites in southern Brazil.

Los resultados muestran la lógica de esta relación, pues el incremento en el área basal mostró una correlación negativa con el índice de competencia, o sea, el incremento y el crecimiento de los árboles tienen relación directamente proporcional con el tamaño de la copa, del espacio y con los recursos del sitio, e inversamente proporcional con la competencia, que afecta a la expansión, el crecimiento y la dinámica estructural del bosque. Los resultados son consistentes con la investigación realizada para el modelado de los árboles individuales de otras coníferas (Monserud y Sterba 1996).

De este modo, las relaciones interdimensionales de los árboles pueden predecir el espacio requerido para el árbol en todo su desarrollo, juzgando así su competencia y permitiendo llegar a conclusiones acerca de la estabilidad, la vitalidad y la productividad de cada individuo, que sirve como una herramienta práctica para intervenciones silvícolas, especialmente, cuando no se conoce la edad de los árboles (Durlo 2001).

Incremento periódico y cambios estructurales. El índice de competencia (IC3) representa en la función modificadora

el componente de descenso del incremento periódico anual en área basal, ya que mide las condiciones actuales de la competencia, mientras que los índices morfométricos en la función expresan el efecto de la competencia en el pasado. Eso explica los cambios estructurales y en la dinámica de las copas como factores que reducen la capacidad de crecimiento de los árboles. Cole y Lorimer (1994) obtuvieron aumento en el ajuste de las estimaciones de incremento en área basal cuando incluyeron en los modelos variables de área de proyección de la copa, porcentaje de área de la copa expuesta y la altura relativa, con valores de coeficiente de determinación de 0,77 a 0,88 y un aumento del 13 al 47 % en la precisión del ajuste, en comparación con ecuaciones con solamente variables de competencia en función del diámetro a la altura del pecho para *Acer saccharum* Marshall, *Fraxinus americana* L. y *Tilia americana* L.

Los resultados revelan que el desarrollo de las variables de forma de los árboles, acompañado con los cambios en la estructura del bosque, afectan a lo largo del tiempo los procesos tales como la absorción de luz, la intercepción y evapotranspiración del agua, la fotosíntesis y la respira-

ción, que a su vez influye en el crecimiento de los árboles y en el ciclo de vida de los organismos (Pretzsch 2009).

Según el mismo autor, la estructura de los bosques determina la competencia por los recursos, la producción de biomasa y las condiciones de crecimiento de las especies,

así como la renovación del sistema y el desarrollo de la regeneración. La estructura de la copa es crucial para el ciclo de retroalimentación de los árboles entre la funcionalidad y la estructura en el medio ambiente, principalmente en bosques mixtos, donde diferentes especies muestran su

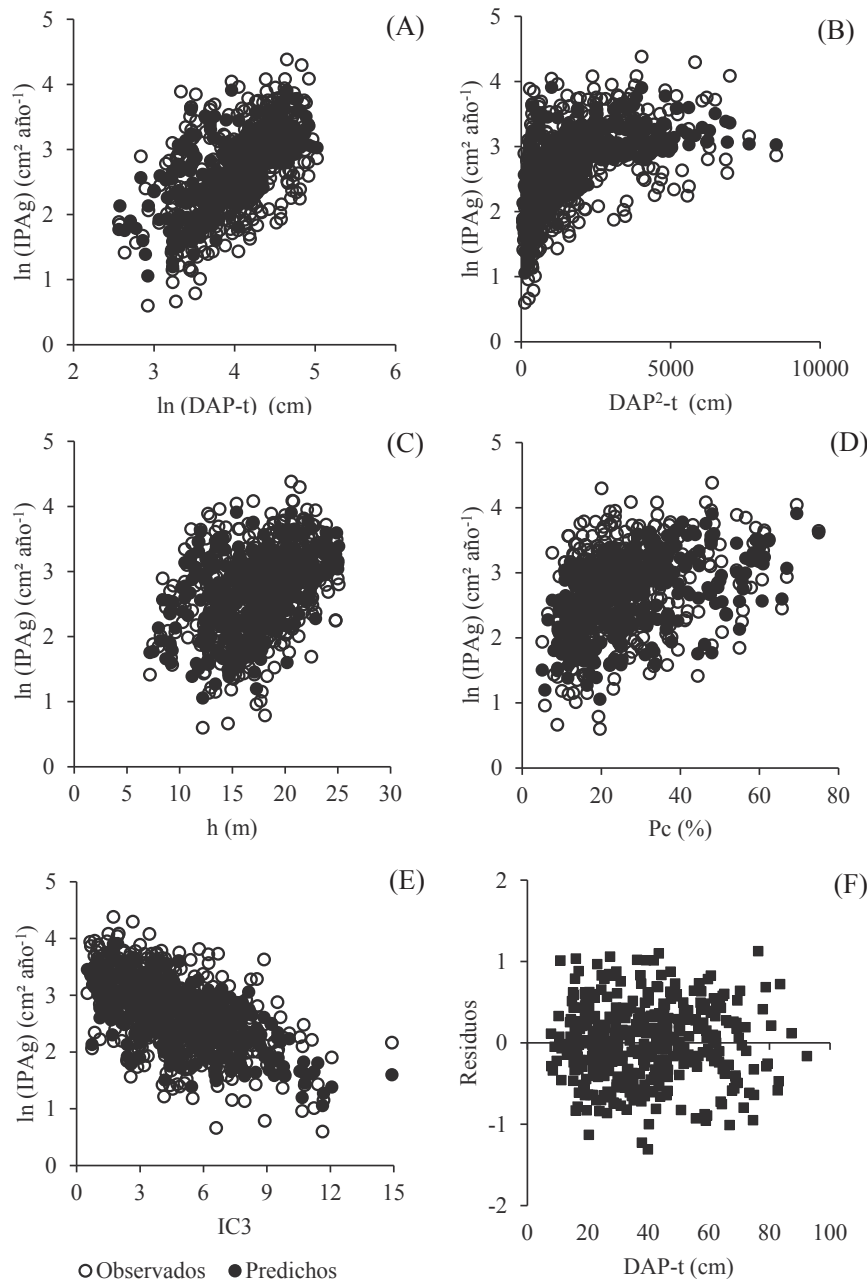


Figura 3. Valores observados y predichos de la ecuación de ajuste de incremento periódico en el área basal en función de cada variable independiente: A) $\ln(\text{DAP-t})$: logaritmo del diámetro a la altura del pecho al inicio del periodo en centímetros; B) $\text{DAP}^2\text{-t}$: diámetro a la altura del pecho al cuadrado al inicio del periodo en centímetros; C) h : altura en metros; D) $\text{Pc}\%$: proporción de la copa; E) IC3 : índice de competencia; F) residuos en función del diámetro a la altura del pecho al inicio del periodo en centímetros.

Observed and estimated values of the adjusted equation of periodic increment in basal area as a function of each independent variable: A) $\ln(\text{DAP-t})$: logarithm of diameter at breast height at the beginning of the period in cm; B) $\text{DAP}^2\text{-t}$: diameter at breast height at the beginning of the period squared in cm; C) h : height in m; D) $\text{Pc}\%$: proportion of the crown; E) IC3 : competition index; F) residuals in function of diameter at breast height at the beginning of the period in cm.

capacidad para adaptar su estructura, capturar los recursos escasos eficientemente o denegar el acceso a los competidores por los mismos recursos.

El descenso del incremento en el área basal se comprueba cuando se produce un aumento en la densidad de árboles en los bosques y muestra la eficiencia del modelo para evaluar la dinámica del bosque y de su aplicación en el manejo forestal. Lo que justifica el uso de raleo selectivo sostenible, que contribuya a la reanudación del crecimiento y de la regeneración natural (Souza *et al* 2008), porque actualmente, por no sufrir intervenciones silvícolas, los remanentes de Bosques de Araucaria presentan tasas mínimas de regeneración.

CONCLUSIONES

La función modificadora mostró una mejoría en la capacidad de predicción, que tiene como variables actuales de tamaño, el diámetro a la altura del pecho y la altura total del árbol. Por lo tanto, la variable proporción de la copa expresa la competencia pasada y la variable índice de competencia es un descriptor de la competencia actual.

La función modificadora explica los cambios en la estructura y la dinámica del bosque, mostrando que esos cambios se producen hasta un punto máximo, en el que la densidad y la competencia indican el descenso del crecimiento y la necesidad de intervenciones silvícolas.

La reducción del incremento con el aumento de la densidad y competencia afecta a la formación de árboles con mayor diámetro en el futuro, debido al estancamiento o estabilización del crecimiento, lo que ocasiona cambios en estructura y dinámica de diámetros del bosque, compromete la reanudación de su crecimiento (mismo con intervenciones) y afecta a la expansión de su copa.

REFERENCIAS

Alvares CA, JL Stape, PC Sentelhas, JLM Gonçalves, G Sparovek. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift* 22(6): 711-728.

Box GEP, DR Cox. 1964. An analysis of transformations. *Journal of the Royal Statistical Society* 26(2): 211-243.

Cole WG, CG Lorimer. 1994. Predicting tree growth from crown variables in managed Northern hardwood stands. *Forest Ecology and Management* 67: 159-175.

Corona P, A Ferrara. 1989. Individual competition indices for conifer plantations. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 27: 429-437.

Costa EA, CAG Finger, AF Hess. 2015. Modelo de incremento em área basal para árvores de araucária de uma floresta inequiana. *Pesquisa Florestal Brasileira* 35(83): 239-245.

Daniels RF, HE Burkhardt, TR Clason. 1986. Comparison of competition measures for predicting growth of loblolly pine trees. *Canadian Journal for Forest Research* 16(2): 1230-1237.

Durlo MA. 2001. Relações morfométricas para *Cabralea canje-*

rana (Well.) Mart. *Ciência Florestal* 11(1): 141-150.

Giraud AR, H Povedano, MJ Belgrano, E Krauczuk, U Pardiñas, A Miquelarena, D Ligier, D Baldo, M Castelino. 2003. Biodiversity status of the interior Atlantic forest of Argentina. In Galindo-Leal C, V Câmara eds. *The Atlantic Forest of South America: Biodiversity Status, Threats, and Outlook*. Washington DC, USA. Island Press. p. 160-180.

Hasenauer, H. 2006. *Sustainable Forest Management: Growth Models for Europe*. Berlin, Germany. Springer-Verlag. 398 p.

Hegyí FA. 1974. A simulation model for managing jack-pine stands. In Fries J ed. *Growth models for tree and stand simulation*. Stockholm, Sweden. Royal College of Forestry 30. p. 74-90.

Lang AC, W Härdtle, H Bruelheide, C Geibler, K Nadrowski, A Schuldt, M Yu, G von Oheimb. 2010. Tree morphology responds to neighbourhood competition and slope in species-rich forests of subtropical China. *Forest Ecology and Management* 260: 1708-1715.

Lorimer CG. 1983. Tests of age independent competition indices for individual trees in natural hardwood stands. *Forest Ecology and Management* 6: 343-360.

Monserud RA, H Sterba. 1996. A basal area increment model for individual trees growing in even-and-uneven-aged forest stands in Austria. *Forest Ecology and Management* 80: 57-80.

Mugasha AG. 1989. Evaluation of Simple Competition Indices for the Prediction of Volume Increment of Young Jack Pine and Trembling Aspen Trees. *Forest Ecology and Management* 26: 227-235.

Pretzsch H. 2009. *Forest dynamics, growth and yield. From measurement to model*. Berlin, Germany. Springer. 664 p.

Pretzsch H, J Dieler. 2011. The dependency of the size-growth relationship of Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) and European beech (*Fagus sylvatica* [L.]) in forest stands on long-term site conditions, drought events, and ozone stress. *Trees* 25(3): 355-369.

Rouvinen S, T Kuuluvainen. 1997. Structure and asymmetry of tree crowns in relation to local competition in a natural mature Scots pine forest. *Canadian Journal for Forest Research* 27: 890-902.

SAS (Statistical Analysis System, US). 2004. *The SAS System for Windows*. Cary, USA. SAS Institute.

Souza AF, C Forgiarini, SJ Longhi, DA Brena. 2008. Regeneration patterns of long-lived dominant conifer and the effects of logging in southern South America. *Acta Oecologica* 34: 221-232.

Sprugel DG. 1983. Correcting for Bias in Log-Transformed Allometric Equations. *Ecology* 64: 209-210.

Weiskittel AR, DW Hann, JA Kershaw, JK Vancley. 2011. *Forest Growth and Yield Modeling*. Chichester, UK. Wiley-Blackwell. 415 p.

Wykoff WR. 1990. A basal area increment model for individual conifers in northern Rocky Mountains. *Forest Science* 36(4): 1077-1104.

Zhang L, C Peng, Q Dang. 2004. Individual tree basal area growth models for jack pine and black spruce in northern Ontario. *Forestry Chronicle* 80(3): 366-374.

Tratamientos pregerminativos para la ruptura de la dormición en semillas de tres poblaciones de *Ramorinoa girolae*, leñosa endémica de zonas áridas en Argentina

Pre-germinative treatments for seed dormancy breaking of three populations of *Ramorinoa girolae*, an endemic woody species from arid zones in Argentina

Ricardo M Zapata ^{**}, Carmen Azagra Malo ^b, Marcos S Karlin ^a

*Autor de correspondencia: ^a Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento Recursos Naturales, Valparaíso S/N, Ciudad Universitaria, CC 509, CP 5000, Córdoba, Argentina, rzapata@agro.unc.edu.ar

^b Universidad de Lleida, Departamento de Producción Vegetal y Ciencia Forestal, España.

SUMMARY

For the conservation of species, especially those endemic or vulnerable, it is necessary to deepen the knowledge about their ecological dynamic and to find adequate techniques for multiplication. *Ramorinoa girolae*, “chica”, is an endemic woody species of the xerophytic flora from western Argentine arid regions, with a restricted occupation area and fragmented communities. The lack of records makes relevant the conduction of research underpinning knowledge of the species, regeneration mechanisms and multiplication techniques. The objective of this work was to study the behavior of seeds of three populations under germination conditions and the response for different pre-germinative treatments. Germination trials were made in the laboratory with different pre-germinative techniques using the seeds of three populations under a completely aleatory design. Results confirm the presence of physical dormancy in seeds restricting the imbibing process for their rapid germination. The treatments, hot water scarification and mechanical scarification with sandpaper, increase significantly the germination percentages. The best treatment is mechanical scarification with sandpaper, reaching values of 92 % of germination at five days from the beginning of the treatment. The uneven response of germination of the different populations confirms the different behavior of local populations and results interesting for ecosystem studies and future lines of investigation and management of this species. These technical aspects appear as relevant for the application of reforestation and environmental restoration programs.

Key words: dormancy, reforestation, pre-germinative treatments, endemic species, arid ecosystems.

RESUMEN

Para la conservación de las especies, especialmente endémicas o vulnerables, es necesario profundizar el conocimiento de su dinámica ecológica y encontrar técnicas adecuadas de multiplicación. *Ramorinoa girolae*, “chica”, es una especie leñosa endémica de la flora xerófila del oeste árido argentino, con restringida área de ocupación y distribución fragmentada. La falta de antecedentes hace relevante realizar investigaciones que fundamenten el conocimiento de la especie, los mecanismos de regeneración y las técnicas para su multiplicación. El objetivo de este trabajo fue estudiar el comportamiento de semillas de tres poblaciones en condiciones de germinación y la respuesta a diferentes tratamientos pregerminativos. Se realizaron ensayos de germinación en laboratorio con distintas técnicas pregerminativas utilizando semillas de tres poblaciones bajo un diseño completamente aleatorizado. Los resultados confirman la presencia de dormición física en las semillas que restringen el proceso de imbibición para su rápida germinación. Los tratamientos ensayados, escarificación con agua caliente y mecánica con lija, incrementan significativamente los porcentajes de germinación. El tratamiento que produce mejores resultados es la escarificación mecánica con lija, alcanzando valores del 92 % de germinación a los cinco días de comenzado el tratamiento. La desigual respuesta de germinación de distintas poblaciones confirma el comportamiento diferente de poblaciones locales que resulta de interés en los estudios ecosistémicos y futuras líneas de investigación y gestión de esta especie. Estos conocimientos son relevantes en la propagación de la especie y la aplicación de programas reforestación y restauración ambiental.

Palabras clave: dormición, reforestación, tratamientos pregerminativos, especie endémica, ecosistemas áridos.

INTRODUCCIÓN

El germoplasma de las poblaciones vegetales que se desarrollan en condiciones de aridez se encuentra frecuentemente amenazado por la conjunción de condiciones am-

bientales, tales como el marcado déficit hídrico, altas temperaturas, suelos descubiertos (Solh y van Ginkel 2014) y factores relacionados con la gestión, como la falta de políticas ambientales, tala indiscriminada de las especies leñosas y el sobrepastoreo; dificultando las posibilidades

de estas poblaciones naturales para regenerarse y acrecentando el riesgo de su extinción (Javed *et al.* 2013).

Los estudios sobre la recolección y conservación de germoplasma de poblaciones vegetales naturales, su multiplicación, manejo y la valoración de la variabilidad genética, constituyen la base para su posterior uso, domesticación y manejo, evitando así procesos de erosión genética (Jaramillo y Baena 2000). Para la conservación de una especie es necesaria su identificación, caracterización y profundizar el conocimiento de su dinámica ecológica, con el fin de encontrar las técnicas más adecuadas de multiplicación para obtener renuevos en vivero y poder realizar *a posteriori* ensayos de reforestación (Villagra *et al.* 2004, Villarreal Garza *et al.* 2013), lo cual resulta de especial relevancia en aquellas especies endémicas, vulnerables o amenazadas.

El endemismo surge como consecuencia de la especialización provocada ante la presencia de barreras naturales que impiden el intercambio genético, apareciendo especies restringidas a esas zonas geográficas (Godoy-Bürki *et al.* 2014). Estas especies son vulnerables, pues sus poblaciones suelen tener reducido número de individuos y acervos génicos así como limitadas capacidades de adaptación a nichos ambientales diferentes (Brooks *et al.* 2002). Es por ello que las especies endémicas requieren especial atención en cuanto a su conservación y la necesidad de revalorizar la potencialidad de sus funciones ecológicas y productivas (Casas y Parra 2007).

Ramorinoa girolae Speg., “chica” (Fabaceae, tribu Dalbergiae), es una especie leñosa endémica característica de la flora xerófila del oeste árido argentino (Cangiano *et al.* 1998). Habita en el cuadrante delimitado por los paralelos 29° 30' y 32° 30' S y los meridianos 67° 00' y 68° 05' O, entre los 700 y los 2.400 m s.n.m. (Zapata *et al.* 2009). La especie integra un género monotípico de la tribu Dalbergiae (Subils 1983), dentro de la cual se incluyen especies leñosas económicamente importantes por sus maderas duras (*Dalbergia* spp. y *Pterocarpus* spp.), por sus cualidades forrajeras (*Stylosanthes* spp.) y propiedades industriales (*Arachis* spp.) (Lavin *et al.* 2001). La madera de esta especie es usada como combustible por su alto poder calorífico y para la confección de artesanías y utensilios rurales por su gran dureza y resistencia (Demaio *et al.* 2015), siendo sus semillas comestibles y empleadas ancestralmente como alimento por las poblaciones humanas locales (Gómez Sosa 1994). Por ser fuente de componentes antioxidantes y poseer alto contenido de aceites oleicos y potasio, estas semillas pueden constituir una opción valiosa para la alimentación humana (Luna *et al.* 2013).

Ramorinoa girolae es una de las pocas especies leñosas arbóreas que se desarrolla en la Región Fitogeográfica del Monte (Demaio *et al.* 2015) la cual posee características climáticas áridas. Su endemismo, su función en el ecosistema y la potencialidad de uso alimenticio por parte de comunidades rurales, hacen necesario el inicio de investigaciones que revelen su comportamiento ecológico para su gestión y conservación. Su restringida área de ocu-

pación así como el agrupamiento de individuos que conforman comunidades vegetales fragmentadas y distribuidas a manera de islas (Hadad *et al.* 2014), pueden definir poblaciones locales con características y comportamientos ecofisiológicos diferentes (Morlans 2004). La falta de antecedentes en la materia hace relevante la publicación de investigaciones que fundamenten el conocimiento de la especie para su uso sustentable. Así, se consideran prioritarias las indagaciones sobre los mecanismos de regeneración, germinación de semillas y la aplicación de técnicas para su multiplicación.

Debido a la presencia de latencia, no todas las semillas colocadas bajo condiciones favorables de germinación pueden generar plántulas; según Doria (2010), hay varias causas que determinan la dormición en las semillas, entre ellas la presencia de embriones rudimentarios o fisiológicamente inmaduros, la resistencia mecánica de las cubiertas seminales o la impermeabilidad de las mismas, la presencia de inhibidores, etc. Las especies leguminosas se caracterizan por presentar testa dura, condición que inhibe temporariamente la germinación. Para mejorar este proceso y acelerar la obtención de plántulas, existen diversos tratamientos pregerminativos, siendo los métodos más comúnmente empleados las escarificaciones mecánica, química y física, entre otras (Kimura e Islam 2012). Estas técnicas han sido empleadas en varias especies leñosas de los géneros *Prosopis* y *Acacia*, que habitan también las regiones áridas de Argentina (Villagra *et al.* 2004).

La mayoría de las semillas de leguminosas silvestres de la misma tribu que la chica, tales como los géneros *Dalbergia* (Parrotta 1989) y *Stylosanthes* (Castillo y Guenni 2001), poseen algún grado de reposo, letargo o dormición, que normalmente se interrumpe cuando se presentan las condiciones adecuadas para la germinación (Sánchez-Paz y Ramírez-Villalobos 2006). Para el caso de *R. girolae*, son escasos los antecedentes bibliográficos en general de la especie y de experiencias registradas sobre técnicas para su multiplicación.

La hipótesis del trabajo es que las semillas de *R. girolae* poseen dormición, mecanismo que debe ser superado a través de tratamientos pregerminativos para lograr una rápida germinación y un stand de plantas homogéneo en la etapa de vivero. Al conformar poblaciones locales fragmentadas, sus comportamientos fisiológicos incluida la germinación son diferentes.

El objetivo de este trabajo es estudiar el comportamiento de semillas de tres poblaciones de *R. girolae* puestas en condiciones de germinación y la respuesta de las mismas a diferentes tratamientos pregerminativos, para avanzar en el conocimiento de la dinámica ecológica de la especie y contribuir a su uso sustentable y conservación.

MÉTODOS

Ramorinoa girolae es una especie de porte arbustivo o arbóreo de hasta 10 metros de altura, de copa globosa,

áfila, con tallos fotosintetizantes cerosos que le otorgan las características xerófilas. Las flores, reunidas en racimos axilares de color amarillo, dan origen a un fruto en forma de legumbre leñosa extremadamente dura y resistente (Demaio *et al.* 2015). Cada inflorescencia origina entre 1 y 3 legumbres de maduración estivo-otoñal, secas, leñosas y fibrosas e indehiscentes, pudiendo permanecer las semillas en el interior del fruto por largo tiempo (Gómez Sosa 1994)(figura 1).

Su hábitat está caracterizado por precipitaciones de ocurrencia estival (entre noviembre y marzo) que varían entre 100 y 350 mm, de carácter torrencial y con una marcada variabilidad temporal y espacial (Abraham *et al.* 2009). La relación entre las precipitaciones y la evapotranspiración potencial oscila entre 0,05 y 0,5. El área presenta, además, una gran amplitud térmica anual, siendo la temperatura media del mes más cálido (enero) de 25 °C y la del mes más frío (julio) de 11 °C, con variaciones locales en función de la altitud (Labraga y Villalba 2009).

Dentro del área de distribución de la especie (figura 2), se seleccionaron tres poblaciones locales (Morlans 2004), en diferentes posiciones geográficas distanciadas a más de 40 km entre ellas y separadas por barreras orográficas. En el mes de abril, estando los frutos maduros, se colectaron las legumbres de la copa de un conjunto de árboles en las tres poblaciones seleccionadas que fueron:

1. Población N° 1: Talampaya. 29°40'S; 67°44'O
2. Población N° 2: Ischigualasto. 30°12'S; 67°49'O
3. Población N° 3: Vilgo. 29°56'S; 67°23'O

Los frutos fueron abiertos individualmente realizando un corte lateral mediante una sierra de metal, extrayéndose posteriormente las semillas contenidas en su interior. Se realizó una selección de las semillas, descartando las dañadas,

perforadas o defectuosas. Del conjunto de semillas de cada población se separaron para cada tratamiento, cuatro grupos (repeticiones) de 25 semillas cada uno, según recomendaciones del Manual para Manejo de Semillas (Rao *et al.* 2007). Los tratamientos realizados fueron:

- A) Condición testigo (T0): Las semillas no recibieron ningún tratamiento pregerminativo previo a la colocación en la cámara de germinación.
B) Tratamientos pregerminativos:

T1: Inmersión en agua caliente a temperatura inicial de 80 °C durante 24 horas. Cada lote de 100 semillas, de cada una de las tres poblaciones, se colocó en un recipiente de vidrio donde se vertió agua caliente a temperatura inicial de 80 °C, dejando que la temperatura alcanzara progresivamente la temperatura ambiente (20 °C +/- 1 °C).

T2: Inmersión en agua a temperatura ambiente (20 °C) durante 24 horas. Para el tratamiento con agua a temperatura ambiente se siguió el mismo procedimiento que en el apartado anterior, quedando las semillas sumergidas durante 24 horas en agua a 20 °C +/- 1 °C.

T3: Escarificación mecánica. Abrasión de la semilla con lija. Las semillas fueron sometidas en forma individual a la acción abrasiva de papel de lija de grano mediano N° 80 (Normas ANSI y FEPA "P"), en forma manual, presionando y arrastrando la semilla sobre la lija por la parte opuesta de la región micropilar.

En todos los casos las semillas fueron tratadas posteriormente con una solución de hipoclorito de sodio al 5 %

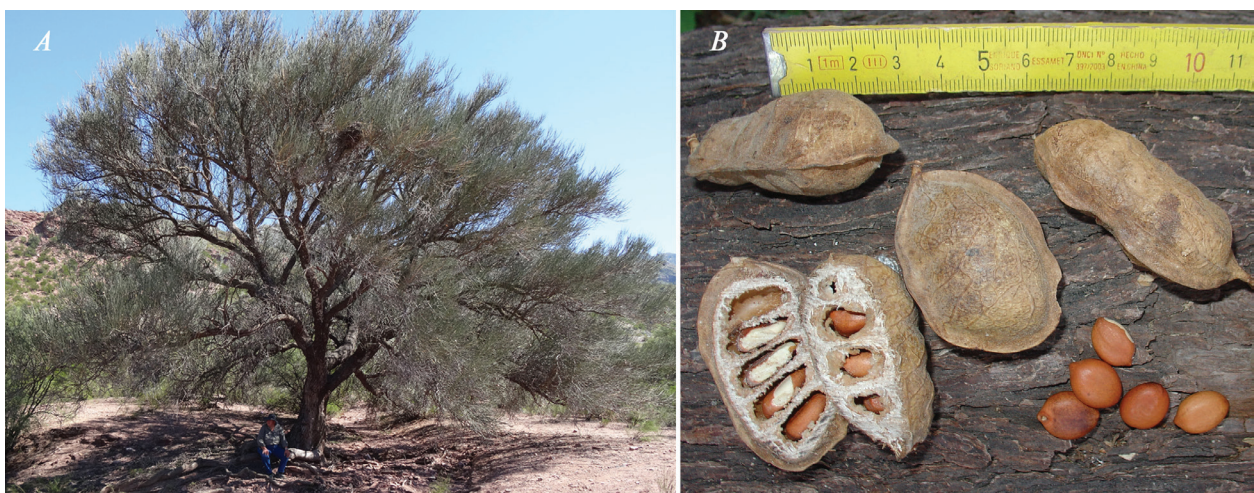


Figura 1. A) Ejemplar adulto de "chica"; B) Detalle de frutos y semillas.

A) Adult specimen of the "chica". B) Detail of fruits and seeds.

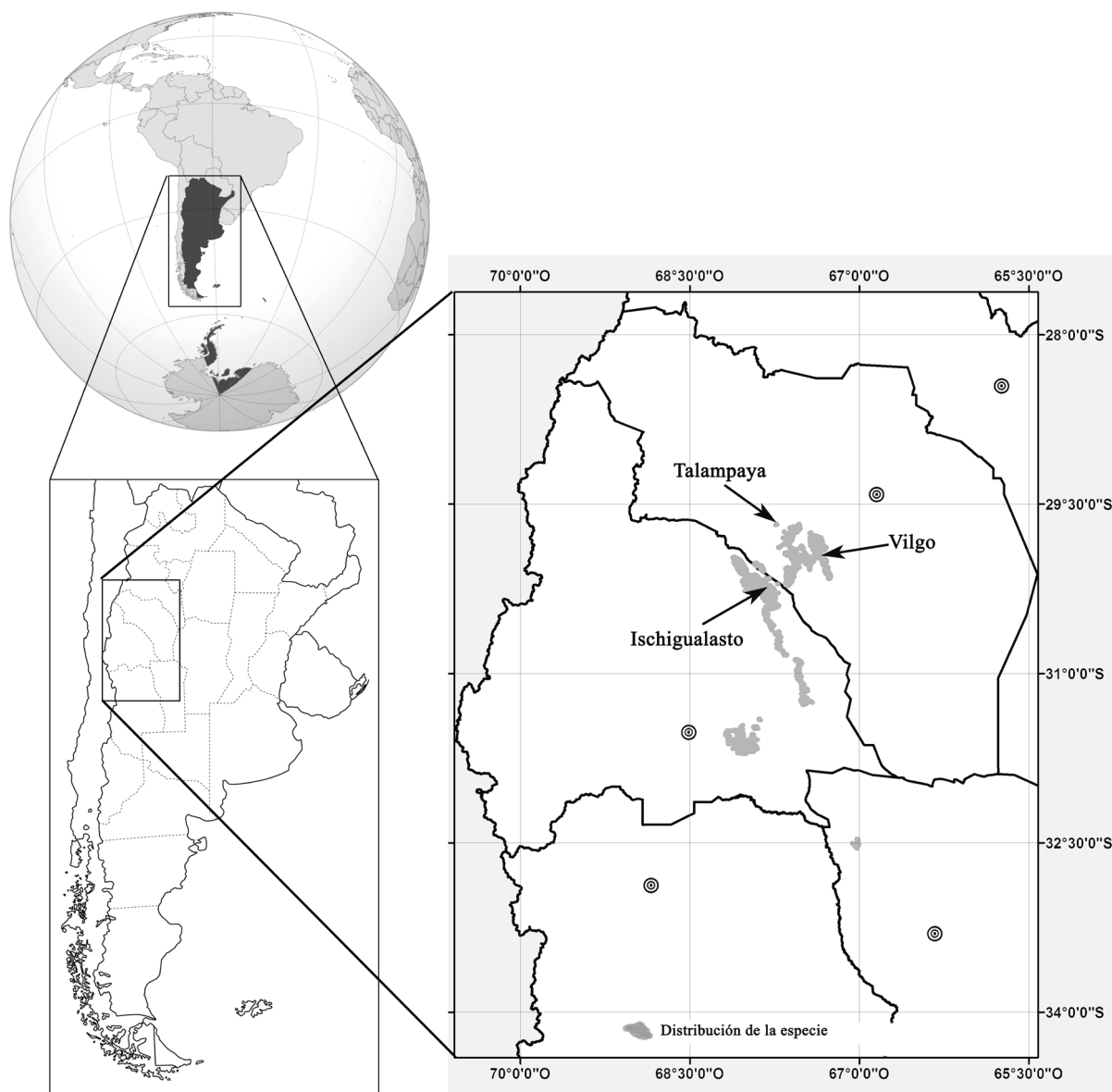


Figura 2. Área de distribución de *Ramorinoa girolae* en Argentina y poblaciones seleccionadas.

Distribution area of *Ramorinoa girolae* in Argentina and selected populations.

a los efectos de prevenir la aparición de enfermedades fúngicas. A continuación las semillas de cada repetición se colocaron sobre papel de filtro doble hoja previamente humedecido sobre una bandeja plástica y dentro de bolsas de nylon para mantener la humedad. Posteriormente las bandejas fueron colocadas en cámara de germinación a temperatura alterna de 20-30 °C y ciclo de luz-oscuridad de 8 y 16 h, respectivamente (ISTA 1999), en el Laboratorio de Semillas de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba.

Para la evaluación de las semillas en la germinación en laboratorio se aplicaron los protocolos indicados en las Normas ISTA (1999, 2003). Considerando las mismas, se adoptó para el presente trabajo el concepto de germinación

de la semilla como el comienzo de la aparición de la raíz tras romper la cubierta seminal y a lo largo de 30 días se efectuó el recuento de semillas germinadas, duras, hinchadas por imbibición y muertas.

La variable respuesta en todos los tratamientos fue la germinación de la semilla evaluada por el registro de la presencia de la radícula por fuera de la cubierta seminal, contabilizándose la cantidad de semillas germinadas sobre el total.

Los ensayos de germinación en laboratorio se llevaron a cabo bajo un diseño completamente aleatorizado. Los datos expresados en porcentajes de germinación fueron transformados aplicando la raíz cuadrada del arco-seno a fin de normalizar su distribución y sobre estos valores

se realizó la evaluación mediante análisis de la varianza (ANDEVA), evaluando la respuesta entre tratamientos e interacción entre estos y la población. Las diferencias entre las medias se sometieron a una prueba de comparación *a posteriori* utilizando la prueba de Tukey, considerando un nivel de significación para una $P < 0,05$. Para la interacción población y tratamiento, se aplicó un test DGC ($P < 0,05$) (Di Rienzo *et al.* 2002) a fin de exponer diferencias significativas entre cada interacción. Para el análisis estadístico se utilizó el programa InfoStat (Di Rienzo *et al.* 2012).

La caracterización del proceso germinativo se evaluó gráficamente mediante curvas de germinación acumulada, en las cuales se visualizaron los índices que se han usado para estudiar numéricamente el fenómeno.

RESULTADOS

Condición testigo. En las semillas de la condición testigo se observó que durante los primeros cinco días se producía el hinchamiento solo de menos del 5 % de las semillas, evidenciado por un aumento notorio de su tamaño original, correspondiendo este fenómeno a la etapa de imbibición. Para aquellas semillas que mostraron cambio de tamaño por efecto de este fenómeno, el inicio de la manifestación comenzó a partir del día 2 de colocadas en el papel filtro humedecido, permaneciendo en este estado por 24 a 48 h, a partir de las cuales se produjo la emergencia del ápice radical por el extremo de las semillas (figura 3).

El proceso de emergencia de la radícula (figura 4) se manifestó durante los 30 días de observación, ocurriendo solo en una cantidad muy baja de las semillas en los primeros 10 días del proceso (menos del 20 %). Entre los 15 y 20 días se registró el mayor porcentaje de germinación, decayendo a partir de este periodo el número de nuevas semillas germinadas, hasta llegar al día 30 donde finalizó el ensayo. Al finalizar el período de observación, las semillas no germinadas permanecían en su estado original, consecuentemente no se produjo el ingreso de agua a su interior y no se inició el proceso de imbibición.

Las tres poblaciones respondieron de manera similar en la cantidad de semillas germinadas hasta transcurridos 15 días del inicio de la experiencia. A partir de este lapso, la población de Vilgo logró un salto diferencial con respecto a las otras poblaciones con un porcentaje de germinación mayor al 50 %. Al final del periodo de evaluación se observaron diferencias significativas ($P = 0,0029$) en el poder germinativo entre las poblaciones evaluadas. La prueba de Tukey diferenció la población de Vilgo, con mayor porcentaje de germinación, respecto a las de Talampaya e Ischigualasto.

Tratamientos pregerminativos. Los resultados muestran diferencias significativas ($P < 0,001$) entre los tratamientos aplicados, sobre el conjunto total de semillas de las tres poblaciones analizadas (figura 5).

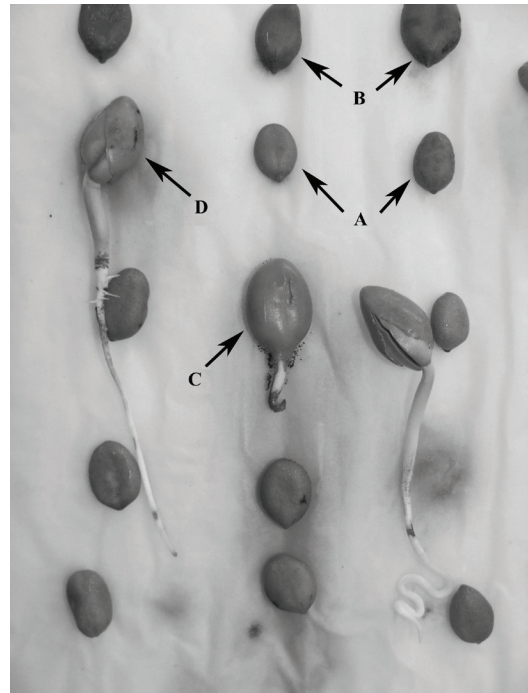


Figura 3. Desigualdad en el proceso de germinación en la condición testigo (T0) a los 15 días de comenzado el tratamiento. A) Semillas normales. B) Semillas hinchadas por imbibición. C) Semillas con emergencia de radícula incipiente. D) Semillas con raíz desarrollada y aparición de cotiledones.

Non-uniformity in the germination process in the control condition (T0) 15 days after the beginning of the treatment. a) Normal seeds. b) Swollen seeds by imbibition. c) Seeds with incipient radicle emergency. d) Seeds with developed root and cotyledon appearance.

La escarificación mecánica ofrece los mayores porcentajes de germinación, obteniéndose valores promedio del 92 %. Más del 70 % de las semillas germinaron al cabo del quinto día en comparación a los otros tratamientos y al testigo, todos ellos con menos del 20 % a la misma fecha.

El tratamiento con agua caliente mejora significativamente el porcentaje de germinación respecto al testigo, alcanzando el 70 %, aunque el período de emergencia de las radículas es más lento respecto al escarificado mecánico con lija; 20 días más para el logro de la misma cantidad de semillas germinadas.

Las semillas remojadas con agua a temperatura ambiente durante 24 horas alcanzan a los 30 días un 55 % de germinación, no mostrando diferencias significativas con el testigo, pero sí con las remojadas en agua caliente a 80 °C y escarificadas con lija.

En el tratamiento de escarificación mecánica, a partir de los 10 días de ensayo no se observó ninguna nueva semilla germinada. En los otros tratamientos y el testigo, a partir de los 20 días la cantidad de nuevas semillas germinadas disminuye notablemente, produciendo la caída y estabilización de la curva que representa la germinación acumulada.

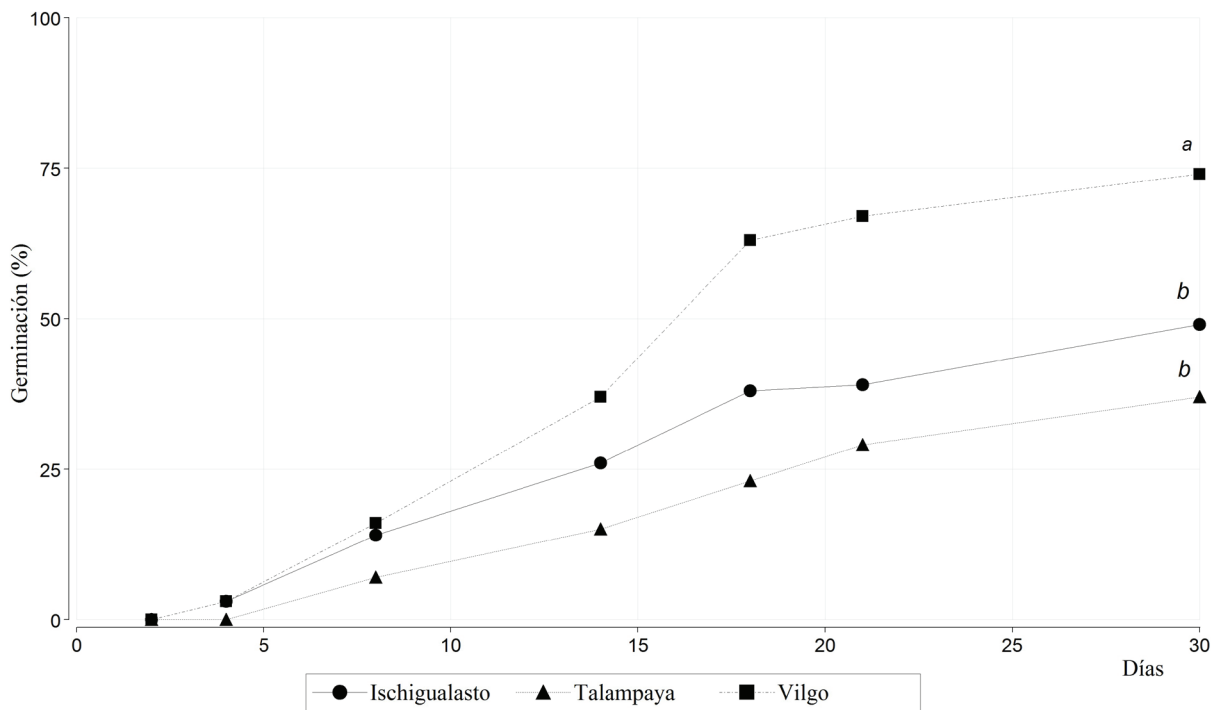


Figura 4. Porcentaje promedio de germinación en la condición testigo según poblaciones. Letras distintas indican diferencias significativas (Tukey $P < 0,05$).

Germination percentage in chamber by population. Different letters indicate significant differences (Tukey $P < 0.05$).

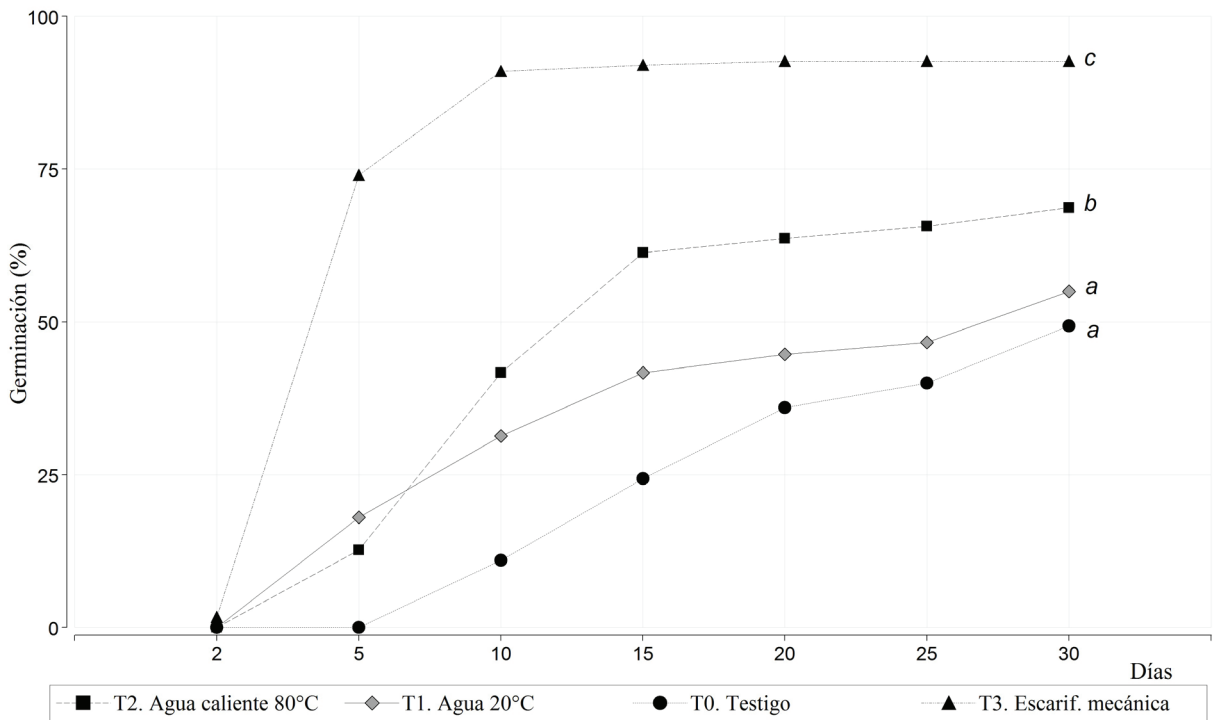


Figura 5. Porcentaje de germinación según los distintos tratamientos pregerminativos. Letras distintas indican diferencias significativas (Tukey $P < 0,05$).

Germination percentage by pre-germinative treatment. Different letters indicate significant differences (Tukey $P < 0.05$).

Las poblaciones de Ischigualasto y Vilgo presentaron mejor respuesta de germinación en los tratamientos pregerminativos, a diferencia de la población de Talampaya que, tanto para la condición testigo como los tratamientos de inmersión en agua, mostró los valores más bajos de germinación. La escarificación promueve altos y similares porcentajes de germinación para las tres poblaciones.

Si se analizan las interacciones, puede apreciarse en la figura 6 que se presentan diferencias significativas ($P < 0,001$) entre las poblaciones orígenes de la semilla y los tratamientos.

DISCUSIÓN

Los resultados de germinación confirman la presencia del estado de dormición física en las semillas, impuestas por la impermeabilidad de los tegumentos que restringen el proceso de imbibición, tal como ocurre en muchas especies de la familia Fabaceae, demostrado por varios autores (Muñoz *et al.* 2009, Villarreal Garza *et al.* 2013). Consecuentemente, a los efectos de favorecer el inicio del proceso germinativo en *R. girolae*, es necesario el empleo de técnicas que rompan esta barrera.

De los tratamientos seleccionados, la acción abrasiva de la lija, como escarificación mecánica, acelera la pene-

tración del agua al interior de la semilla, desencadenando el proceso de imbibición y una rápida germinación. El ablandamiento de las cubiertas con agua caliente, utilizado como tratamiento exitoso con otras leguminosas (Sánchez-Paz y Ramírez-Villalobos 2006, Muñoz *et al.* 2009), produce menores porcentajes de germinación que el tratamiento anterior, aunque mejora la velocidad del proceso y el porcentaje final respecto al testigo.

Se observa disparidad en la germinación de la población de Talampaya respecto a las otras dos poblaciones, tanto en la condición testigo como en los tratamientos de inmersión en agua, equiparándose los resultados en el tratamiento de escarificación mecánica. Esta situación sugiere la presencia de una cubierta seminal de mayor resistencia a la penetración del agua en los individuos de esta población, tal como lo encontraron Castillo y Guenni (2001) en *Stylosanthes hamata* (L.) Taub., quienes afirman que este tipo de latencia puede variar de acuerdo al origen del genotipo y representa una propiedad adaptativa que promueve la sobrevivencia de las plantas bajo condiciones adversas. Dicha resistencia se rompe igualmente en las semillas de todas las poblaciones mediante la escarificación mecánica.

Las semillas remojadas a temperatura ambiente durante 24 horas y el lote testigo muestran una imbibición diferencial y no uniforme de las semillas, espaciando en el

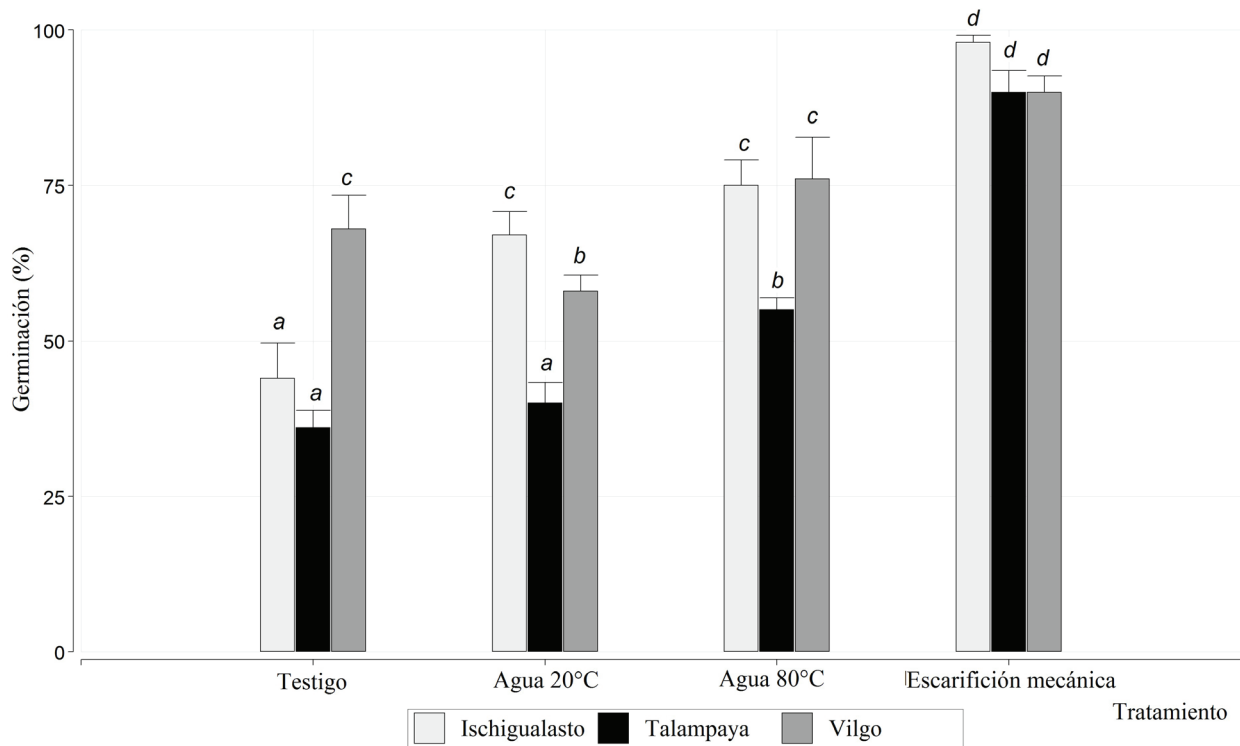


Figura 6. Porcentaje de germinación final según tratamiento y población a los 30 días. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,001$) de la interacción entre población y tratamiento.

Final germination percentage by treatment and population at 30 days. Different letters indicate significant differences ($P < 0,001$) between population and treatment interaction.

tiempo el inicio del proceso de germinación y limitando la cantidad de semillas germinadas en el período evaluado. Esta latencia ofrece la posibilidad de regular naturalmente la germinación de las semillas de esta especie como estrategia de oportunidad de instalación de nuevos individuos a campo (Castillo y Guenni 2001).

Si bien no existen diferencias significativas entre el tratamiento con inmersión en agua a temperatura ambiente y el testigo, puede apreciarse mayor número de semillas germinadas y una aceleración en los períodos de germinación.

Los mayores porcentajes de germinación se observaron con la escarificación mecánica con lija, asociado a un tiempo de germinación menor, siendo este tratamiento el más eficiente para la obtención de plantines. Esta técnica permite reducir y uniformizar el tiempo de germinación, lograr un stand de plantas óptimo frente a la cantidad de semilla empleada y reducir los costos que implica la realización de plantines en vivero, asegurando la obtención del número de plantas necesario en el menor tiempo posible y con la mayor uniformidad.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran la existencia de un estado de dormición en la semilla de *Ramorinoa girolae* que debe ser interrumpido para su rápida germinación.

Los tratamientos pregerminativos ensayados, escarificación con agua caliente y mecánica con lija, incrementan significativamente los porcentajes de germinación, indicando la existencia de barreras impermeables en la semilla como mecanismos de latencia natural.

El tratamiento que produce los mejores resultados en el proceso de germinación de la semilla de *R. girolae*, número de semillas germinadas y velocidad de ocurrencia, es la escarificación mecánica con lija, alcanzando valores del 92 % de germinación a los cinco días de comenzado el tratamiento.

La desigual respuesta de germinación en semillas de distintas poblaciones, confirma el comportamiento diferente de poblaciones locales que puede resultar de interés en los estudios ecosistémicos y en otras líneas de investigación y gestión de esta especie.

Los resultados de este trabajo permiten mejorar el conocimiento de esta especie en general, necesarios para la aplicación de técnicas de manejo en programas de conservación, reforestación o restauración ambiental.

REFERENCIAS

Abraham E, HF del Valle, F Roig, L Torres, JO Ares, F Coronato, R Godagnone. 2009. Overview of the geography of the Monte Desert biome (Argentina). *Journal of Arid Environments* 73(2): 144-153.

Brooks TM, RA Mittermeier, CG Mittermeier, GAB Da Fonseca, AB Rylands, WR Konstant, P Flick, J Pilgrim, S Oldfield, G Magin, C Hilton-Taylor. 2002. Habitat loss and extinction in the hotspots of biodiversity. *Conservation Biology* 16: 909-923.

Cangiano MA, L Zanin, H Losinno. 1998. El cariotipo de *Ramorinoa girolae* (Fabaceae). *Kurtziana* 26: 173-177.

Casas A, F Parra. 2007. Agrodiversidad, parientes silvestres y cultura. *LEISA* 23(2): 5-8.

Castillo R, O Guenni. 2001. Latencia en semillas de *Stylosanthe hamata* (Leguminosae) y su relación con la morfología de la cubierta seminal. *Revista de Biología Tropical* 49(1): 287-299.

Demaio P, U Karlin, M Medina. 2015. Árboles nativos de Argentina. Tomo 1: Centro y Cuyo. Córdoba, Argentina. Ecoval Ediciones. 188 p.

Di Rienzo JA, AW Guzmán, F Casanoves. 2002. A multiple-comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics* 7(2): 129-142.

Di Rienzo JA, F Casanoves, MG Balzarini, L Gonzalez, M Tablada, CW Robledo. 2012. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Consultado 9 jun. 2014. Disponible en <http://www.infostat.com.ar>

Doria J. 2010. Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales* 31(1): 74-85.

Godoy-Bürki AC, P Ortega-Baes, JM Sajama, L Aagesen. 2014. Conservation priorities in the Southern Central Andes: mismatch between endemism and diversity hotspots in the regional flora. *Biodiversity and Conservation* 23(1): 81-107.

Gómez Sosa E. 1994. *Ramorinoa spegazzini*. In Kiesling R ed. Flora de San Juan. Vol.1. Leguminosae. Buenos Aires, Argentina. Vázquez Mazzini. p. 331-332.

Hadad M, M Almiron, J Scaglia. 2014. Estructura de un bosque de *Ramorinoa girolae* (Fabaceae), en la Sierra de Pie de Palo, San Juan (Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 49(2): 283-292.

ISTA (International Seed Testing Association, CH). 1999. International Rules for Seed Testing. *Seed Science and Technology* 27 (suplemento): 1-333.

ISTA (International Seed Testing Association, CH). 2003. International Rules for Seed Testing. Edición 2003. Basserdorf, Switzerland. ISTA.

Jaramillo S, M Baena. 2000. Material de apoyo a la capacitación en conservación *ex situ* de recursos fitogenéticos. Cali, Colombia. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). 210 p.

Javed SB, M Anis, PR Khan, IM Aref. 2013. In vitro regeneration and multiplication for mass propagation of *Acacia ehrenbergiana* Hayne: a potential reclaiment of denude arid lands. *Agroforestry Systems* 87(3): 621-629.

Kimura E, MA Islam. 2012. Seed scarification methods and their use in forage legumes. *Research Journal of Seed Science* 5(2): 38-50.

Labraga JC, R Villalba. 2009. Climate in the Monte Desert: past trends, present conditions, and future projections. *Journal of Arid Environments* 73(2): 154-163.

Lavin M, RT Pennington, BB Klitgaard, JI Sprent, HC de Lima, PE Gasson. 2001. The dalbergioid legumes (Fabaceae): delimitation of a pantropical monophyletic clade. *American Journal of Botany* 88(3): 503-533.

Luna, LC, NB Pigni, L Torras-Claveria, MV Monferran, D Maestri, DA Wunderlin, GE Feresin, J Bastida, A Tapia. 2013. *Ramorinoa girolae* Speg (Fabaceae) seeds, an argentinean traditional indigenous food: Nutrient composition and anti-

- oxidant activity. *Journal of Food Composition and Analysis* 31: 120-128.
- Morlans MC. 2004. Introducción a la ecología de poblaciones. Catamarca, Argentina. Editorial Científica Universitaria. Universidad Nacional de Catamarca. 16 p.
- Muñoz BC, JA Sánchez, LA Montejó, Y González, J Reino. 2009. Valoración germinativa de 20 accesiones de leguminosas almacenadas en condiciones desfavorables. *Pastos y Forrajes* 32(3): 1-15.
- Parrotta JA. 1989. *Dalbergia sissoo* Roxb. Sissoo, Indian rosewood: *Leguminosae (papilionoideae)*, Legume Family. Río Piedras, San Juan. Puerto Rico. U.S. Forest Service, Southern Forest Experiment Station, Institute of Tropical Forestry. 5 p.
- Rao NK, J Hanson, ME Dulloo, K Ghosh, D Nowell, M Larinde. 2007. Manual para el manejo de semillas en Bancos de Germoplasma. Roma, Italia. Bioversity International. 165 p.
- Sánchez-Paz Y, M Ramírez-Villalobos. 2006. Tratamientos pregerminativos en semillas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. y *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Zulia* 23(3): 257-272.
- Solh M, M van Ginkel. 2014. Drought preparedness and drought mitigation in the developing world's drylands. *Weather and Climate Extremes* 3: 62-66.
- Subils R. 1983. Recuentos cromosómicos en *Ramorinoa girolae* (*Fabaceae*). *Kurtziana* 16: 166-167.
- Villagra PE, MA Cony, NG Mantován, BE Rossi, MM González Loyarte, R Villalba, L Marone. 2004. Ecología y manejo de los algarrobales de la Provincia Fitogeográfica del Monte. In Arturi MF, JL Frangi, JF Goya eds. Ecología y manejo de bosques nativos de Argentina. La Plata, Argentina. Editorial Universidad Nacional de La Plata. Presentación multimedia en CD.
- Villarreal Garza JA, A Rocha Estrada, ML Cárdenas-Ávila, S Moreno Limón, M González Álvarez, V Vargas López. 2013. Caracterización morfológica, viabilidad y germinación de semillas de Mezquite y Huizache en el noreste de México. *Phyton* 82(2): 169-174
- Zapata RM, C Azagra Malo, AM Lattandi. 2009. Distribución de poblaciones naturales de "Chica" (*Ramorinoa girolae* Speg., *Fabaceae*) Especie Endémica de Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 44 (Supl.): 105.

Recibido: 16.09.16
Aceptado: 18.01.17

Influencia de factores bióticos y abióticos en el crecimiento de la regeneración pre- y post-cosecha en un bosque de *Nothofagus pumilio*

Influence of biotic and abiotic factors on the growth of pre- and post-harvest regeneration in a *Nothofagus pumilio* forest

Guillermo Martínez Pastur ^{**}, Juan Manuel Cellini ^b, Marcelo Daniel Barrera ^b,
María Vanessa Lencinas ^a, Rosina Soler ^a, Pablo Luis Peri ^c

*Autor de correspondencia: ^a Centro Austral de Investigaciones Científicas (CADIC), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Houssay 200 (9410) Ushuaia, Tierra del Fuego, Argentina, gpastur@conicet.gov.ar

^b Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Laboratorio de Investigación de Sistemas Ecológicos y Ambientales (LISEA), Diagonal 113 n° 469 (1900) La Plata, Buenos Aires, Argentina.

^c Universidad Nacional de la Patagonia Austral (UNPA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), cc 332 (9400) Río Gallegos, Santa Cruz, Argentina.

SUMMARY

To propose new silvicultural practices, it is necessary to understand the involved ecosystem processes and the impact that they produce. The proposed practices generated several questions related to remnant tree stability, the seedling bank, seed production, regeneration dynamic and the influence of biotic and abiotic damages. The objective was to determine the influence of biotic (forest structure, seedling bank, seed production and browsing by *Lama guanicoe*) and abiotic factors (damages by freezing or drought) in the growth of pre- and post-harvest regeneration in a *Nothofagus pumilio* stand under shelterwood cutting over 20 years. Monitoring surveys of forest structure and regeneration dynamics were conducted in ten permanent plots. Results showed that the remaining overstory trees reduce their basal area after harvesting (22.3 to 10.7 m² ha⁻¹), varying their crown cover/basal area ratio (1.1 to 6.5). Also, this study suggest that: (i) recruitment, survival and growth of pre- and post-harvest regeneration is a result of the interaction of several factors, e.g. pre-existing seedling bank, post-harvest seeding production, and the biotic and abiotic damages, being more sensitive during the first four years; (ii) pre- and post-harvest plants are the responsible for generating the future forests; and (iii) abiotic factors (freezing or drought) produce higher growth loss than that produced by biotic ones (browsing). In this sense, permanent plots for long-term monitoring allow identifying the risk factors of the proposed silvicultural practices.

Key words: shelterwood cutting, stability of remnant forest, regeneration dynamics, growth, *Lama guanicoe*.

RESUMEN

Para definir nuevas prácticas silvícolas es necesario conocer los procesos ecosistémicos involucrados y los impactos que generan. Las propuestas implementadas generaron diversos interrogantes relacionados al dosel remanente, el banco de plántulas, la producción de semillas, la dinámica de la regeneración, y la influencia de daños bióticos y abióticos. El objetivo fue determinar la influencia de factores bióticos (estructura forestal, banco de plántulas, producción de semillas y ramoneo por *Lama guanicoe*) y abióticos (daños por heladas y desecamientos) en el crecimiento de la regeneración pre- y post-cosecha en un rodal de *Nothofagus pumilio* intervenido mediante una corta de protección luego de 20 años. Se realizaron monitoreos de estructura forestal y la dinámica de la regeneración en 10 parcelas permanentes. Los resultados determinaron que el dosel remanente disminuyó paulatinamente su área basal después de la cosecha (22,3 a 10,7 m² ha⁻¹), variando su relación cobertura/área basal (1,1 a 6,5) indicando una recuperación. También surgió que: (i) el establecimiento, supervivencia y crecimiento de la regeneración pre- y post-cosecha fue el resultado de la interacción de varios factores, e.g. banco de plántulas pre-existentes, producción de semillas post-cosecha, y los daños bióticos y abióticos, siendo más sensibles durante los primeros cuatro años; (ii) las plantas pre- y post-cosecha son las responsables de generar el bosque futuro; y (iii) los daños abióticos (heladas y desecamientos) produjeron mayor pérdida de crecimiento que los bióticos (ramoneo). En este sentido, las parcelas permanentes de monitoreo a largo plazo permitieron identificar factores de riesgo en las propuestas silvícolas implementadas.

Palabras clave: cortas de protección, estabilidad del dosel remanente, dinámica de la regeneración, crecimiento, *Lama guanicoe*.

INTRODUCCIÓN

La regeneración de los bosques naturales se establece y desarrolla a través de diferentes estrategias (*e.g.* sexual o asexual) a lo largo de etapas sucesionales donde se combinan competencias inter- e intra-específicas, y donde la disponibilidad de los recursos (*e.g.* agua, nutrientes o luz), el clima y el forrajeo representan las principales limitantes que modelan las estructuras forestales resultantes (Soler *et al.* 2012, Martínez Pastur *et al.* 2013a). Los bosques de *Nothofagus pumilio* (Poepp. *et* Endl.) Krasser (lenga) en Tierra del Fuego se encuentran entre los bosques con estructura y dinámica más sencillas y predecibles de los bosques templados sudamericanos: (i) están conformados por una sola especie forestal y, en general, con un único estrato arbóreo; (ii) poseen un banco de plántulas que sobrevive bajo dosel (*e.g.* 10 a 15 años) y que se renueva periódicamente, o bien se establece abundantemente tras un cambio en las condiciones del dosel; (iii) el establecimiento de la regeneración se realiza en un amplio rango de condiciones ambientales, desde pequeñas aberturas en el dosel hasta sectores en laderas de alta montaña con remoción del suelo debido a un deslizamiento; y (iv) donde la misma especie actúa como umbrófila y heliófila, siendo la especie pionera y clímax de este ecosistema (Richter y Frangi 1992, Martínez Pastur *et al.* 2007, Soler *et al.* 2015). En consecuencia, las prescripciones silvícolas propuestas para los bosques dominados por esta especie son muy variadas, desde cortas de selección en grupo hasta talas rasas (Gea-Izquierdo *et al.* 2004). Estos métodos se basan en un equilibrio entre la apertura del dosel para favorecer el ingreso de luz y la llegada de precipitación al suelo del bosque (Martínez Pastur *et al.* 2007), y la mantención de una cobertura arbórea para la protección y la generación de semillas (Martínez Pastur *et al.* 1999, Gea-Izquierdo *et al.* 2004, Cellini 2010), y con fines de conservación en las áreas manejadas (*e.g.* retención dispersa) (Martínez Pastur *et al.* 2013a). En este contexto, el ciclo de floración, producción de semillas, establecimiento y crecimiento de la regeneración natural está influenciada por factores bióticos y abióticos a lo largo de dicho proceso (Martínez Pastur *et al.* 2013ab). Dentro de los factores bióticos, los más importantes son la predación de flores y frutos (*e.g.* aves e insectos), y en menor medida, la predación de semillas en el suelo del bosque (*e.g.* aves y ratones) y el ramoneo de la regeneración por parte de grandes herbívoros (*e.g.* *Lama guanicoe* Müller, guanaco) (Soler *et al.* 2012, Martínez Pastur *et al.* 2013a, 2016a). En relación a los factores abióticos, los más importantes se corresponden a la exposición de las semillas a bajas temperaturas durante su estratificación, o a bajas y/o altas temperaturas que pueden afectar la parte aérea de la regeneración ya establecida generando la muerte de parte de la biomasa aérea (daños por heladas o desecamiento, de ahora en adelante DHD) (Read y Hope 1989, Bannister 2007, Martínez Pastur *et al.* 2013a). Tanto el ramoneo por herbívoros como daños por DHD modifican la arquitectura

de la planta y alteran la calidad futura de las mismas. En general, en función del tiempo transcurrido desde la alteración, ambos tipos de daño suelen ser confundidos (Martínez Pastur *et al.* 2016a).

Para elaborar nuevas prácticas silvícolas para los bosques de lenga, que generen menores impactos sobre los procesos ecosistémicos, es necesario, primero, responder los interrogantes que han generado en los últimos años la implementación de las diferentes propuestas silvícolas aplicadas en estos bosques (Gea-Izquierdo *et al.* 2004, Rosenfeld *et al.* 2006, Martínez Pastur *et al.* 2013b, 2016a, Torres *et al.* 2015), entre ellos: (i) la estabilidad del dosel remanente, donde la mayoría de las propuestas incluyen dejar una determinada proporción de árboles después de la corta; (ii) la necesidad de la existencia de un banco de plántulas pre-cosecha para poder regenerar los rodales intervenidos; (iii) la influencia de los ciclos de producción de semillas en la regeneración de los rodales intervenidos (Martínez Pastur *et al.* 2013b, Torres *et al.* 2015); y (iv) el impacto del ramoneo del guanaco y la influencia que genera en el establecimiento y crecimiento de la regeneración (Martínez Pastur *et al.* 2016a).

Muchos de estos interrogantes solo se pueden responder adecuadamente a partir de monitoreos en parcelas permanentes de largo plazo. En Patagonia Sur se ha establecido una red de parcelas permanentes (Red PEBANPA, Parcelas de Ecología y Biodiversidad de Ambientes Naturales en Patagonia Austral) (Peri *et al.* 2016), donde, entre otros objetivos, se busca definir estrategias de cosecha más efectivas en términos de conservación y producción (Martínez Pastur *et al.* 2016b). Estas parcelas han sido establecidas considerando el análisis de los bosques antes y después de los impactos generados por la cosecha (before-after with control-impact, BACI) (Lencinas *et al.* 2011), así como un seguimiento de los factores que pueden influir en la supervivencia y el crecimiento de la regeneración.

En este contexto, el objetivo principal de este trabajo es determinar la influencia de factores bióticos (estructura forestal, banco de plántulas, producción de semillas y ramoneo por guanaco) y abióticos (daños por heladas y desecamientos) en el crecimiento de la regeneración pre- y post-cosecha en un rodal de lenga intervenido mediante una corta de protección luego de 20 años. Se plantean las siguientes hipótesis de trabajo: (i) la dinámica de la regeneración post-cosecha es influenciada por la estructura forestal remanente, que cambia a lo largo de los años debido a micro-volteos y al crecimiento de las copas de los árboles y al crecimiento del bosque secundario; (ii) la estructura del banco de plántulas post-cosecha no solo está definida por el banco de plántulas pre-existentes, sino que está fuertemente influenciada por el establecimiento de nuevas plántulas durante años de producción de semillas extraordinarios; (iii) las plántulas establecidas post-cosecha son más vulnerables a daños bióticos y abióticos durante los primeros años de establecimiento, variando la tasa de supervivencia con los años; y (iv) las plántulas

post-cosecha establecidas son afectadas diferencialmente por el ramoneo y los daños abióticos (DHD) alterando las tasas de crecimiento futuras de los renovales afectados.

MÉTODOS

Sitio de estudio y estructura forestal. El estudio se realizó en un bosque puro de *N. pumilio* en la estancia San Justo - Tierra del Fuego (54° 06' S, 68° 37' O) de clase de sitio II-III, determinada a partir del promedio de los 60 árboles más altos por hectárea (Martínez Pastur *et al.* 2002). El rodal contaba con 61,5 m² ha⁻¹ de área basal (AB) y fue intervenido en el año 1997 mediante una corta de protección, dejando el 40 % del AB remanente como retención dispersa (RD) (24,4 m² ha⁻¹ AB) con un distanciamiento máximo entre árboles de 9 m. No se llevaron a cabo intervenciones silvícolas posteriores. Los monitoreos y mediciones se llevaron a cabo en una superficie de 2 ha, donde se dividió la superficie en 10 áreas contiguas de 40 x 50 m cada una. En cada una de las áreas se caracterizó la estructura forestal anterior y posterior a las intervenciones, y en forma periódica a lo largo de 20 años desde la corta. Se midieron los diámetros a la altura del pecho (DAP) de cada uno de los individuos arbóreos, que permitió calcular el AB y el volumen total con corteza (VTCC) empleando el modelo propuesto por Martínez Pastur *et al.* (2002). Asimismo, en el centro de cada parcela se determinó periódicamente el porcentaje de cobertura de copas (CC) mediante un densiómetro de espejo cóncavo a una altura de 1,3 m de altura por sobre el nivel del suelo (Lencinas *et al.* 2011). Estas mediciones se realizaron durante el mes de enero. Los años donde evaluaron las diferentes variables de la estructura forestal aparecen indicados en el cuadro 1.

Dinámica de la regeneración. La regeneración pre-cosecha (año 0) se evaluó mediante 40 parcelas temporarias de 1 m² previo a las intervenciones mediante un diseño sistemático, y las mismas parcelas fueron evaluadas después de realizado el volteo y el rastreo de las trozas mediante un tractor forestal. Posterior a la finalización de la cosecha (año 4) se instaló una parcela permanente de monitoreo de la regeneración (1 m²) en el centro de cada una de las áreas de 40 x 50 m (diseño sistemático), las que fueron monitoreadas anualmente durante el mes de enero (año 4 a 20). En cada una de estas parcelas permanentes se individualizó cada plántula pre-existente (individuos que al momento de la cosecha presentaban una altura < 1,3 m) mediante sus coordenadas (x,y), midiendo la edad (E) mediante el conteo de los mucrones, la altura (A) entendida como la longitud existente entre la base y el brote apical dominante vivo extendiendo la planta, y los daños (bióticos y abióticos) recibidos durante la presente temporada de crecimiento. Los daños identificados se caracterizaron como debidos al ramoneo (RAM) cuando se observó pérdida de biomasa aérea producida por cortes o remoción, y debidos a DHD cuando se observó la muerte de parte de la

biomasa aérea sin presencia de corte o remoción (Martínez Pastur *et al.* 2016a). Mediante esta toma de datos se pudo caracterizar el banco de plántulas (pre- y post- cosecha) a lo largo de los años, y determinar los patrones de establecimiento, supervivencia y crecimiento en altura, discriminando de acuerdo al daño recibido a lo largo de la vida de cada plántulas.

Análisis de los datos. Se realizaron los siguientes análisis: (i) análisis de varianza (ANDEVA) simples de la estructura forestal (AB, VTCC, CC) y los años después de la corta, considerando al año 0 como la estructura pre-cosecha y los años subsiguientes como post cosecha (1 a 20 años); (ii) análisis de frecuencias de evolución de la altura media de las plántulas y densidad por clases de edad para determinar el crecimiento y los pulsos de incorporación de regeneración post-cosecha; (iii) cálculo de la tasa de supervivencia de las plántulas por clases de edad para el período muestreado (4 a 20 años después de la corta); (iv) ANDEVA dobles analizando la altura de las plantas y la frecuencia de la ocurrencia de daños en brotes (RAM y DHD) en función de la edad de las plántulas; (v) análisis de frecuencias de evolución de la altura media de plantas dominantes pre- y post-cosecha (se consideró la planta dominante dentro de cada parcela bajo el supuesto que será la planta futura del sector analizado), y la relación porcentual entre las mismas a lo largo de los años después de la corta; y (vi) análisis de la evolución del crecimiento en altura de plántulas establecidas post-cosecha (n = 2,000) en respuesta a la frecuencia de daños por ramoneo (0, 1, ≥ 2 eventos anuales) y DHD (0, 1, 2, ≥ 3 eventos anuales). Las ANDEVA se realizaron con un $P = 0,05$, y la prueba de Tukey ($P = 0,05$) se empleó para separar las medias.

RESULTADOS

La estructura forestal presentó variaciones significativas en las variables analizadas entre la situación original y los diferentes años luego de la cosecha (cuadro 1). El área basal original (61,5 m² ha⁻¹) se redujo luego de la intervención silvícola a 22,3 m² ha⁻¹, la que presentó una continua disminución hasta los 10,7 m² ha⁻¹ al año 17 después de la cosecha. A partir de este año, la estructura forestal del dosel superior presentó un incremento llegando a 17,0 m² ha⁻¹ al año 20 después de la cosecha, principalmente debido al crecimiento de los árboles más jóvenes remanentes en el rodal. Igual patrón presentó el VTCC. En el caso de la cobertura, la misma se redujo debido a la cosecha desde 86 % a 25 %, pero experimentó variaciones temporales asociada a: (i) disminuciones debido a la caída de individuos o la mortalidad parcial de copas de los árboles remanentes; (ii) aumentos debido al desarrollo de las copas de los árboles remanentes; o (iii) la incorporación de cobertura de copas por parte de la regeneración cuando superó los 1,3 m de altura (e.g. año 17, cuadro 1). En términos generales, de los resultados se desprende que existió una recuperación

Cuadro 1. Análisis de varianza para la estructura forestal (AB = área basal, VTCC = volumen total con corteza, CC = cobertura de copas) para el bosque sin intervención (año 0) y después de la cosecha (años 1 a 20).

Analysis of variance for the forest structure (AB = basal area, VTCC = total over bark volume, CC = overstory crown cover) for the forest prior to cutting (year 0) and after harvesting (years 1 to 20).

Años desde la cosecha	AB (m ² ha ⁻¹)	VTCC (m ³ ha ⁻¹)	CC (%)
0	61,5c	730,1c	86,3b
1	22,3b	333,6b	25,2a
4	16,7ab	257,7ab	--
6	--	--	38,2a
7	--	--	38,3a
8	--	--	44,0a
9	--	--	36,3a
10	--	--	33,0a
11	---	--	37,5a
13	15,4ab	236,8ab	43,3a
14	15,0ab	229,8ab	42,4a
15	12,6ab	195,2ab	39,0a
16	11,3ab	179,4a	--
17	10,7a	171,2a	69,1ab
18	16,2ab	247,2ab	--
19	16,2ab	247,2ab	--
20	17,0ab	255,0ab	--
F(P)	21,14(P < 0,001)	13,88(P < 0,001)	3,94(P < 0,001)

F = prueba de Fisher. P = probabilidad. Letras distintas indican diferencias a P < 0,005 a través de la prueba de Tukey.

de la cobertura durante los primeros años después de la corta llegando a un máximo del 44 % al año 8, para luego mantenerse en un estado estable entre los años 9 y 15. Finalmente, al año 17 la cobertura recupera los valores de cobertura originales al no presentar diferencias significativas con la cobertura pre-cosecha. Esto se debe mayormente a que las plantas bajo estudio comenzaron a crecer por encima de la altura de las mediciones (1,3 m) generando cobertura en la última medición realizada (cuadro 1).

La frecuencia de edades de la regeneración establecida al año 20 después de la corta (143.000 individuos ha⁻¹) presentó diferentes grupos de plantas (línea negra en la figura 1A): (i) un grupo de plantas entre 21 y 28 años de edad que estaban establecidas antes de la intervención (16.000 ha⁻¹), (ii) un segundo grupo de plantas establecidas durante los primeros tres años después de la intervención de 18 a 20 años de edad (80.000 ha⁻¹), (iii) un tercer grupo establecidas en los años posteriores con edades de 15 a 17 años de edad (8.000 ha⁻¹), (iv) un cuarto grupo que se estableció entre los 9 y 11 años después de las intervenciones (19.000 ha⁻¹), y (v) finalmente, el establecimiento de un nuevo grupo de plántulas durante el año 20 (20.000 ha⁻¹).

La altura promedio de las plantas en general presentó un aumento exponencial en función de la edad, alcanzando un promedio de 1,8 m a los 20 años de edad. La mortalidad de plántulas debido al auto-raleo (competencia interespecífica), a la competencia con el sotobosque o los daños (bióticos o abióticos) recibidos disminuyeron el número de plantas establecidas en cada grupo a lo largo de los años, e.g. originalmente las plantas pre-establecidas eran 21.000 ha⁻¹, y los tres primeros grupos (ii a iv) de establecimiento partieron de 177.000, 39.000 y 280.000 ha⁻¹ individuos provenientes de semilla, respectivamente. El seguimiento de las plántulas individuales muestra que las plantas presentan mayor vulnerabilidad durante los primeros años del establecimiento (figura 1B), alcanzando la mínima tasa de supervivencia en el cambio de frecuencia de los tres a los cuatro años de edad. A partir de este mínimo, la probabilidad de supervivencia aumenta hasta los 10 años de edad donde supera el 95 %, y se mantiene en altos valores en edades superiores para el período de estudio considerado en los muestreos.

Al analizar la dominancia de las plántulas dentro de cada parcela, discriminando de acuerdo a si existían en el

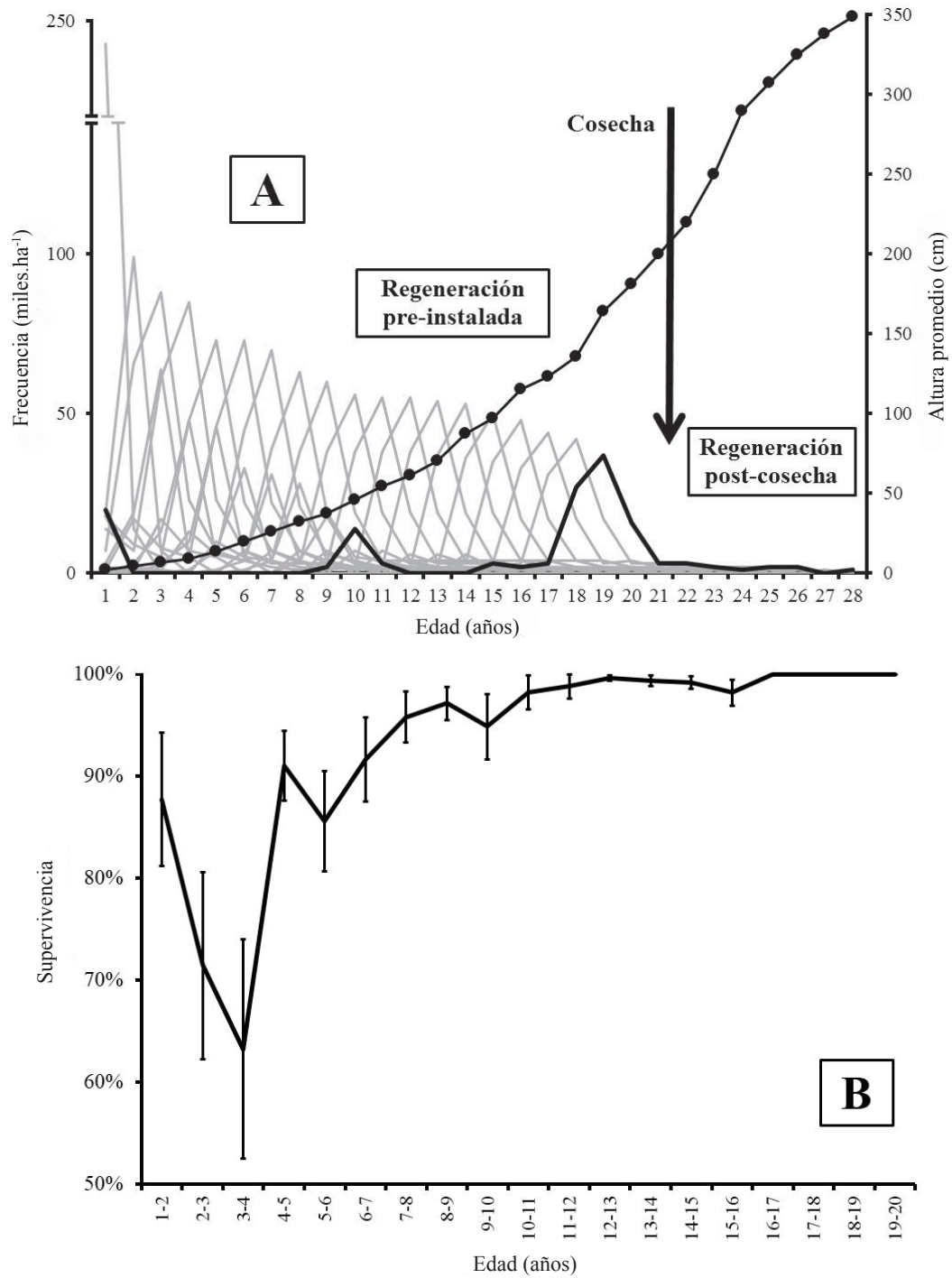


Figura 1. Estructura de edades y altura de la regeneración (puntos negros) luego de las intervenciones (años 4 al 19 en líneas gris claro y al año 20 en negro (A), y supervivencia para el paso de clases de edad (B). Las barras indican el error estándar.

Age frequencies and height of regeneration (black dots) after harvesting (years 4 to 19 in grey lines and year 20 in black), and survival rate for each age class (B). Bars indicate the standard error.

banco de plántulas (plantas pre-intervención) o si se establecieron luego de las cortas (plantas post-intervención) se puede observar que las plan pre-establecidas fueron dominantes en el 44-56 % de las parcelas durante los primeros siete años desde la cosecha, para luego alcanzar una media del 38 % de dominancia en las parcelas estudiadas. El resto de las parcelas presentan plantas dominantes establecidas luego de las cortas (figura 2). La altura promedio de estas plantas dominantes está relacionada con la edad de estas, siendo siempre mayores en las plantas pre-intervención que las establecidas con posterioridad.

La evaluación de la influencia del ramoneo y de los daños por DHD sobre la altura total de las plantas se realizó sobre el seguimiento individuos establecidas post-cosecha (n = 2,000): (i) por un lado plantas que nunca habían sido ramoneadas o no habían tenido daños de DHD (0 eventos), o (ii) plantas que habían sufrido diferente número de daños (1, 2 o 3 eventos) en diferentes temporadas de crecimiento (cuadro 2). No se encontraron diferencias significativas en la altura de las plántulas con diferente número de eventos de ramoneo para el rango de edades analizado (1 a 16 años). En el caso de los daños por DHD, se observaron diferencias significativas en la altura promedio de las plántulas de acuerdo al número de eventos registrados por cada individuo (48 cm en plantas sin daños que dis-

minuye paulatinamente hasta 19 cm en plántulas que sufrieron tres eventos con daños abióticos) para el rango de edades analizado (1 a 16 años). La evolución de las alturas medias de las plantas a lo largo del gradiente de edades analizado para los diferentes tratamientos muestra que: (i) la altura de las plantas afectadas por diferentes eventos de ramoneo (figura 3A) se puede observar que los diferentes tratamientos siguen patrones similares de crecimiento al de las plantas sin daños; y (ii) la altura de las plantas afectadas por diferentes eventos de DHD (figura 3B) no siguen el mismo patrón de crecimiento que las plantas sin daño, donde el crecimiento disminuye en magnitud a medida que aumenta el número de eventos de daño.

DISCUSIÓN

Estabilidad de la estructura forestal remanente. Las cortas de regeneración en *Nothofagus pumilio* tienen por principal objeto el establecimiento de la regeneración natural, siendo necesarios largos períodos de tiempo para que la misma cubra la totalidad del suelo forestal, e.g. aproximadamente 20 años (Martínez Pastur *et al.* 2013b). Estas intervenciones se realizan de modo tal de dejar una cobertura remanente deseable de acuerdo a cada tratamiento propuesto, usualmente, sin considerar los cambios potenciales

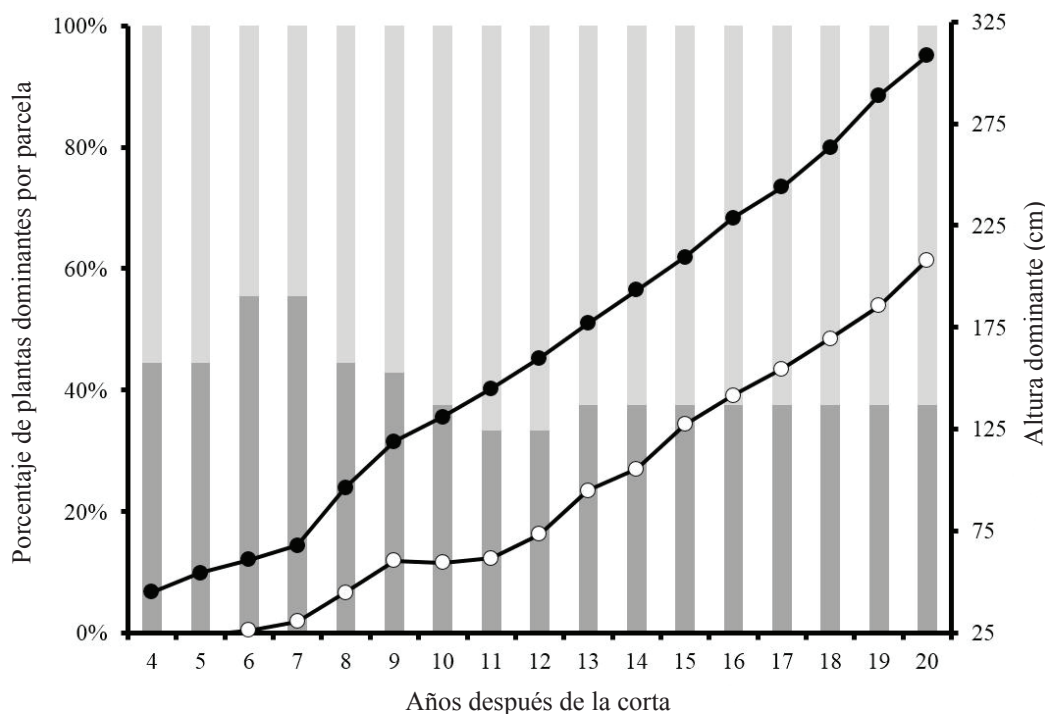


Figura 2. Altura de la regeneración establecida antes (puntos negros) y después de la cosecha (puntos blancos), y porcentaje de plantas dominantes por parcela (pre-establecidas en barras gris oscuro y post-cosecha en gris claro) en los años posteriores a las intervenciones (4 a 20 años después de la corta).

Height of pre-established (black dots) and post-harvesting (white dots) regeneration, and percentage of dominant plants per plot (pre-established in dark grey and post-harvesting in light grey bars) after cutting (4 to 20 years after harvesting).

Cuadro 2. Análisis de varianza para la altura (A) de las plantas establecidas después de la cosecha considerando el número de veces que la planta fue ramoneada (0 = ninguna vez, 1 = una vez, 2 = 2 a 4 veces), el número de veces que presentó daños abióticos (0 = ninguna vez, 1 = una vez, 2 = dos veces, 3 = 3 a 6 veces) y la edad (años).

Analysis of variance for plant height (A) established after harvesting considering the browsing events (R0 = no one, R1 = one time, R2 = two to four times), the number of events of abiotic damages (AS0 = no one, AS1 = one time, AS2 = two times, AS3 = 3 to six times) and age (years).

	Factor	A (cm)		Factor	A (cm)
Ramoneo	0	44,1	Ápice seco	0	48,2c
	1	47,4		1	38,1b
	2	49,1		2	25,3a
	--	--		3	18,9a
	F(P)	2,97(0,051)		F(P)	75,98(< 0,001)
Edad	1	1,7a	Edad	1	2,1a
	2	6,2a		2	5,4a
	3	8,7a		3	7,4a
	4	11,3a		4	9,6a
	5	14,7ab		5	12,4ab
	6	20,5abc		6	17,0abc
	7	28,7bcd		7	22,9bcd
	8	35,5cde		8	28,1cde
	9	38,9def		9	32,1def
	10	45,0efg		10	37,4efg
	11	53,5fgh		11	42,7fgh
	12	58,6gh		12	46,7gh
	13	67,8hi		13	51,9hi
	14	81,2ij		14	62,7ij
	15	91,9jk		15	69,4j
	16	102,5k		16	74,1j
	F(P)	78,21(< 0,001)		F(P)	48,87(< 0,001)
Ramoneo x Edad	F(P)	0,55(0,982)	Ápice seco x Edad	F(P)	5,21(< 0,001)

F = prueba de Fisher. P = probabilidad. Letras distintas indican diferencias a $P < 0,005$ a través de la prueba de Tukey.

que se pueden producir en el tiempo, debido a la caída de individuos por el viento o la mortalidad en pie de algunos árboles. Asimismo, se suele emplear al AB como variable de monitoreo en los rodales cosechados para evaluar la estabilidad de la estructura forestal remanente. En este trabajo se pueden apreciar dos aspectos: (i) el AB remanente es afectada negativa y paulatinamente a lo largo de los años, al igual que ha sido reportado por otros trabajos (e.g. Gea-Izquierdo *et al.* 2004, Cellini 2010), y (ii) la cobertura de los árboles es dinámica e independiente del AB, e.g. al año 1 luego de las cortas la relación cobertura de copas/área basal fue de 1,1 y al año 15 (antes de que las copas de la regeneración emergente influyan en la cobertura de copas medida en los monitoreos) fue de 3,0 (y de 6,5 al año 17 luego de que la regeneración superara el 1,3 m de altura). Estos aspectos deben ser considerados al planificar el manejo posterior de los rodales intervenidos, e.g. tanto para

las funciones de protección en el establecimiento de la regeneración como en la provisión de semillas (Martínez Pastur *et al.* 1999, 2011) y de otros servicios ecosistémicos a partir de la retención dispersa (Lencinas *et al.* 2011, Martínez Pastur *et al.* 2013b, Soler *et al.* 2015). Otros trabajos han analizado la influencia de la cobertura de los árboles remanentes sobre: (i) el establecimiento y la supervivencia de la regeneración (e.g. Cellini 2010), (ii) el crecimiento en altura de esta (e.g. Martínez Pastur *et al.* 2011), (iii) la compartimentalización de la biomasa, o (iii) su desempeño eco-fisiológico (e.g. Martínez Pastur *et al.* 2007). Los niveles de cobertura de copas de los árboles remanentes luego de la cosecha (38-44 %) se encuentran cercanos a aquellos que se recomiendan (40-60 %) para obtener una abundante regeneración y maximizar el crecimiento en altura de las plantas. Cabe destacar que, inmediatamente después de la cosecha, la cobertura había disminuido al

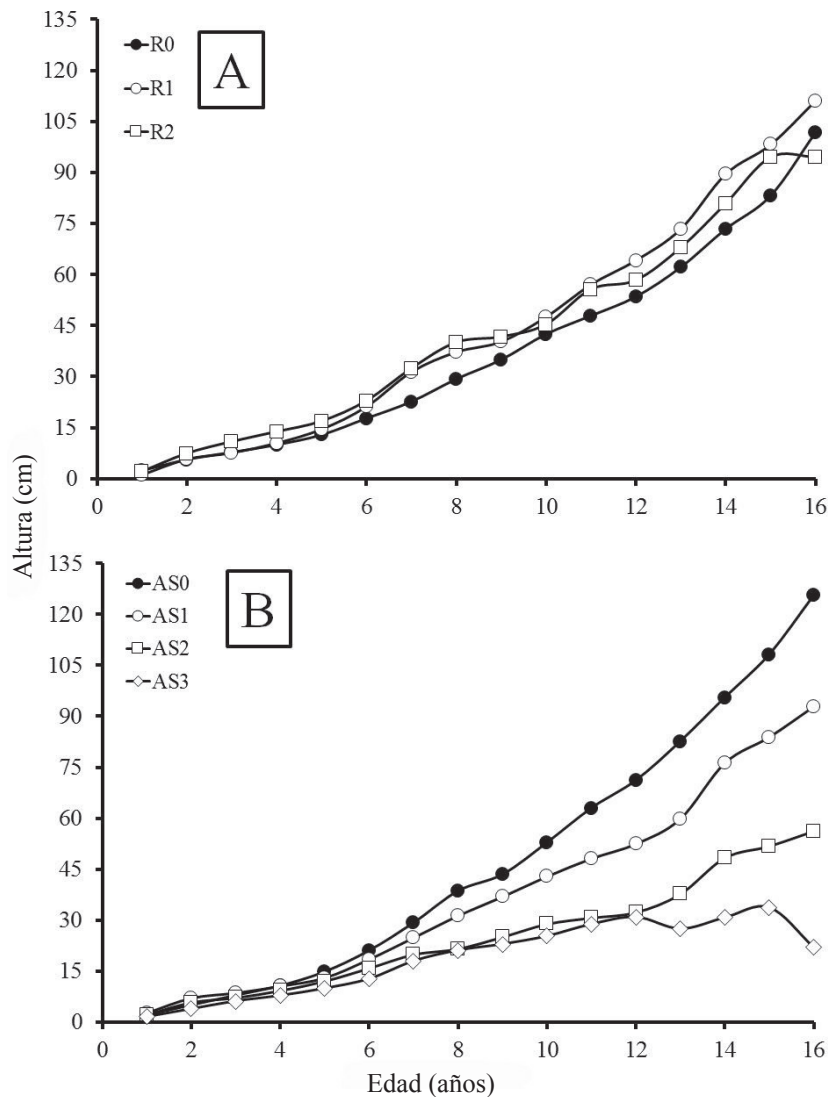


Figura 3. Altura de plantas establecidas después de la cosecha según eventos de ramoneo (A) (R0 = ninguna vez, R1 = una vez, R2 = 2 a 4 veces), y el número de veces que presentó daños abióticos (B) (AS0 = ninguna vez, AS1 = una vez, AS2 = dos veces, AS3 = 3 a 6 veces).

Growth of post-harvesting plants considering the browsing events (A) (R0 = no one, R1 = one time, R2 = two to four times) and the number of events of abiotic damages (AS0 = no one, AS1 = one time, AS2 = two times, AS3 = 3 to six times).

25 % experimentando una recuperación al momento del inicio de los monitoreos (año 4). Esta cobertura estaba por debajo de lo deseable, y pudo haber influido en la dinámica de la regeneración en estos primeros años. La estructura remanente también podría haber influido negativamente en las áreas cercanas a los árboles supervivientes, ya que el consumo de agua de los mismos influye significativamente en sus cercanías (ca. 2 m de distancia de los fustes) generando la mortalidad de las plántulas establecidas (Martínez Pastur *et al.* 2011) y aumentando la heterogeneidad en la regeneración del rodal. Es por ello que, los niveles de retención post-cosecha, deben ser evaluados en todos estos aspectos para alcanzar las metas silvícolas propuestas en el manejo forestal de los rodales (Cellini 2010).

Dinámica de la regeneración. La regeneración de los bosques de *N. pumilio* es casi exclusivamente por semillas, generando un banco de plántulas en los bosques primarios que rara vez supera los 15 años bajo el dosel de los bosques con cobertura completa (Martínez Pastur *et al.* 2013b). Este banco de plántulas se renueva periódicamente en función de las semillas y de los eventos climáticos (Torres *et al.* 2015), y reaccionará frente a cambios en la estructura del dosel superior al permitir el ingreso de luz, así como el agua de la precipitación (Martínez Pastur *et al.* 2011). El monitoreo a largo plazo de la regeneración realizado en este trabajo permitió caracterizar la dinámica de la regeneración para las condiciones de estructura forestal remanente antes descritas. La regeneración establecida cubrió gran

parte de la superficie del rodal intervenido (> 80 % de la superficie monitoreada) en un período de tiempo similar al propuesto en forma teórica (20 años) superando en el 60 % de las parcelas el 1,3 m de altura dominante (datos no presentados). La regeneración pre-establecida fue la primera en reaccionar frente a las intervenciones forestales, completándose con el aporte de semillas en años posteriores (Rosenfeld *et al.* 2006). En el presente estudio las plantas pre-establecidas fueron las dominantes dentro del 30-40 % de la superficie del rodal, pero representaron menos del 10 % de las plantas totales monitoreadas. Por otra parte, el establecimiento de las plántulas se produjo en varios ciclos debido a la presencia de máximos en la producción de semillas, que no fue homogéneo a lo largo de los años de estudio (Torres *et al.* 2015), *e.g.* en el presente caso de estudio se produjeron varios pulsos de establecimiento de la regeneración, incluyendo uno durante la última temporada de crecimiento. Este trabajo brinda algunas respuestas a una de las grandes preocupaciones de los gestores forestales sobre la importancia del banco de plántulas del bosque primario en la habilitación de las intervenciones (Cellini 2010). Sin embargo, gran parte de este banco de plántulas del bosque primario es afectado por las operaciones forestales (Martínez Pastur *et al.* 1999), por lo que es importante también caracterizarlo luego de realizada la cosecha. Los resultados de este estudio sugieren que ambos tipos de plántulas (pre- y post-cosecha) son importantes para la regeneración y conformación de la estructura forestal del bosque secundario futuro, y que el período de establecimiento de nuevas plántulas puede requerir muchos años, interactuando con la dinámica del sotobosque (cobertura y composición de especies) que se desarrolla después de la corta (Lencinas *et al.* 2011, Quinteros *et al.* 2016). Sin embargo, los resultados obtenidos no sugieren que la regeneración pre-establecida sea fundamental para regenerar los rodales, ya que la regeneración post-cosecha podría haber ocupado esos espacios, *e.g.* en todas las parcelas donde la regeneración pre-cosecha fue dominante existían plantas establecidas post-cosecha.

Influencia de los daños bióticos y abióticos en el desarrollo posterior de las plántulas. En Tierra del Fuego, el ganado doméstico y las poblaciones naturales de guanaco son los principales responsables del ramoneo en los bosques de producción de *N. pumilio* (Soler *et al.* 2012). Si bien el guanaco es un componente natural de estos bosques, se ha sugerido que sus poblaciones pueden poner en riesgo la regeneración de estos bosques (Cavieres y Fajardo 2005) debido a que las poblaciones son segregadas por el ganado doméstico hacia el bosque (Iranzo *et al.* 2013). Por otra parte, la regeneración establecida también es vulnerable a daños abióticos debido a heladas o desecamientos durante la temporada de crecimiento (Bannister 2007, Martínez Pastur *et al.* 2016a), pudiendo en algunos años afectar a un mayor porcentaje de plántulas que el ramoneo, y cuyos efectos (ramoneo y años por heladas/desecamientos)

suelen confundirse en el tiempo (Martínez Pastur *et al.* 2016a). Si bien diversos trabajos han reportado el impacto del ramoneo del guanaco y de los factores abióticos en la regeneración (*e.g.* Martínez Pastur *et al.* 2013ab, 2016a), este es el primero estudio que evalúa dichos efectos en forma diferencial y en el largo plazo. Del mismo modo, estudios previos han demostrado a través de parcelas temporales que el ramoneo genera un retardo en la altura, no en la mortalidad o la densidad de plántulas, en diferentes rodales o sitios afectados (Martínez Pastur *et al.* 2016a, Cavieres y Fajardo 2005). Por otra parte, en *N. solandri* var. *cliffortioides* (Hook. f.) Heenan *et* Smissen se observó que en sectores de baja cobertura de dosel un fuerte desecamiento en la regeneración debido a la exposición a las bajas temperaturas (Wardle 1965). Asimismo, en *Tsuga canadensis* L., la regeneración establecida en el mantillo posee un lento desarrollo radicular, lo que implica una baja exploración en el suelo mineral, exponiendo las plántulas a un estrés hídrico que genera la desecación parcial y muerte de las mismas (Mladenoff y Stearns 1993). La mortalidad por heladas es causada mayormente por las amplias oscilaciones de temperatura y los eventos de heladas durante la temporada de crecimiento que afectan los renovales que no han tenido un período de aclimatación de frío, y por heladas severas durante el período invernal que afectan plántulas con poco vigor (Read y Hope 1989, Soto *et al.* 2009). La particularidad de este trabajo reside en que las comparaciones realizadas fueron sobre mediciones llevadas a cabo en las mismas plantas en el largo plazo, no analizado el impacto puntual de la estación de crecimiento que sufrió el daño, sino cómo han impactado los daños recibidos por las plantas a lo largo de toda su vida en el desarrollo de las mismas a lo largo del tiempo.

Al contrario que lo observado en el ramoneo, las plantas con daños abióticos si presentaron un patrón de crecimiento diferencial negativo a medida que se incrementaron el número de eventos de daños. Algunos autores sugieren que el ramoneo genera una detención del crecimiento en altura (Cavieres y Fajardo 2005), sin embargo, este efecto podría deberse a una combinación de daños por ramoneo y abióticos, ya que no fueron discriminados al realizar dicha investigación. Asimismo, otros autores que han realizado estudios a escala de paisaje sugieren que los efectos del ramoneo pueden impedir la correcta regeneración de los rodales en casos muy puntuales (Gea-Izquierdo *et al.* 2004). Los resultados de este trabajo sugieren que el ramoneo no limita el desarrollo de la regeneración, pero sí, en cambio, los daños abióticos recurrentes. Es por ello que es recomendable una mayor precaución cuando se sugiere que las poblaciones naturales de guanacos deberían controlarse por su impacto sobre la regeneración de los rodales manejados, *e.g.* clausuras o caza controlada (Martínez Pastur *et al.* 2016a), ya que si bien estas acciones pueden tener efectos benéficos en el corto plazo, los incrementos en los costos silvícolas pueden hacer inviable el manejo forestal de estos bosques.

CONCLUSIONES

La estructura forestal remanente cambia a lo largo de los años debido a la muerte de algunos individuos y al crecimiento de las copas de los remanentes, variando su relación de cobertura de copas/área basal a lo largo del tiempo. Esta estructura forestal remanente, al igual que el banco de plántulas pre-establecidas, influyen sobre la dinámica de la regeneración post-cosecha, al igual que el aporte masivo de semillas en algunos años extraordinarios de semillazón. Las plántulas establecidas post-cosecha son más vulnerables durante los primeros cuatro años desde el establecimiento, aumentando su tasa de supervivencia en años posteriores. Finalmente, se evidencia que las plántulas post-cosecha afectadas por ramoneo no cambian significativamente su tasa de crecimiento en altura, mientras que las plantas afectadas por daños abióticos (DHD) disminuyen su tasa de crecimiento a medida que aumenta el número de eventos de daños. El empleo de parcelas permanentes de monitoreo a largo plazo permite identificar correctamente los factores que influyen sobre el éxito y/o el fracaso de la propuesta silvícola implementada. Durante la gestión forestal se suelen simplificar los problemas y se suelen aplicar costosas propuestas de solución sin considerar la totalidad de los factores intervinientes, e.g. se suele culpar al ramoneo del guanaco por los daños en la regeneración cuando los mismos pueden haber sido ocasionados por heladas o eventos de sequías.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a José Villaroel (estancia San Justo) y al aserradero Los Castores que funcionó en dicho establecimiento cuando se establecieron los ensayos, y, muy especialmente, al Ing. Ricardo Vukasovic y a los muchos estudiantes que ayudaron con los monitoreos durante estos 20 años.

REFERENCIAS

Bannister P. 2007. Godley review: A touch of frost? Cold-hardiness of plants in the southern hemisphere. *New Zealand Journal of Botany* 45: 1-33.

Cavieres LA, A Fajardo. 2005. Browsing by guanaco (*Lama guanicoe*) on *Nothofagus pumilio* forest gaps in Tierra del Fuego, Chile. *Forest Ecology and Management* 204: 237-248.

Cellini JM. 2010. Estructura y regeneración bajo distintas propuestas de manejo de bosques de *Nothofagus pumilio* (Poepp. et. Endl.) Krasser en Tierra del Fuego, Argentina. Tesis de doctorado en Biología. La Plata, Argentina. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. 157 p.

Gea-Izquierdo G, G Martínez Pastur, JM Cellini, MV Lencinas. 2004. Forty years of silvicultural management in southern *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser primary forests. *Forest Ecology and Management* 201(2-3): 335-347.

Iranzo EC, J Traba, P Acebes, BA González, C Mata, CF Esta-

des, JE Malo. 2013. Niche segregation between wild and domestic herbivores in Chilean Patagonia. *PLoS One* 8(3): e59326.

Lencinas MV, G Martínez Pastur, E Gallo, JM Cellini. 2011. Alternative silvicultural practices with variable retention to improve understory plant diversity conservation in southern Patagonian forests. *Forest Ecology and Management* 262: 1236-1250.

Martínez Pastur G, PL Peri, C Fernández, G Staffieri. 1999. Desarrollo de la regeneración a lo largo del ciclo del manejo forestal de un bosque de *Nothofagus pumilio*: 1. Incidencia de la cobertura y el aprovechamiento o cosecha. *Bosque* 20(2): 39-46.

Martínez Pastur G, MV Lencinas, JM Cellini, B Díaz, PL Peri, R Vukasovic. 2002. Herramientas disponibles para la construcción de un modelo de producción para la lenga (*Nothofagus pumilio*) bajo manejo en un gradiente de calidad de sitio. *Bosque* 23(2): 69-80.

Martínez Pastur G, MV Lencinas, PL Peri, M Arena. 2007. Photosynthetic plasticity of *Nothofagus pumilio* seedlings to light intensity and soil moisture. *Forest Ecology and Management* 243(2): 274-282.

Martínez Pastur G, PL Peri, JM Cellini, MV Lencinas, MD Barrera, H Ivancich. 2011. Canopy structure analysis for estimating forest regeneration dynamics and growth in *Nothofagus pumilio* forests. *Annals of Forest Science* 68: 587-594.

Martínez Pastur G, R Soler, F Pulido, MV Lencinas. 2013a. Variable retention harvesting influences biotic and abiotic drivers along the reproductive cycle in southern Patagonian forests. *Forest Ecology and Management* 289(1): 106-114.

Martínez Pastur G, PL Peri, MV Lencinas, JM Cellini, M Barrera, R Soler, H Ivancich, L Mestre, AS Moretto, CB Anderson, F Pulido. 2013b. La producción forestal y la conservación de la biodiversidad en los bosques de *Nothofagus* en Tierra del Fuego y Patagonia Sur. In Donoso P, A Promis eds. Silvicultura en bosques nativos: Avances en la investigación en Chile, Argentina y Nueva Zelanda. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile. p. 155-179.

Martínez Pastur G, R Soler, H Ivancich, MV Lencinas, H Bahamonde, PL Peri. 2016a. Effectiveness of fencing and hunting to control *Lama guanicoe* browsing damage: Implications for *Nothofagus pumilio* regeneration in harvested forests. *Journal of Environmental Management* 168: 165-174.

Martínez Pastur G, PL Peri, MV Lencinas, R Soler, HA Bahamonde, A Valenzuela, JL Cabello, CB Anderson. 2016b. Investigación socio-ecológica a largo plazo en la Patagonia Austral: Estrategias interdisciplinarias para lograr la conservación de los recursos naturales a través de un manejo sustentable bajo escenarios de cambio global. *Ecosistemas* 25(1): 49-57.

Mladenoff DJ, F Stearns. 1993. Eastern hemlock regeneration and deer browsing in the northern Great Lakes region: A re-examination and model simulation. *Conservation Biology* 7(4): 889-900.

Peri PL, MV Lencinas, J Bousson, R Lasagno, R Soler, H Bahamonde, G Martínez Pastur. 2016. Biodiversity and ecological long-term plots in Southern Patagonia to support sustainable land management: The case of PEBANPA network. *Journal for Nature Conservation* 34: 51-64.

Quinteros CP, JO Bava, PM López Bernal, ME Gobbi, G Defossé. 2016. Competition effects of grazing-modified herba-

- ceous vegetation on growth, survival and water relations of lenga (*Nothofagus pumilio*) seedlings in a temperate forest of Patagonia, Argentina. *Agroforestry Systems*. doi: 10.1007/s10457-016-9983-2.
- Read J, GS Hope. 1989. Foliar frost resistance of some evergreen tropical and extratropical Australasian *Nothofagus* species. *Australian Journal of Botany* 37: 361-373.
- Richter L, J Frangi. 1992. Bases ecológicas para el manejo del bosque de *Nothofagus pumilio* de Tierra del Fuego. *Revista de la Facultad de Agronomía de La Plata* 68: 35-52.
- Rosenfeld JM, RM Navarro Cerrillo, JR Guzman Alvarez. 2006. Regeneration of *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser forests after five years of seed tree cutting. *Journal Environmental Management* 78(1): 44-51.
- Soler R, G Martínez Pastur, MV Lencinas, L Borrelli. 2012. Differential forage use between native and domestic herbivores in southern Patagonian *Nothofagus* forests. *Agroforestry Systems* 85(3): 397-409.
- Soler R, S Schindler, MV Lencinas, PL Peri, G Martínez Pastur. 2015. Retention forestry in southern Patagonia: Multiple environmental impacts and their temporal trends. *International Forestry Review* 17(2): 231-243.
- Soto DP, P Donoso, D Uteau, A Zúñiga-Feest. 2009. Environmental factors affect the spatial arrangement of survival and damage of outplanted *Nothofagus dombeyi* seedlings in the Chilean Andes. *Interciencia* 34(2): 100-105.
- Torres AD, JM Cellini, MV Lencinas, MD Barrera, R Soler, R Díaz-Delgado, G Martínez Pastur. 2015. Seed production and recruitment in primary and harvested *Nothofagus pumilio* forests: Influence of regional climate and years after cuttings. *Forest Systems* 24(1): e016. 11 p.
- Wardle P. 1965. A comparison of alpine timber lines in New Zealand and North America. *New Zealand Journal of Botany* 3: 113-135.

Recibido: 05.08.16
Aceptado: 03.02.17

Paleoecología de *Abies* sp. en Sierra Bermeja (sur de la Península Ibérica) durante el Holoceno medio a partir del análisis pedoantracológico

Paleoecology of *Abies* sp. in Sierra Bermeja (southern Iberian Peninsula) during the mid-Holocene from a pedoanthracological analysis

José Antonio Olmedo-Cobo **, Raquel Cunill-Artigas ^b, Emilio Martínez-Ibarra ^a, José Gómez-Zotano ^a

*Autor de correspondencia: ^a Universidad de Granada, Facultad de Filosofía y Letras, Departamento de Análisis Geográfico Regional y Geografía Física, Campus Universitario Cartuja s/n, Granada, España, tel.: 0034-626845825, jaolmedo@ugr.es, joseantonioolmedocobo@gmail.com

^b Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Filosofía y Letras, Departamento de Geografía, Barcelona, España.

SUMMARY

This paper presents the first paleoecological results of the study of soil charcoals in the ultramafic massif of Sierra Bermeja (Betic Cordillera, southern Iberian Peninsula). Through the pedoanthracological analysis, a charcoal fossil register of *Abies* sp. has been obtained –with high certainty belonging to *Abies pinsapo*– in a small endorheic basin at the summit of Sierra Palmitera, a littoral mountainous appendix of Sierra Bermeja where the fir forests are extinct at present. Analyses results confirm the existence of a distribution area of *Abies* sp. more extensive in the past than currently in the geographical context of the Serranía de Ronda (western end of the Betic Cordillera). Dating of *Abies* sp. and other species found in the area of study, such as *Pinus pinaster* and *Quercus* sp., allowed theorizing about the local paleobotanical dynamic between 8,100 and 5,600 BP, largely solving the encysted dynamic and successional-ecologic controversy between broadleaf trees and coniferous trees as potential vegetation over ultramafic substrates under Mediterranean climate that occurred to that moment. This information should be considered as essential for the proper management of *Abies pinsapo* to achieve their preservation in the future given its cataloguing as a relict endangered species. The data also support the possible restoration of fir forests in those enclaves considered as potential ecological niches for these coniferous forests in Sierra Bermeja and also in the whole of the Betic Cordillera.

Key words: *Abies pinsapo*, soil charcoals, restricted distribution, paleoendemism, peridotites.

RESUMEN

En este trabajo se presentan los primeros resultados paleoecológicos del estudio de los carbones del suelo en el macizo ultramáfico de Sierra Bermeja (Cordillera Bética, sur de la Península Ibérica). Mediante el análisis pedoantracológico se ha obtenido un registro fósil de carbón de *Abies* sp. –con gran certeza perteneciente a *Abies pinsapo*– en una pequeña cuenca endorreica en la cumbre de Sierra Palmitera, un apéndice montañoso litoral de Sierra Bermeja en el que los abetales se encuentran actualmente extintos. Los resultados del análisis confirman la existencia, en el pasado, de un área de distribución de *Abies* sp. más extensa que la actual en el marco geográfico de la Serranía de Ronda (extremo occidental de la Cordillera Bética). Las dataciones de *Abies* sp. y de otras especies halladas en la localidad de estudio, como *Pinus pinaster* y *Quercus* sp., permiten teorizar sobre la dinámica paleobotánica local entre 8.100 y 5.600 AP, resolviendo en gran parte la enquistada controversia dinámica y sucesional-ecológica entre latifolias-coníferas como vegetación potencial sobre sustratos ultramáficos bajo clima mediterráneo que existía hasta ahora. Esta información debe ser considerada como esencial para la adecuada gestión de *Abies pinsapo* de cara a conseguir su preservación en el futuro dada su catalogación de especie relictica en peligro de extinción. Los datos obtenidos avalan, asimismo, la posible regeneración de los abetales en aquellos enclaves considerados nichos ecológicos potenciales para estos bosques en Sierra Bermeja y, en general, en el conjunto de la Cordillera Bética.

Palabras clave: *Abies pinsapo*, carbones del suelo, distribución restringida, paleoendemismo, peridotitas.

INTRODUCCIÓN

Abies pinsapo Boiss –popularmente conocido como “pinsapo”– es una de las especies arbóreas de mayor singularidad y valor ecológico de cuantas habitan en la

Península Ibérica, siendo el único abeto estrictamente mediterráneo presente en este territorio. Con un área de distribución disyunta, restringida al sector occidental de la Cordillera Bética, *A. pinsapo* crece en tres núcleos de montaña principales, cercanos pero separados entre sí,

como son las sierras de las Nieves, Grazalema y Bermeja (provincias de Málaga y Cádiz). Estas áreas, por tanto, adquieren la categoría de refugio biogeográfico para esta especie, cuyos bosques se consideran formaciones de gran originalidad debido a su carácter paleoendémico y gran valor paisajístico y biogeográfico (Alba-Sánchez y López 2013, Gómez-Zotano *et al.* 2015). Se trata, además, de un árbol especialmente vulnerable al Cambio Climático, a los incendios forestales, al sobrepastoreo y a determinados agentes patógenos (principalmente hongos e insectos), que se han erigido en los principales factores de riesgo que amenazan su supervivencia. Por todo ello, *A. pinsapo* es un taxón incluido dentro del Catálogo Andaluz de Especies de Flora Silvestre amenazada del año 1994, habiéndose declarado como especie en peligro de extinción (EN) incluida dentro del Libro Rojo de la Flora Silvestre Amenazada de Andalucía (1999) y de la Lista Roja de la Flora Vasculosa de Andalucía (2005).

Dicho estatus amenazado se refleja en la preservación de los abetales béticos bajo distintas figuras de protección, como son los Parques Naturales y Reservas de la Biosfera de la UNESCO e Intercontinental del Mediterráneo de Sierra de las Nieves y Sierra de Grazalema, y el Paraje Natural de los Reales de Sierra Bermeja. Bajo el amparo de estos espacios protegidos se trabaja activamente para la conservación de sus hábitats y de la fauna y flora silvestres presentes en estos, siendo la lucha contra los principales factores que amenazan la supervivencia de la especie una cuestión primordial. A escala europea, además, el reconocimiento de su fragilidad y necesidad de protección llevó a la declaración de estos bosques como el Hábitat de Interés Comunitario “9520 Abetales de *Abies pinsapo* Boiss.” a partir de la Directiva 92/43/CEE de la Comisión Europea para el Medio Ambiente, quedando consecuentemente estas florestas integradas en la propuesta de Lugares de Importancia Comunitaria –LIC– y en el marco de la Red Ecológica Europea NATURA 2000.

La importancia ecológica y estatus amenazado de *A. pinsapo* ha favorecido que en las últimas décadas sea una de las especies más estudiadas de la flora mediterránea. De este modo, dicho abeto ha centrado la atención de gran número de científicos y de las distintas administraciones encargadas de la gestión ambiental en el sur de España con el objeto de procurar su conservación. Como resultado lógico de este elevado interés, el conocimiento sobre la especie en la actualidad es notable, como también lo es de su historia reciente (siglo XVI en adelante). Sin embargo, existe una carencia casi absoluta de fuentes de información paleoecológicas, más allá de los registros fósiles de polen de *Abies* sp. encontrados en distintos emplazamientos sur-ibéricos. En este sentido, de acuerdo con Alba-Sánchez y López (2013), aunque el conocimiento paleobiogeográfico de *A. pinsapo* está experimentando importantes avances en los últimos años, faltan análisis paleoecológicos que complementen los escasos estudios polínicos que se han realizado hasta la fecha en las serranías béticas refugio del pinsapo.

A partir de la escasa información paleoecológica disponible, en esta investigación se plantea como hipótesis de partida la existencia de un área de distribución pretérita de *A. pinsapo* más amplia que la actual en el sur de la Península Ibérica dada la existencia de biotopos potenciales para esta especie que hoy día no están ocupados por ella, corolario que también se justifica con los mapas de potencialidad de *A. pinsapo* desarrollados por diversos autores, siendo el trabajo de Alba-Sánchez y López (2013) el más reciente y detallado. Para corroborar o no dicho presupuesto inicial, y como fórmula para subsanar la deficiencia de conocimiento antedicha, el presente trabajo aborda un análisis pedoantracológico –estudio de los carbones del suelo– en una localidad de gran particularidad coincidente con una pequeña cuenca endorreica localizada en el macizo ultramáfico de Sierra Bermeja, uno de los tres núcleos en los actualmente perviven abetales mediterráneos en el extremo occidental de la Cordillera Bética. Los resultados obtenidos muestran una gran riqueza de carbón en el registro fósil de la cuenca endorreica, destacando entre las especies identificadas el hallazgo de carbón de *Abies* sp. con una antigüedad superior a 5.000 años.

Los datos colectados ofrecen una valiosa información paleoecológica de las dinámicas naturales en la localidad de estudio durante el Holoceno medio y permiten discutir la hipótesis de partida. Esta información puede permitir el desarrollo e implementación de una nueva estrategia para la preservación y regeneración de *A. pinsapo* apoyada en el conocimiento de su paleo-evolución. Unas nuevas posibilidades de gestión proteccionista que han de permitir afrontar con mayores garantías de éxito el gran reto de la supervivencia de este abeto mediterráneo en el futuro ante el escenario de Cambio Global que lo amenaza.

MÉTODOS

Área de estudio. Sierra Bermeja es un macizo montañoso de mediana altitud (Encinetas 1.473 m s.n.m, Los Reales 1.449 m s.n.m) situado en el extremo occidental de la Cordillera Bética (sur de la Península Ibérica), que constituye el mayor afloramiento peridotítico del conjunto petrográfico de la Serranía de Ronda, y uno de los más grandes del mundo con 300 km². Por tanto, se trata de un ámbito montañoso que destaca por su litología ya que la peridotita es una roca ígnea ultramáfica de gran dureza y densidad, compuesta por minerales ferromagnésicos (> 40 % olivino) que, una vez alterados, reciben el nombre genérico de serpentinas. Sobre este material se desarrollan suelos con una elevada composición de metales pesados sin función biológica conocida (Cr, Ni, Co, Cu), que incluyen además limitaciones excepcionales de nutrientes esenciales tales como nitrógeno, fósforo y/o potasio, así como de cationes básicos, además de una baja proporción de Ca²⁺/Mg²⁺, lo que, en su conjunto, conlleva disfunciones fisiológicas en los organismos sésiles (plantas) y un carácter xerófilo de los suelos, con alta susceptibilidad a la erosión (Mota

et al. 2008). Asimismo, la posición estratégica entre dos continentes ha convertido a este macizo en un refugio para algunos taxones de la flora del Terciario que habían emigrado de Europa a África y viceversa (Alba-Sánchez y López 2013).

En el seno de Sierra Bermeja, y como uno de sus principales apéndices montañosos, se localiza Sierra Palmitera (1.473 m s.n.m) (figura 1), en donde se ubica la localidad objeto de estudio, correspondiente a una pequeña cuenca endorreica de, aproximadamente, 30 hectáreas de superficie, situada a 1.364 m s.n.m (36°35'53" N, 5°03'21" W) (figura 2), formada sobre una base litológica peridotítica y sustentadora de suelos serpentínicos, y en donde *A. pinsapo* está ausente hoy día. De acuerdo con Gómez-Zotano *et al.* (2015), dada la naturaleza ultramáfica de esta montaña litoral, la cuenca se considera una excepcionalidad geomorfológica para el conjunto de los afloramientos peridotíticos conocidos, a la vez que presenta una importante acumulación de sedimentos (arcillas) en el fondo, razón por la cual se la ha elegido como área de estudio ya que posibilita el análisis paleo-ecológico de la vegetación a partir

de los carbones depositados en el suelo serpentínico, de tipo regosol. Su altitud y cercanía al Estrecho de Gibraltar favorecen un clima mediterráneo de media montaña notablemente húmedo (PMA en torno a 1.000-1.300 mm, ombroclima húmedo), con destacable criptoprecipitación y temperaturas medias anuales de 13-15 °C (termotipo mesomediterráneo).

Desde un punto de vista biogeográfico, el área de estudio pertenece según Rivas-Martínez (2011) al distrito Bermejense del sector Rondeño de la provincia corológica Bética (Región Mediterránea, Reino Holártico), cuya vegetación se caracteriza por la existencia de dos grandes dominios forestales: los pinares edafoxerófilos de pino resinero (*Pinus pinaster* Aiton), extendidos por buena parte de Sierra Bermeja, y los abetales climatófilos de *A. pinsapo*, limitados actualmente a las cimas de Los Reales, Abanto, Plaza de Armas y Corona. Estos bosques identifican, respectivamente, las series de vegetación exclusivamente bermejenses *Quercococciferae-Pineto pinastri* S. (encabezada por la asociación de pinar-coscojar *Quercopinetum pinastri* Cabezudo, Nieto-Caldera y Pérez-Latorre

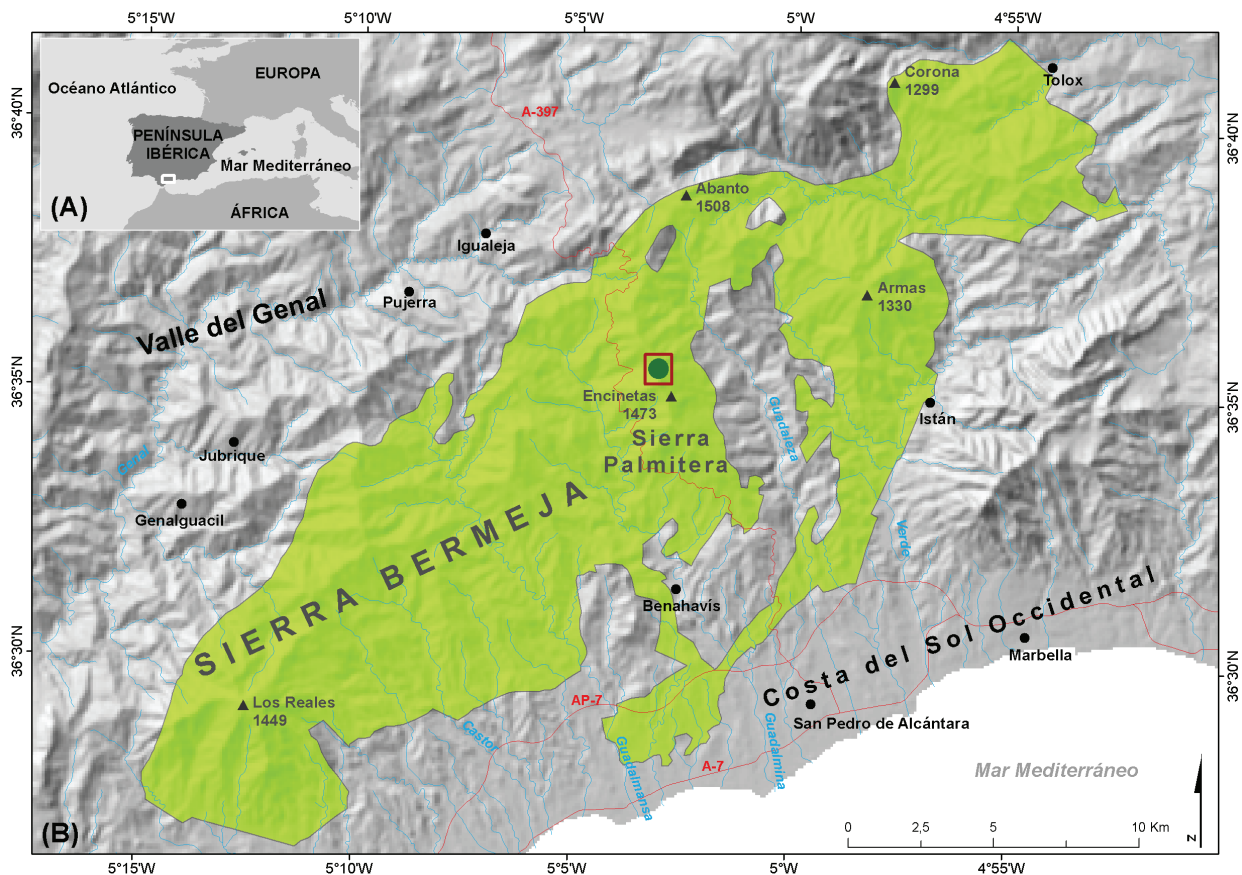


Figura 1. Localización del área de estudio en el sur de la Península Ibérica (A) y en Sierra Bermeja (B). En color verde se marca el dominio ultramáfico de las peridotitas.

Location of the study area in the south of the Iberian Peninsula (A) and in Sierra Bermeja (B). Green color marks the ultramafic domain of the peridotites.



Figura 2. Aspecto parcial de la cuenca endorreica de Sierra Palmitera objeto de análisis. En primer plano se observa el fondo de la depresión donde se llevó a cabo el sondeo pedoantracológico.

Partial aspect of the endorheic basin of Sierra Palmitera which is object of analysis. The bottom of the depression, where the pedoanthracological sounding is conducted, is observed in the foreground.

1989) y *Bunio macucae-Abietetum pinsapo* S. [encabezada por la asociación de abetal *Bunio macucae-Abietetum pinsaponis* (Asensi et Rivas-Martínez 1976) Rivas-Martínez 1987]. En la localidad de estudio aparecen dos comunidades de matorral que forman parte, habitualmente, de la sucesión vegetal teórica que acompaña a estos abetales serpentínícolas bermejenses, como son los piornales de aulaga vaquera (*Ulex baeticus* Boiss.) y tojos alfileros [*Genista hirsuta* Vahl ssp. *lanuginosa* (Spach) Nyman], y los jarales de jara macho (*Cistus populifolius* L.), que en su conjunto integran la asociación *Genisto lanuginosae-Cistetum populifolii* Asensi et Díez-Garretas 1992, exclusiva de Sierra Bermeja y representativa de la degradación de las etapas de prebosque de orla del abetal. Asimismo, destaca la aparición de un bosque de encinas (*Quercus rotundifolia* Lam.) relicto en el contexto de Sierra Bermeja, de carácter cerrado y talla media, con ejemplares de porte arbustivo-arborescente; se trata de una tesela con vegetación que, a falta de un estudio florístico detallado, no es posible asimilar de momento a ninguno de los encinares béticos definidos desde el punto de vista fitosociológico. Dentro de este contexto vegetal, la flora, tal y como recoge en síntesis Gómez-Zotano et al. (2014), se ve drásticamente condicionada a causa del especial ambiente edáfico (conocido como síndrome de serpentina), lo que favorece la presencia de numerosos taxones exclusivos de los suelos serpentínicos y, en contrapartida, se caracteriza por la exclusión de la mayoría de las especies de las formaciones mediterráneas circundantes.

Metodología. El método para llevar a buen término la investigación se ha basado en la pedoantracología, disciplina científica que, como el resto de sus afines paleoecológicas, ofrece una valiosa información de la geohistoria ambiental y de la paleobiogeografía de un territorio. A partir del análisis del registro fósil vegetal (granos de polen, esporas, semillas, frutos, micro y macrocarbones, microfósiles polínicos, fitolitos, etc.) se puede conocer con gran nivel de detalle los distintos ciclos y dinámicas temporales y espaciales de tipo climático y forestal que han afectado a una región determinada. La importancia de este tipo de estudios radica en dos puntos esenciales (Alcalde et al. 2006): en primer lugar, la posibilidad de modelizar los ecosistemas forestales del pasado y, en segundo, la capacidad para estudiar la dinámica temporal de estos en distintas fases paleohistóricas, precisando la naturaleza de las principales perturbaciones (climáticas y/o antrópicas) acaecidas.

La pedoantracología, en concreto, se basa en el estudio de los carbones vegetales del suelo, lo que permite la reconstrucción de la paleo-dinámica de la vegetación arbórea y leñosa incendiada con gran precisión espacial (Carcaillet y Talon 1996, Talon et al. 1998) ya que, a diferencia de los análisis palinológicos (polen), los estudios antracológicos aseguran la presencia *in situ* de la especie fuente del carbón.

En este contexto metodológico general, en la presente investigación se han llevado a cabo dos fases principales de trabajo, una en campo y otra en laboratorio. En primer lugar, el trabajo de campo ha consistido en la toma

de muestras de suelo en el fondo de la cuenca objeto de estudio (localidad "PALMI"), ya que se consideró que este era el punto más idóneo para encontrar un registro fósil de carbón más amplio. Para ello, se realizó un sondeo abriendo una fosa de una profundidad de 80 cm hasta alcanzar las primeras evidencias físicas de roca madre. En dicho corte edáfico se identificaron cinco niveles de muestreo (I, II, III, IV, V), delimitados a partir de la descripción de los horizontes del suelo, tomándose en cada uno de ellos una muestra de suelo de aproximadamente 5 kg de peso (cinco muestras de suelo en conjunto).

El trabajo de laboratorio, en segundo lugar, ha consistido en la separación e identificación del carbón a partir del procedimiento descrito por Carcaillet y Thinon (1996) y Talon *et al.* (1998). Para ello, se procedió al tamizado en agua de las muestras de suelo recogidas en campo. El tamaño de las mallas de tamizado ha sido de 5, 2 y 0,8 mm y, por tanto, los tamaños de los carbones resultantes han sido de > 5 mm, 5 a 2 mm y 2 a 0,8 mm. Posteriormente, se llevó a cabo la selección manual del carbón y a su separación de la fracción mineral sobrante en cada tamiz con la ayuda de una lupa binocular. A continuación, se realizó la identificación taxonómica de un máximo de 100 carbones por cada tamaño de malla (5, 2 y 0,8 mm) de cada nivel de muestreo (I, II, III, IV, V). Para esta discriminación de especies, se utilizó un microscopio episcópico (aumentos de 100x, 200x y 500x), tomando como referencia de base diferentes atlas de anatomía de maderas y carbones, así como la propia antracoteca del Laboratorio de Geografía Física de la Universidad de Granada (España).

Por último, las muestras seleccionadas de las distintas especies identificadas (10 para la localidad de estudio) se enviaron para su datación mediante AMS (prueba del ^{14}C) al laboratorio especializado Poznan Radiocarbon Laboratory (Poznan, Polonia). Dichas muestras tuvieron que ser

pesadas, previamente a su envío, en una báscula de precisión para comprobar que, en todos los casos, presentasen el peso mínimo necesario –3 mg– para su datación mediante la técnica de radio-carbón ^{14}C (téngase en cuenta que la mayor parte de las muestras analizadas no alcanzaba un peso de 3 mg). Las dataciones obtenidas se han calibrado con el programa Oxcal 4.2 y la base de datos IntCal13 (Reimer *et al.* 2013), 2 sigma (95 % probabilidad).

RESULTADOS

Análisis de la antracomasa encontrada y especies identificadas. Tal y como se representa en la figura 3A, en todos los niveles de muestreo (I, II, III, IV y V) se ha encontrado carbón en cantidad importante. En I, III y V (figura 3B) las tasas de antracomasa (mg de carbón por kg de muestra de suelo) oscilan entre 4.000 y algo más de 4.600 mg kg^{-1} , que se pueden considerar valores relativamente elevados. El nivel IV presenta una tasa de antracomasa superior, ligeramente por encima de 10.800 mg kg^{-1} . Sin embargo, es el nivel II –coincidente con una profundidad en el suelo de 10 a 18-20 cm– en donde la tasa de antracomasa es mayor, con un valor que supera los 112.000 mg kg^{-1} que, en este caso, prácticamente no encuentra parangón en análisis pedoantracológico alguno.

Respecto a las especies identificadas, han sido dos los taxones principales, correspondientes a *Quercus* sp. y, en menor medida, a *P. pinaster* (figura 3C y cuadro 1). A *Quercus* sp. corresponde la mayor parte de los carbones encontrados en I, II, III y V (70-95 %); por su parte, *P. pinaster* se encuentra modestamente representado en I, III y V (5-15 %), siendo la especie mayoritaria en IV (60 %), único nivel en el que el predominio de carbones encontrados no corresponde a *Quercus* sp. En su conjunto, *Quercus* sp. y *P. pinaster* representan entre el 78 % y el

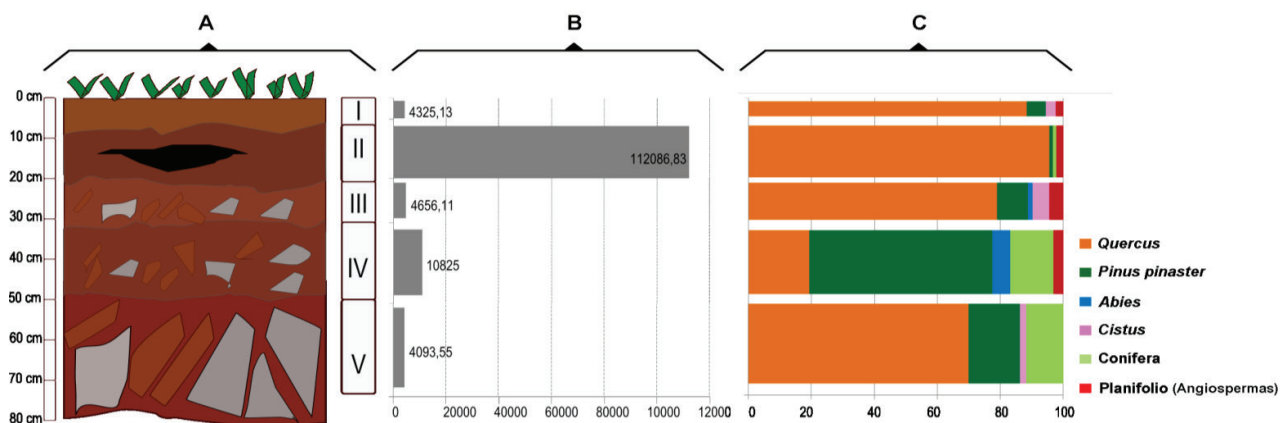


Figura 3. Resultados por nivel de muestreo: A) perfil del suelo, B) antracomasa específica por nivel (mg kg^{-1}) y C) taxones identificados en porcentaje (proporción calculada excluyendo los carbones vitrificados y no identificados).

Results by sampling level; A) Soil profile; B) Specific anthracomass by level (mg kg^{-1}); C) Identified taxa in % (proportion calculated excluding the vitrified and unidentified charcoals).

Cuadro 1. Resultados de la identificación taxonómica: número de fragmentos de carbón analizados por nivel de muestreo.

Results of the taxonomic identification: number of charcoal fragments analyzed by sampling level.

Especies	Nivel de muestreo					Total
	I	II	III	IV	V	
<i>Quercus</i> sp.	143	167	105	24	77	516
<i>Pinus pinaster</i>	10	2	13	72	18	115
<i>Abies</i> sp.	0	0	2	7	0	9
<i>Cistus</i> sp.	5	0	7	0	2	14
Angiosperma	4	4	6	4	0	18
Gimnosperma	0	2	0	17	13	32
No identificado	11	5	17	6	42	81
Vitrificado	77	74	93	47	66	357
Total	250	254	243	177	218	1.142

96 % del total de los fragmentos de carbón analizados en los distintos niveles de muestreo (un total de 631 de 1.142 muestras, lo que representa el 55,2 %).

Otros taxones presentes pero escasamente representados en el registro fósil de carbón han sido *Abies* sp. y *Cistus* sp., que, además, no aparecen en todos los niveles de muestreo (el primero únicamente está presente en el nivel IV y el segundo aparece puntualmente en I, III y V). También ha resultado escaso el número de muestras identificadas a nivel de angiosperma-gimnosperma (un total de 50 muestras en el conjunto de todos los niveles, es decir, un 4,4 % del total), así como el de carbones no identificados (39 muestras en I, II, III y IV, 3,4 % del total) a excepción del nivel V,

donde las muestras no identificadas han alcanzado las 42 (19,2 % respecto al total de dicho nivel). En ambos casos, angiospermas-gimnospermas y carbones no identificados, se ha tratado de muestras en las que solo ha sido posible reconocer alguna de las características anatómicas del carbón, sin que ello haya permitido llegar a una identificación de mayor detalle o a ninguna aproximación taxonómica válida. Mayor significación han tenido las muestras de carbón cuya identificación ha sido imposible por hallarse completamente vitrificadas, es decir, sin posibilidad alguna de reconocer características definitorias de una u otra especie, género o división vegetal. En concreto, se ha encontrado un total de 357 muestras vitrificadas, lo que representa un 31,2 % del total, habiendo en este caso una relativa homogeneidad en la cantidad de carbones vitrificados respecto al total de muestras analizadas en cada nivel de muestreo (mínimo de 26,5 % en IV y máximo de 38,2 % en III).

Dataciones. De las 654 muestras identificadas fehacientemente (*Quercus* sp., *P. pinaster*, *Abies* sp. y *Cistus* sp.), se han realizado dataciones de 10 carbones correspondientes a los taxones que se han considerado de mayor interés para los propósitos de la investigación, en este caso *Quercus* sp., *P. pinaster* y *Abies* sp. Estas muestras cubren la totalidad de los niveles de muestreo diferenciados en la localidad objeto de estudio, siendo el nivel IV del que se ha datado un mayor número de carbones (4) debido al interés que ofrecían los taxones identificados. La cronología de las dataciones, tal y como se puede apreciar en el cuadro 2, comprende un periodo de tiempo que abarca desde el inicio del Holoceno medio, hace algo más de 8.000 años (considerando la datación calibrada), hasta hace unos 250-300 años (dataciones sub-actuales). En cualquier caso, cabe resaltar que las dataciones obtenidas se concentran en dos periodos de tiempo muy definidos: un lapso temporal

Cuadro 2. Resultados de las dataciones efectuadas mediante el análisis de ¹⁴C y dataciones calibradas (AP) (95 %).

Results of the dating made through the ¹⁴C analysis and calibrated dating (BP) (95 %).

Código laboratorio	Nivel de muestreo (profundidad en cm)	Taxón	Datación ¹⁴ C (años AP)	Datación calibrada (años AP) (95 %)
Poz-78848	I (0-9)	<i>Quercus</i> sp.	140 ± 30	281-6
Poz-78849	II (9-21)	<i>Pinus pinaster</i>	70 ± 30	260-26
Poz-78850	III (21-32)	<i>Quercus</i> sp.	50 ± 30	257-31
Poz-78929	III (21-32)	<i>Quercus</i> sp.	90 ± 30	266-22
Poz-78851	IV (32-52)	<i>Abies</i> sp.	6.480 ± 40	7.470-7.310
Poz-78852	IV (32-52)	<i>Abies</i> sp.	5.710 ± 40	6.631-6.408
Poz-78853	IV (32-52)	<i>Quercus</i> sp.	120 ± 30	272-11
Poz-78854	IV (32-52)	<i>Pinus pinaster</i>	4.965 ± 35	5.854-5.604
Poz-78856	V (52-80)	<i>Quercus</i> sp.	135 ± 30	279-8
Poz-78857	V (52-80)	<i>Pinus pinaster</i>	7.300 ± 40	8.180-8.020

de unos 2.500 años que comprende cuatro muestras datadas hace entre 8.180 y 5.604 AP y, en segundo lugar, un periodo sub-actual de cronología inferior a 300 años que aglutina el resto de muestras datadas (6). Nótese el vacío temporal de registros encontrados entre 5.600 y 300 AP.

Las cuatro dataciones que integran el periodo cronológico más antiguo corresponden a *Abies* sp. (2) y a *P. pinaster* (2). Tres de estas muestras provienen de carbones encontrados en el nivel IV, correspondientes a *Abies* sp. (7.470-7.310 y 6.631-6.408 AP) y *P. pinaster* (5.854-5.604 AP); la cuarta muestra corresponde a un carbón encontrado en el nivel V, en este caso de *P. pinaster*, siendo esta la de mayor antigüedad (8.180-8.020 AP). Destaca, asimismo, el hecho de que, junto las anteriores dataciones antiguas, se hayan datado dos muestras de carbón de edad sub-actual (270-280 años) (una en cada nivel de muestreo IV y V); esta circunstancia indica, a priori, la inexistencia de orden cronológico alguno en los distintos horizontes identificados en el corte edáfico analizado y, por tanto, el verdadero funcionamiento de este suelo como un tipo de montaña sin características aluviales sedimentarias estrictas a pesar de situarse en el fondo de una pequeña cuenca endorreica. El resto de dataciones sub-actuales (4), que integran el periodo cronológico más moderno, corresponden a *Quercus* sp. para tres de las muestras (nivel I y III) y a *P. pinaster* para la cuarta (nivel II), las cuales ejemplifican a la perfección la vegetación actualmente existente en la cuenca. La figura 4 representa gráficamente la distribución temporal de estas dataciones considerando los tres taxones principales identificados (*P. pinaster*, *Abies* sp. y *Quercus* sp.).

DISCUSIÓN

La presencia en el registro fósil de carbón de *Abies* sp. en la localidad estudiada —con gran certeza perteneciente a *A. pinsapo*— confirma la existencia en el pasado de un área de distribución de la especie más extensa que la actual en el marco geográfico del extremo occidental de la Cordillera Bética en general y, en particular, en Sierra Bermeja. Y es que, a pesar de que la mayor parte de los carbones de coníferas analizados en la localidad objeto de estudio pertenecen a *P. pinaster*, se han podido identificar algunas muestras pertenecientes a *Abies* sp. gracias a una característica particular, en forma de “cremallera”, diferenciable en el plano radial de los abetos pero inexistente en el mismo plano anatómico en los pinos (figura 5). La antedicha hipótesis ya había sido apuntada por Linares (2011) basándose en fósiles de ancestros comunes de distintas especies de abetos circunmediterráneos integrantes de bosques terciarios, cuya distribución biogeográfica fue mucho más amplia en el Mediterráneo Occidental. En el caso del sur de la Península Ibérica y norte de África, el área de distribución de los abetales se vio favorecida por las oscilaciones climáticas relacionadas con los continuos avances de los fríos glaciales, que propiciaron la contracción y fragmentación de los rangos de distribución de aquellas especies mejor adaptadas a climas templados (Van der Veken *et al.* 2007, Alba-Sánchez y López 2013). Por otro lado, las señales polínicas de abeto encontradas en determinadas lagunas, turberas y cuevas del sur y sureste de la Península Ibérica (véase Carrión 2013) respaldan

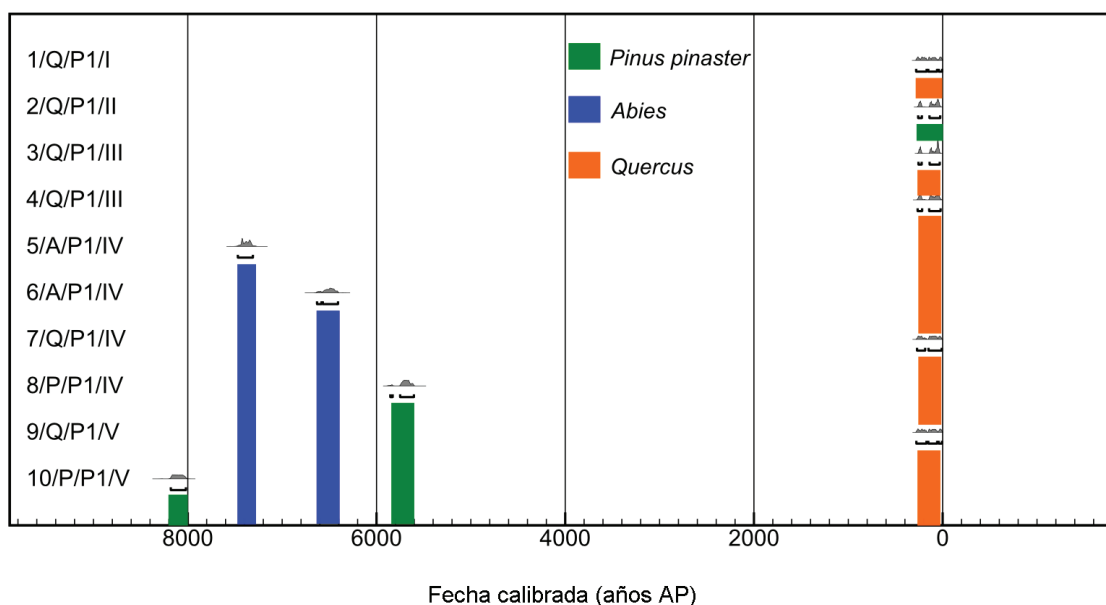


Figura 4. Distribución cronológica de las dataciones realizadas. Los diferentes colores representan los taxones correspondientes. Elaborado con el programa Oxcal 4.2 y la base de datos IntCal13 (Reimer *et al.* 2013), 2 sigma (95 % probabilidad).

Chronological distribution of the obtained dating. The different colors represent the corresponding taxa.

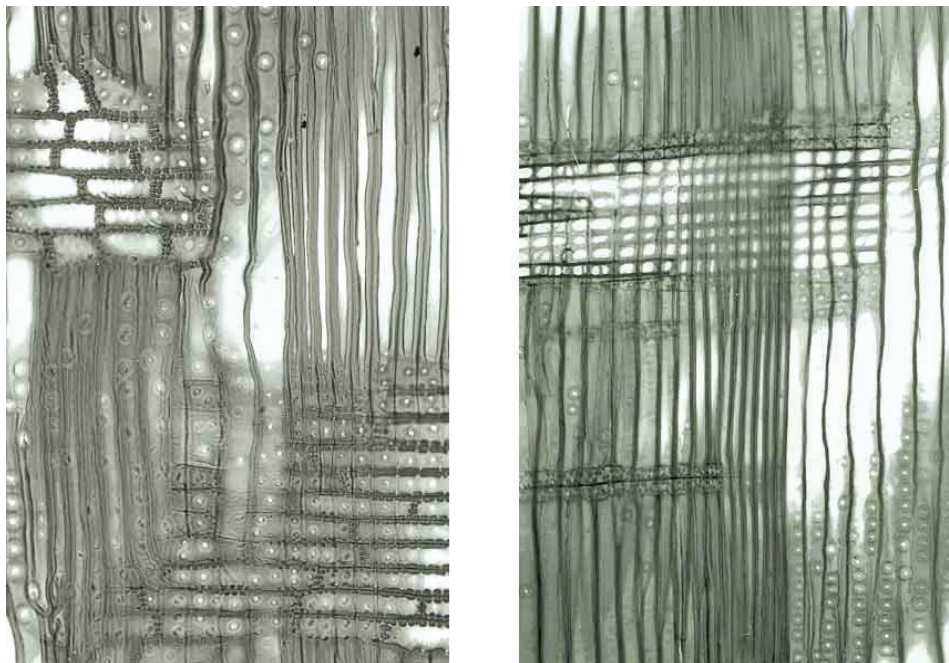


Figura 5. Imágenes de carbón al microscopio. Secciones radiales de *Abies* sp. (izquierda) y *Pinus* sp. (derecha). Obsérvese la “cremallera” del plano radial de *Abies* sp., y cómo dicha característica no aparece en la misma sección en *Pinus* sp. (Schoch *et al.* 2004).

Images of charcoal samples under a microscope. Radial sections of *Abies* (left) and *Pinus* (right). Note the “zipper” of the radial plane of *Abies*, and how this feature does not appear in the same section in *Pinus*. Source of the images: http://www.woodanatomy.ch/species_az.php.

esta hipótesis, llegándose a detectar registros de polen de *Abies* sp. superiores al 3-5 %, valores que se han establecido como el parámetro que asegura la presencia de los bosques *in situ*.

En este contexto, y considerando que en la actualidad solo se conservan abetales en el paraje de Los Reales dentro del conjunto petrográfico de Sierra Bermeja (figura 6, arriba), resulta de gran interés el presente hallazgo, en el registro fósil, de evidencias físicas de *Abies* sp., que asegura su presencia pretérita en una localidad en la que actualmente la especie se encuentra extinta, suponiendo un paso importante para el conocimiento de su paleobiogeografía en el sur de España. Asimismo, estos análisis pedoantracológicos, contrastados con el estudio de la vegetación actual, despejan prácticamente todas las dudas sobre la enquistada controversia existente hasta ahora entre latifolias y coníferas sobre los sustratos ultramáficos mediterráneos de Sierra Bermeja (Gómez-Zotano 2004) ya que confirman la antigüedad de las coníferas como vegetación climácica sobre los litosoles serpentínicos béticos, que se puede considerar se extiende al menos a lo largo de gran parte del Holoceno.

Asimismo, las dataciones de *Abies* sp. y *P. pinaster* obtenidas en la localidad de estudio permiten teorizar acerca de cómo pudo ser la dinámica vegetal local durante 8.100-5.600 AP. En este sentido, se detectan dos fases de preponderancia de los pinares respecto a los abetales, acotadas en torno a 8.100 y 5.700 AP, mientras que *Abies* sp. pudo ser dominante en la fase comprendida entre 7.400 y

6.400 AP. Esta dinámica vegetal teórica se enmarcaría en un fase dilatada de transformación del paisaje vegetal dominante en esta zona del sur de la Península Ibérica, que estaría muy emparentada con los cambios ambientales – bien conocidos– acontecidos en la cercana y limítrofe región del Estrecho de Gibraltar; en este sector coexistían bosques húmedos integrados por los ancestros de taxones actualmente existentes como quejigos comunes (*Quercus faginea* Lam.) y andaluces (*Quercus canariensis* Willd.), robles melojos (*Quercus pyrenaica* Willd.), alcornoques (*Quercus suber* L.), quejiguetas (*Quercus lusitanica* Lam.), arces granadinos [*Acer opalus* Mill. ssp. *granatense* (Boiss.)], acebos (*Ilex aquifolium* L.), abedules [*Betula pendula* Roth ssp. *fontqueri* (Rothm.) Moreno y Peinado] y castaños (*Castanea sativa* Mill.) durante el Paleolítico final (bajo condiciones favorables de humedad y temperie creciente), que pudieron convivir o dejar paso a masas mixtas de *Quercus* sp. y *Pinus* sp. con *Juniperus* sp. en las fases progresivamente más secas del Holoceno inicial, cuyo paisaje vegetal experimentó una paulatina homogeneización florística (Carrión *et al.* 2008). Este proceso de simplificación de la flora forestal, vigente en la actualidad, se asocia en la Península Ibérica y norte de Marruecos al impacto antropogénico de incendios y ganadería durante el Neolítico (Reille 1977, Arroyo *et al.* 2004). Una temprana humanización que, en el entorno de Sierra Bermeja, se constata en el cercano paraje del Torcal de la Utrera (distante 28 km en línea recta de PALMI), donde se ha



Figura 6. Abetal de *A. pinsapo* en Los Reales de Sierra Bermeja (arriba); *P. pinaster* joven en la localidad objeto de estudio (abajo izquierda); y *Q. rotundifolia* relictual en la crestería de la Sierra de la Palmitera sobre afloramiento de dique granítico.

Firs forest of *Abies pinsapo* in Sierra Bermeja (top); Young *Pinus pinaster* growing in the study area (bottom left); And relict *Quercus rotundifolia* in the upper crest of Sierra de la Palmitera over granite dikes outcrop (bottom right).

comprobado la existencia de un poblamiento neolítico especialmente intenso (8.000-6.000 AP) asociado a cavidades de origen kárstico (Romo *et al.* 2008).

Este proceso de neolitización en el litoral y prelitoral cercano a Sierra Bermeja parece que coincidió con el rápido desarrollo del clima mediterráneo al comienzo del Holoceno, según apuntan los análisis polínicos y los niveles lacustres (Cheddadi *et al.* 1998, Jalut *et al.* 2000), destacando las notables pulsaciones de aridez acaecidas desde entonces, si bien destaca entre ellas una acusada fase húmeda en el lapso 7.000-6.000 AP (Reed *et al.* 2001), coincidente en este caso con la presencia de *Abies* sp. en la zona de estudio. Por tanto, es previsible que durante el periodo 8.000-6.000 AP Sierra Bermeja en su conjunto estuviese sometida a unas condiciones ambientales progresivamente más secas y templadas. Se puede argüir que el carbón encontrado con dicha antigüedad se enmarcaría en un momento de intensificación de los incendios forestales

al principio de dicho periodo, tanto de tipo natural (debido a la desecación climática) como de origen antropogénico (asociado al poblamiento neolítico en el cercano litoral), lo que habría supuesto una drástica, progresiva e imparable transformación vegetal de la montaña peridotítica. En cualquier caso, no es posible aseverar que *P. pinaster* sustituyese por completo a *Abies* sp., como tampoco es previsible que en 7.000-6.000 AP, bajo condiciones más húmedas, *Abies* sp. desplazase por entero a *P. pinaster*.

En este sentido, el hipotético aumento de la recurrencia e intensidad de los incendios forestales en Sierra Bermeja desde hace aproximadamente 8.000 años, junto a las características geomorfológicas de la localidad de estudio –fondo de una pequeña cuenca endorreica–, pueden ayudar a explicar las altas tasas de antracomasa encontradas, superiores a 4.000 mg kg⁻¹ en todos los niveles de muestreo y por encima de 112.000 mg kg⁻¹ en el nivel II. En los ambientes de montaña o media montaña pirenaicos, alpinos o

centroeuropeos, las antracomasas específicas por nivel de muestreo raramente superan los 1.000 mg kg⁻¹ (Touflan y Talon 2008, Bal *et al.* 2010, Cunill *et al.* 2015), y solo en el norte de Alemania se han encontrado niveles de alrededor de 9.000 mg kg⁻¹ por nivel (Robin *et al.* 2013).

En el caso del nivel II (antracomasa > 112.000 mg kg⁻¹), es previsible que la acumulación de carbón en torno a 12-15 cm de profundidad provenga de incendios forestales relativamente recientes a la vista de las dataciones obtenidas de los carbones más superficiales analizados, que en todos los casos han ofrecido una cronología sub-actual inferior a 300 años; la eliminación en repetidas ocasiones de la cubierta arbolada y del matorral a causa del fuego habría dejado desnudas de vegetación las laderas y, en consecuencia, expuestos los delgados y rocosos suelos a la erosión hídrica de la capa fértil. Este proceso degenerativo del suelo habría sido particularmente importante durante los años inmediatamente posteriores a los episodios de fuego—cuando aún la regeneración vegetal era escasa— en relación a las intensas lluvias otoñales que caracterizan el mesoclima de Sierra Palmitera, con acumulados que frecuentemente superan los 50-100 mm día⁻¹. Todavía en la actualidad, tras más de 40 años del último incendio que asoló la localidad, la cubierta vegetal es abierta en las posiciones de mayor pendiente, siendo algo más espesa hacia el fondo de la cuenca y, en cualquier caso, carente de cobertura arbolada alguna a excepción de algunos pies de *P. pinaster* supervivientes del último fuego.

A todo ello hay que añadir el hecho de que las especies a las que pertenecen estas muestras sub-actuales, *P. pinaster* y *Quercus* sp., corresponden a los taxones que actualmente protagonizan la cubierta vegetal de la localidad de estudio (figura 6, abajo izquierda y derecha, respectivamente), lo que parece indicar una drástica homogeneización de la vegetación coincidente con esta última y más atroz fase de incendios forestales que ha castigado Sierra Bermeja en su conjunto desde el siglo XVIII. Bien es cierto que la ausencia de dataciones que se ha obtenido entre 300 y 5.600 AP abre una serie de incógnitas a resolver sobre la evolución del paisaje vegetal en Sierra Palmitera durante buena parte del Holoceno reciente, si bien se puede plantear como causa probable de este hecho un notable descenso en la frecuencia de los incendios forestales, lo que en cualquier caso debería ser corroborado mediante otras técnicas de análisis paleoecológicas.

Además, en el caso de *Quercus* sp., la imposibilidad de poder discernir a qué especie corresponden las muestras identificadas plantea un escenario interesante a la hora de analizar si la coscoja (*Quercus coccifera* L.)—el más extendido de los axones que integran el género *Quercus* en las peridotitas suribéricas— ha estado presente en Sierra Bermeja a lo largo del Holoceno de manera coetánea a *P. pinaster* o, si por el contrario, *Q. rotundifolia* tuvo un papel más principal en el pasado; asimismo, la posible coexistencia entre ambas especies debe considerarse como una posibilidad, al menos en aquellos ni-

chos ecológicos donde *Q. rotundifolia* aparece en la actualidad con mayor profusión, que en todo caso corresponden a situaciones lito-edáficas y topográficas particulares como afloramientos de rocas ácidas (diques graníticos) y vaguadas profundas, hondonadas y umbrías donde los suelos de origen peridotítico han logrado alcanzar un grado considerable de profundidad.

Como cuestiones complementarias a los resultados principales obtenidos, merece la pena resaltar para finalizar dos circunstancias. En primer lugar, la elevada tasa de carbón vitrificado que no ha podido ser identificado (casi un tercio del total de las muestras analizadas) debe ser tenida en cuenta al realizar distintos tipos de modelizaciones basadas en las especies identificadas en la localidad de estudio. La vitrificación de los carbones, cuyas causas no han podido todavía ser determinadas de manera general (y así queda recogido en la literatura científica), podría en este caso maximizar o minimizar la importancia de los principales taxones arbóreos identificados—*Abies*, *Pinus* o *Quercus*— o de otras nuevas especies, que podrían hacer variar en distinto grado las conclusiones que emanan de este trabajo. En segundo lugar, los resultados obtenidos demuestran la inexistencia de una estratificación cronológica completa en el suelo analizado, ya que las muestras de carbón de los niveles IV y V presentan edades comprendidas entre la actualidad (sub-actuales) y 8.180 AP. Frente a esta “mezcla” cronológica, la parte superior del suelo (niveles I, II y III) sí parece resultado de procesos edafogénicos recientes, pues todas las muestras analizadas datan de hace relativamente poco tiempo. Considerando que es bien conocida la inexistencia de relación directa entre la edad de los carbones y su profundidad en los suelos de montaña, dada la intervención de diferentes procesos edafológicos y de bioturbación (Carcaillet y Talon 1996), se puede deducir que el suelo de la localidad objeto de estudio se ha formado sobre un lecho de origen coluvial que facilita la infiltración del agua y que, pese a la inexistencia de sumidero, no presenta indicios de encharcamiento (cuarteamiento u horizonte gris del suelo, vegetación higrófila).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos del análisis pedoantracológico en la localidad objeto de estudio confirman, una vez contextualizados con aquellos derivados del resto de estudios paleoambientales, la existencia en el pasado de un área de distribución de *Abies* sp. en la Cordillera Bética (sur de la Península Ibérica) más extensa que la actual y sobre peridotitas. El hallazgo de carbón de *Abies* sp.—perteneciente muy probablemente a *A. pinsapo*— en el registro fósil de Sierra Palmitera, una localidad de Sierra Bermeja donde actualmente los abetales están ausentes, aporta, sin duda, un conocimiento fundamental para el estudio paleobotánico de este paleoendemismo ibérico. Las dataciones antiguas de esta conífera, así como las correspondientes a *P. pinaster*, vienen a solventar en gran medida la hasta

ahora enquistada controversia biogeográfica latifolias-coníferas sobre los sustratos ultramáficos de Sierra Bermeja, quedando meridianamente claro que pinares y abetales constituyen la vegetación climática de la práctica totalidad del macizo, lo que se puede hacer extensible a gran parte del Holoceno.

El mayor conocimiento paleoecológico de la biogeografía holocena de *Abies* sp. y del papel paleobiogeográfico que han tenido los bosques de gimnospermas, de los que forman parte los abetales, frente a las formaciones de angiospermas de *Quercus* sp. debe resultar esencial para la adecuada gestión actual de *A. pinsapo*. La información colectada ha de implementarse necesariamente con las medidas que actualmente se están llevando a cabo (lucha y prevención de incendios forestales, vigilancia y control fitosanitario de agentes patógenos, reforestación y reforzamiento de abetales residuales y de poblaciones con escasa capacidad de regeneración natural, actuaciones de mantenimiento y/o de mejora de hábitats, preservación del acervo genético del pinsapo y control de sus poblaciones frente a las amenazas del cambio global, además de acciones de educación y concienciación social acerca de la importancia que tiene esta especie) para conformar una nueva estrategia realista con el objeto de la preservación y regeneración de la especie –dado su estatus en peligro de extinción– basada en el conocimiento de su evolución desde el Holoceno medio hasta el presente. En este sentido, los datos obtenidos avalan la posibilidad de reintroducir el pinsapo en aquellos enclaves considerados nichos ecológicos potenciales de *A. pinsapo*, y no solo en los tres núcleos disyuntos de montaña donde se refugia, sierras de las Nieves, Grazalema y Bermeja, sino también allí donde los análisis pedoantracológicos y demás afines paleoecológicos determinen que existió idoneidad para ello. En cualquier caso, la gran cantidad de carbón vitrificado que no ha podido ser identificado plantea todavía cuestiones a resolver sobre la posibilidad de que determinadas especies presenten mayor o menor importancia que la que parecen tener a partir de las dataciones efectuadas.

AGRADECIMIENTOS

Los resultados de esta investigación forman parte del Proyecto de I+D “Reconstrucción geohistórica de la vegetación arbórea sobre sustratos ultramáficos mediterráneos” (ULTRAFOERSTS - CSO2013-47713-P), perteneciente al Programa Estatal de Investigación Científica y Técnica de Excelencia – Subprograma Estatal de Generación de Conocimiento, subvencionado por el Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España (Convocatoria 2013).

REFERENCIAS

Alba-Sánchez F, JA López. 2013. Paleobiogeografía del pinsapo en la Península Ibérica durante el Cuaternario. *In* López C

ed. Los Pinsapares en Andalucía (*Abies pinsapo* Boiss.): Conservación y sostenibilidad en el siglo XXI. Sevilla, España. Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. p. 21-39.

- Alcalde C, I García-Amorena, S García Álvarez, D García Calvo, R García García, M Génova, P Gil Borrell, F Gómez Manzanque, J Maldonado, C Morla, J del Nido, JM Postigo, P Regato, S Río, S Roig, JM Rubiales, LJ Sánchez. 2006. Contribución de la Paleofitogeografía a la interpretación del paisaje vegetal ibérico: estado de conocimientos y nuevas perspectivas de investigación. *Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales* Fuera de serie: 40-54.
- Arroyo J, J Carrión, A Hampe, P Jordano. 2004. La distribución de las especies a diferentes escalas espacio-temporales. *In* Valladares F ed. *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. Madrid, España. Editorial EGRAF S.A. p. 29-69.
- Asensi A, S Rivas-Martínez. 1976. Contribución al conocimiento fitosociológico de los Pinsapares de la Serranía de Ronda. *Anales del Instituto Botánico Antonio José Cavanilles* 33:239-247.
- Asensi A, B Diez-Garretas. 1992. Ecología y siatanamía de los matorrales y jarales de la Serranía de Rauda (Andalucía, España). *Doc. Phytosociol* 13:15-28.
- Bal MC, C Rendu, MP Ruas, P Campmajo. 2010. Paleosol charcoal: reconstructing vegetation history in relation to agropastoral activities since the Neolithic. A case study in the Eastern French Pyrenees. *Journal of Archaeological Science* 37(8): 1785-1797.
- Carcaillet C, B Talon. 1996. Aspects taphonomiques de la stratigraphie et de la datation de charbons de bois dans les sols: exemple de quelques sols des Alpes. *Géographie Physique et Quaternaire* 50(2): 233-244.
- Carcaillet C, M Thimon. 1996. Pedoanthracological contribution to the study of the evolution of the upper treeline in the Maurienne Valley (North French Alps): methodology and preliminary results. *Review of Palaeobotany and Palynology* 9: 399-416.
- Carrión J ed. 2013. Paleoflora Ibérica: Plioceno-Cuaternario (Vol. I-II). Madrid, España. Ministerio de Economía y Competitividad. 543 p.
- Carrión J, C Finlayson, S Fernández, G Finlayson, E Allué, J López-Sáez, P López-García, G Gil-Romera, G Bailey, P González-Sampériz. 2008. A coastal reservoir of biodiversity for Upper Pleistocene human populations: palaeoecological investigations in Gorham's Cave (Gibraltar) in the context of the Iberian Peninsula. *Quaternary Science Reviews* 27: 2118-2135.
- Cheddadi R, HF Lamb, J Guiot, S van der Kaars. 1998. Holocene climatic change in Morocco: a quantitative reconstruction from pollen data. *Climate Dynamics* 14: 883-890.
- Cunill R, JP Métaillé, D Galop, S Poublanc, N de Munnik. 2015. Palaeoecological study of Pyrenean lowland fir forests: Exploring mid-late Holocene history of *Abies alba* in Montbrun (Ariège, France). *Quaternary International* 366: 37-50.
- Gómez-Zotano J. 2004. Controversia árboles latifolios-versus coníferas en Sierra Bermeja, una montaña ultramáfica del sur de España. *In* Boyd RS, AJM Baker, J Proctor eds. *Ultramafic Rocks: Their Soils, Vegetation, and Fauna*. St. Albans-Herts, United Kingdom. p. 151-156.
- Gómez-Zotano J, F Román-Requena, N Hidalgo-Triana, AV Pé-

- rez-Latorre. 2014. Biodiversidad y valores de conservación de los ecosistemas serpentínicos en España: Sierra Bermeja (provincia de Málaga). *Boletín de la Asociación de Geógrafos Españoles* 65: 187-206.
- Gómez-Zotano J, JA Olmedo-Cobo, E Martínez-Ibarra, R Cunill-Artigas. 2015. Descubrimiento y caracterización de una cuenca endorreica en la cumbre de Sierra Bermeja (provincia de Málaga). In De la Riva J, P Ibarra, R Montorio, M Rodrigues eds. Análisis espacial y representación geográfica: innovación y aplicación. Zaragoza, España. Editorial ISBN. p. 1629-1638.
- Jalut G, AE Amat, L Bonnet, T Gauquelin, M Fontugne. 2000. Holocene climatic changes in the Western Mediterranean, from south-east France to south-east Spain. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 160: 255-290.
- Linares JC. 2011. Biogeography and evolution of *Abies* (Pinaceae) in the Mediterranean Basin: the roles of long-term climatic change and glacial refugia. *Journal of Biogeography* 38: 619-630.
- Mota JF, JM Medina-Cazorla, FB Navarro, FJ Pérez-García, AV Pérez-Latorre, P Sánchez-Gómez, JA Torres, A Benavente, G Blanca, C Gil, J Lorite, ME Merlo. 2008. Dolomite flora of the Baetic Ranges glades (South Spain). *Flora* 203: 359-375.
- Reed JM, AC Stevenson, S Juggins. 2001. A multi-proxy record of Holocene climatic change in SW Spain: Laguna de Medina, Cádiz. *The Holocene* 11(6): 707-719.
- Reille M. 1977. Contribution pollen analytique à l'histoire holocène de la végétation des montagnes du Rif (Maroc Septentrional). *Recherches Françaises sur le Quaternaire* 50: 53-76.
- Reimer PJ, E Bard, A Bayliss, JW Beck, PG Blackwell, CB Ramsey, CE Buck, H Cheng, RL Edwards, M Friedrich, PM Grootes, TP Guilderson, H Hafliðason, I Hajdas, C Hatté, TJ Heaton, DL Hoffmann, AG Hogg, KA Hughen, KF Kaiser, B Kromer, SW Manning, M Niu, RW Reimer, DA Richards, EM Scott, JR Southon, RA Staff, CSM Turney, J van der Plicht. 2013. IntCal13 and Marine13 radiocarbon age calibration curves 0–50,000 years cal BP. *Radiocarbon* 55(4): 1869-1887.
- Rivas-Martínez S. 2011. Memoria del Mapa de Vegetación Potencial de España. *Itinera Geobotanica* 18(1-2): 5-800.
- Robin V, B Talon, O Nelle. 2013. Pedoanthracological contribution to forest naturalness assessment. *Quaternary International* 289: 5-15.
- Romo JL, J Gómez-Zotano, JI Torres-Díaz, G Torres-Díaz. 2008. Exploraciones subterráneas en el Karst de la Utrera (Casares, Málaga). In Diputación de Córdoba-Ediciones y Junta de Andalucía ed. Priego de Córdoba, España. p. 89-113.
- Schoch W, I Heller, FH Schweingruber, F Kienast. 2004. Wood anatomy of Central European Species. WSL - Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research. Consultado 13 ene. 2017. Disponible en <http://www.woodanatomy.ch/species>
- Talon B, C Carcaillet, M Thinon. 1998. Études pédoanthracologiques des variations de la limite supérieure des arbres au cours de l'Holocène dans les Alpes françaises. *Géographie Physique et Quaternaire* 52: 195-208.
- Touflan P, B Talon. 2008. Étude pédoanthracologique à haute résolution spatiale de l'histoire holocène d'une forêt subalpine (Alpes du Sud, France). *Ecologia Mediterranea* 34: 13-23.
- Van der Veken S, J Bellemare, K Verheyen, M Hermy. 2007. Life-history traits are correlated with geographical distribution patterns of western European forest herb species. *Journal of Biogeography* 34: 1723-1735.

Recibido: 25.07.16

Aceptado: 12.02.17

Influencia de las condiciones de temperatura e iluminación en la rotura de latencia y germinación de los endemismos mediterráneos *Scilla pauti* y *Scilla ramburei* (Liliaceae)

Influence of temperature and light conditions on dormancy break and germination of the Mediterranean endemism of *Scilla pauti* and *Scilla ramburei* (Liliaceae)

Alejandro Santiago ^{a,b}, José M^a Herranz ^{a,b}, Miguel Ángel Copete ^{b*}, Raquel Herranz ^b, Pablo Ferrandis ^b

^a Jardín Botánico de Castilla-La Mancha, Avda. de la Mancha s/n, 02006, Albacete, España.

*Autor de correspondencia: ^b Universidad de Castilla-La Mancha, Instituto Botánico, Avda. de la Mancha s/n, 02006, Albacete, España, tel.: +34 967 599200, miguel.copete@uclm.es

SUMMARY

We studied the germination ecology of *Scilla pauti* and *Scilla ramburei* to check the existence of underdeveloped embryos, as well as to verify the presence of any physiological or morphophysiological dormancy levels described for the family Liliaceae. Seeds of *S. pauti* had fully developed embryos at seed dispersal and they were physiologically dormant. After eight weeks of cold (5 °C) stratification followed by a four-week incubation at 15/4 °C in darkness, germination was 100 %. This record, along with the promotion of germination mediated by gibberellic acid, pointed out that seeds of *S. pauti* had non-deep physiological dormancy. In *S. ramburei* seeds, the average embryo length at dispersal was 1.60 mm; they had to grow to the critical length of 2.14 mm to be able to germinate. Embryo growth and radicle emergence occurred after seed exposure to a sequence of temperatures typical of the end summer-beginning autumn period. Emerged radicles required two months of exposition to winter cold (5 °C) for seedling emergence in February and March. Seeds of *S. ramburei* had deep simple epicotyl morphophysiological dormancy. The differences detected in the germination ecology support the segregation of both taxa as different species, and suggest the convenience of taking into account physiological traits in systematic studies.

Key words: underdeveloped embryos, morphophysiological dormancy, physiological dormancy.

RESUMEN

Se analizó la ecología germinativa de *Scilla pauti* y *Scilla ramburei* para comprobar la posible existencia de embriones subdesarrollados, así como para verificar si poseían alguno de los tipos de latencia conocidos para Liliaceae. Las semillas de *S. pauti* presentaron embriones perfectamente desarrollados al dispersar sus semillas y latencia fisiológica. Tras ocho semanas de estratificación fría (5 °C) y posterior incubación durante cuatro semanas a 15/4 °C en oscuridad, se alcanzó el 100 % de semillas germinadas. Este hecho, unido al efecto estimulador del ácido giberélico, indicó que las semillas de *S. pauti* poseían latencia fisiológica no profunda. En *S. ramburei* el tamaño medio del embrión al dispersar fue 1,60 mm, y para poder germinar tuvo que crecer hasta el tamaño crítico de 2,14 mm. El crecimiento del embrión y posterior emergencia de las radículas se produjo tras la exposición de las semillas a una secuencia de temperaturas propias de finales de verano y principios de otoño. Tras la emergencia de la radícula, a finales de noviembre, se requirieron dos meses de exposición al frío invernal (5 °C) para la emergencia de las plántulas en febrero y marzo. Las semillas de *S. ramburei* mostraron latencia morfofisiológica simple y profunda del epicotilo. Las diferencias en ecología germinativa apoyan el mantenimiento de ambos taxones como especies diferentes, así como la conveniencia de tener en cuenta los caracteres fisiológicos en los estudios de sistemática.

Palabras clave: embriones subdesarrollados, latencia morfofisiológica, latencia fisiológica.

INTRODUCCIÓN

En muchas familias de plantas, como Liliaceae, existen especies con semillas que en el momento de la dispersión poseen un embrión subdesarrollado (pequeño y que tiene que crecer dentro de la semilla antes de que la radícula pueda emerger), unido a un mecanismo fisiológico adicional que dificulta el crecimiento del embrión y la ger-

minación. Estas semillas tienen latencia morfofisiológica (Baskin y Baskin 2004). Se han descrito nueve niveles de ella en función de: a) temperaturas requeridas para la rotura de latencia, b) temperaturas requeridas para el crecimiento del embrión, y c) capacidad del ácido giberélico (GA₃) para sustituir una estratificación fría y/o cálida en la rotura de latencia (Baskin *et al.* 2008, Phartyal *et al.* 2009). La latencia morfofisiológica está considerada como

la más difícil de superar (Baskin y Baskin 1998), por lo que los estudios sobre la misma son relativamente escasos en comparación con otras clases de latencia, especialmente en el ámbito circunmediterráneo (Herranz *et al.* 2010).

Dentro de la familia Liliaceae, se ha comprobado la existencia de latencia fisiológica (Baskin y Baskin 1998), así como varios niveles de latencia morfofisiológica: simple y profunda en *Cardiocrinum cordatum* (Thunb.) Makino (Kondo *et al.* 2006); simple y profunda del epicotilo en *Gagea lutea* (L.) Ker Gawl. (Kondo *et al.* 2004); simple, profunda y doble en *Convallaria majalis* L. y *Polygonatum biflorum* (Walter) Elliott (Baskin y Baskin 1998); compleja y no profunda en *Erythronium albidum* Nutt. (Baskin y Baskin 1985a); y compleja profunda en *Erythronium grandiflorum* Pursh. (Baskin *et al.* 1995).

Los estudios de germinación en el género *Scilla* son escasos. Los realizados en *S. scilloides* (Lindl.) Druce (Washtani y Masuda 1990) y *S. bifolia* L. (Vandelook y Van Assche 2008) pusieron de manifiesto la existencia de latencia morfofisiológica y los llevados a cabo en *S. autumnalis* L. (Marques y Draper 2012) la ausencia de latencia.

En este trabajo se estudia la ecología germinativa de dos especies mediterráneas geófitas bulbosas del género *Scilla* con distribución geográfica muy restringida. *Scilla pauti* Lacaita es un endemismo ibérico de las cordilleras subbéticas (Alcaraz, Segura y Cazorla) del sur de España que crece entre 900-1.700 m de altitud (Navarro 2009), formando parte de hábitats de protección especial como pinares de *Pinus nigra* Arnold subsp. *salzmannii* (Dunal) Franco y comunidades orófilas dolomíticas subbéticas (Herranz *et al.* 2011). *Scilla ramburei* Boiss. es un endemismo ibero-norteafricano que, en la península Ibérica, solo se halla en algunas sierras meridionales (Morena, Cazorla) entre 600 y 1.000 m de altitud (Navarro 2009), siendo un elemento destacado del hábitat de protección especial juncales higroturbosos silicícolas (Herranz *et al.* 2011). Debido a la escasez de sus poblaciones y a su reducido número de efectivos, ambas especies han sido protegidas en la Comunidad de Castilla-La Mancha (España), ubicada en el interior peninsular (DOCM 1998). La consecución de un estado de conservación favorable para ambas especies, así como para sus hábitats, puede requerir la necesidad de efectuar reforzamientos poblacionales, utilizando individuos producidos a partir de semillas para maximizar la diversidad genética, siendo para ello fundamental el conocimiento de su ecología germinativa (Cerabolini *et al.* 2004).

Estudios previos sobre estas especies llevados a cabo por este equipo de investigación, en el ámbito del conocimiento de la ecología germinativa de diferentes monocotiledóneas ibéricas (Copete *et al.* 2011), apuntaban a la existencia de embriones perfectamente desarrollados en *S. pauti* y subdesarrollados en *S. ramburei* en el momento de la dispersión de las semillas y a la ausencia de germinación sin estratificación previa. En consecuencia, en este estudio se plantea la hipótesis de una latencia fisiológica en las

semillas de *S. pauti* y de alguno de los niveles de latencia morfofisiológica citados para Liliaceae en *S. ramburei*. Para ello, se analizan las condiciones de temperatura e iluminación precisas para la rotura de latencia y germinación en ambas especies.

Los objetivos concretos son los siguientes:

1. Comprobar si presentan embriones subdesarrollados y evaluar los efectos de la temperatura para la rotura de latencia y crecimiento del embrión.
2. Analizar la influencia de la duración de la estratificación cálida y/o fría, de las condiciones de iluminación y del ácido giberélico (GA₃) en la capacidad germinativa de las semillas.
3. Determinar si las temperaturas de finales de verano pueden inducir latencia en semillas no latentes de *S. pauti*.
4. Evaluar el efecto de las temperaturas características de estratificación fría (5 °C) sobre la emergencia de plántulas en semillas de *S. ramburei* con radículas emergidas.
5. Analizar la fenología de crecimiento del embrión, de rotura de latencia, y de emergencia de radículas y plántulas en condiciones semejantes a las naturales.
6. Contribuir al esclarecimiento taxonómico de ambas especies en función de sus diferencias en ecología germinativa.

MÉTODOS

Fuente de las semillas. Las semillas de *S. pauti* fueron recolectadas el 17 de junio de 2009 a una altitud de 1.200 m en el paraje de "La Merera", dentro del término municipal de Peñascosa, Sierra de Alcaraz, en la provincia de Albacete (30SWH5436), en claros de pinar de *Pinus nigra* subsp. *salzmannii*, con *Cytisus scoparius* (L.) Link subsp. *reverchonii* (Degen et Hervier) Rivas Goday et Rivas Mart., *Echinopartum boissieri* (Spach) Rothm. y *Thymus granatensis* Boiss., con sustrato de fondo calizo y suelo arcilloso. Se recolectaron aproximadamente 8.000 semillas provenientes de unas 200 cápsulas maduras con inicio de apertura apical. Las semillas de *Scilla ramburei* utilizadas en los ensayos provenían de una población localizada a 820 m de altitud a orillas del arroyo del Enebrillo en Sierra Madrona, en el término municipal de Fuencaliente, Ciudad Real (30SUH8356) y fueron recolectadas el 8 de julio de 2009, en el sotobosque de una aliseda (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) con *Osmunda regalis* L., *Hypericum androsaemum* L. y *Ornithogalum pyrenaicum* L., sobre sustrato de cuarcitas y pizarras. Se recolectaron unas 12.000 semillas procedentes de unas 350 cápsulas de color amarillo, indicativo de su madurez. Tras su recolección, las semillas se dejaron secar en el laboratorio durante dos semanas y, a continuación, se conservaron en sobres de papel aproximadamente a 20-22 °C y un 60 % de humedad relativa, hasta el inicio de los ensayos, en septiembre de 2009.

Ensayos de laboratorio. Los experimentos fueron realizados bajo condiciones de temperatura e iluminación controladas en cámaras de germinación (Ibercex, modelo F-4, Madrid) equipadas con control digital. Las cámaras fueron programadas con 12 h diarias de fotoperiodo y las semillas, colocadas en placas de Petri sobre dos láminas de papel de filtro humedecido con agua destilada, fueron expuestas a este fotoperiodo (tratamiento en luz), o bien permanecieron bajo condiciones de oscuridad lograda envolviendo las placas Petri en dos láminas de papel de aluminio (tratamiento en oscuridad). Los experimentos se llevaron a cabo tanto a la temperatura constante de 5 °C como a un régimen de 12/12 h diarias con temperaturas fluctuantes de 15/4, 20/7, 25/10 y 28/14 °C. En este régimen fluctuante, la temperatura más alta coincidió con la fase de luz y la más baja con la fase de oscuridad. En cada ensayo se utilizaron cuatro réplicas de 25 semillas cada una. Las temperaturas utilizadas en los ensayos de germinación trataron de simular las condiciones climáticas existentes en ambientes mediterráneos de 800-1.200 m de altitud a lo largo del año: la temperatura constante de 5 °C se aproxima a la temperatura media durante los meses invernales (diciembre, enero, febrero), 15/4 °C a las de noviembre y marzo, 20/7 °C a las de octubre y abril, 25/10 °C a las de septiembre y mayo, y 28/14 °C a las de junio, julio y agosto.

Comprobación de la existencia de embriones subdesarrollados y efecto de la temperatura en el crecimiento del embrión. El 30 de junio de 2009 se depositaron 25 semillas de *S. paui* en una placa Petri de 9 cm de diámetro sobre dos capas de papel de filtro humedecido con agua destilada. Después de 24 h a temperatura ambiente de laboratorio (22 °C), las semillas fueron seccionadas con un bisturí para obtener los embriones y medir su tamaño mediante un microscopio equipado con micrómetro. El tamaño medio de los embriones (E) en semillas recién dispersadas fue de

1,59 mm, frente a un tamaño medio de las semillas (S) de 1,98 mm, siendo el ratio E:S = 0,80. Cuando este ratio es $\geq 0,60$ indica ausencia de embriones subdesarrollados (Baskin y Baskin 1998). En ensayos posteriores se pudo confirmar que el tamaño medio del embrión en semillas recién germinadas era de 1,59 mm.

El 20 de julio de 2009 se midió el tamaño de los embriones en semillas dispersadas de *S. ramburei*, procediendo de la forma indicada anteriormente para *S. paui*. El tamaño medio del embrión en semillas recién dispersadas fue de 1,60 mm y el tamaño medio de las semillas 2,68 mm, siendo el ratio E:S < 0,60 (= 0,56), lo que parecía indicar la presencia de embriones subdesarrollados, como se confirmó tras la medición de embriones en semillas a punto de emerger la radícula. Para promover la germinación se estratificó un lote de 200 semillas a 28/14 °C en luz durante ocho semanas y posteriormente se incubaron a 15/4 °C en oscuridad durante cuatro semanas. En 40 de estas semillas con la testa rota, pero sin llegar a producirse la emergencia de la radícula, se midió el embrión y se calculó el valor medio, obteniéndose de esta forma el tamaño crítico del embrión (Vandelook *et al.* 2009, Phartyal *et al.* 2009). El tamaño crítico resultó ser 2,14 mm, con un rango de oscilación entre 1,9-2,6 mm. El valor de 1,9 mm es el tamaño mínimo de embrión a partir del cual se puede producir la germinación.

Para evaluar la influencia de la temperatura en el crecimiento del embrión de *S. ramburei* se efectuaron seis ensayos de estratificación del tipo “*move-along*” (Baskin y Baskin 2004), siguiendo una secuencia de temperaturas de verano → otoño → invierno → primavera, con una duración del periodo de estratificación entre 20-28 semanas, bajo condiciones de fotoperiodo. En los ensayos de estratificación adicionales, las semillas fueron expuestas a la temperatura fluctuante de 28/14 °C durante 24 semanas en uno (E7) y a la temperatura constante de 5 °C durante 24 semanas en el otro (E8) (cuadro 1).

Cuadro 1. Secuencia de temperaturas fluctuantes decrecientes (*move-along*), así como temperaturas fijas, en ensayos de estratificación para *S. ramburei*. Entre paréntesis se indica la duración del periodo de estratificación en semanas.

Sequence of decreasing fluctuating temperatures (*move-along*), and stable temperatures, in seed stratification treatments for *S. ramburei*. Number between brackets shows length of stratification in weeks.

Ensayos de estratificación	
E1	28/14 °C (4s) → 25/10 °C (4s) → 20/7 °C (4s) → 15/4 °C (4s) → 5 °C (8s)
E2	28/14 °C (4s) → 25/10 °C (4s) → 20/7 °C (4s) → 15/4 °C (4s) → 5 °C (4s) → 15/4 °C (4s)
E3	28/14 °C (4s) → 25/10 °C (8s) → 20/7 °C (4s) → 15/4 °C (4s) → 5 °C (4s) → 15/4 °C (4s)
E4	28/14 °C (12s) → 20/7 °C (4s) → 15/4 °C (4s) → 5 °C (4s) → 15/4 °C (4s)
E5	25/10 °C (4s) → 20/7 °C (4s) → 15/4 °C (4s) → 5 °C (8s)
E6	25/10 °C (4s) → 20/7 °C (4s) → 15/4 °C (4s) → 5 °C (4s) → 15/4 °C (4s)
E7	28/14 °C (24s)
E8	5 °C (24s)

Para cada uno de los ensayos de estratificación del tipo “*move-along*” se utilizaron siete placas Petri con 25 semillas cada una que fueron movidas de una temperatura a otra siguiendo la secuencia que se indica a continuación. En cada ensayo se midió una muestra de 25 embriones cada cuatro semanas.

Para cada uno de los ensayos a 5 °C o 28/14 °C durante todo el periodo de estratificación, solo se utilizó una placa Petri con 50 semillas, ya que solo se efectuó una medición de 25 embriones al final del ensayo.

Influencia de la temperatura de estratificación y condiciones de iluminación sobre la capacidad germinativa. En *S. pawi*, los ensayos preliminares efectuados durante el mes de julio de 2009 a las temperaturas de 5, 15/4, 20/7 y 25/10 °C, tanto en luz como en oscuridad, arrojaron una germinación nula. En consecuencia, el 1 de septiembre de 2009 se iniciaron los ensayos de estratificación. Para ello se prepararon seis lotes de semillas, con 800 semillas cada uno, dispuestas en placas Petri. Dos lotes (uno en condiciones de luz y otro en oscuridad) fueron expuestos a cada una de las siguientes secuencias de temperatura:

- E1: 5 °C (8s)
- E2: 15/4 °C (4s) → 5 °C (4s)
- E3: 28/14 °C (8s)

Después de estos tratamientos de estratificación, las semillas se incubaron durante cuatro semanas a 5, 15/4, 20/7 y 25/10 °C en luz y oscuridad. Además, se efectuó un ensayo control, con incubación durante 12 semanas de semillas no estratificadas previamente a las temperaturas citadas en el párrafo anterior.

Los altos porcentajes de germinación obtenidos tras una estratificación fría (5 °C) durante ocho semanas, llevaron a probar los efectos de periodos de estratificación más cortos. Por ello, el 1 de diciembre de 2009, se prepararon 10 placas Petri con 200 semillas/placa que fueron estratificadas a 5 °C (5 placas en luz y 5 en oscuridad) durante 1, 2, 3, 4 y 5 semanas. Tras cada uno de estos periodos, las semillas fueron incubadas durante cuatro semanas a 15/4 °C en luz y oscuridad.

En *S. ramburei*, los ensayos preliminares efectuados durante agosto de 2009 en las mismas condiciones de temperatura e iluminación que para *S. pawi* dieron germinación nula. Este hecho, unido a la presencia de embriones subdesarrollados, llevó a planificar ensayos de estratificación de larga duración. El 1 de septiembre se iniciaron los ensayos de estratificación en condiciones de fotoperiodo indicados en el cuadro 1. Para cada ensayo se dispuso una placa Petri con 800 semillas. Finalizado el periodo de estratificación, se eliminaron las semillas ya germinadas y se incubaron las restantes a 5, 15/4 y 20/7 °C, tanto en luz como en oscuridad durante cuatro semanas. También se efectuó un ensayo control, incubando durante 28 semanas a 5, 15/4 y 20/7 °C, tanto en luz como en oscuridad, semillas no sometidas a estratificación previa.

Efectos del GA₃ sobre la capacidad germinativa. Este ensayo se realizó el 1 de septiembre de 2009. Para cada especie, se utilizaron 24 réplicas de 25 semillas cada una, que se dispusieron en placas Petri de 9 cm de diámetro sobre dos capas de papel de filtro humedecido con una solución de 1.000 mg L⁻¹ de GA₃. Doce réplicas fueron colocadas a 20/7 °C en luz y otras 12 a igual temperatura en oscuridad. Después de 4, 8 y 12 semanas, se tomaron cuatro placas Petri de cada condición de iluminación y se contabilizó el número de semillas germinadas. A efectos comparativos, se realizó un ensayo control exactamente igual al que se acaba de describir, pero colocando las semillas sobre papel de filtro humedecido únicamente con agua destilada.

Inducción de latencia por altas temperaturas en Scilla pawi. Es conocido que, en algunas especies que requieren estratificación fría para superar el componente de latencia fisiológica, la exposición de semillas no latentes a las temperaturas de finales de verano (25/10 °C) puede inducir de nuevo latencia (Herranz *et al.* 2010). Para verificar si esto sucedía en *S. pawi* se realizó el siguiente experimento. El 1 de diciembre de 2009 se prepararon cuatro lotes con 200 semillas cada uno, que fueron sometidas a los siguientes tratamientos de estratificación con luz:

- E1: 5 °C (8s) (control)
- E2: 5 °C (8s) → 25/10 °C (4s)
- E3: 5 °C (8s) → 25/10 °C (4s) → 5 °C (4s)
- E4: 5 °C (8s) → 25/10 °C (4s) → 5 °C (8s)

Al final de cada tratamiento de estratificación las semillas se incubaron durante cuatro semanas a 15/4 °C en luz y oscuridad.

Efecto de la estratificación fría sobre la emergencia de plántulas en semillas de S. ramburei con radículas emergidas. A lo largo de los ensayos de estratificación del tipo “*move-along*” iniciados el 1 de septiembre de 2009 para analizar el crecimiento del embrión con diferentes secuencias de temperaturas, se pudo comprobar que, en las semillas germinadas, emergía la radícula, pero no el cotiledón, lo que indicaba una posible latencia del epicotilo. Para verificar esta posible latencia, el 15 de marzo de 2010 se prepararon tres lotes de 75 semillas germinadas (radículas emergidas de 2-3 mm), que fueron expuestas a estratificación fría durante 0, 4 y 8 semanas. Tras cada periodo de estratificación un lote de 75 semillas (dividido en tres réplicas de 25) fue incubado durante 60 días a 20/7 °C en luz, registrando el porcentaje de emergencia de cotiledones (≥ 1 mm).

Ensayos de campo en condiciones seminaturales. El objetivo de estos ensayos fue determinar los cambios en el estado de latencia, así como el momento de los principales eventos en el tránsito semilla-plántula, cuando las semillas son expuestas a los ciclos estacionales de temperatura

imitando las condiciones naturales. Estos ensayos se realizaron en un umbráculo situado en el campo de prácticas de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes de Albacete. La temperatura fue registrada a lo largo del ensayo por una estación meteorológica. El sustrato de crecimiento en bandejas y macetas donde fueron sembradas las semillas estaba constituido por una mezcla de turba esterilizada y arena (2:1) y se regaron hasta la capacidad de campo una vez por semana durante todo el año, excepto en los meses de julio y agosto (dos veces al mes) para simular la sequía estival mediterránea. Asimismo, durante los periodos invernales en los que bandejas y macetas estaban heladas se interrumpió el riego.

Fenología del crecimiento del embrión, de rotura de latencia, y de emergencia de radículas y plántulas. El 1 de septiembre de 2009 se inició este ensayo con 12 lotes de 100 semillas para cada especie. Las semillas se mezclaron con arena y se guardaron en el interior de bolsas de nylon. Las 12 bolsas de cada especie se enterraron a 5 cm de profundidad en una maceta de 22 cm de diámetro por 18 cm de profundidad, y se colocaron en el umbráculo anteriormente descrito.

Las bolsas se desenterraron con periodicidad mensual a partir del mes siguiente al del inicio de cada ensayo, determinando el porcentaje de semillas con radículas emergidas y, en el caso de *S. ramburei*, se utilizó una muestra de 25 semillas para medir la evolución del crecimiento del embrión. Las semillas recuperadas en cada rescate, excluyendo las que tenían radículas emergidas y las 25 utilizadas para medir el crecimiento del embrión en *S. ramburei*, se incubaron a 15/4 °C en oscuridad durante 30 días. Con el resultado del periodo de incubación se pudieron calcular los siguientes porcentajes: a) semillas germinadas en la bolsa (con radículas emergidas), b) semillas viables latentes (con embrión sano y no germinadas durante la incubación), c) semillas viables no latentes (germinadas durante la incubación), d) semillas inviables (las recuperadas en mal estado, así como las que presentaban embriones con mal aspecto tras la incubación).

Asimismo, el 1 de septiembre de 2009 se sembraron tres réplicas de 100 semillas cada una para cada especie en bandejas de plástico (40 x 30 x 5 cm) provistas de agujeros de drenaje. Las bandejas se rellenaron con el sustrato descrito anteriormente y la profundidad de siembra fue de 3-5 mm. Con periodicidad semanal se registró la emergencia de plántulas durante 18 meses, retirándose las emergidas.

Análisis estadístico. Para cada ensayo, se calcularon los porcentajes de germinación acumulados sobre semillas viables, considerando viables las semillas germinadas y las no germinadas con embriones blanquecinos y turgentes. Se calculó la media y el error estándar tanto para los datos de germinación (n = 4) como para los datos de crecimiento de embrión (n = 25). Mediante ANDEVA multifactorial se analizó el efecto del fotoperiodo, de la tempe-

ratura durante la estratificación y de la temperatura durante la incubación, tanto sobre el crecimiento del embrión, como sobre el porcentaje final de germinación. En todos los casos, los factores responsables de los efectos principales fueron detectados mediante una comparación múltiple realizada con la prueba de Tukey (al nivel de significación de 0,05). Como paso previo al análisis, se comprobaron las condiciones de normalidad (prueba de Cochran) y homocedasticidad (prueba de David). Los porcentajes de germinación se transformaron para su análisis estadístico en los valores de la raíz cuadrada de su arcoseno, para ajustar su distribución a la normal. En las representaciones gráficas que incluyen dichos porcentajes estos son representados sin transformar.

RESULTADOS

Efecto de la temperatura en el crecimiento de los embriones de S. ramburei. En todos los ensayos de estratificación en los que las semillas fueron expuestas durante largos periodos a secuencias de temperaturas cálidas (características de los meses de verano), y/o moderadamente cálidas (meses de otoño), los embriones crecieron hasta alcanzar los 2 mm de longitud. Asimismo, tras 24 semanas a la temperatura fluctuante de 28/14 °C, los embriones crecieron hasta 1,94 mm. Sin embargo, tras 24 semanas a 5 °C, los embriones sólo crecieron hasta 1,67 mm (cuadro 2).

Un 25 % de las semillas del ensayo de estratificación E3 llegaron a germinar y un 30 % superaron el tamaño mínimo de 1,9 mm, a partir del cual la germinación es posible (cuadro 2).

Influencia de la temperatura de estratificación y condiciones de iluminación sobre la capacidad germinativa. Durante la prueba de estratificación iniciada en septiembre de 2009 se pudo observar que las condiciones de incubación en las que se produjo mayor germinación de las semillas de *S. pawi* fueron de cuatro semanas a las temperaturas fluctuantes de 15/4 °C, tanto en luz como en oscuridad. Así, en las semillas que habían sido sometidas a los tratamientos de estratificación fría E1 y E2, en ambas condiciones de iluminación, se superaba el 95 % de germinación. Tras el tratamiento de estratificación cálida la germinación fue nula (cuadro 3).

Al final del ensayo control (12 semanas) algunos de los porcentajes de germinación alcanzados fueron: 55 % a 5 °C luz y 95 % a 5 °C oscuridad; 92 % a 15/4 °C luz y 99 % a 15/4 °C oscuridad. A 20/7 °C y 25/10 °C la germinación fue nula.

En el ensayo iniciado el 1 de diciembre de 2009 con periodos de estratificación más cortos, los mayores porcentajes de germinación se obtuvieron con una estratificación fría a 5 °C en oscuridad y posterior incubación de cuatro semanas a 15/4 °C también en oscuridad, siendo del 0 %, 16 %, 30 %, 72 % y 100 % después de 1, 2, 3, 4 y 5 semanas de estratificación, respectivamente (figura 1).

Cuadro 2. Crecimiento de embrión en semillas de *S. ramburei* sometidas a los tratamientos de estratificación indicados en el cuadro 1. El primer número que aparece entre paréntesis muestra el porcentaje de semillas germinadas, y el segundo el porcentaje de semillas con tamaño de embrión $\geq 1,9$ mm, valor mínimo a partir del cual es posible la germinación.

Embryo growth in *S. ramburei* seeds submitted to stratification treatments shown in Table 1. The first number between brackets shows the percentage of seeds germinated, and the second one indicates the percentage of seeds with embryo length ≥ 1.9 mm, minimum value from which germination is possible.

Tratamiento de estratificación	Característica	Temperatura de estratificación en luz					
		28/14 °C	25/10 °C	20/7 °C	15/4 °C	5 °C	15/4 °C
E1	Nº semanas	4	4	4	4	8	
	Embrión (mm)	1,66	1,66	1,78	1,97	2,07	
	Germinación (%)	(0; 4)	(0; 6)	(0; 12)	(6; 8)	(7; 8)	
E2	Nº semanas	4	4	4	4	4	4
	Embrión (mm)	1,66	1,66	1,78	1,97	2,01	2,06
	Germinación (%)	(0; 4)	(0; 6)	(0; 12)	(5; 8)	(6; 8)	(6; 8)
E3	Nº semanas	4	8	4	4	4	4
	Embrión (mm)	1,66	1,68	1,81	1,98	2,06	2,07
	Germinación (%)	(0; 4)	(0; 11)	(0; 12)	(8; 19)	(4; 18)	(25; 30)
E4	Nº semanas	12		4	4	4	4
	Embrión (mm)	1,82		1,85	2,0	2,06	2,06
	Germinación (%)	(0; 12)		(0; 12)	(4; 20)	(4; 16)	(18; 20)
E5	Nº semanas		4	4	4	8	
	Embrión (mm)		1,72	1,78	1,81	2,02	
	Germinación (%)		(0; 4)	(0; 12)	(0; 14)	(0; 20)	
E6	Nº semanas		4	4	4	4	4
	Embrión (mm)		1,72	1,78	1,81	2,06	2,06
	Germinación (%)		(0; 4)	(0; 12)	(0; 4)	(8; 10)	(8; 16)
E7	Nº semanas	24					
	Embrión (mm)	1,94					
	Germinación (%)	(0; 16)					
E8	Nº semanas					24	
	Embrión (mm)					1,67	
	Germinación (%)					(0; 0)	

Cuadro 3. Porcentaje de germinación (media \pm SE, n = 4) en semillas de *S. pawi* sometidas a los siguientes tratamientos de estratificación tanto en luz (L) como en oscuridad (O): E1: 5 °C (8 semanas); E2: 15/4 °C (4 semanas) \rightarrow 5 °C (4 semanas); E3: 28/14 °C (8 semanas). Los tratamientos de estratificación fueron seguidos de cuatro semanas de incubación a 5 °C, 15/4 °C, 20/7 °C y 25/10 °C tanto en luz como en oscuridad. Las letras mayúsculas en columnas y minúsculas en filas denotan diferencias significativas ($P < 0,05$).

Germination percentage (mean \pm SE, n = 4) in *S. pawi* seeds submitted to the following stratification treatments, both in light (L) and darkness (O): E1: 5 °C (8 weeks); E2: 15/4 °C (4 weeks) \rightarrow 5 °C (4 weeks); E3: 28/14 °C (8 weeks). Stratification treatments were followed by four weeks of incubation at 5 °C, 15/4 °C, 20/7 °C and 25/10 °C, both in light and darkness. Different uppercase letters in columns and lowercase letters in rows denote significant differences ($P < 0.05$).

Tratamiento Estratificación		Temperaturas de incubación (cuatro semanas)							
		5 °C		15/4 °C		20/7 °C		25/10 °C	
		L	O	L	O	L	O	L	O
E1	L	55 \pm 1 ^{Cb}	62 \pm 1 ^{Cc}	97 \pm 2 ^{Cd}	100 \pm 0 ^{Dd}	57 \pm 1 ^{Cb}	92 \pm 1 ^{Dd}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}
	O	42 \pm 1 ^{Cb}	95 \pm 2 ^{Dc}	99 \pm 1 ^{Cd}	100 \pm 0 ^{Dd}	62 \pm 1 ^{Db}	90 \pm 2 ^{Dc}	0 \pm 0 ^{Aa}	1 \pm 0 ^{Aa}
E2	L	0 \pm 0 ^{Aa}	32 \pm 1 ^{Bc}	97 \pm 1 ^{Cd}	99 \pm 1 ^{Dd}	6 \pm 0 ^{Bb}	35 \pm 1 ^{Cc}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}
	O	14 \pm 1 ^{Bb}	99 \pm 1 ^{Dd}	98 \pm 1 ^{Cd}	100 \pm 0 ^{Dd}	6 \pm 0 ^{Bab}	34 \pm 0 ^{Cc}	0 \pm 0 ^{Aa}	1 \pm 0 ^{Aa}
E3	L	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}
	O	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}

Para las semillas de *S. ramburei*, en dos de los ensayos de estratificación tipo “move-along” (E3 y E4), se alcanzó el 100 % de germinación a 15/4 °C y 20/7 °C en ambas condiciones de iluminación. Asimismo, en las semillas estratificadas a 28/14 °C durante 24 semanas se alcanzaron porcentajes de germinación ≥ 70 % en todas las temperaturas de incubación (cuadro 4). En el ensayo control durante 28 semanas de incubación, el porcentaje de germinación más alto (8 %) se alcanzó a 15/4 °C en luz.

Efectos del GA₃ sobre la capacidad germinativa. En *S. paui*, tras cuatro semanas a 20/7 °C en presencia de GA₃ la germinación fue del 8 % y tras cuatro semanas más se

llegó al 77 %. Este dato contrasta con el 4 % obtenido tras ocho semanas a 20/7 °C en semillas no tratadas con GA₃. El GA₃ no estimuló la germinación de las semillas de *S. ramburei*, que fue nula al final del ensayo (datos no mostrados).

Inducción de latencia por altas temperaturas en *S. paui*. Cuando las semillas que habían salido de la latencia tras ocho semanas de estratificación fría a 5 °C fueron expuestas a 25/10 °C durante cuatro semanas, entraron de nuevo en un estado de latencia. Para romper esta latencia secundaria se requirieron otras ocho semanas de estratificación fría a 5 °C (cuadro 5).

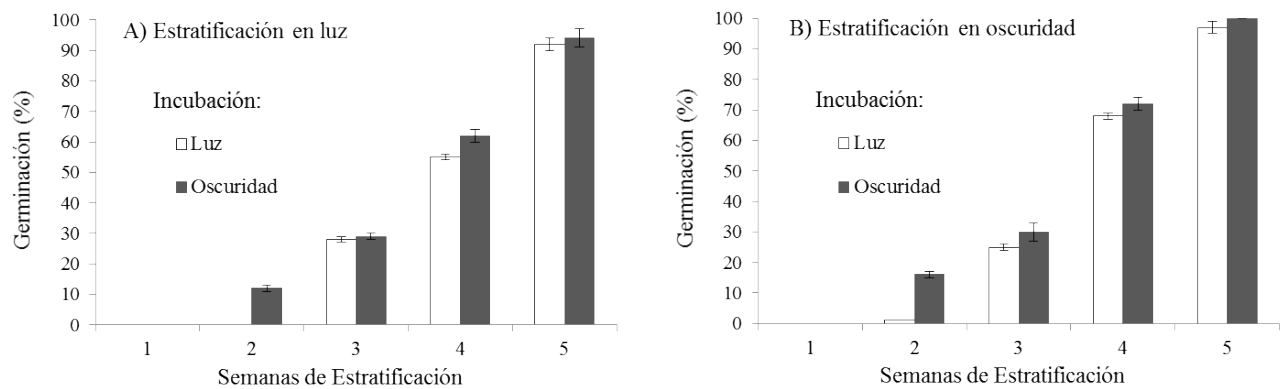


Figura 1. Porcentaje de germinación de *S. paui* (media \pm SE, n = 4) obtenido tras la estratificación fría a 5 °C en luz (A) u oscuridad (B), durante 1, 2, 3, 4 y 5 semanas y posteriormente incubadas cuatro semanas a 15/4 °C en ambas condiciones de iluminación.

Germination percentage recorded in *S. paui* (mean \pm SE, n = 4) after cold stratification at 5 °C in light (A) or darkness (B) during 1, 2, 3, 4, and 5 weeks, followed by a 15/4 °C incubation at light and darkness, respectively, during four weeks.

Cuadro 4. Porcentaje de germinación (media \pm SE, n = 4) en semillas de *S. ramburei* sometidas a diferentes tratamientos de estratificación en luz, seguida de cuatro semanas de incubación a 5 °C, 15/4 °C y 20/7 °C, tanto en luz (L) como en oscuridad (O). Los tratamientos de estratificación son los indicados en el cuadro 1. Las letras mayúsculas en columnas y minúsculas en filas denotan diferencias significativas ($P < 0,05$).

Germination percentage (mean \pm SE; n = 4) in *S. ramburei* seeds submitted to different stratification treatments in light, followed by four weeks of incubation at 5 °C, 15/4 °C and 20/7 °C, both in light (L) and darkness (O). Stratification treatments are the same as those indicated in Table 1. Different uppercase letters in columns and lowercase letters in rows denote significant differences ($P < 0.05$).

Tratamiento de estratificación	Temperatura de incubación					
	5 °C		15/4 °C		20/7 °C	
	L	O	L	O	L	O
E1	2 \pm 0 ^{Aa}	2 \pm 1 ^{Aa}	4 \pm 1 ^{ABb}	8 \pm 1 ^{ABb}	1 \pm 0 ^{Aa}	2 \pm 0 ^{Aa}
E2	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	2 \pm 0 ^{Aab}	4 \pm 1 ^{Ab}	0 \pm 0 ^{Aa}	2 \pm 0 ^{Aa}
E3	81 \pm 0 ^{Ca}	91 \pm 0 ^{Cab}	100 \pm 0 ^{Cb}	100 \pm 0 ^{Cb}	100 \pm 0 ^{Cb}	100 \pm 0 ^{Cb}
E4	92 \pm 0 ^{Ca}	93 \pm 0 ^{Ca}	100 \pm 0 ^{Cb}	100 \pm 0 ^{Cb}	100 \pm 0 ^{Cb}	100 \pm 0 ^{Cb}
E5	3 \pm 0 ^{Aa}	3 \pm 0 ^{Aa}	4 \pm 0 ^{Aa}	4 \pm 1 ^{Aa}	4 \pm 1 ^{Aa}	3 \pm 0 ^{Aa}
E6	16 \pm 0 ^{Ba}	16 \pm 2 ^{Ba}	12 \pm 0 ^{Ba}	20 \pm 1 ^{Ba}	8 \pm 1 ^{Ba}	12 \pm 1 ^{Ba}
E7	71 \pm 0 ^{Ca}	90 \pm 0 ^{Cb}	100 \pm 0 ^{Cc}	100 \pm 0 ^{Cc}	84 \pm 0 ^{Cb}	100 \pm 0 ^{Cc}
E8	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}	0 \pm 0 ^{Aa}

Cuadro 5. Porcentaje de germinación (media \pm SE, n = 4) en semillas de *S. pawi* expuestas a diferentes tratamientos de estratificación en luz y luego incubadas durante cuatro semanas a 15/4 °C tanto en luz (L) como en oscuridad (O).

Percentage of germination (mean \pm SE, n = 4) in *S. pawi* seeds exposed to different stratification treatments in light and afterward incubated during four weeks at 15/4 °C, both in light (L) and in darkness (O).

Tratamiento de estratificación	L	O
E1: 8 semanas 5 °C (control)	97 \pm 2	100 \pm 0
E2: 8 semanas 5 °C + 4 semanas 25/10 °C	0 \pm 0	0 \pm 0
E3: 8 semanas 5 °C + 4 semanas 25/10 °C + 4 semanas 5 °C	0 \pm 0	0 \pm 0
E4: 8 semanas 5 °C + 4 semanas 25/10 °C + 8 semanas 5 °C	92 \pm 1	98 \pm 2

Efecto de la estratificación fría sobre la emergencia de plántulas en semillas de S. ramburei con radículas emergidas. En las semillas con radículas emergidas no expuestas a 5 °C y colocadas directamente a 20/7 °C en luz, solo se obtuvo un 13 % de emergencia del cotiledón al final de los 60 días (figura 2). En las semillas con radículas emergidas expuestas durante cuatro semanas a 5 °C se obtuvo un 53 % de emergencia del cotiledón a los 60 días a 20/7 °C luz, y cuando habían transcurrido 32 días a 20/7 °C en luz (es decir un total de 60 días, 28 + 32, desde el inicio del ensayo) el porcentaje de emergencia del cotiledón ya superaba el 40 %. El cotiledón de las semillas con radículas emergidas que se expusieron ocho semanas a 5 °C emergió en un 78 % tras solo 15 días a 20/7 °C, un 96 % a los 30 días y un 100 % a los 37 días (figura 2).

Fenología de crecimiento del embrión y emergencia de radículas y plántulas. Las semillas de *S. pawi* enterradas el 1 de septiembre de 2009, inician la emergencia de radículas en diciembre de 2009, alcanzando un 99 % a finales de enero de 2010. La emergencia de plántulas se inició con un desfase de medio mes desde la emergencia de las radículas. A principios de enero de 2010 pudo observarse una emergencia de plántulas del 28 %, que llegó a ser del 94 % a mediados de febrero de 2010 (figura 3).

Los embriones de las semillas de *S. ramburei* utilizadas en el ensayo de fenología iniciado el 1 de septiembre de 2009, que poseían un tamaño inicial de 1,60 mm, iniciaron su crecimiento con las temperaturas cálidas de septiembre y octubre, alcanzando los 2,07 mm en diciembre de 2009 (figura 4). Debido al crecimiento rápido del embrión con las temperaturas suaves del otoño, se pudieron observar las primeras germinaciones (emergencias de radículas) en noviembre de 2009, con un 8 % que rápidamente alcanzó el 82 % a principios de diciembre y el 99 % a finales de diciembre- principios de enero de 2010 (figura 4).

Sin embargo, la emergencia del cotiledón no se observó hasta que se superaron las temperaturas más frías de diciembre y enero. Las primeras emergencias se produjeron en el mes de febrero de 2010, con un 7 %. En el mes de marzo la emergencia alcanzó un 48 %, viéndose completa con un 97 % en abril de 2010 (figura 4).

Cambios en el estado de latencia de semillas enterradas y rescatadas periódicamente. En *S. pawi* las primeras semillas germinadas en bolsa no aparecen hasta el rescate efectuado el 1 de enero de 2010, tras haber experimentado un periodo considerable (unas seis semanas) de estratificación fría, aunque la mayoría de las semillas rescatadas el 1 de diciembre ya han salido de la latencia. En cambio, en *S. ramburei* se encontraron semillas germinadas ya en el rescate efectuado el 1 de noviembre de 2009, sin apenas estratificación fría previa, y germinaron más del 80 % con las temperaturas del mes de noviembre (figura 5).

DISCUSIÓN

El estudio del tamaño de los embriones de las semillas recién dispersadas de *S. pawi* indica que esta especie no posee embriones subdesarrollados, pues el tamaño inicial es de 1,59 mm, igual que el tamaño de los embriones en las semillas germinadas. Por ello, se puede descartar para esta especie una latencia de tipo morfológica *sensu* Baskin y Baskin (1998). Por otra parte, en los ensayos de influencia de la temperatura de estratificación y condiciones de iluminación sobre la capacidad germinativa iniciados en septiembre de 2009, se puede observar como en las semillas que habían sido sometidas a los tratamientos de estratificación fría E1 y E2 (ocho y seis semanas efectivas de estratificación fría, respectivamente), se supera el 95 % de germinación a 15/4 °C (cuadro 3). En el ensayo control a 15/4 °C oscuridad también se supera este porcentaje porque dicho ensayo implica seis semanas efectivas de estratificación fría a 4 °C. Incluso con periodos de estratificación fría de cuatro semanas, llegan a germinar más del 50 % de las semillas. La superación de la latencia fisiológica con una estratificación fría de pocas semanas y la capacidad del GA₃ para promover la germinación, indican que las semillas de *S. pawi* presentan una latencia fisiológica no profunda (Baskin y Baskin 1998).

Los ensayos de fenología de germinación, emergencia de plántulas y rotura de latencia realizados con semillas de *S. pawi* confirman lo observado en las pruebas de laboratorio, y muestran cómo las semillas precisan de la llegada de las temperaturas frías, que empiezan a mediados

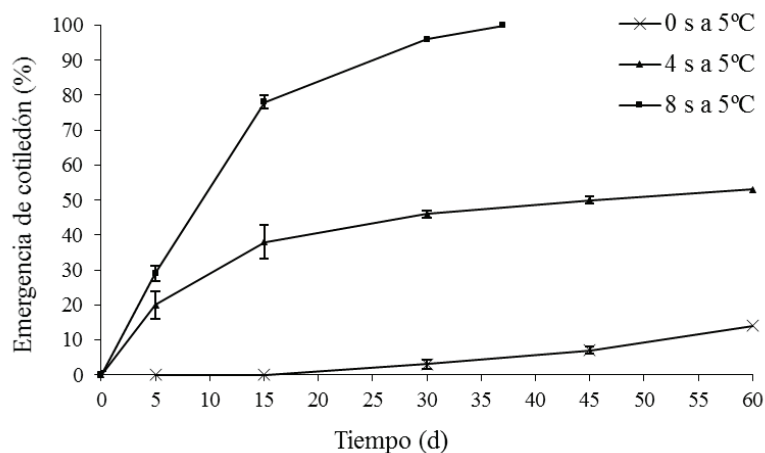


Figura 2. Porcentaje de emergencia del cotiledón en semillas con radículas emergidas de *S. ramburei* a 20/7 °C en luz durante 60 días (d), después de 0, 4 y 8 semanas (s) a 5 °C.

Cotyledon-emergence percentage at 20/7 °C in light during 60 days, after 0, 4, and 8 weeks at 5 °C, in *S. ramburei* seeds with radicle emerged.

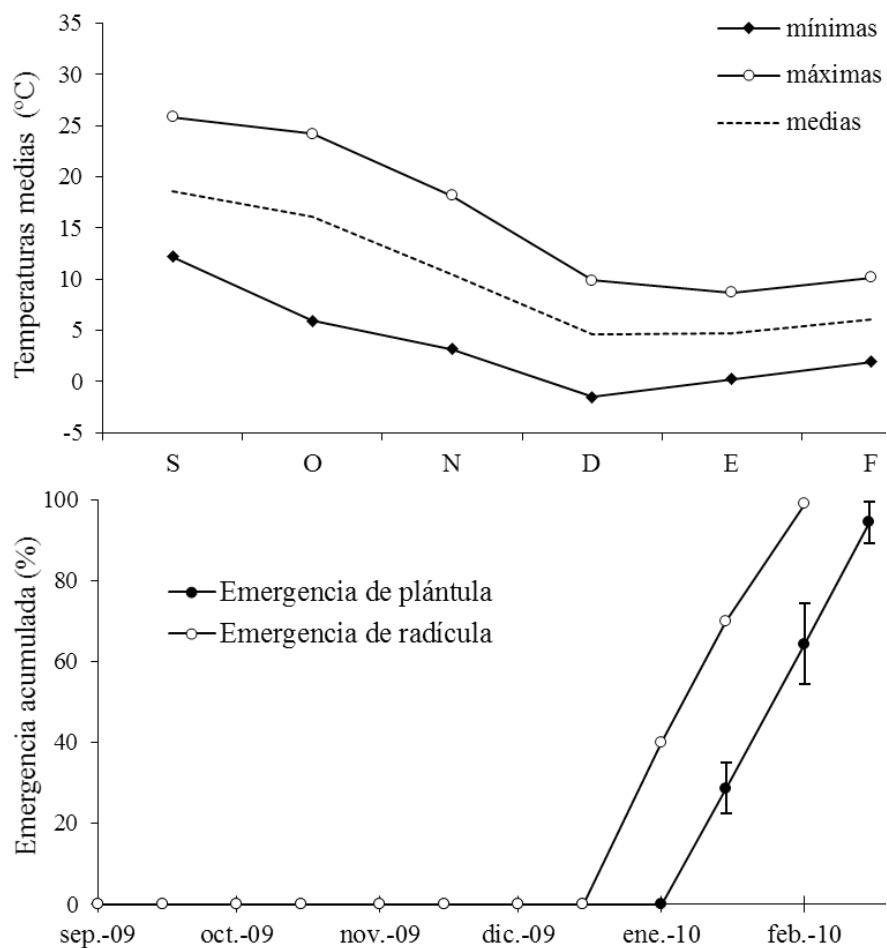


Figura 3. Fenología de la emergencia de radículas y plántulas (media ± SE, n = 3) en semillas de *S. pavi* enterradas el 1 de septiembre de 2009. La gráfica superior muestra los cambios de temperatura (media de las máximas, media de las mínimas y temperaturas medias mensuales) producidos en el umbráculo a lo largo del experimento.

Phenology of germination and radicle and seedling emergence (mean ± SE, n = 3) in *S. pavi* seeds buried on 1 September 2009. The upper figure shows changes in temperature (mean of maximum, minimum, and monthly values) recorded in the shade house throughout the experiment.

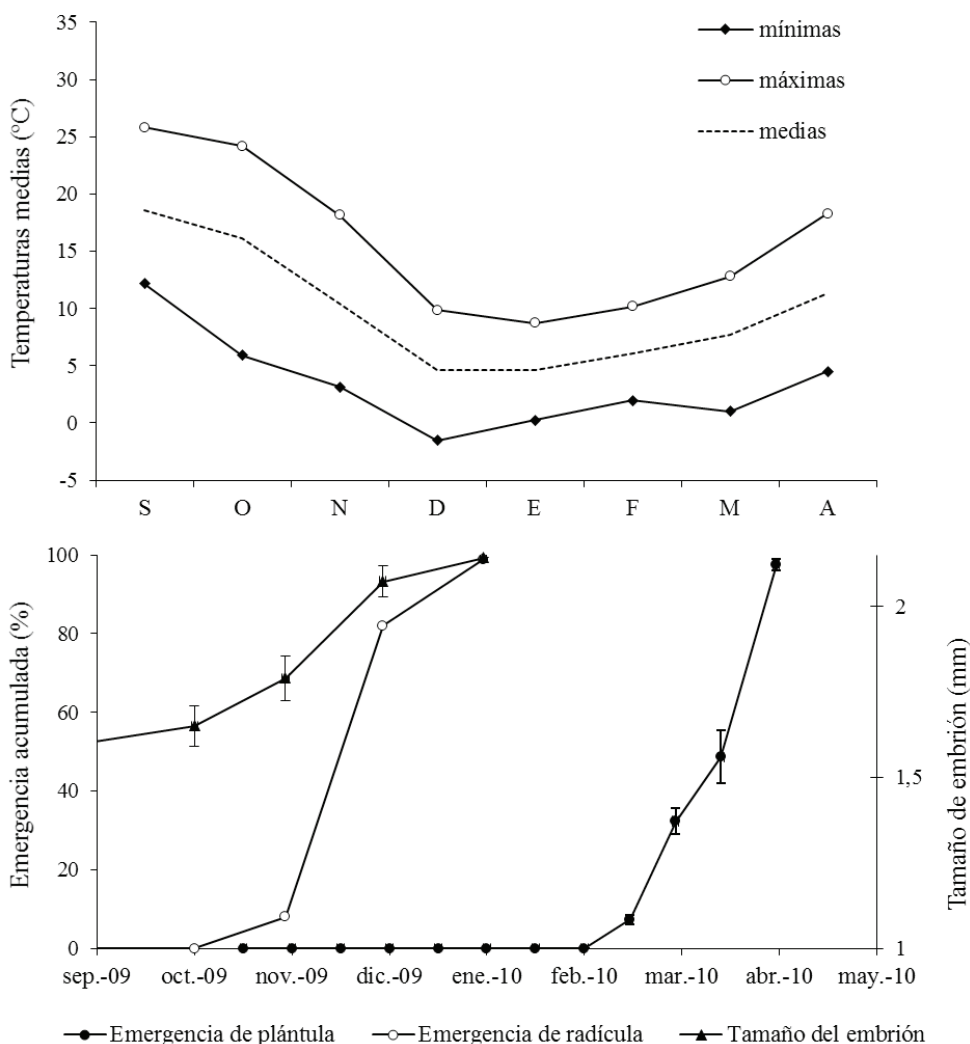


Figura 4. Fenología del crecimiento del embrión (media \pm SE, si SE > 0,1; n = 25), emergencia de radículas y epicotilos (media \pm SE, n = 3) en semillas de *S. ramburei* enterradas el 1 de septiembre de 2009. La gráfica superior muestra los cambios de temperatura (media de las máximas, media de las mínimas y temperaturas medias mensuales) producidos en el umbráculo a lo largo del experimento.

Phenology of embryo growth (mean \pm SE, if SE > 0.1; n = 25) and of radicle and epicotyl emergence (mean \pm SE, n = 3) in *S. ramburei* seeds buried on 1 September 2009. The upper figure shows changes in temperature (mean of maximum, minimum, and monthly values) recorded in the shade house throughout the experiment.

de noviembre, para conseguir superar la latencia y que se produzcan las primeras emergencias de radícula a mediados de diciembre, llegando a completarse en enero del siguiente año.

El comportamiento descrito para la emergencia de las radículas y la consecutiva e inmediata emergencia de las plántulas, implican que las plántulas de *S. pavi* quedarían expuestas a las temperaturas de finales del invierno y principios de primavera en febrero y marzo. Esta característica de la latencia de *S. pavi* podría ser considerada una ventaja adaptativa, que permitiría a sus plántulas establecerse una vez pasado el periodo más frío del invierno y antes que otras especies que germinan en primavera; esta emergencia temprana estaría relacionada con una mayor supervi-

vencia al ser más competitivas las plántulas primeras en establecerse (Mercer *et al.* 2011).

Por otra parte, es conocido que la temperatura es uno de los factores que determinan el ciclo anual de latencias y la aparición de latencias secundarias (Hilhorst 1998). Así sucede en *S. pavi*, donde se puede inducir una latencia secundaria en aquellas semillas que ya habían superado su latencia fisiológica primaria. En este sentido, las semillas de *S. pavi* se comportan como muchas anuales de verano que salen de la latencia con el frío y son inducidas de nuevo al estado durmiente con el calor (Baskin y Baskin 1998) y como algunas vivaces, tales como *Delphinium fissum* Waldst. *et* Kit. (Herranz *et al.* 2010). En el caso de *S. pavi* se da además la circunstancia de que la latencia secundaria

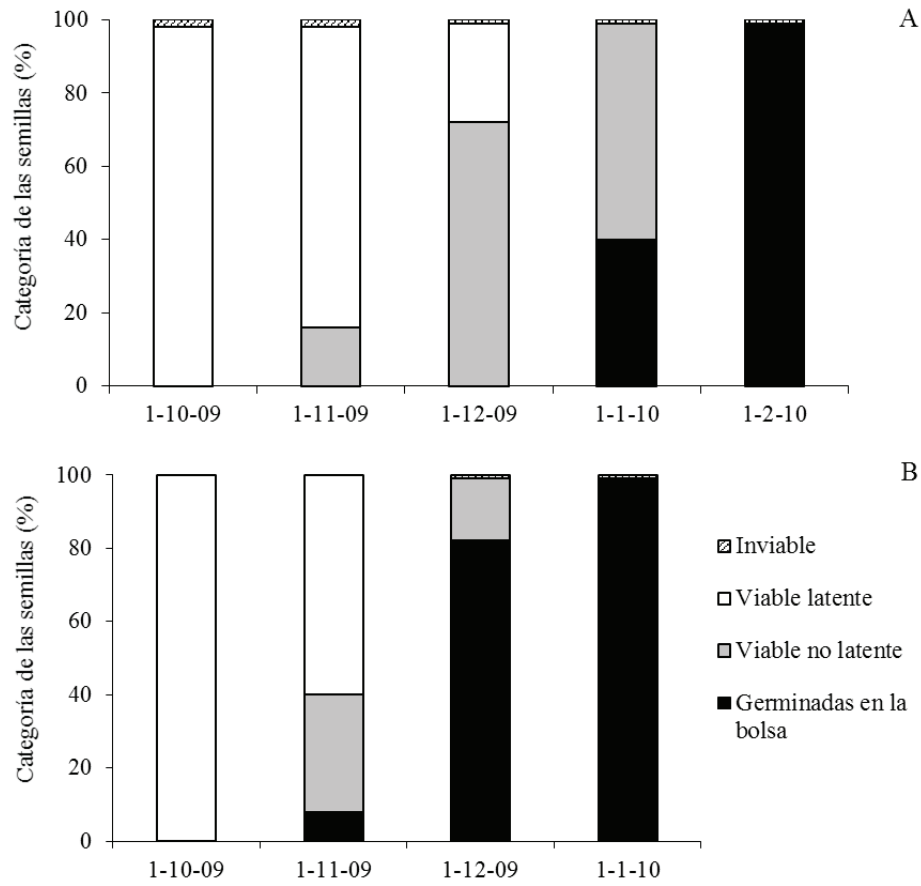


Figura 5. Cambios en el estado de latencia de semillas enterradas. Porcentajes de semillas germinadas en la bolsa (radículas emergidas), viables latentes, viables no latentes e inviábiles de *S. pawi* (A) y *S. ramburei* (B), enterradas el 1 de septiembre de 2009 y rescatadas con periodicidad mensual durante cinco y cuatro meses, respectivamente.

Changes in the dormancy stage of buried seeds. Percentage of seeds germinated (radicle emerged) within the bag, as well as dormant viable, non-dormant viable and unviable seeds of *S. pawi* (A) and *S. ramburei* (B), buried on 1 September 2009 and exhumed monthly during a five- or four-month period, respectively.

inducida por altas temperaturas requiere un mayor periodo de estratificación fría para ser superada que la latencia primaria. Este mecanismo de inducción de latencia puede ser útil para evitar que las semillas no germinadas en la primera primavera post dispersión puedan salir de la latencia tras cortos periodos fríos otoñales y, por tanto, germinar fuera de su ciclo fenológico habitual (Hilhorst 1998).

Los resultados obtenidos para *S. pawi*, que indican la existencia de latencia fisiológica no profunda, confirman la hipótesis de partida. La necesidad de un periodo de estratificación fría mayor o igual a cinco semanas para la rotura de la latencia es un mecanismo eficaz para evitar la emergencia otoñal de plántulas y la exposición de estas al periodo invernal más frío.

En *S. ramburei*, la presencia de embriones claramente subdesarrollados en el momento de la dispersión de las semillas y la necesidad de largos periodos de estratificación cálida para poder emerger las radículas, indican que posee una latencia morfofisiológica (Baskin y Baskin 1998).

A pesar de los diferentes resultados obtenidos en las pruebas de laboratorio y las que se desarrollan en el umbráculo, ambos coinciden en que se precisan varios meses de estratificación cálida para que las semillas germinen, existiendo un retraso entre la emergencia de la radícula (germinación) y la emergencia del cotiledón. Para que se produzca la emergencia del cotiledón, las semillas con radículas emergidas han de ser expuestas a un periodo de estratificación fría, que bajo condiciones naturales se produce durante los meses de enero y febrero y en laboratorio se acelera tras ocho semanas a 5 °C.

Teniendo en consideración lo anteriormente descrito, se puede concluir que las semillas de *S. ramburei* poseen una latencia morfofisiológica simple y profunda del epicotilo, en la que las radículas emergen en otoño y la emergencia del cotiledón se retrasa hasta el final del invierno, principio de la primavera. Esta secuencia ya fue descrita para diversas especies con latencia profunda simple del epicotilo, entre otras la ranunculácea *Hepatica*

acutiloba DC. (Baskin y Baskin 1985b), la aristolochiácea *Hexastylis heterophylla* (Ashe) Small (Adams *et al.* 2003), así como para las liliáceas *Erythronium japonicum* Decne. (Kondo *et al.* 2002) y *Gagea lutea* (Kondo *et al.* 2004). Dentro del género *Scilla*, dicha secuencia ha sido descrita anteriormente para *S. bifolia* (Vandelook y Van Assche 2008), si bien los autores, aun reconociendo el retraso de la emergencia del cotiledón (*i.e.* tallo), no lo consideran latencia del epicotilo, sino un simple retraso en el crecimiento debido a las temperaturas frías invernales.

Esta latencia profunda simple del epicotilo permitiría a *S. ramburei* que sus plántulas no se vieran sometidas a las heladas invernales o a la posible acción de predadores en la estación fría, permitiendo, sin embargo, que sus radículas emergidas en el otoño siguieran desarrollándose bajo el sustrato durante los meses invernales, produciéndose así un desarrollo más vigoroso de las plántulas cuando estas emerjan al finalizar el invierno y llegar la primavera. En esta especie, la exposición a las bajas temperaturas (5 °C) al final del periodo de rotura de latencia no indujo una nueva latencia, al contrario de lo que sucede en *Narcissus hispanicus* Gouan, que también posee semillas con latencia profunda simple del epicotilo (Copete *et al.* 2011).

Al abordar el tratamiento del género *Scilla*, Almeida Da Silva y Crespi (2013) han agrupado los dos taxones objeto de este trabajo bajo la denominación de *S. verna* Huds. subsp. *ramburii* (Boiss.) K. Richt. Sin embargo, las diferencias entre ambos taxones en requerimientos ambientales para la rotura de latencia y germinación, puestas de manifiesto en este estudio, reflejan la existencia de características fisiológicas diferenciadas, que unidas a los caracteres morfológicos diferenciadores con rango específico indicados por Navarro (2009), apoyan el mantenimiento de ambos taxones como especies diferentes.

CONCLUSIONES

Las semillas de *S. pau* tienen latencia fisiológica no profunda: embriones desarrollados al dispersar y requieren un periodo corto de estratificación fría para la rotura de la latencia.

Las semillas de *S. ramburei* tienen latencia morfofisiológica simple y profunda del epicotilo: embriones subdesarrollados al dispersar, emergencia de radículas tras temperaturas moderadamente cálidas y de plántulas tras un periodo frío.

Los conocimientos sobre ecología germinativa aportan datos relevantes a ser tenidos en cuenta en los estudios de sistemática.

AGRADECIMIENTOS

A los revisores del artículo por las sugerencias realizadas, que han permitido facilitar su comprensión y que mejore apreciablemente la calidad del mismo.

REFERENCIAS

- Adams CA, JM Baskin, CC Baskin. 2003. Epicotyl dormancy in the mesic woodland herb *Hexastylis heterophylla* (Aristolochiaceae). *Journal of the Torrey Botanical Society* 130: 11-15.
- Almeida Da Silva RM, AL Crespi. 2013. *Scilla* L. In Castroviejo S, C Aedo, M Laínz, F Muñoz-Garmendia, G Nieto-Feliner, J Paiva, C Benedí eds. Flora Iberica XII. Real Jardín Botánico, Madrid, España. CSIC. p. 234-288.
- Baskin CC, JM Baskin. 1998. Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. San Diego, California. Academic Press. 666 p.
- Baskin CC, CT Chien, SY Chen, JM Baskin. 2008. Germination of *Viburnum odoratissimum* seeds: a new level of morphophysiological dormancy. *Seed Science Research* 18: 179-184.
- Baskin CC, SE Meyer, JM Baskin. 1995. Two types of morphophysiological dormancy in seeds of two genera (*Osmorhiza* and *Erythronium*) with an arcto-tertiary distribution pattern. *American Journal of Botany* 82: 293-298.
- Baskin JM, CC Baskin. 1985a. Seed germination ecophysiology of the woodland spring geophyte *Erythronium albidum*. *Botanical Gazette* 146: 130-136.
- Baskin JM, CC Baskin. 1985b. Epicotyl dormancy in seeds of *Cimifuga racemosa* and *Hepatica acutiloba*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 112: 253-257.
- Baskin JM, CC Baskin. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14: 1-16.
- Cerabolini B, R De Andrés, RM Ceriani, S Pierce, B Raimondi. 2004. Seed germination and conservation of endangered species from the Italian Alps: *Physoplexis comosa* and *Primula glaucescens*. *Biological Conservation* 117: 351-356.
- Copete E, JM Herranz, P Ferrandis, CC Baskin, JM Baskin. 2011. Physiology, morphology and phenology of seed dormancy-break and germination in the endemic Iberian species *Narcissus hispanicus* (Amaryllidaceae). *Annals of Botany* 107: 1003-1016.
- DOCM (Diario Oficial de Castilla-La Mancha, ES). 1998. Decreto 33/1998, de 05-05-98, por el que se crea el Catálogo Regional de Especies Amenazadas de Castilla-La Mancha. *Diario Oficial de Castilla-La Mancha* 22: 3391-3398.
- Herranz JM, P Ferrandis, E Martínez-Duro. 2010. Seed germination ecology of the threatened endemic Iberian *Delphinium fissum* subsp. *sordidum* (Ranunculaceae). *Plant Ecology* 211: 89-106.
- Herranz JM, JM Herrero, MA Copete, JA Monreal, P Ferrandis. 2011. Evaluación de riesgos de extinción y prioridades de conservación de la flora silvestre y vegetación de Castilla-La Mancha. In Bermejo JE, JM Herranz eds. Protección de la diversidad vegetal y de los recursos fitogenéticos en Castilla-La Mancha. Albacete, España. Instituto de Estudios Albacetenses "Don Juan Manuel". p. 103-128.
- Hilhorst HWM. 1998. The regulation of secondary dormancy: the membrane hypothesis revisited. *Seed Science Research* 8: 77-90.
- Kondo T, N Okubo, T Miura, K Honda, Y Ishikawa. 2002. Ecophysiology of seed germination in *Erythronium japonicum* (Liliaceae) with underdeveloped embryos. *American Journal of Botany* 89(11): 1779-1784.
- Kondo T, T Miura, N Okubo, M Shimada, CC Baskin, JM Baskin.

2004. Ecophysiology of deep simple epicotyl morphophysiological dormancy in seeds of *Gagea lutea* (Liliaceae). *Seed Science Research* 14: 371-378.
- Kondo T, C Sato, JM Baskin, CC Baskin. 2006. Post-dispersal embryo development, germination phenology, and seed dormancy in *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae s. Str.), a perennial herb of the broadleaved deciduous forest in Japan. *American Journal of Botany* 93(6): 849-859.
- Marques I, D Draper. 2012. Seed germination and longevity of autumn-flowering and autumn-seed producing Mediterranean geophytes. *Seed Science Research* 22(4): 299-309.
- Mercer KL, MH Alexander, AA Snow. 2011. Selection on seedling emergence timing and size an annual plant, *Helianthus annuus* (common sunflower, Asteraceae). *American Journal of Botany* 98(6): 975-985.
- Navarro FB. 2009. *Scilla* L. In Blanca G, B Cabezudo, M Cueto, C Fernández-López, C Morales-Torres eds. Flora Vasculare de Andalucía Oriental. Sevilla, España. Junta de Andalucía. p. 154-156.
- Phartyal SS, T Kondo, Y Hoshino, CC Baskin, JM Baskin. 2009. Morphological dormancy in seeds of the autumn-germinating shrub *Lonicera caerulea* var. *emphylocalyx* (Caprifoliaceae). *Plant Species Biology* 24: 20-26.
- Vandelook F, JA Van Assche. 2008. Temperature Requirements for Seed Germination and Seedling Emergence of three Monocotyledonous Temperate Forest Spring Geophytes. *Annals of Botany* 102: 865-875.
- Vandelook F, N Bolle, JA VanAsche. 2009. Morphological and physiological dormancy in seeds of *Aegopodium podagraria* (Apiaceae) broken successively during cold stratification. *Seed Science Research* 19: 115-123.
- Washitani I, M Masuda. 1990. A comparative study of the germination characteristics of seeds from a moist tall grassland community. *Functional Ecology* 4: 543-557.

Recibido: 07.11.16
Aceptado: 12.02.17

Diversidad y composición de coleópteros del Parque Nacional Bernardo O'Higgins (región de Magallanes, Chile)

Diversity and composition of beetles of Bernardo O'Higgins National Park (region of Magallanes, Chile)

Christian Muñoz-Escobar ^{a,b}, Viviane Jerez ^{b*}

^a Universidad de Concepción, Programa de Doctorado en Sistemática y Biodiversidad, Concepción, Chile.

*Autor de correspondencia: ^b Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Departamento de Zoología, Barrio Universitario s/n, Concepción, Chile, tel.: 56-412204965, vijerez@udec.cl

SUMMARY

Bernardo O'Higgins National Park (BONP) is the largest protected area in Chile and southern hemisphere. With over 3.5 million hectares, it has a complex continental and archipelagic topography with a mosaic of evergreen forests, coastal scrub and peatlands. Given the future of the Chilean environmental legislation, all protected areas will be re-evaluated according to scientific parameters. Therefore, and considering that insects are currently recognized by the Chilean law, we aim at providing information on the spatial distribution of beetles using pitfall traps in 20 sites associated with the park. We evaluate the effect of vegetation and type of environment (insular, continental) on taxonomic composition, richness, abundance and diversity of beetles. A total of 15 families, 33 genera and 38 species were recorded. Many of these represent monotypic groups. The most diverse families were Carabidae, Staphylinidae and Curculionidae. No significant effect of vegetation and type of environment on any community measurement was observed since the vegetation and sectors analyzed are part of a larger biogeographic unit. Additionally, we determined 11 species to the park, which are significantly associated among them. We discuss the importance of this kind of information to make biogeographical approaches.

Key words: Coleoptera, patagonian channels, magellanic paramo, kawésqar, Chile.

RESUMEN

El Parque Nacional Bernardo O'Higgins (PNBO), corresponde al área silvestre protegida más extensa de Chile y del Hemisferio Sur; con más de 3,5 millones de hectáreas presenta una compleja topografía continental e insular con un mosaico de bosques perennifolios, matorral costero y turberas. Considerando que los insectos son actualmente reconocidos por la legislación chilena, el objetivo fue entregar información de la distribución espacial de coleópteros capturados con trampas de intercepción en 20 sitios asociados al parque y evaluar el efecto que tiene la vegetación y tipo de ambiente (insular, continental) sobre la composición taxonómica, riqueza, abundancia y diversidad de los mismos. Se registró un total de 15 familias, 33 géneros y 38 especies, muchas de las cuales pertenecen a géneros monotípicos. Las familias más diversas fueron Carabidae, Curculionidae y Staphylinidae. No se evidenció efecto significativo del tipo de ambiente ni de la vegetación sobre ningún parámetro comunitario analizado; lo anterior respondería a que las formaciones vegetales y sitios investigados forman parte de una unidad biogeográfica mayor. Por otra parte, se determinó que 11 taxones se encuentran asociados significativamente. Se discute, la importancia de este tipo de información al momento de realizar aproximaciones biogeográficas.

Palabras clave: Coleoptera, canales patagónicos, páramo magallánico, kawésqar, Chile.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, Chile protege alrededor del 19 % de su territorio continental (Jorquera-Jaramillo *et al.* 2012) y del cual cerca del 84 % se encuentra en las regiones australes del país (Pauchard y Villarroel 2002, Jorquera-Jaramillo *et al.* 2012), principalmente en áreas insulares de difícil acceso y sin perturbación antrópica. La biota de estos sectores no presenta una gran diversidad biológica como ocurre en bosques tropicales (Jerez y Muñoz-Escobar 2015); no obstante, posee gran diversidad de especies endémicas de ori-

gen gondwánico, cuyos patrones actuales de distribución son resultado de eventos glaciales pleistocénicos (Crisci *et al.* 1991).

Uno de los grupos más característicos de la biota austral corresponde a insectos coleópteros que presentan géneros endémicos como *Antarctonomus*, *Cascellius*, *Ceroglossus* y *Creobius* (Carabidae) y *Aegorhinus*, *Alastoropolus*, *Antarctobius*, *Falklandius* y *Telurus* (Curculionidae) entre otros (Morrone *et al.* 1994, Roig-Juñent 2000, Jerez y Muñoz-Escobar 2015). Estos taxones han sido fundamentales para la formulación de esquemas biogeográficos que

definen parte de las provincias biogeográficas del Páramo Magallánico y Bosque Magallánico de la sub-región Subantártica (Morrone 2006). Sin embargo, este tipo de organismos rara vez han sido considerados para caracterizar o evaluar los ambientes naturales de Chile, producto de la escasa o nula información que existe de ellos principalmente al sur del país (Jerez *et al.* 2015, Jerez y Muñoz-Escobar 2015).

Estos últimos años, Chile ha experimentado una serie de cambios relacionados a su institucionalidad ambiental. Es así que producto de la promulgación de la Ley 20.417, en el año 2010 se crea el Ministerio del Medio Ambiente (MINSEGPRES 2010), se rediseña la orgánica ambiental chilena y se modifica el artículo 37 de la Ley 19300 (MMA 2011), permitiendo ahora clasificar bajo alguna categoría de conservación a insectos y otros invertebrados (Jerez *et al.* 2015). Por otra parte, el Proyecto de Ley para la creación del Servicio de Biodiversidad y Áreas Protegidas y el Sistema Nacional de Áreas Protegidas (actualmente en trámite legislativo), contempla la realización y actualización de inventarios de especies (MMA 2015). Esto último, repercutirá en la necesidad de recopilar información sobre la diversidad, distribución geográfica y ecología de los insectos en los diversos ecosistemas del país.

En Chile, los coleópteros están representados por 4.200 especies que corresponden a un 30 % del total de especies de insectos descritas para Chile (Elgueta 2008). Sin embargo, para la región de Magallanes no han sido frecuentes los estudios que analicen la riqueza de especies de coleópteros, junto a aspectos distribucionales y su relación con regiones ecológicas basadas por ejemplo en formaciones vegetacionales. El caso de esta región es anecdótico, ya que a pesar de contar con más de un 50 % de superficie bajo alguna categoría de área protegida (Pau-chard y Villarroel 2002), poco se conoce de los patrones de distribución de las especies que allí habitan, producto de la restricción de acceso a redes viales, generando que muchos sectores en Magallanes sigan inexplorados (Jerez y Muñoz-Escobar 2015). Hasta la actualidad la información sobre coleópteros es fragmentaria y dispersa, faltando un análisis de conjunto de la biodiversidad, su distribución y relación con las formaciones vegetacionales presentes en el área. Por otra parte, los registros de presencia de muchas especies, se basan en localidades sin coordenadas geográficas, sesgadas a sectores estepáricos o bien a áreas de interés turístico y de fácil acceso, aledaños al Parque Nacional Torres del Paine.

El Parque Nacional Bernardo O'Higgins (PNBO), es uno de los parques más inhóspitos e inexplorados de Chile; se encuentra localizado entre las regiones de Aysén y Magallanes (47°55'S – 51°37'S) y representa el área silvestre protegida con mayor superficie del Hemisferio Sur, siendo al mismo tiempo el área de conservación ecocultural más importante de Sudamérica (CEQUA 2011). Este parque presenta una vegetación dominada por turberas (Pisano 1977) en condiciones extremas de humedad, vien-

to y frío dada la influencia del océano Pacífico (CEQUA 2011). Dado lo anterior, las comunidades bióticas presentes en el parque debiesen ser resultado de procesos abióticos relativamente recientes, con la presencia de especies adaptadas a condiciones de aislamiento. En este sentido, el conocimiento de su biota puede contribuir a la protección de este tipo de ecosistema y por ello los inventarios de especies constituyen un punto de partida para comprender el funcionamiento de los sistemas ecológicos y el posterior desarrollo de políticas de conservación (Jerez y Muñoz-Escobar 2015, Jerez *et al.* 2015). Por tanto, es importante recopilar, resumir y asociar información tanto de la composición de especies como su distribución geográfica. Así, se facilita y dirige el desarrollo de planes de manejo en áreas protegidas, al evaluar la relación de especies con un ambiente determinado y definir cuáles son y el grado de asociación que existe entre las especies que modulan la estructuración espacial.

Los coleópteros establecen con la vegetación relaciones ecológicas muy variadas, que van desde el uso del sitio como refugio, búsqueda de presas, herbívora y/o descomposición de materia orgánica (Jerez y Muñoz-Escobar 2015), factores que convierten a estos insectos como buenos bioindicadores de tipos de hábitats o ambientes. Dado lo anterior, se espera encontrar una estructuración espacial en la diversidad y composición taxonómica de coleópteros en función de las formaciones vegetacionales (*e.g.* bosque, matorral, turberas) y tipo de ambientes (*e.g.* insular, continental) presentes en el PNBO. Por ello, los objetivos del presente estudio son 1) caracterizar la diversidad y composición taxonómica de coleópteros presentes en el PNBO y compararla en función de las formaciones vegetacionales y tipos de ambiente (insular vs. continental) allí presentes, y 2) determinar qué especies de coleópteros son las que mejor podrían describir un patrón de ordenamiento.

MÉTODOS

Sitios y método de muestreo. Los muestreos se efectuaron en el Parque Nacional Bernardo O'Higgins (PNBO), en 20 sitios ubicados entre el Glaciar Jorge Montt y Fiordo Encuentros, en relación a las formaciones vegetacionales allí presentes: Bosque Magallánico Perennifolio, Matorral Costero y Complejo de Tundra Magallánica (Pisano 1977) y 33 unidades experimentales: Bosque, N = 18; Matorral, N = 9; y Turbera, N = 6 (figura 1).

Los muestreos se realizaron en noviembre de 2009 y enero de 2010. Los coleópteros se capturaron utilizando trampas de intercepción, las cuales consistieron en recipientes plásticos de 10 centímetros de diámetro y 15 centímetros de alto, enterrados a ras de suelo y rellenos con una mezcla de alcohol y agua (70%) como líquido preservante (Koivula *et al.* 2003). Este método de muestreo con trampas de intercepción está dirigido principalmente a artrópodos caminadores y se consideró como el más adecuado para este tipo de ambiente, con condiciones extremada-

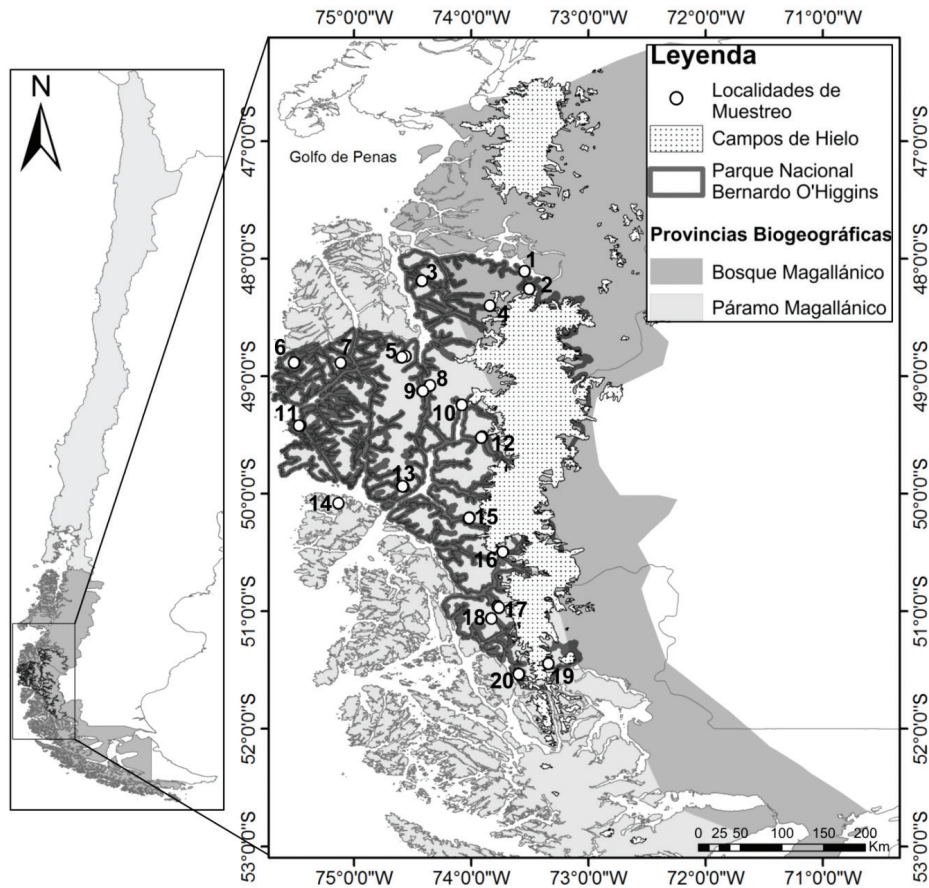


Figura 1. Sitios de Muestreo del PNBO: 1) Isla San Francisco; 2) Glaciar Jorge Montt; 3) Isla Van Der Meulen; 4) Fiordo Ofhidro; 5) Seno Wald; 6) Isla Esmeralda; 7) Isla Orella; 8) Bahía Edimburgo; 9) Puerto Edén; 10) Glaciar Pío XI; 11) Isla Kalau; 12) Fiordo Falcón; 13) Seno White; 14) Isla Madre de Dios; 15) Estero Europa; 16) Estero Asia; 17) Glaciar Amalia; 18) Fiordo Norte; 19) Quebrada Puma; 20) Fiordo Encuentros.

Sampling locations in the BONP: 1) San Francisco Island; 2) Jorge Montt Glacier; 3) Van Der Meulen Island; 4) Ofhidro Fjord; 5) Wald Fjord; 6) Esmeralda Island; 7) Orella Island; 8) Edimburgo Bay; 9) Puerto Eden; 10) Pio XI Glacier; 11) Kalau Island; 12) Falcon Fjord; 13) White Fjord; 14) Madre de Dios Island; 15) Europe Fjord; 16) Asia Fjord; 17) Amalia Glacier; 18) North Fjord; 19) Quebrada Puma; 20) Encuentros Fjord.

mente inhóspitas tanto climáticas (lluvia y vientos permanentes) como logísticas (factibilidad de acceso a sectores insulares, condiciones de navegación).

En cada unidad experimental, se instalaron 30 trampas divididas en grupos de tres, las que fueron separadas unas de otras por 5 m intra-grupos y 15 m inter-grupos, lo que constituyó un total de 10 unidades muestrales. Para el total de los muestreos, se instalaron 990 trampas las que por factibilidad logística (*i.e.* logísticas de terreno y condiciones meteorológicas) operaron por 24 horas aproximadamente. Se eligió trabajar con grupos de trampas, considerando la naturaleza en mosaico de este tipo de ambiente y así aumentar la probabilidad de capturar insectos.

Procesamiento de muestras e identificación de taxones. Una vez en el laboratorio, todo el material capturado fue separado, etiquetado y conservado en frascos con alcohol de 70° hasta el momento de su recuento y determi-

nación taxonómica. Los insectos fueron separados bajo lupa estereoscópica y posteriormente montados en alfileres entomológicos o conservados en frascos con alcohol 70°, etiquetados e ingresados a la colección entomológica del Museo de Zoología de la Universidad de Concepción (UCCC).

Para la clasificación de las categorías taxonómicas de Coleoptera se consultó literatura especializada como Jeannel (1962), Roig-Juñent (2000) y Jiroux (2006), entre otros. La determinación se ratificó además por comparación con material conservado en colecciones de referencia pertenecientes a la Universidad de Concepción.

Análisis comunitarios. Para resumir la complejidad de los ensamblajes de coleópteros, en cada unidad experimental, se calculó la riqueza específica (S) y abundancias (N). Además se estimaron los índices de exponencial de Shannon ($\exp H'$) (Jost 2006) e inverso de Gini-Simpson

($1/1-\lambda'$) (Jost 2006), los cuales modifican los clásicos índices de entropía de Shannon (Shannon 1948) y Simpson (Simpson 1949) respectivamente, transformándolos en números efectivos de especies, equivalente a una medida de verdadera diversidad (Jost 2006). Por cada parámetro comunitario, se construyó una matriz de distancia Euclidiana entre pares de observaciones, con el objeto de evaluar diferencias entre los tipos de ambiente (insular y continental) y formaciones vegetacionales (bosque, matorral, turbera), utilizando análisis de varianza basada en permutaciones (PERMANOVA). Este procedimiento es equivalente a un análisis de varianza estándar, pero la flexibilidad y robustez de una aproximación basada en permutaciones utilizando el algoritmo de Montecarlo (MC), aminora la necesidad que las variables cumplan con los supuestos de normalidad (Anderson *et al.* 2008).

Para evaluar la estructuración en la composición de coleópteros entre los tipos de ambientes y formaciones vegetacionales, se realizó un PERMANOVA. Dada la dominancia de dos a tres especies a lo largo de todo el ensamblaje, las abundancias de las especies fueron transformadas a raíz cuarta y así otorgar poder de explicación a las especies raras (Clarke y Gorley 2006). Para representar y contrastar gráficamente el patrón distribucional de coleópteros, se realizó un escalamiento multidimensional no paramétrico (nMDS) sobre la matriz de similitud de Bray-Curtis (Clarke *et al.* 2006) y Sørensen (Sørensen 1948), basadas en las abundancias y presencia/ausencia de las especies respectivamente. Posteriormente, se definió un subconjunto de especies que mejor describen la coleopterofauna registrada en el PNBO. Para ello se aplicó el algoritmo paso a paso BVSTEP (Clarke y Warwick 1998), el cual mide la correlación (ρ) a través del coeficiente de Spearman, entre la matriz general y un subconjunto de especies seleccionado, hasta alcanzar al menos un valor de ρ superior a 0,95.

Por otro lado, se evaluó la asociación entre las especies de coleópteros registradas en el PNBO. Para ello, se utilizó el índice de asociación de Whitaker (Whittaker 1952) para efectuar un análisis inverso modo-R entre las variables (especies) de los diversos sitios de muestreo. Primero se realizó un análisis de perfil de similitud (SIMPROF) tipo 2 (Sommerfield y Clarke 2013), el cual utilizando permutaciones evaluó de manera global si existe asociación de especies en la estructura multivariada del ensamblaje en comparación a lo esperado por azar. Posteriormente, con el objeto de determinar que especies forman "grupos coherentes" o asociados significativamente ($P > 0,05$), se realizó un SIMPROF tipo 3 (Sommerfield y Clarke 2013) considerando aquellas especies del subconjunto de especies que explican el patrón de ordenamiento global (estimados con BVSTEP). Todos los análisis tanto en modo-Q (entre muestras) como en modo-R (entre especies), se realizaron con los programas PRIMER-E v6.1.12 (Clarke y Gorley 2006) y PERMANOVA+ v1.0.2 (Anderson *et al.* 2008).

RESULTADOS

Diversidad y composición taxonómica. Para el PNBO se capturaron 347 coleópteros, clasificados en 15 familias, 33 géneros y 38 especies (cuadro 1). Las familias con mayor número de especies fueron Carabidae ($n = 9$), Curculionidae ($n = 8$) y Staphylinidae ($n = 7$), mientras que las familias más abundantes fueron Carabidae ($n = 237$), Cryptophagidae ($n = 24$) y Curculionidae ($n = 20$). Las especies más abundantes fueron los carábidos *Ceroglossus suturalis* (Fabricius, 1775), ($n = 159$) y *Cascellius septentrionalis* Roig-Juñent, 1995, ($n = 46$). Sólo cinco especies están presentes en las tres formaciones vegetacionales: *C. septentrionalis* y *C. suturalis* (Carabidae), *Nothofaginoides andinus* Kuschel, 1952 (Curculionidae), *Nemadiopsis* sp. (Leiodidae) y *Cyphon* sp. (Scirtidae) (cuadro 2). Al analizar los distintos parámetros comunitarios, no se observó un efecto significativo del tipo de ambiente y tipo de formación vegetal (cuadro 3). En promedio, por sitio de muestreo se obtuvo una riqueza específica de $3,78 \pm 0,39$ y una abundancia de $10,84 \pm 1,6$; mientras que los valores promedio de diversidad del exponencial de Shannon fue de $3,04 \pm 0,32$ e inverso de Gini-Simpson fue de $2,70 \pm 0,29$ (figura 2).

Similitud biótica entre sitios de muestreo. Al evaluar la estructuración de coleópteros a lo largo del PNBO, no se observaron diferencias considerando el tipo de ambiente y formación vegetal (cuadro 3). A través de BVSTEP, se determinó que 11 especies representan el patrón global del ensamblaje de coleópteros presentes en el PNBO ($P = 0,95$; $P < 0,001$); estas fueron los Carabidae: *C. suturalis*, *C. septentrionalis*, *Creobius eydouxii* (Guérin-Ménéville, 1838) y *Nothocascellius hyadesii* (Fairmaire, 1885), Cryptophagidae: *Chiliotus* sp., Curculionidae: *Nothofaginoides andinus*, Hydrophilidae: *Cercyon quisquilius* (Linnaeus, 1761), Leiodidae: *Nemadiopsis* sp., Melandryidae: *Orchesia* sp., Scirtidae: *Cyphon* sp. y Staphylinidae: *Cheilocolpus magallanicus* Sáiz, 1970. La mayoría de estas especies son más abundantes en sectores de la Isla Wellington (49° - 50° S) y áreas continentales subyacentes (figura 3).

Por otro lado, al analizar las correlaciones interespecíficas a través del test SIMPROF tipo 2, se determinó una asociación significativa entre especies ($\pi = 0,021$; $P < 0,001$). De esta forma, al considerar el subconjunto de especies "más importante" obtenidos con BVSTEP, se obtuvo según la prueba SIMPROF tipo 3 que todas estas covariaron coherentemente a lo largo y ancho del PNBO formando una sola asociación genuina (figura 4).

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio indican una baja riqueza específica en comparación a lo descrito para el territorio entre 48° y 51° lat S (Jerez y Muñoz-Escobar 2015). Sin embargo, como característica de los coleópte-

Cuadro 1. Resumen de la composición taxonómica y abundancias de coleópteros por sitio de muestreo en el PNBO (región de Magallanes, Chile).

Summary of the taxonomic composition and abundances of beetles per site in the BONP (region of Magallanes, Chile).

Familias/Especies	ISF	GM	IVM	FO	SWA	IE	IO	BE	PE	PXI	IK	FFA	SWH	IMD	EEU	EA	GA	FN	QP	FE	
Carabidae																					
<i>Antarctonomus complanatus</i> (Blanchard, 1843)				1																	
<i>Cascellius gravesii</i> Curtis, 1839					1																2
<i>Cascellius septentrionalis</i> Roig-Juñent, 1995		2		3		7	2	4	5	3	3	2	12		1			2			3
<i>Ceroglossus suturalis</i> (Fabricius, 1775)	15	21		4	3	1	1	4	3	10	8	24		28	19	4	2	2			10
<i>Creobius eyedouxii</i> (Guérin-Ménéville, 1838)	3	13						3													
<i>Metius blandus</i> (Dejean, 1828)								1													
<i>Nothocasellius aeneoniger</i> (Waterhouse, 1841)							1														
<i>Nothocasellius hyadesii</i> (Fairmaire, 1885)			1							2	1	1									1
<i>Trechinotus flavolimbatus</i> Jeannel, 1962										1											
Chrysomelidae																					
<i>Araucanomela wellingtonensis</i> Bechyné y Bechyné, 1973			1																		
Cryptophagidae																					
<i>Chilitotus</i> sp.	1		1							10	2			1			2				7
Curculionidae																					
<i>Aegorhinus vitulus</i> (Fabricius, 1775)										3											
<i>Alastoropolus strumosus</i> (Olivier, 1807)																					1
<i>Anthonomus</i> sp.																					1
<i>Dasydema hirtella</i> Blanchard, 1851				1																	
<i>Falklandiopsis magellanica</i> (Morrone, 1992)																					2
<i>Germainiellus lugens</i> (Germain, 1895)	1														3						1
<i>Gnathotrupes fimbriatus</i> (Schedl, 1955)							1						1								
<i>Nothofuginoides andinus</i> Kuschel, 1952			2								2	1									
Derodontidae																					
<i>Nothoderodontus dentatus</i> Lawrence, 1979		1																			
Elateridae																					
<i>Margaiostus magellanicus</i> (Blanchard, 1853)	1																				

Familias/Especies	ISF	GM	IVM	FO	SWA	IE	IO	BE	PE	PXI	IK	FFA	SWH	IMD	EEU	EA	GA	FN	QP	FE
Elateridae sp.		1																		
Hydrophilidae																				
<i>Cercyon quisquilius</i> (Linnaeus, 1761)				2								2								
Leiodidae																				
<i>Nemadiopsis</i> sp.				1						2					1	5	4			4
Lucanidae																				
<i>Ericichius femoralis</i> (Guérin-Mèneville, 1839)		1																		3
Melandryidae																				
<i>Orchesia</i> sp.				2								1								
Nitidulidae																				
<i>Cnips marginalis</i> Philippi, 1864																				1
Scarabaeidae																				
<i>Sericoides multicolor</i> Martinez, 1956					1															
<i>Sericoides variegata</i> (Germain, 1863)				2																
Scirtidae																				
<i>Cyphon</i> sp.											2	3			1	1	2	3		
Seydinaenidae																				
<i>Euconus</i> sp.																				1
Staphylinidae																				
<i>Achilia</i> sp.											1									
<i>Antarctohius fuegius</i> Coiffait <i>et</i> Sáiz, 1969																1				1
<i>Atheta daecordi</i> Pace, 1999				1				2			1	1								
<i>Auxenocerus caviventris</i> Jeannel, 1962											1									
<i>Baryopsis brevipennis</i> Fairmaire y Germain, 1861				1																
<i>Cheilocolpus magallanicus</i> Sáiz, 1970											1									
<i>Gastrothopulus elegans</i> Solier, 1850				1												1	3			1

1) ISF: Isla San Francisco; 2) GM: Glacier Jorge Montt; 3) IVM: Isla Van Der Meulen; 4) FO: Fiordo Ofhidro; 5) SWA: Seno Wald; 6) IE: Isla Esmeralda; 10: 7) Isla Orella; 8) BE: Bahía Edimburgo; 9) PE: Puerto Eden; 10) PXI: Glacier Pio XI; 11) IK: Isla Kalaui; 12) FFA: Fiordo Falcon; 13) SWH: Seno White; 14) IMD: Isla Madre de Dios; 15) EEU: Estero Europa; 16) EA: Estero Asia; 17) GA: Glacier Amalia; 18) FN: Fiordo Norte; 19) QP: Quebrada Puma; 20) FE: Fiordo Encuentros.

Cuadro 2. Resumen de la composición taxonómica y abundancias de coleópteros por formación vegetacional en el PNBO (región de Magallanes, Chile).

Summary of the taxonomic composition and abundances of beetles per vegetation formation in the BONP (region of Magallanes, Chile).

Familia	Especie	Formaciones vegetacionales			Total
		Bosque	Matorral	Turbera	
Carabidae (n=237)	<i>Antarctonomus complanatus</i>	1	0	0	1
	<i>Cascellius gravesii</i>	3	0	0	3
	<i>Cascellius septentrionalis</i>	29	12	5	46
	<i>Ceroglossus suturalis</i>	83	62	14	159
	<i>Creobius eydouxi</i>	3	16	0	19
	<i>Metius blandus</i>	0	1	0	1
	<i>Nothocascellius aeneoniger</i>	0	1	0	1
	<i>Nothocascellius hyadessi</i>	4	2	0	6
	<i>Trechinotus flavolimbatus</i>	1	0	0	1
Chrysomelidae (n=1)	<i>Araucanomela wellingtonensis</i>	1	0	0	1
Cryptophagidae (n=24)	<i>Chiliotus</i> sp.	23	0	1	24
Curculionidae (n=20)	<i>Aegorhinus vitulus</i>	0	3	0	3
	<i>Alastoropolus strumosus</i>	1	0	0	1
	<i>Anthonomus</i> sp.	1	0	0	1
	<i>Dasydema hirtella</i>	1	0	0	1
	<i>Falklandius magellanicus</i>	1	1	0	2
	<i>Germainiellus lugens</i>	0	5	0	5
	<i>Gnathotrupes fimbriata</i>	2	0	0	2
	<i>Nothofaginooides andinus</i>	2	2	1	5
	<i>Nothoderodontus dentatus</i>	0	1	0	1
Elateridae (n=2)	<i>Elateridae</i> sp.	0	1	0	1
	<i>Margaiostus magellanicus</i>	1	0	0	1
Hydrophilidae (n=4)	<i>Cercyon quisquilius</i>	3	1	0	4
Leiodidae (n=17)	<i>Nemadiopsis</i> sp.	13	2	2	17
Lucanidae (n=4)	<i>Erichius femoralis</i>	3	1	0	4
Melandryidae (n=3)	<i>Orchesia</i> sp.	0	2	1	3
Nitidulidae (n=1)	<i>Cnips marginalis</i>	0	1	0	1
Scarabaeidae (n=3)	<i>Sericoides multicolor</i>	1	0	0	1
	<i>Sericoides variegatus</i>	0	2	0	2
Scirtidae (n=12)	<i>Cyphon</i> sp.	8	2	2	12
Scydmaenidae (n=1)	<i>Euconus</i> sp.	0	1	0	1
Staphylinidae (n=17)	<i>Achilia</i> sp.	0	1	0	1
	<i>Antarctothius fuegius</i>	1	0	1	2
	<i>Atheta daccordi</i>	4	1	0	5
	<i>Auxenocerus caviventris</i>	1	0	0	1
	<i>Baryopsis brevipennis</i>	1	0	0	1
	<i>Cheilocolpus magallanicus</i>	2	4	0	6
	<i>Gastrorhopalus elegans</i>	0	1	0	1
	15 familias	38 especies	194	126	27

Cuadro 3. Resultados de PERMANOVA sobre el efecto del tipo de ambiente (insular, continental) y formación vegetal (bosque, matorral, turbera) sobre los parámetros comunitarios Riqueza (S), Abundancia (N), Exponencial de Shannon ($\exp H'$), Inverso de Gini-Simpson ($1/1-\lambda'$) y la composición taxonómica considerando abundancias (Bray-Curtis) y presencia/ausencia (Sørensen) de especies.

Results from PERMANOVA for differences in number of species (S), abundance (N), Exponential of Shannon ($\exp H'$), inverse of Gini-Simpson ($1/1-\lambda'$), and taxonomic composition based on abundances (Bray-Curtis) and presence/absence (Sørensen), on type of environment (insular, continental) and vegetation.

Fuente	g.l.	Parámetros comunitarios							
		Riqueza (S)				Abundancia (N)			
		SS	MS	Pseudo-F	P(MC)	SS	MS	Pseudo-F	P(MC)
Ambiente	1	5,024	5,024	1,110	0,303	1,028	1,028	0,0127	0,911
Vegetación	2	8,803	4,402	0,973	0,393	59,33	29,665	0,366	0,696
Amb x Veg	2	8,528	4,264	0,942	0,404	166,88	83,441	1,029	0,371
Residuos	26	117,65	4,525			2.106,7	81,028		
Total	31	153,47				2.570,2			

Fuente	g.l.	Exponencial de Shannon ($\exp H'$)				Inverso de Gini-Simpson ($1/1-\lambda'$)			
		SS	MS	Pseudo-F	P(MC)	SS	MS	Pseudo-F	P(MC)
		Ambiente	1	3,267	3,267	1,073	0,313	2,990	2,990
Vegetación	2	3,805	1,902	0,625	0,544	2,418	1,209	0,476	0,626
Amb x Veg	2	9,473	4,737	1,556	0,228	7,101	3,550	1,397	0,269
Residuos	26	79,141	3,044			66,069	2,541		
Total	31	103,32				84,442			

Fuente	g.l.	Composición taxonómica							
		Bray-Curtis				Sørensen			
		SS	MS	Pseudo-F	P(MC)	SS	MS	Pseudo-F	P(MC)
Ambiente	1	1.314,4	1.314,4	0,476	0,847	1.113,4	1.113,4	0,413	0,876
Vegetación	2	4.296,5	2.148,3	0,779	0,671	4.977,0	2.488,5	0,922	0,514
Amb x Veg	2	4.630,7	2.315,3	0,839	0,611	3.827,0	1.913,5	0,709	0,741
Residuos	26	71.727	2.758,7			70.143,0	2.697,8		
Total	31	84.430,0				81.989,0			

Valores de probabilidad basados en un suma de cuadrados tipo III utilizando 50.000 permutaciones de residuos bajo un modelo reducido. P(MC): valor de P obtenido utilizando el algoritmo de Monte Carlo.

ros registrados en el PNBO y sectores aledaños, es que varias de sus especies pertenecen a géneros monotípicos. Las especies de Carabidae, Curculionidae, Cryptophagidae y Derodontidae son típicas de bosques hidrófilos en asociación con *Nothofagus betuloides* (Mib.) Oerst. y *N. pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser y toda esta biota presenta una estrecha relación a su vez con la historia geomorfológica del paisaje sur-occidental de los Andes (Morrone 2006, Jerez y Muñoz-Escobar 2015).

Al evaluar la diversidad de coleópteros en los sitios prospectados, no se evidenció una diferenciación o estructuración con respecto a ninguno de los parámetros comu-

nitarios analizados (S, N, $\exp H'$, $1/1-\lambda'$) o composición taxonómica, ya sea considerando los factores del tipo de vegetación o tipo de ambiente. Lo anterior respondería a un factor más bien histórico - biogeográfico, ya que el PNBO se encuentra principalmente asociado a la provincia biogeográfica del Páramo Magallánico (Morrone 2006), el cual representa una biota ancestral única producto de una serie de eventos geomorfológicos acaecidos en la zona (Crisci *et al.* 1991). Precisamente, los continuos avances y retrocesos de los glaciares, resultó en una fauna terrestre extraordinariamente pobre en número de especies comparada con zonas ecológicamente similares (Jerez y

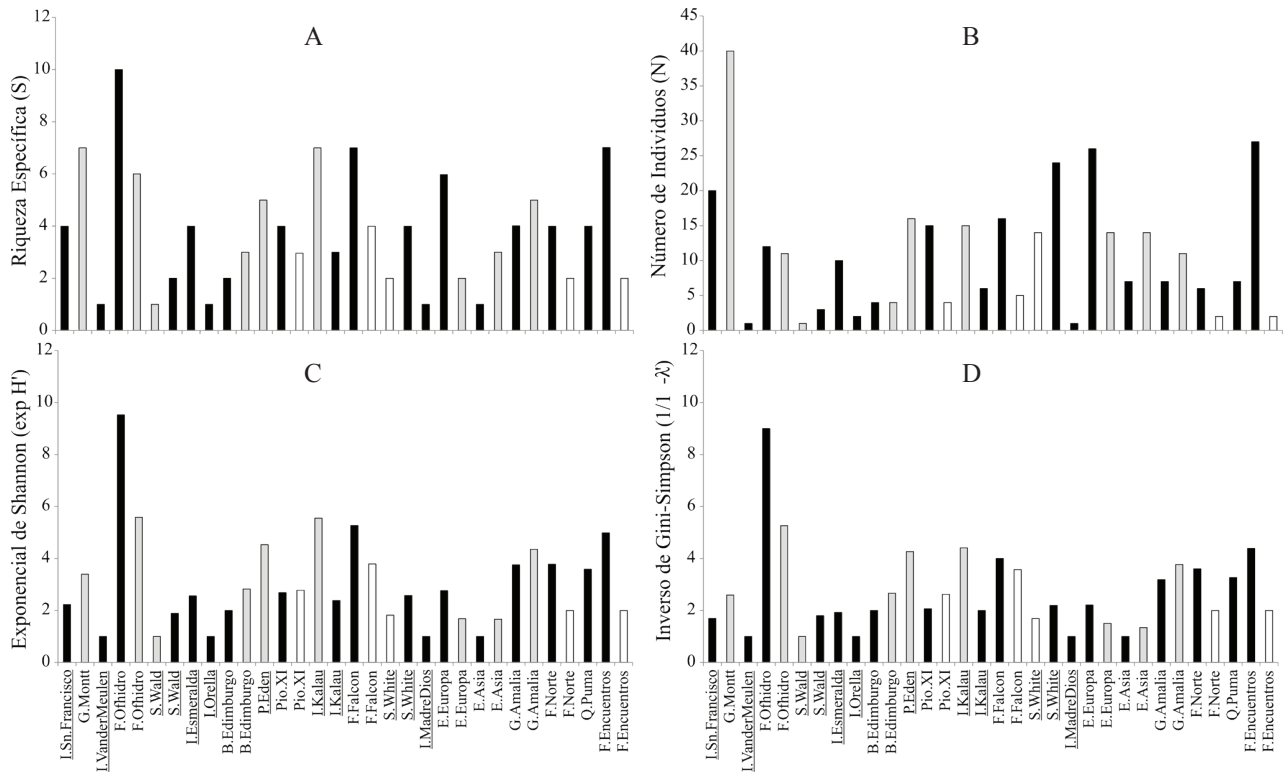


Figura 2. Resultados de parámetros comunitarios por unidad experimental de A) riqueza específica, B) abundancia, C) exponencial de Shannon y D) inverso de Gini-Simpson. Barras negras representan sectores de Bosque, barras grises representan Matorrales y barras blancas Turberas. Nombres de sectores insulares están subrayados.

Results of community index for experimental unit: A) Richness, B) Abundance, C) Exponential of Shannon and D) Inverse of Gini-Simpson. Black, Gray and White bars represent forest, scrub and peatland respectively. Names of insular sectors are underlined.

Muñoz-Escobar 2015), lo que explicaría el bajo número de especies registradas en el PNBO. Además, Muñoz-Escobar *et al.* (2015) señalan que sólo al considerar una escala de análisis de provincia biogeográfica (según Morrone 2006), se observa una mayor estructuración en la diversidad de coleópteros en comparación a lo esperado por azar. Lo anterior, indica que escalas de paisaje menores (*e.g.* formaciones vegetacionales) tienen un aporte menor a lo esperado para la diversidad regional de coleópteros para Sudamérica austral.

El hecho de que el PNBO presente un solo gran ensamblaje, permite analizar su biota como un todo, lo cual facilita la generación de planes de manejo y gestión del parque según la futura Ley del Servicio de Biodiversidad y Áreas Protegidas (MMA 2015). Al respecto, de las 38 especies registradas, once de ellas serían especies que están asociadas significativamente (figura 4) y, por tanto, pueden ser el foco para futuros estudios entomológicos en la zona. Entre estas, se destacan las especies de Carabidae (*C. suturalis*, *C. septentrionalis*, *C. eydouxii* y *N. hyadesii*), todas de hábitos principalmente hidrófilos asociadas a los bosques subantárticos (Roig-Juñent 2000, Jiroux 2006). Debido a su particular rango de distribución (sur-occidental

de Los Andes), estas especies serían excelentes candidatas para estudios de filogeografía y evaluar áreas como fuente de diversidad (*e.g.* refugios) y patrones de recolonización postglacial.

Una comparación con la revisión de Jerez y Muñoz-Escobar (2015) sobre coleópteros del Páramo Magallánico de la región de Magallanes, muestra que al menos 18 especies de las familias Apionidae (3), Byrrhidae (1), Carabidae (6), Chrysomelidae (2), Curculionidae (2) y Lucanidae (1) no fueron registradas en el presente estudio. Por otra parte, en este trabajo se incorporan nuevos registros de especies de coleópteros, principalmente de sectores asociados a la provincia del Bosque Magallánico (Cryptophagidae: 1, Curculionidae: 4, Derodontidae: 1, Elateridae: 2, Lucanidae: 1, Melandryidae: 1, Nitidulidae: 1, Scarabeidae: 1, Scirtidae: 1, Scydmaenidae: 1 y Staphylinidae: 5). Uno de los motivos que podría explicar estas diferencias, sería el método de muestreo utilizado en este estudio, ya que la eficiencia de las trampas depende del efecto que tienen algunas variables atmosféricas sobre la actividad de los individuos (Koivula *et al.* 2003). Para el caso de este trabajo, las trampas estuvieron en cada sitio de muestreo un período muy breve de tiempo (24 horas),

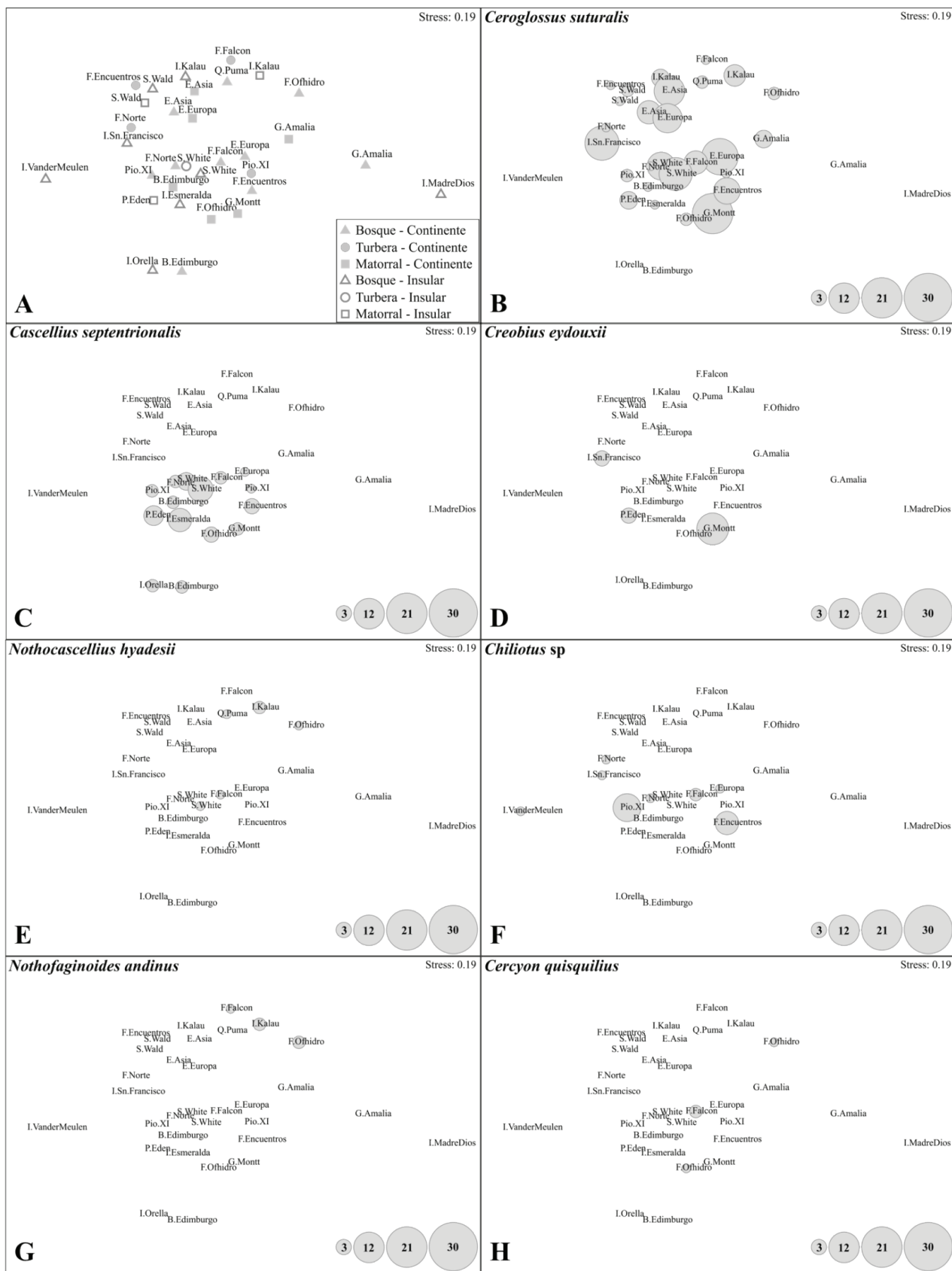


Figura 3 (continúa).



Figura 3. Escalamiento multidimensional no paramétrico (nMDS). A) Ordenamiento de las distintas unidades experimentales según el total de la composición de especies utilizando el índice de similitud de Bray-Curtis. B-L) Diámetro de los círculos indica las abundancias para las especies que explican el patrón global de coleópteros del PNBO.

Nonparametric Multidimensional Scaling (nMDS). A) Ordination among experimental units according to the total species composition using the Bray-Curtis similarity index. B-L) Diameter circle indicates the abundance of key species that explain the overall pattern of beetles in the BONP.

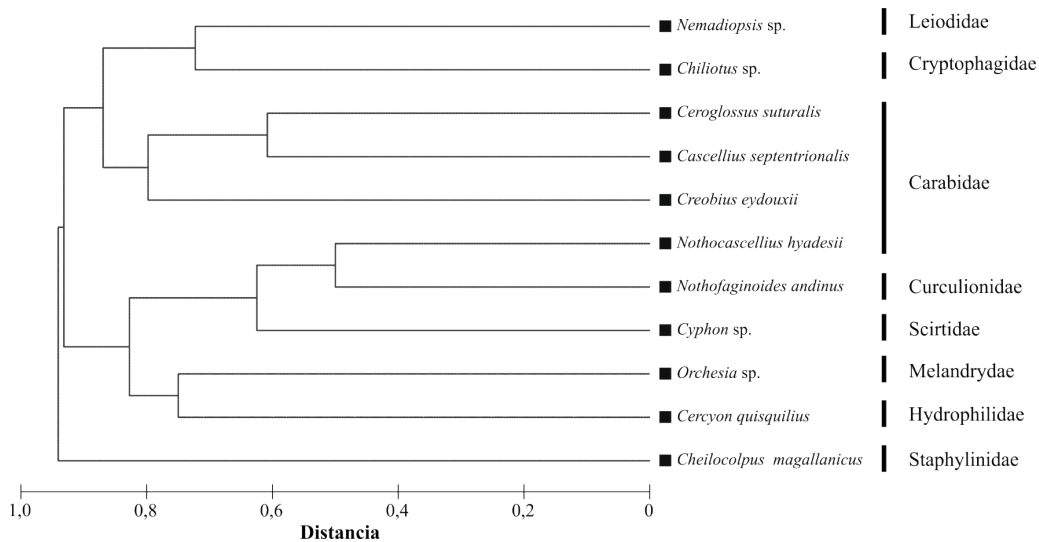


Figura 4. Dendrograma (modo-R) obtenido a partir del algoritmo de encadenamiento o vinculación promedio de las 11 especies de coleópteros determinados por BVSTEP a partir del índice de asociación de Whittaker. Símbolo cuadrado muestra la presencia de un solo “grupo coherente” ($P < 0,05$) según la prueba SIMPROF tipo 3.

Dendrogram from (r-mode) group-average clustering of the 11 ‘most important’ species by BVSTEP algorithm, based on Whittaker’s Index of Association among species. Square symbol denotes one coherent group which was significantly differentiated by Type 3 SIMPROF tests ($P < 0.05$).

debido a temas logísticos y factibilidad de permanencia en cada sitio prospectado. A pesar de esto y en general, la composición taxonómica de coleópteros registrada corresponde a lo descrito en la literatura para la región de Magallanes y para el Páramo Magallánico (Jeannel 1962, Morrone *et al.* 1994, Roig-Juñent 2000, Jiroux 2006). Si bien se enfrentaron problemas de permanencia en cada sitio muestreado, destaca que allí también radica el aporte de este trabajo, ya que se entrega información de especies para lugares prácticamente inexplorados científicamente, principalmente de sectores insulares (*e.g.* Isla Kalau, Isla San Francisco).

Del punto de vista de la conservación etno-científica (Martinic 2011) y dada la activa participación que tendrán las comunidades de pueblos originarios en áreas protegidas, se considera importante que la comunidad kawésqar se involucre en la difusión del conocimiento de la entomofauna del sector, especialmente en sectores donde las comunidades rurales e indígenas que allí habitan deben compartir los beneficios y responsabilidades de las áreas protegidas (Pauchard y Villarroel 2002). En este sentido, durante el transcurso de este estudio se logró encontrar que los kawésqar, denominan a las especies *C. suturalis* (Carabidae) y *E. femoralis* (Lucanidae) “æk asar” y “fqalto” respectivamente. Mientras que coleópteros Curculionidae en general (burritos) son llamados “kekiasqe” y los Elateridae (saltapericos o hacheros) “camanchok”. Cabe señalar que la gran mayoría de las especies registradas, dado su tamaño y por tanto dificultad de observar, no disponen de nombre etno-vernacular.

Finalmente, la información entregada en este trabajo permite evaluar patrones y procesos metacomunitarios de coleópteros que sirven de base para otras investigaciones de carácter biogeográfico. De hecho, estudios de biogeografía histórica constituyen uno de los componentes básicos de cualquier tipo de medida o manejo para el establecimiento y selección de áreas a ser protegidas (Morrone *et al.* 1994). Lo anterior cobra importancia al considerar que la legislación chilena reconoce la protección de ecosistemas y procesos evolutivos como uno de los principales objetivos del Sistema Nacional de Áreas Protegidas del Estado (SNASPE) (Pauchard y Villarroel 2002) y del Proyecto Servicio de Biodiversidad y Áreas Protegidas y el Sistema Nacional de Áreas Protegidas (MMA 2015).

CONCLUSIONES

De acuerdo con las especies capturadas (38) en el PNBO, las familias Carabidae, Curculionidae y Staphylinidae presentan la mayor riqueza específica. Entre los coleópteros destacan los carábidos *C. suturalis* y *C. septentrionalis*, los cuales además de estar presentes en todas las formaciones vegetacionales, también son los más abundantes dentro del parque. No se observa estructuración de coleópteros en función de las formaciones vegetacionales ni tipos de ambientes, tanto en términos de descriptores

comunitarios como composición taxonómica. Los resultados obtenidos señalan que 11 especies describen el patrón de ordenamiento presente en el parque; estas pertenecen a las familias Carabidae (4), Cryptophagidae (1), Curculionidae (1), Hydrophilidae (1), Leiodidae (1), Melandryidae (1), Scirtidae (1) y Staphylinidae (1). Cabe destacar que estas 11 especies representan una sola asociación, es decir, covarian coherentemente en todo el PNBO. Este resultado facilitará el foco de próximos planes de manejo que se puedan realizar dentro del parque, ya sea en el marco del Servicio de Biodiversidad y Áreas Protegidas y/o monitoreos medioambientales para evaluar el estado de conservación de los tipos de ambientes en el PNBO.

AGRADECIMIENTOS

Al Proyecto INNOVA CORFO 08CTU01-20 “Caracterización territorial del Parque Nacional Bernardo O'Higgins, su potencial económico, turístico, científico y cultural”. Este proyecto fue mandado por CONAF Magallanes y ejecutado por el Centro de Estudios del Cuaternario (CEQUA). Se agradece también al Proyecto DIUC N° 212.113.080-1.0 de la Universidad de Concepción por financiar parte de este trabajo. Finalmente a Francisco Arroyo Sotomayor por entregar los nombres Kawésqar de los coleópteros y a Carolina Galleguillos, Kary Haro y Soledad Contreras por su apoyo en el trabajo de terreno.

REFERENCIAS

- Anderson MJ, RN Gorley, KR Clarke. 2008. PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to software and statistical methods. Plymouth, United Kingdom. PRIMER-E. 214 p.
- CEQUA (Centro de Estudios del Cuaternario, Fuego-Patagonia y Antártica, CL). 2011. Parque Nacional Bernardo O'Higgins. Punta Arenas, Chile. La Prensa Austral Impresos. 248 p.
- Clarke KR, RN Gorley. 2006. PRIMER v6: User manual/Tutorial. Plymouth, United Kingdom. PRIMER-E. 190 p.
- Clarke KR, PJ Somerfield, MG Chapman. 2006. On resemblance measures for ecological studies, including taxonomic dissimilarities and a zero-adjusted Bray-Curtis coefficient for denuded assemblages. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 330: 55-80.
- Clarke KR, RM Warwick. 1998. Quantifying structural redundancy in ecological communities. *Oecologia* 113: 278-289.
- Crisci JV, MM Cigliano, JJ Morrone, S Roig-Juñent. 1991. Historical biogeography of southern South America. *Systematic Zoology* 40(2): 152-171.
- Elgueta M. 2008. Holometábolos, Orden Coleoptera. In Comisión Nacional del Medio Ambiente eds. Biodiversidad de Chile: Patrimonio y Desafíos. Segunda Edición Actualizada. Santiago, Chile. Ocho Libros Editores. p. 144-150.
- Jeannel R. 1962. Les Silphidae, Leiodidae, Camiaridae et Catopidae de Paleantarctide occidentale. In Delamare CL, E Rapoport eds. Biologie de l'Amérique australe. Volumen I. Paris, France. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique. p. 481-525.
- Jerez V, C Muñoz-Escobar. 2015. Coleópteros y otros insectos

- asociados a turberas del páramo magallánico en la Región de Magallanes, Chile. Cap. 7. In Domínguez E, D Vega-Valdés eds. Funciones y servicios ecosistémicos de las turberas en Magallanes. Punta Arenas, Chile. Colección Libros INIA 33. p. 199-240.
- Jerez V, A Zúñiga-Reinoso, C Muñoz-Escobar y J Pizarro-Araya. 2015. Acciones y Avances sobre la conservación de insectos en Chile. *Gayana* 79(1): 1-3.
- Jiroux E. 2006. Le genre *Ceroglossus*. Vol. 14. Magellanes. Paris, France. Collection Systématique. 173 p.
- Jorquera-Jaramillo C, JM Alonso Vega, J Aburto, K Martínez-Tillería, MF León, MA Pérez, CF Gaymer, FA Squeo. 2012. Conservación de la biodiversidad en Chile: Nuevos desafíos y oportunidades en ecosistemas terrestres y marinos costeros. *Revista Chilena de Historia Natural* 85: 267-280.
- Jost L. 2006. Entropy and diversity. *Oikos* 113: 363-375.
- Koivula M, DJ Kotze, L Hiisivuori, H Rita. 2003. Pitfall trap efficiency: do trap size, collecting fluid and vegetation structure matter? *Entomologica Fennica* 14: 1-14.
- Martinic BM. 2011. Ethnogeographic guide to the Bernardo O'Higgins National Park. *Magallania* 39(2): 318-320.
- MMA (Ministerio del Medio Ambiente, CL). 2011. Ley N 19.300 sobre Bases Generales del Medio Ambiente. Ley Orgánica de Superintendencia del Medio Ambiente. Consultado 18 ene. 2017. Disponible en http://www.munistgo.info/medio_ambiente/biblioteca_digital/Ley19300_12_2011.pdf
- MMA (Ministerio del Medio Ambiente, CL). 2015. Proyecto de Ley que crea el Servicio de Biodiversidad y Áreas Protegidas. Consultado 18 ene. 2017. Disponible en <http://portal.mma.gob.cl/proyecto-de-ley-que-crea-el-servicio-de-biodiversidad-y-areas-protegidas/>
- MINSEGPRES (Ministerio Secretaria General de la Presidencia, CL). 2010. Ley 20.417. Crea el Ministerio, el Servicio de Evaluación ambiental y la Superintendencia del medio ambiente. Consultado 18 ene. 2107. Disponible en <http://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=1010459>
- Morrone JJ. 2006. Biogeographic areas and transition zones of Latin America and the Caribbean Islands, based on pan-biogeographic and cladistic analyses of the entomofauna. *Annual Review of Entomology* 51: 467-494.
- Morrone JJ, S Roig-Juñent, JV Crisci. 1994. South American Beetles. *National Geographic Research & Exploration* 10 (1): 104-115.
- Muñoz-Escobar C, S Roig-Juñent, R Carrara, V Jerez. 2015. Scale analysis of carabids richness (Coleoptera: Carabidae) in southern South America. *Gayana* 79(2): 167-172.
- Pauchard A, P Villarroel. 2002. Protected Areas in Chile: History, Current Status, and Challenges. *Natural Areas Journal* 22(4): 318-330.
- Pisano E. 1977. Fitogeografía de Fuego-Patagonia Chilena. I Comunidades vegetales entre las latitudes 52° y 56° S. *Anales del Instituto de la Patagonia* 8: 121-250.
- Roig-Juñent S. 2000. The subtribes and genera of the tribe Broscini (Coleoptera: Carabidae). Cladistic analysis, taxonomic treatment and biogeographical considerations. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 255: 1-90.
- Shannon C. 1948. A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal* 27: 379-423.
- Simpson EH. 1949. Measurement of diversity. *Nature* 163: 688.
- Somerfield PJ, KR Clarke. 2013. Inverse analysis in non-parametric multivariate analyses: distinguishing groups of associated species which covary coherently across samples. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 449: 261-273.
- Sørensen T. 1948. A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species and its application to analyses of the vegetation on Danish commons. *Biologiske Skrifter* 5: 1-34.
- Whittaker RH. 1952. A study of summer foliage insect communities in the Great Smoky Mountains. *Ecological Monographs* 22: 1-44.

Recibido: 27.05.15
Aceptado: 16.02.17

Effects of parent material, stand type and oak species on defoliation of coppice-originated oak (*Quercus* spp.) forests in Northern Turkish Thrace

Efectos del material parental del suelo y de la especie de encina en la defoliación de las copas en bosques nativos de encina (*Quercus* spp.) en el norte de Tracia, Turquía

Merick Kumbasli ^{a*}, Ender Makineci ^b, Akif Keten ^c, Vedat Beskardes ^d, Emrah Özdemir ^e

*Corresponding author: ^a Abant İzzet Baysal University, Faculty of Agriculture and Natural Sciences, Bolu, Turkey, merickumbasli@ibu.edu.tr

^b Istanbul University, Faculty of Forestry, Soil Science and Ecology Department, Istanbul, Turkey, emak@istanbul.edu.tr

^c Duzce University, Faculty of Forestry, Wildlife Ecology and Management, Duzce, Turkey, akifketen@duzce.edu.tr

^d Istanbul University, Faculty of Forestry, Forest Entomology and Protection Department, Istanbul, Turkey, vkardes@istanbul.edu.tr

^e Istanbul University, Faculty of Forestry, Forest Yield and Biometry Department, Istanbul, Turkey, eozdemir@istanbul.edu.tr

SUMMARY

Cases of significant defoliation in oak (*Quercus* spp.) forests have been reported in Turkey and throughout the world. Oak trees are important in Turkish forests and forestry and cover vast pieces of land in Thrace. In this study, in a quest to determine the general health condition of pure oak forests in Northern Turkish Thrace, the defoliation rate of tree crowns was evaluated for 8,769 trees in 336 sample plots corresponding to different geological parent materials, regions, oak species and stand types. The defoliation rates were designated and assessed based on the criteria of the European Union Forest Health Monitoring Program (UNECE-ICP Forests). The defoliation rate was, to a significant extent, affected by stand type, the geological parent material, and oak species. In general, 47 % of trees exhibited defoliation. The highest ratio of defoliation was found in Kırklareli Region, where water deficit was the highest, and the parent material was schist-calcschist. Medium diameter forests (MDF, mean dbh: 8–20 cm, ratio of defoliated trees = 65 %) among stand types, and sessile oaks (ratio of defoliated trees = 53 %) among oak species, had the highest defoliation rates. Achieved results demonstrated that the defoliation classes in observed oak stands have a significant relation with variables concerning stand types, oak species and geological parent materials.

Key words: coppice, crown transparency, forest health, ICP forest, oak decline.

RESUMEN

Se han notificado casos de defoliación significativa en bosques de encina (*Quercus* spp.) en Turquía y en el mundo. Las encinas son importantes en los bosques turcos y cubren grandes extensiones en Tracia. En este estudio, para determinar el estado de salud general de los bosques de encina puros, en Tracia turca septentrional, se evaluó la tasa de defoliación de las copas de los árboles en 336 parcelas correspondientes a diferentes materiales geológicos formadores del suelo, regiones geográficas, especies de encina y tipos de rodales. Las tasas de defoliación fueron evaluadas a base de los criterios del Programa de Vigilancia de la Salud Forestal de la Unión Europea (UNECE-ICP Forests). La tasa de defoliación fue, en gran medida, afectada por el tipo de rodal, el material de origen geológico y las especies de encina. En general, el 47 % de los árboles presentaba defoliación. La mayor proporción de defoliación se encontró en la región de Kırklareli, donde el déficit hídrico fue el más alto y el material parental fue calcáreo; en los bosques de diámetro medio (dap promedio: 8-20 cm, proporción de árboles defoliados = 65 %) entre los tipos de rodales, y en las encinas sésiles (proporción de árboles defoliados = 53 %) entre las especies de encina. Los resultados obtenidos demostraron que las clases de defoliación en los rodales de encina tienen relación significativa con variables relativas a tipos de rodales, especies de encinas y materiales parentales geológicos.

Palabras clave: copas, transparencia de copa, salud forestal, bosque ICP, decadencia de encinas.

INTRODUCTION

Forests have been facing serious threats during the 21st century despite some encouraging trends (Millar and Ste-

phenson 2015), furthermore, novel patterns proposed that forest decline is changing (Haavik *et al.* 2015). The decline of forest ecosystems is the subject of many scientific studies. Poorly understood biotic and abiotic factors are invol-

ved in forest decline, causing reduction in tree vigor and growth, degradation of roots and foliage, and ultimately accelerating tree mortality. The most important criterion for the identification and quantification of tree decline is the determination of the defoliation rate of tree crown (Sonesson 1999). These health problems are important in oak forests included in decline studies in the last decades (Fan *et al.* 2012). Complex biotic and abiotic interactions are believed to be responsible for oak decline (Sallé *et al.* 2014, Bendixsen *et al.* 2015, Haavik *et al.* 2015). Symptoms of significant deterioration in the health of oak trees are starting to be observed around the world and, lately, in Turkey. The death of oaks begins with a process of tree crown deterioration year after year, from the distal branches of the crown towards the trunk. Other symptoms of oak decline are: changes in leaf color, early leaf fall, and the development of epicormic shoots (Makineci *et al.* 2011).

Oaks (*Quercus* spp.) have wide distribution through Europe, Asia and North America, representing half of all forest cover (Bendixsen *et al.* 2015, Haavik *et al.* 2015, Tulik and Bijak 2016) and are ecologically, economically and culturally relevant (Sallé *et al.* 2014). Oaks are also economically important for the Turkish forestry due to the variety of oak species and the extent of the area they occupy. In Turkey, oaks cover 22.4 % of the total forest area, i.e. the second largest forest area after pines (Makineci *et al.* 2011).

The Northern Thrace Region of Turkey, where the present study was conducted, is an important area in which oaks are widely prevalent. According to the latest surveys, forest lands cover an area of 656,004 ha, which is 27.66 % of the entire land area, and oak forests make up 71.65 % of the forest lands in Thrace (Makineci *et al.* 2011). Coppice forests are man-made secondary forests (Nakajima and Ishida 2014) that were cut every 20 years, and usually regenerated themselves via sprouting. Almost all coppice forest management was abandoned mainly in 2006 in Turkey, with the idea of “converting coppices into high forests”, following the decision taken by the Ministry of Forestry and Water Affairs (MFWA) (Makineci *et al.* 2011). However, coppicing might have the advantage of a fully functional root system, which facilitates rapid resprouting, whereas the rotation of tree stands would likely lead to the degradation of root systems (Makineci *et al.* 2015).

The main objectives of the study are to determine the defoliation rates of oak trees, and to investigate relationships between defoliation rates-classes and other investigated parameters including different stand types, different oak species and different geological parent materials in various regions in the coppice-originated oak forests in the Northern Thrace Region of Turkey. Our hypotheses are that: (i) soils derived from different parent materials have different significant properties effecting oak health. In addition to soil, sampled stands on different geological parent materials at different regions have various climatic characteristics regarding precipitation, temperature and

water deficit. Less precipitation and more water deficit will possibly enhance defoliation; (ii) stands at different development stages have different degrees of resistance to defoliation, possibly young stands have the highest resistance and tolerance; (iii) different oak species have possibly different species-specific characteristics, therefore, some oak species will be affected by oak decline in more or less extension.

METHODS

Site description. Sample plots were selected among pure coppice-originated oak stands having different oak species composition on different geological parent materials in different regions and stand types in Northern Thrace-Turkey (figure 1). The stands are characterized as pure oak stands, with varying dominance of three major species: Sessile oak (*Quercus petraea* (Mattuschka) Liebl.), Hungarian oak (*Quercus frainetto* Ten.), and Turkey oak (*Quercus cerris* L.) (Makineci *et al.* 2015). Climate data (precipitation, temperature and water deficit) and geological parent materials in different regions are presented in table 1.

Sampling and sampling design. Field studies were conducted in the years 2008, 2009 and 2010, during the months of July and August, which are the most convenient months for tree crown observation as leaf maturing is generally complete. To be able to take samples of the soils that have developed from two different geological parent materials in each of the regions, the dominant parent materials were identified from geological maps (table 1).

Stand type was also included as a criterion for the separation of sample plots. The stand types were identified through the forest management plans using the classification categories of MFWA and field studies (Makineci *et al.* 2015). Stand types were classified as small-diameter forests (SDF, mean tree diameter at breast height (dbh): 0-8 cm), medium-diameter forests (MDF, dbh: 8-20 cm), large-diameter forests (LDF, dbh: 20-36 cm) and degraded forests (DF, canopy closure < 10 %). In the areas separated according to these criteria, six replicated 20 x 20 m sample plots were selected. In summary, determination of defoliation rates was conducted on seven different regions, two different dominant geological parent materials and four stand types with six replicated sample plots, totaling 336 (7x2x4x6 = 336) sample plots in which 8,769 trees were observed. The mean stand ages were determined as DF = 19, SDF = 14, MDF = 65, and LDF = 83 (Makineci *et al.* 2011, 2015).

Determination of defoliation rates. The defoliation rates of the trees on each sample plot were conducted in line with the tree crown condition observation and supervision method of the European Union (UNECE) ICP Forests (UNECE 2004). The defoliation ratio of each tree inside the sample plots was assessed.

The observation of tree crowns was conducted under clear and no cloudy day conditions by at least two people (obtaining a mean value after observation) with the assistance of binoculars. Crown defoliation rate was determi-

ned with an evaluation of the top 2/3 of the crown. This observation included the loss of leaves, transparency of the tree crown, and lost and dead branches. Estimations of defoliation rates were made by contrast with a fully-foliated

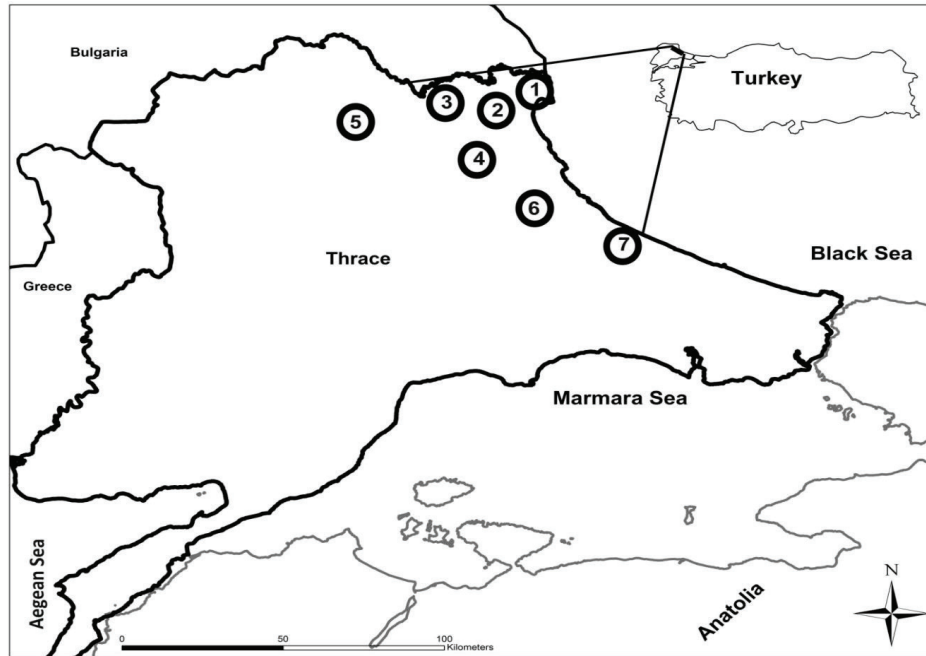


Figure 1. Sampling regions on coppice-originated oak forests, 1: Demirkoy1 (D1), 2: Demirkoy2 (D2), 3: Demirkoy3 (D3), 4: Demirkoy4 (D4), 5: Kırklareli, 6: Vize, 7: Catalca.

Regiones de muestreo en bosques nativos de encina originados. 1: Demirkoy1 (D1), 2: Demirkoy2 (D2), 3: Demirkoy3 (D3), 4: Demirkoy4 (D4), 5: Kırklareli, 6: Vize, 7: Catalca.

Table 1. Climate data and geological parent materials in different regions of research area (Makineci *et al.* 2015).

Datos climáticos y materiales parentales geológicos en diferentes regiones del área de investigación (Makineci *et al.* 2015).

Regions	Altitude (m)	Mean annual precipitation (mm)	Average annual temperature (°C)	Annual water deficit (mm)	Geological Parent materials
Demirkoy1 (D1)	682	1.053	11	84	Schist-calcschist Metagranitoid
Demirkoy2 (D2)	381	837	12	158	Granitoid Metagranitoid
Demirkoy3 (D3)	125	866	13	181	Pebble-sandstone-mudstone Volcanic sedimentary- shelf
Demirkoy4 (D4)	391	838	12	156	Granitoid Schist-calcschist
Kırklareli	493	550	14	274	Marble Schist-calcschist
Vize	322	720	12	244	Limestone Augen gneiss- metagranitoid
Çatalca	290	844	14	212	Quartzite-quartzschist Augen gneiss- metagranitoid

tree (reference tree). The tree defoliation classes according to defoliation rates were set apart as in ICP standard studies (UNECE 2004; table 2).

Statistical evaluation. To determine whether there was dependency or not between defoliation classes and the independent variables (stand types, oak tree species and geological parent materials) chi-square tests were applied at a 0.05 significance level. The Pearson chi-square value was used in the test because no more than 20 % of the cells have expected values (frequencies) inferior to 5 in cross-tabulations.

RESULTS

The defoliation classes in oak stands display a statistically significant dependence on variables concerning stand types, oak species and geological parent materials according to chi-square tests ($P < 0.001$). In the oak stands of Northern Thrace, defoliation rates are affected to a high extent by the type of stand, the composition of oak species and the geological parent material (table 3).

In a general evaluation, the ratio of healthy trees, i.e. those in which symptoms of defoliation were not observed, was 52.9 %. Approximately half of the 8,769 trees that were examined in the research area had different degrees of defoliation. When the distribution of the numbers of defoliated trees within each defoliation class was analyzed, the moderate defoliation class (25-60 %) included the highest percentage of trees (19.5 %), whereas the class of < 10 % defoliation rate included the lowest percentage (1.4 %). The total percentage of “severe defoliation” and “dead or dry trees” classes constituted 26 % of all defoliated trees, and approximately 12 % of all observed trees (table 4).

The ratios of defoliated trees that have been identified on different geological parent materials vary between 9.4 % (D3 region, pebble-sandstone-mudstone parent material) and 89.3 % (Kirkklareli Region, schist-calcschist parent material). Among regions, D3 had the lowest and Kirkklareli the highest defoliation rates (table 5).

Table 2. Defoliation classes of trees (UNECE 2004).
 Clases de defoliación de árboles (UNECE 2004).

Defoliation classes	Description	Defoliation rates (%)
0	No defoliation	0-10
1	Slight defoliation	11-25
2	Moderate defoliation	26-60
3	Severe defoliation	61-99
4	Dead/dry trees	100

The number of defoliated trees in different stand types varied between 262 (DF) and 1,946 (MDF). The evaluation of the number of trees in different defoliation classes over different stand types shows that 65.5 % of trees in both MDF and LDF stand types exhibit some degree of defoliation. Among stand types, the lowest ratio (total number of defoliated trees to total number of trees) corresponded to the SDF stand type (23.0 %; table 6).

Among the oak species, the numbers of defoliated trees varied between 331 (*Quercus cerris*) and 3158 (*Quercus petraea*; table 7). The most defoliated species was sessile oak (*Quercus petraea*); over half of sessile oak trees (54 %) were defoliated and almost 10 % of them were dead. The percentage of defoliated trees was intermediate in *Quercus frainetto* (36 %) and the lowest in *Quercus cerris* (28 %; table 7).

DISCUSSION

Oak deaths are striking in regions of North America and Europe, parallel to the findings in the current research. The important effects of abiotic factors on these deaths are emphasized by some research such as: on red oak species in Arkansas and Missouri-USA (Fan *et al.* 2012), on *Quercus rubra* L. in Arkansas-USA (Haavik *et al.* 2011), on mixed oak forests in Central Europe (Kuster *et al.* 2013) and on *Quercus petraea* and *Quercus robur* L. in North-western Germany (Thomas *et al.* 2002).

The highest degree of defoliation found here for oak trees corresponded to the Kirkklareli Region. The Kirkklareli Region has the highest annual water deficit among the regions included in this research (274 mm). In addition, soils that derived from schist-calcschist parent materials, which are prevalent at the Kirkklareli Region, are clay texture, poor in water, stagnancy of water (pseudogley soil), and hence, low water and gas permeability. In schist-calcschist

Table 3. Chi-Square test statistics between defoliation classes and variables.

Estadísticas de Chi-Cuadrado entre las clases de defoliación y las variables.

Variables	Defoliation classes		
	df (degrees of freedom)*	Pearson Chi-Square	P
Stand types	12	266.748	0.000
Oak species	8	116.586	0.000
Geological parent materials	52	1,163.545	0.000

*Degree of freedom (df)= (number of defoliation classes - 1) x the number of investigated variables.

Table 4. Distribution of trees in different defoliation classes.
 Distribución de árboles en diferentes clases de defoliación.

Type of tree	Defoliation classes	Defoliation rates (%)	Number of trees	(%)
Healthy tree		No defoliation	4,642	52.9
Defoliated tree	0	0-10	112	1.4
	1	11-25	1,221	13.9
	2	26-60	1,714	19.5
	3	61-99	749	8.5
	4	100	331	3.8
Total			8,769	100.0

Table 5. Distribution of defoliated trees corresponding to different parent materials.
 Distribución de árboles defoliados correspondientes a diferentes materiales de origen.

Region	Parent material	Number of defoliated trees					Total number of defoliated trees and ratio to total number of trees	Number of healthy trees	Total number of trees
		Defoliation classes and rates (%)							
		0 (0-10 %)	1 (11-25 %)	2 (26-60 %)	3 (61-99 %)	4 (100 %)			
Demirkoy1 (D1)	schist-calcschist	6	103	131	39	47	326 (70.9 %)	134	460
	metagranitoid	21	156	153	49	42	421 (72.3 %)	161	582
Demirkoy2 (D2)	granitoid	17	2	16	33	34	102 (13.7 %)	641	743
	metagranitoid	13	5	29	33	27	107 (15.5 %)	581	688
Demirkoy3 (D3)	pebble-sandstone-mudstone	10	0	13	21	13	57 (9.4 %)	551	608
	volcanic sedimentary- shelf	3	5	33	34	25	100 (12.4 %)	704	804
Demirkoy4 (D4)	granitoid	14	42	51	69	15	191 (28.8 %)	472	663
	schist-calcschist	3	33	47	89	12	184 (38.9 %)	288	472
Kırklareli	schist-calcschist	5	107	257	28	12	409 (89.3 %)	49	458
	marble	18	117	188	23	3	349 (72.1 %)	135	484
	limestone	0	80	246	82	27	435 (83.2 %)	88	523
Vize	augen gneiss-metagranitoid	1	102	225	111	32	471 (56.3 %)	366	837
Çatalca	quartzite-quartzschist	0	239	140	73	34	486 (72.6 %)	183	669
	augen gneiss-metagranitoid	1	230	185	65	8	489 (62.8 %)	289	778
Total		112	1,221	1,714	749	331	4,127 (47.1 %)	4,642	8,769

Table 6. Distribution of defoliated trees in different stand types.

Distribución de árboles defoliados en diferentes tipos de rodales.

Stand types	Number of defoliated trees						Number of healthy trees	Total number of trees
	Defoliation classes and rates (%)					Total number of defoliated trees and ratio to total number of trees		
	0 (0-10 %)	1 (11-25 %)	2 (26-60 %)	3 (61-99 %)	4 (100 %)			
DF	19	90	78	62	13	262 (36.6 %)	454	716
SDF	46	260	224	131	101	762 (23.0 %)	2,555	3,317
MDF	26	451	879	411	179	1,946 (65.5 %)	1,024	2,970
LDF	21	420	533	145	38	1,157 (65.5 %)	609	1,766
Total	112	1,221	1,714	749	331	4,127 (47.1 %)	4,642	8,769

(SDF: small-diameter forests, mean dbh = 0–8 cm), (MDF: medium-diameter forests, dbh: 8–20 cm), (LDF: large-diameter forests, dbh=20–36 cm) and (DF: degraded forests, canopy closure < 10%).

Table 7. Distribution of defoliated trees in different oak species.

Distribución de árboles defoliados en diferentes especies de encina.

Oak species	Number of healthy trees	Number of defoliated trees					Total number of defoliated trees and ratio to total number of trees	Total number of trees
		Defoliation classes and rates (%)						
		0 (0-10 %)	1 (11-25 %)	2 (26-60 %)	3 (61-99 %)	4 (100 %)		
<i>Quercus frainetto</i>	1,110	30	108	336	130	34	638 (36.5 %)	1,748
<i>Quercus cerris</i>	839	10	110	166	31	14	331 (28.3 %)	1,170
<i>Quercus petraea</i>	2,693	72	1,003	1,212	588	283	3,158 (54.0 %)	5,851
Total	4,642	112	1,221	1,714	749	331	4,127 (47.1 %)	8,769

that emerged through the metamorphosis of these parent materials as a result of high temperature and pressure, the formation of soil is slow and soils are generally shallow (Kantarci 2000). The combination of these negative factors can contribute to the high level of defoliation in this region and parent material. On the other hand, the oaks at the region of D3, emerging on parent materials of pebble-sandstone-mudstone and volcanic sedimentary-shelf, exhibited the lowest levels of defoliation. In this region, the intermediate level of water deficit may have been compensated by a positive effect of the parent materials that have formed the soil. There are many studies that draw attention to the different properties of parent materials and soils regarding oak deaths; some examples are: fragipan soils (Rampelberg *et al.* 1997), decrease in the gas permeability of the soil (Gaertig *et al.* 2002), high stagnant water (pseudogley soils) and soil compaction (Kantarci *et al.* 2005).

The low extent of defoliation registered for younger stands (SDF) can be explained by the fact that these stands are supported by an extensive root system. However, the fast increase in the biomass of MDF stands may cause the defoliation because the available old root systems may not support this fast growing biomass. In LDF stands, defoliation reached a lower level compared with those at MDF. This could be explained through the effect of selective forces: only those individuals with higher endurance would have reached LDF. Sonesson (1999), in contrast, remarked that oak deaths in Sweden increase with stand age, whereas Drobyshev *et al.* (2007) reached the conclusion that there is no direct relationship between defoliation rate and stand stage in Swedish forests. Haavik *et al.* (2011) compared the growth of healthy and declining oak trees by means of dendrochronological research, and concluded that healthy oak trees in all age classes grew at slower rates than do de-

clining and/or recently dead trees. This interaction between growth rate and health was a common theme in other cases of oak decline. These authors discussed the roles of three possible factors on this interaction: carbon allocation, tree age, and microsite conditions (Haavik *et al.* 2011).

Studies investigating oak deaths have been conducted in other regions. Brasier (2003) draws attention to deaths in *Q. ilex* L. and *Q. suber* L. in Spain and Portugal and in *Q. robur* in Central and Middle Europe. Camy *et al.* (2002) state that *Q. robur* is the oak species that is primarily affected by deaths in European forests, and argues that the reason for this is that *Q. robur* demands soils rich in nutrients; although, it is planted beyond its optimum distribution area. Fan *et al.* (2012) described that, among oaks, the red oak group species (*Quercus* Section *Lobatae*), mainly including scarlet oak (*Q. coccinea* Muenchh.), black oak (*Q. velutina* Lam.), northern red oak (*Q. rubra*), blackjack oak (*Q. marilandica* Muenchh.) and southern red oak (*Q. falcata* Michx.), have suffered moderate to severe "oak decline syndrome" in the upland oak forests. Similarly, Shiffley *et al.* (2006) carried out with the purpose of determining risk factors in oak deaths, and they have indicated that red oaks die quicker and are more prone to diseases than white oaks; red oaks are six times more frequently affected by diseases and death than white oaks. Contrary to the findings of Shiffley *et al.* (2006), in the current research area, the Turkey oak, included among red oaks, is the species that has the lowest defoliation rate. In the same research area, Kumbasli *et al.* (2011) observed that *Quercus cerris* was strong to hemiparasitic agents (mistletoe) due to special structure (thick bark) and trunk secretes (a brown liquid).

The forests of the Northern Turkish Thrace have undergone excessive damage in vast areas; about 88.5 % of the broad-leaved high forests that have turned into degraded coppice and old trees are rarely encountered. The fact that oak trees are regarded as more valuable for various purposes has meant even more important damage on oak stands (Eraslan and Evcimen 1967). These forests have been transformed into coppice as a result of years of irregular and continuous cutting, and their integrity has been shattered through excessive grazing and nonprocedural exploitation (Makineci *et al.* 2011).

CONCLUSIONS

In conclusion, the results obtained on defoliation rates demonstrated that the oak forests in the research area have a significant health problem: defoliation is observed approximately in half of the trees. The observations demonstrated that our hypotheses were not failed; the importance of different parent materials on different sites are most closely linked to defoliation. Highest water deficiency of Kirklareli site shows clear drought effects and main soil properties of schist-calcschist parent material can give more explanatory results on defoliation of oak. Also,

young oak stands can cope with oak decline and *Quercus cerris* has more resistance proving species-specific tolerance. Further studies accounting for biotic and abiotic factors additional to those investigated here may provide more information on the health condition of oak forests in Northern Turkish Thrace.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank for comments and suggestions from anonymous reviewers and the editor whose remarks and indications significantly improved the original manuscript. This work was supported by TUBITAK (The Scientific and Technological Research Council of Turkey), Project number: TOVAG-107O750. We thank to Istanbul Regional Forestry Directorate for their assistance and support in field work.

REFERENCES

- Bendixsen DP, SW Hallgren, AE Frazier. 2015. Stress factors associated with forest decline in xeric oak forests of south-central United States. *Forest Ecology and Management* 347: 40-48.
- Brasier C. 2003. Sudden oak death: *Phytophthora ramorum* exhibits transatlantic differences. *Mycological Research* 107(3): 258-259.
- Camy C, C Delatour, B Marçais. 2002. Relationships between soil factors, *Quercus robur* health, *Collybia fusipes* root infection and *Phytophthora* presence. *Annals of Forest Science* 60: 419-426.
- Drobyshev I, S Anderson, K Sonesson. 2007. Crown condition dynamics of oak in southern Sweden 1988-1999. *Environmental Monitoring and Assessment* 134: 199-210. DOI 10.1007/s10661-007-9610-9
- Eraslan İ, BS Evcimen. 1967. Trakya'da meşe ormanlarının hacim ve hasılatı hakkında tamamlayıcı araştırmalar. *Journal of Faculty of Forestry, Istanbul University, Seri A*, 17(1): 31-56 (In Turkish).
- Fan Z, X Fan, MK Crosby, WK Moser, H He, MA Spetich, SR Shiffley. 2012. Spatio-temporal trends of oak decline and mortality under periodic regional drought in the Ozark Highlands of Arkansas and Missouri. *Forests* 3(3): 614-631. DOI:10.3390/f3030614
- Gaertig T, H Schack-Kirchner, EE Hildebrand, K Wilpert. 2002. The impact of soil aeration on oak decline in Southwestern Germany. *Forest Ecology and Management* 159: 15-25.
- Haavik LJ, DW Stahle, FM Stephen. 2011. Temporal aspects of *Quercus rubra* decline and relationship to climate in the Ozark and Ouachita Mountains, Arkansas. *Canadian Journal of Forest Research* 41: 773-781.
- Haavik LJ, SA Billings, JM Guldin, FM Stephen. 2015. Emergent insects, pathogens and drought shape changing patterns in oak decline in North America and Europe. *Forest Ecology and Management* 354: 190-205.
- Kantarci MD. 2000. Toprak İlmi. ISBN 975-404-588-7. Istanbul, Turkey. 420 p. (In Turkish).
- Kantarci MD, M Zengin, K Uluer. 2005. Trakya'da meşe ormanlarında meydana gelen kurumaların sebeplerinin

- belirlenmesi (Determination of the causes of oak forests' decline in Thrace). Ankara, Turkey. Turkish Ministry of Environment and Forest. 5 p. (In Turkish).
- Kumbasli M, A Ketten, V Beskardes, E Makineci, E Özdemir, E Yılmaz, H Zengin, O Sevgi, HC Yılmaz, S Caliskan. 2011. Hosts and distribution of yellow mistletoe (*Loranthus europaeus* Jacq. (Loranthaceae)) on Northern Strandjas Oak Forests-Turkey. *Scientific Research and Essays* 6(14): 2970-2975. DOI: 10.5897/SRE10.1178
- Kuster TM, M Arend, P Bleuler, MS Günthardt-Goerg, R Schulin. 2013. Water regime and growth of young oak stands subjected to air-warming and drought on two different forest soils in a model ecosystem experiment. *Plant Biology* 15 (Suppl 1): 138-147. DOI:10.1111/j.1438-8677.2011.00552.x
- Makineci E, E Yılmaz, E Özdemir, M Kumbaşlı, O Sevgi, A Ketten, V Beşkardeş, H Zengin, H Yılmaz, S Çalışkan. 2011. Kuzey Trakya koruya tahvil meşe ekosistemlerinde sağlık durumu, biyokütle, karbon depolama ve faunistik özelliklerin belirlenmesi (Determination of health condition, biomass, carbon sequestration and faunistic characteristics on conversion of coppice oak ecosystems in Northern Thrace). Project Report, submitted to TÜBİTAK, project number: TOVAG 107O750. Ankara, Turkey. Scientific and Technological Research Council of Turkey. 260 p. (In Turkish).
- Makineci E, E Ozdemir, S Caliskan, E Yılmaz, M Kumbasli, A Ketten, V Beskardes, H Zengin, H Yılmaz. 2015. Ecosystem carbon pools of coppice-originated oak forests at different development stages. *European Journal of Forest Research* 134(2): 319-333. DOI 10.1007/s10342-014-0854-y
- Millar CI, NL Stephenson. 2015. Temperate forest health in an era of emerging megadisturbance. *Science* 349: 823-826. DOI: 10.1126/science.aaa9933
- Nakajima H, M Ishida. 2014. Decline of *Quercus crispula* in abandoned coppice forests caused by secondary succession and Japanese oak wilt disease: Stand dynamics over twenty years. *Forest Ecology and Management* 334: 18-27.
- Rampelberg S, B VanDerA, J Deckers. 1997. Soil morphology and soil water regime of loess soils under oak in the Meerdaal forest Belgium. *Agricultural and Forest Meteorology* 84: 51-59.
- Sallé A, LM Nageleisen, F Lieutier. 2014. Bark and wood boring insects involved in oak declines in Europe: Current knowledge and future prospects in a context of climate change. *Forest Ecology and Management* 328: 79-93.
- Shiffley SR, Z Fan, JM Kabrick, RG Jensen. 2006. Oak mortality risk factors and mortality estimation. *Forest Ecology and Management* 229: 16-26.
- Sonesson K. 1999. Oak decline in Southern Sweden. *Scandinavian Journal of Forest Research* 14(4): 368-375.
- Thomas FM, R Blank, G Hartmann. 2002. Abiotic and biotic factors and their interactions as causes of oak decline in Central Europe. *Forest Pathology* 32:277-307.
- Tulik M, S Bijak. 2016. Are climatic factors responsible for the process of oak decline in Poland? *Dendrochronologia* 38: 18-25.
- UNECE (United Nations Economic Commission for Europe, CH). 2004. Manual on methodologies and criteria for harmonized sampling, assessments, monitoring and analysis of effects of air pollution on forests. Geneva, Switzerland. Programme Co-ordinating Center, UNECE.

Recibido: 03.11.16
Aceptado: 19.02.17

Richness of plants, birds and mammals under the canopy of *Ramorinoa girolae*, an endemic and vulnerable desert tree species

Riqueza de plantas, aves y mamíferos bajo el dosel de *Ramorinoa girolae*, una especie arbórea endémica y vulnerable del desierto

Valeria E Campos ^{a,b,*}, Viviana Fernández Maldonado ^{a,b,*}, Patricia Balmaceda ^a, Stella Giannoni ^{a,b,c}

^a Interacciones Biológicas del Desierto (INTERBIODES), Av. I. de la Roza 590 (O), J5402DCS Rivadavia, San Juan, Argentina.

*Corresponding author: ^b CIGEOBIO, UNSJ CONICET, Universidad Nacional de San Juan- CUIM, Av. I. de la Roza 590 (O), J5402DCS Rivadavia, San Juan, Argentina, phone 0054-0264-4260353 int. 402, vcampos@unsj-cuim.edu.ar, vivifernandezm@unsj-cuim.edu.ar

^c IMCN, FCEFN, Universidad Nacional de San Juan- España 400 (N), 5400 Capital, San Juan, Argentina.

SUMMARY

Dominant woody vegetation in arid ecosystems supports different species of plants and animals largely dependent on the existence of these habitats for their survival. The chica (*Ramorinoa girolae*) is a woody leguminous tree endemic to central-western Argentina and categorized as vulnerable. We evaluated 1) richness of plants, birds and mammals associated with the habitat under its canopy, 2) whether richness is related to the morphological attributes and to the features of the habitat under its canopy, and 3) behavior displayed by birds and mammals. We recorded presence/absence of plants under the canopy of 19 trees in Ischigualasto Provincial Park. Moreover, we recorded abundance of birds and mammals and signs of mammal activity using camera traps. Our camera traps captured more than 80, 90 and 50 % of plants, birds and mammals, respectively. The coverage estimate was 83 % for birds and 89 % for mammals. Bird species richness decreased by -43 %, for every unit increase in number of stems; although richness of plants and mammals was not explained by any variable considered. Birds and mammal species invested more time in foraging than they did in moving or resting under canopies. The abundance of South American gray fox (*Lycalopex griseus*) increased 9 % with abundance of birds, though not with abundance of mammals. This is the first study to assess the role of *R. girolae* in the provision of biodiversity-related ecosystem services; a relevant aspect because their conservation can enhance biodiversity in arid ecosystems.

Key words: biological interactions, arid ecosystem, species richness, habitat, *Ramorinoa girolae*.

RESUMEN

Los bosques de ecosistemas áridos mantienen plantas y animales que dependen de la existencia de estos hábitats para su supervivencia. La chica (*Ramorinoa girolae*) es una leguminosa leñosa endémica del centro-oeste de Argentina y categorizada como vulnerable. Se evaluó 1) riqueza de plantas, aves y mamíferos asociados al hábitat bajo su dosel, 2) si la riqueza está relacionada con atributos morfológicos y con características del hábitat bajo su dosel, y 3) el comportamiento desplegado por aves y mamíferos. Se registró la presencia/ausencia de especies vegetales bajo el dosel de 19 árboles en el Parque Provincial Ischigualasto. Se observó la abundancia de aves y mamíferos usando trampas cámara, y signos de actividad de mamíferos. Se capturó más del 80, 90 y 50 % de las especies de plantas, aves y mamíferos, respectivamente. La cobertura estimada fue 83 % para aves y 89 % para mamíferos. La riqueza de aves disminuyó en -43 % por cada incremento en el número de ramas, pero la riqueza de plantas y mamíferos no fue explicada por ninguna variable. Tanto aves como mamíferos invirtieron más tiempo en forrajear que en desplazarse o descansar bajo el dosel. La abundancia del zorro gris sudamericano (*Lycalopex griseus*) aumentó 9 % cuando aumentó la abundancia de aves pero no la de mamíferos. Este es el primer estudio que evalúa el rol de *R. girolae* en la prestación de servicios relacionados con la biodiversidad; un aspecto relevante ya que su conservación puede mejorar la biodiversidad en los ecosistemas áridos.

Palabras clave: interacciones biológicas, ecosistema árido, riqueza de especies, hábitat, *Ramorinoa girolae*.

INTRODUCTION

An arid environment has extreme weather conditions (e.g. high temperature and radiation), poorly developed soils, scarce food and water resources, heterogeneously available both in space and time. These harsh environ-

mental conditions determine the presence of specifically adapted biodiversity, with a high number of endemic species and of species of conservation concern (Costa 1995). Owing to these causes, arid environments and their services have high ecological value (MEA 2005). The dominant woody plants inhabiting arid ecosystems are likely to cau-

se changes in microclimate and soil properties under their canopies, generating gradients that increase spatial heterogeneity and provide microhabitats for high diversity of plants (Rossi and Villagra 2003) and associated animals.

Globally, ecosystems, habitats and species continue to disappear, and lost with them are ecosystem services. Biodiversity is an important factor in ecosystem functioning and in the provision of many ecosystem goods and services. Because woodlands are vitally important as habitats for a major part of the world's biodiversity, their ongoing loss, fragmentation and degradation cause much concern about the resulting decline in biodiversity, which is likely to have far-reaching consequences (see review Brockerhoff *et al.* 2013). Included among the latter are biomass loss, global warming, changes in hydrological regimes, reduced water holding and infiltration capacity, increased soil erosion and sedimentation, landscape fragmentation, increased wildlife migration and poaching (Thompson 2011).

Biodiversity is the foundation of ecosystem services to which human well-being is intimately linked (MEA 2005), where biological interactions are nodes crucial to communities and key factors in ecosystem functioning (García *et al.* 2011). Chica (*Ramorinoa girolae* Speg.) is a plant of special interest to conservation given its provision of biodiversity-related ecosystem services in arid ecosystems. *Ramorinoa girolae* is a woody leguminous tree (Fabaceae), leafless though with green stems, whose individuals are on average 4 m tall (Hadad *et al.* 2014). It is a species endemic to central-western Argentina and its morphological features enable it to maintain different biological interactions. Its fruits are woody and very hard, and contain between one and five seeds of high nutritive value (21.2 % proteins and 29.3 % lipids, Zapata *et al.* 2010). Its seeds are consumed by the viscacha rat (*Octomys mimax* Thomas), a rock-dwelling rodent endemic to western Argentina that pierces the fruit to extract the seeds (Campos 2012). This rodent hoards the harvested fruits in fairly large quantities over time, probably depending on the sporadic and massive fruiting of the *R. girolae* (Campos 2012). Recent studies show that one species of moth (*Anypsipyla univitella* Dyar) is the only pre-dispersal seed predator (Papú 2014). Associated with this moth there is a parasitic wasp (*Goniozus* sp. Förster) that attacks immature stages of Coleoptera and Lepidoptera (Papú 2014). Moreover, spiders use fruit cavities left by larvae of *A. univitella* as shelters to lay their eggs, while ants (*Camponotus punctulatus* Mayr) feed on remains of seeds or fruits (Papú 2014). Furthermore, *R. girolae* provides other ecological services because its decumbent stems and radicular system allow stabilizing watersheds and sandstones of the mountains where it grows, thus decreasing soil erosion by water and wind. In some individuals, their buried stems are able to produce new individuals by agamic reproduction. Locally, it is considered an appreciated forest resource owing to its fruits and timber (one of the hardest woods of the

country). Owing to its restricted geographic distribution, slow growth and low fire resistance, this species was categorized as vulnerable. Currently, it is being assessed for inclusion in the "endangered" category according to the International Union for Conservation of Nature (IUCN 2001, Hadad *et al.* 2014).

Since desert woody plants are likely to cause changes in microclimate and soil properties, generating gradients that increase spatial heterogeneity and provide microhabitats and food resources, we expect that the morphological traits of *R. girolae* will explain the richness of plants, birds and mammals associated with the habitat beneath their canopies. In this work, we evaluate 1) richness of plants, birds and mammals under *R. girolae* canopy, 2) whether richness of plants, birds and mammals is related to the morphological attributes of *R. girolae* and to the features of the habitat under its canopy, and 3) behavior displayed by birds and mammals under the canopy of *R. girolae*.

METHODS

Study area. The study was conducted in Ischigualasto Provincial Park, San Juan Province, Argentina (figure 1). The Park has an area of 62,916 ha and lies on a hyper-arid sector of the Monte Desert, which corresponds to the center of the Monte de Sierras y Bolsones. Its average annual precipitation is 100 mm (Labraga and Villalba 2009). The area is characterized by a wide temperature range throughout the year; mean annual temperature is 22 °C, with a maximum of 45 °C and a minimum of -10 °C. The study area is dominated by rocky outcrops of sandstones with varying salt content; moreover, there are areas of fine-textured substrata (sands and clays) where water accumulates after a rainfall event (Márquez *et al.* 2005). The vegetation is xerophytic due to the low rainfall and high temperatures, and its cover is heterogeneous, ranging from 5 to 80 % (Márquez *et al.* 2005).

Field survey. We selected 19 individuals of *R. girolae* (figure 2) of a minimum height of 3 m, separated from each other by at least 100 m, at two sites occupied by the species (Campos *et al.* 2016) and topographically accessible in Ischigualasto Provincial Park (Site 1: N = 10 and Site 2: N = 9, figure 1). To evaluate plant richness, we recorded presence/absence of plant species all over the area beneath the canopy of *R. girolae*. The sampled area under each *R. girolae* changed according to size of each individual tree. To evaluate richness of birds and mammals, we placed camera traps (Primos Truth Cam Ultra 46 Camera) under the canopy of each *R. girolae*. These cameras are equipped with infrared (PIR) motion sensor, which detects motion and the difference between body heat and outdoor temperature. It has a detection angle of 43 degrees, an infrared flash range of 14 m and a detection range of 15 m. As daylight transitions back-and-forth between light and dark, the camera changes settings to optimize the picture.

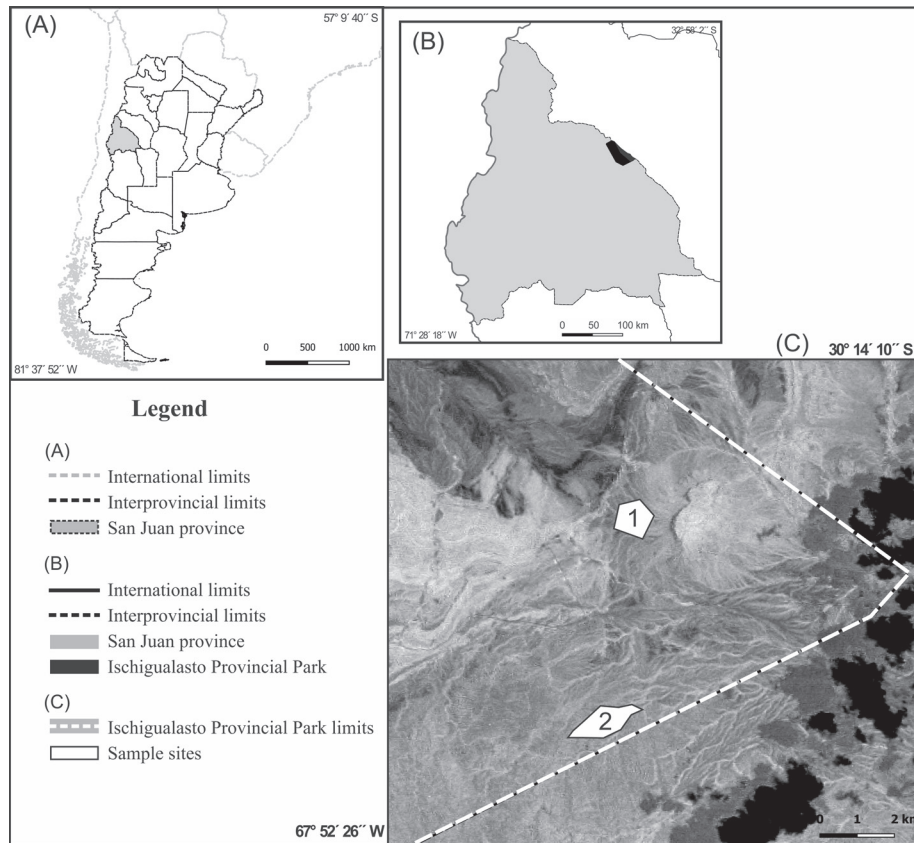


Figure 1. (A) San Juan province in South America, (B) Ischigualasto Provincial Park in San Juan province and (C) Sample sites in Ischigualasto Provincial Park.

(A) Provincia de San Juan en Sudamérica, (B) Parque Provincial Ischigualasto en la provincia de San Juan y (C) sitios de muestreo (1 y 2) en el Parque Provincial Ischigualasto.



Figure 2. Individual of *R. girolae* in the Ischigualasto Provincial Park.

Individuo de *Ramorinoa girolae* en el Parque Provincial Ischigualasto.

Sampling was performed over a 17-day period in the wet season (March 2013), hence the sampling effort was 7,752 hours per days and per camera traps. We sampled during the last month of the wet season because plant species grow in response to rains and in this particular year the heaviest rains were in February. Moreover, this is the breeding season of birds in this area. Each camera trap was fastened to the thickest stem at 0.50 m height, therefore it could cover about 25 % of the total canopy area. We recorded animal behavior on 30-second duration videos (640 x 480 resolution) and considered different individuals when videos of the same species recorded by the same camera trap were separated by 30 min. Moreover, we recorded signs of mammals (e.g. feces, footprints, caches of plant material) before placing camera traps, to determine presence/absence of their species under and 2 m around the canopy of *R. girolae*. To identify species of plants, birds and mammals, we used different guides and consulted with specialists.

For the second objective, we recorded morphological attributes of *R. girolae*: 1) number of stems arising from the main trunk, 2) maximum height (m), 3) canopy area (m²), and 4) features of the habitat under its canopy: 4.1) cover of shrubs (percentage) and 4.2) cover of herbs (percentage). The cover of shrubs and herbs was estimated visually on the area under the canopy, which changed according to size of each individual. For the last objective, we considered proportions (duration of behavior in seconds/video length in seconds) of different behaviors (Martin and Bateson 1993). Behaviors were defined as follows: 1) foraging, when animals were with head down; 2) resting, when animals were lying or sitting; 3) moving, when animals were walking with their heads up.

Statistical analyses. For the first objective, we used EstimateS (version 9.1) software (Colwell 2011) to obtain estimates of species richness. Because for mammals we had data from the camera traps and records of signs, we considered only occurrence of species rather than abundance of species. The estimators used were Chao 1, Chao 2, Jackknife 1 and Jackknife 2, according to data type (occurrence for plants and mammals, and abundance for birds). As a measure of sample completeness for plants, birds and mammals, we estimated the sample coverage and coverage-based rarefaction and extrapolation curves with 95 % confidence intervals.

For the second objective, we adjusted models with different response variables: 1) plant richness, 2) bird richness, and 3) mammal richness. We included morphological attributes of *R. girolae* as a fixed variable for all models. For birds and mammal richness, we added features of the habitat under its canopy. Data were not transformed or standardized. We employed generalized linear models (GLMMs) with Poisson error distribution (Crawley 2007). Because models of bird richness exhibited overdispersion ($\hat{c} = 3.98$), we adjusted a negative binomial distribution. In all models, sites were included as a random effect. For

identifying multicollinearity, we performed a correlation analysis. We did not exclude variables because the *r* coefficients were $< |0.7|$.

For the last objective, we assessed the proportions (duration of behavior in seconds/video length in seconds) of bird and mammal behaviors occurring more than twice. We fitted generalized linear models (GLMs) with Binomial error distribution (Crawley 2007). Because some fitted models exhibited overdispersion ($\hat{c} > 10$), we fitted a quasibinomial model. The different behaviors were included as fixed variables.

We evaluate how well the model fits the data with diagnostic plots. For each model, a backward elimination procedure was used to remove insignificant variables without losing important information. All statistical analyses were carried out using R Core Team (2016).

RESULTS

The sampling of plants under the canopy of *R. girolae* yielded a list of 27 species (appendix 1). Species richness was estimated to be 28, 31 and 30 by the Chao 2, Jackknife 1 and Jackknife 2 estimators, respectively. The observed number of species represented between 87 and 96 % of the expected value. We recorded 11 species of birds (appendix 2). The estimated bird species richness was 12 (Chao 1 estimator). The observed number of species represented 92 % of the expected value. Moreover, we recorded 12 mammal species (appendix 2). The estimated mammal species richness was 17, 18 and 21 (Chao 2, Jackknife 1 and Jackknife 2 estimators, respectively). The observed number of species represented between 57 and 70 % of the expected value. The sample coverage was extended in the coverage-based rarefaction/extrapolation curve from 98, 94 and 92 to 100 % for plant, bird and mammal species, respectively (figures 3A, 3B and 3C). We recorded 11 species of birds from among 63 individuals. The number of singletons was 11, and the number of doubletons was four, yielding a coverage estimate of 83 % (SE = 0.31 %). Considering only the data from camera traps, we recorded eight species of mammals from among 65 individuals. The number of singletons was seven, and the number of doubletons was three, yielding a coverage estimate of 89 % (SE = 0.34 %). The coverage deficit for birds and mammal species was 17 and 11 %, respectively. That is 17 and 11 % of the birds and mammal individuals in the community belonged to species that were not detected by the sample. The camera traps captured two species never before recorded in Ischigualasto Provincial Park: brushland tinamou (*Nothoprocta cinerascens* Burmeister) and geoffroy's cat (*Leopardus geoffroyi* d'Orbigny et Gervais).

Species richness of plants and mammals was not explained by any of the variables included in the model (table 1). The best model explaining bird richness included number of stems arising from the main trunk with a significant effect and cover of shrubs with no significant effect

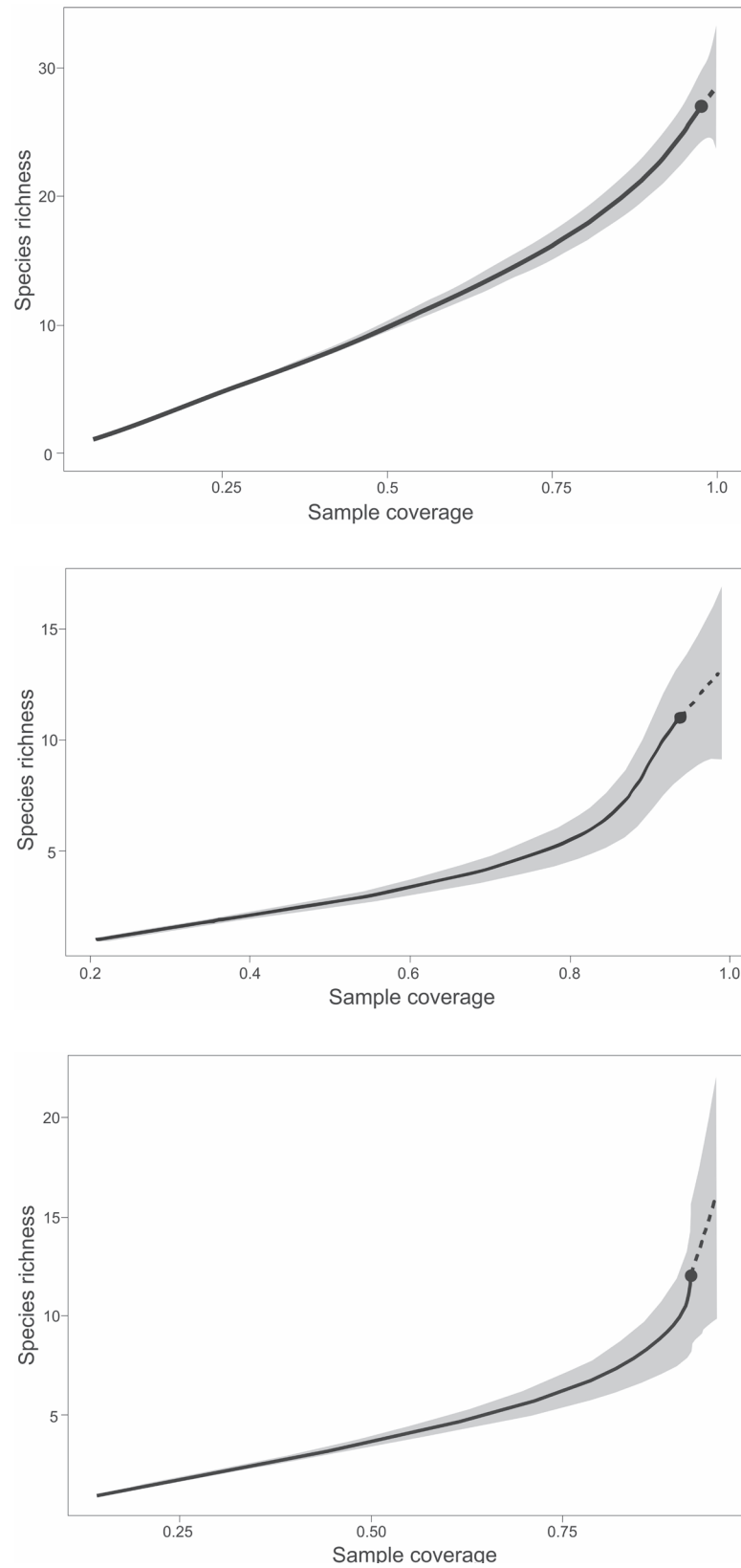


Figure 3. Coverage-based rarefaction/extrapolation curve (solid and dashed, respectively), with 95 % confidence intervals (shaded areas, based on a bootstrap method with 200 replications), for (A) plant species, (B) bird species and (C) mammal species.

Curva de rarefacción/extrapolación basada en la cobertura (sólida y discontinua, respectivamente), con intervalos de confianza del 95 % (áreas sombreadas, basado en un método bootstrap con 200 repeticiones), para las especies de (A) plantas, (B) aves y (C) mamíferos.

(table 2). Based on this model, the odds for bird richness decreased by $\exp(-0.43) = 0.65$, or -43 %, for every unit increase in number of stems.

The native mammal species --Patagonian mara (*Dolichotis patagonum* Zimmermann), southern viscacha (*Lagidium viscacia* Molina) and guanaco (*Lama guanicoe* Müller)-- and the exotic mammal species --European hare (*Lepus europaeus* Pallas), feral donkey (*Equus asinus* Linnaeus) and cattle (*Bos taurus* Linnaeus)-- were only recorded from signs (appendix 1). Considering only the species of birds and mammals recorded by camera traps, four out of a total of 11 bird species and three out of a total of six mammal species occurred more than twice, thus they were considered for comparison of proportions of behaviors. We compared behaviors displayed by bird species (foraging and moving): spot-winged pigeon (*Patagioenas maculosa* Temminck), eared dove (*Zenaida*

auriculata Des Murs), crested gallito (*Rhinocrypta lanceolata* Geoffroy Saint-Hilaire) and rufous-collared sparrow (*Zonotrichia capensis* Müller); and mammal species (foraging, moving and resting): *O. mimax*, southern mountain cavy (*Microcavia australis* I. Geoffroy et d'Orbigny) and South American gray fox (*Lycalopex griseus* Gray, table 3). Although for bird species we found no differences between the proportions of behaviors displayed, all species invested more time (seconds) in foraging than in moving under the canopy (*P. maculosa*: foraging mean = $11.31 \pm SE = 2.77$ and moving 4.85 ± 1.30 ; *Z. auriculata*: foraging 8.83 ± 2.66 and moving 3.67 ± 1.92 ; *R. lanceolata*: foraging 4.05 ± 1.22 and moving 3.35 ± 0.52 ; *Z. capensis*: foraging 6.60 ± 4.16 and moving 5.6 ± 1.68). *Octomys mimax* displayed only foraging behavior. The time invested in foraging by *M. australis* was different from and higher (11.81 ± 1.79) than the time spent resting (2.63 ± 0.95 , $P = 0.02$) or moving (3.84 ± 0.96 , $P = 0.04$). *Lycalopex griseus* showed no differences in proportions of behaviors ($P > 0.05$; foraging: 7.86 ± 1.26 ; resting: 2.61 ± 1.06 ; moving: 4.18 ± 0.87) though it invested more time in foraging than in other behaviors.

Table 1. Mean and SE of morphological attributes of *R. girolae* and features of the habitat under its canopy.

Media y ES de los atributos morfológicos de *Ramorinoa girolae* y características del hábitat bajo su dosel.

Attributes	Mean	SE
Morphological attributes		
number of stems	4.53	0.42
maximum height (m)	4.84	0.31
canopy area (m ²)	443.30	102.39
Features of the habitat under canopy		
cover of shrubs (%)	26.74	4.21
cover of herbs (%)	2.58	0.65

Table 2. The best model explaining bird richness considering morphological attributes of *R. girolae* and features of the habitat under its canopy (df = 14). Parameter estimates (\pm SE), Z and P values for significance (* = $P < 0.05$; ** = $P < 0.01$, *** = $P < 0.001$, ns = no significant).

El mejor modelo que explica la riqueza de aves considerando los atributos morfológicos de *Ramorinoa girolae* y características del hábitat bajo su dosel (gl = 14). Parámetros estimados (\pm ES), valores de Z y P para significancia (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, ns = no significativo).

Explanatory variable	Parameter estimate \pm SE	Z value	P value
Intercept	2.18 \pm 0.61	3.56	***
Number of stems	-0.43 \pm 0.17	-2.44	*
Cover of shrubs (percentage)	0.03 \pm 0.02	1.71	ns

Table 3. Models to compare time invested in different behaviors, for bird (foraging and moving) and mammal species (foraging, moving and resting). Parameter estimates (\pm SE), T and P values for significance (* = $P < 0.05$; ** = $P < 0.01$, *** = $P < 0.001$, ns = no significant).

Modelos para comparar el tiempo invertido en diferentes comportamientos, para aves (forrajeo y desplazamiento) y mamíferos (forrajeo, desplazamiento y descanso). Parámetros estimados (\pm ES), valores de T y P para significancia (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, ns = no significativo).

Species	Explanatory variable	Parameter estimate \pm SE	T value	P value
<i>P. maculosa</i>	intercept	-0.50 \pm 0.46	-1.09	ns
	moving	1.14 \pm 0.76	-1.50	ns
<i>Z. auriculata</i>	intercept	-0.87 \pm 0.60	-1.45	ns
	moving	-1.10 \pm 1.04	-1.06	ns
<i>R. lanceolata</i>	intercept	-1.86 \pm 0.38	-4.86	***
	moving	-0.22 \pm 0.56	-0.38	ns
<i>Z. capensis</i>	intercept	-1.27 \pm 0.88	-1.44	ns
	moving	-0.21 \pm 1.28	-0.16	ns
<i>M. australis</i>	intercept	-2.34 \pm 0.69	-3.38	**
	foraging	1.91 \pm 0.79	2.42	*
<i>L. griseus</i>	moving	0.42 \pm 0.91	0.47	ns
	intercept	-2.35 \pm 0.63	-3.76	***
<i>L. griseus</i>	foraging	1.32 \pm 0.75	1.76	ns
	moving	0.53 \pm 0.81	0.65	ns

Moreover, we assessed whether the abundance of the mesopredator *L. griseus* was affected by abundance of birds and abundance of small mammals as the gray leaf-eared mouse (*Graomys griseoflavus* Waterhouse), *M. australis* and *O. mimax* with GLMMs. We found that the abundance of this mesopredator increased with abundance of birds ($Z = 0.09$, $P = 0.04$, $df = 15$) nonetheless did not increase with abundance of small mammals ($Z = 0.26$, $P = 0.80$, $df = 16$). Based on the first model, the odds for abundance of *L. griseus* increased by $\exp(0.09) = 1.10$, or 9%, for each bird individual added.

DISCUSSION

Among the main environmental services provided by woodlands, biodiversity conservation plays an important role in ecosystem functions, because biodiversity affects processes essential for human well-being. This is the first study to assess the role of *R. girolae* woodland in the provision of biodiversity-related ecosystem services. We recorded more than 80, 90 and 50 % of plant, bird and mammal species, respectively. The coverage estimate was 83 % for birds and 89 % for mammals. Bird species richness decreased by -43 %, for every unit increase in number of stems, though richness of plants and mammals was not explained by any variable considered. Birds tended to forage most of the time under the canopy of *R. girolae*, as also did *L. griseus*. In relation to rodents, we found that *O. mimax* only foraged and *M. australis* invested significantly more time in foraging than in moving or resting.

Our results showed high richness of plant species under the canopy of *R. girolae*; this tree species could influence the likelihood of seedling establishment by modifying physical environmental conditions. In arid and semiarid environments, woody plants are able to increase local soil fertility through accumulation of carbon and nitrogen and modification of the decomposition rate through increased infiltration rate, and through protection against high temperatures and radiation (Cesca *et al.* 2012). According to our data, Rossi and Villagra (2003) recorded high cover of shrub species under the canopy of mesquite (*Prosopis flexuosa* DC), probably because it generates spatial heterogeneity by modifying soil conditions, thus contributing to increasing total diversity of the ecosystem.

Camera-trapping furnishes an important noninvasive tool for estimating species presence and/or assessing patterns of abundance throughout space and time and their link with activity patterns, habitat use and reproductive information, which are key elements for wildlife conservation (Silveira *et al.* 2003). In our sampling, we recorded two species new to Ischigualasto Provincial Park, *L. geoffroyi* and *N. cinerascens*. Neither of these two species had been previously recorded for this protected area, although it is within their distribution areas. *Leopardus geoffroyi* is classified as Near Threatened because future population declines resulting from habitat conversion

may result in its qualifying for Vulnerable (Lucherini *et al.* 2008). *Nothoprocta cinerascens* is a rare species with low probabilities of being observed (Lucero 2013). Moreover, we recorded between 57 and 70 % of mammal richness, all species previously recorded for this area (Cortéz *et al.* 2010). Probably, other mammal species in this area do not use habitats under the canopy of *R. girolae* because they have different requirements from those offered by these trees. This assumption deserves further research because it can contribute to the knowledge and conservation of species associated with woodlands in deserts.

Bird species richness was negatively affected by number of stems arising from the main trunk. Previous studies comparing abundance of birds in creosote bush (*Larrea cuneifolia* Cav.) and mesquite woodland suggest that woodlands provide superior availability of suitable sites for spawning and feeding activities, with birds being more abundant in this habitat (Cueto *et al.* 2005). However, the stems of *R. girolae* are cylindrical, smooth and straight, with a sharp and relatively hard tip; probably due to these characteristics stems of this species are not suited as perches for birds. Another possible cause for this relationship is that the perceived risk of predation changes significantly with place and time due to variation in predator detectability, habitat structure and cover availability (Rodríguez *et al.* 2001), hence a high number of stems would hinder detection of and escape from predators. All registered bird species recorded occur in arid shrubland and woodland, and have ground-dwelling habits. *Patagioenas maculosa*, *Z. auriculata* and *Z. capensis* mainly consume seeds, whereas *R. lanceolata* is a skillful short flight runner that consumes larvae, insects, buds and small invertebrates obtained by digging the ground. We found a tendency of these species to invest more time in foraging, probably because they seek and find food under *R. girolae* canopy.

Large and medium mammals, such as *B. taurus*, *E. asinus* and *L. griseus*, were the most frequently recorded under the canopy of *R. girolae*, however none of the variables considered in this work explained their presence. Probably, microclimate could be an important variable for *B. taurus* and *E. asinus* because we observed these species resting under the canopy at different times of the day¹. Moreover, *L. griseus*, which is a generalist omnivore, spends most of its time foraging and its abundance increases with abundance of birds; therefore, probably availability of food, such as some bird species, is an important requirement for its habitat selection. For small mammals, like *O. mimax* and *M. australis*, the use of this tree species is probably related to fruit availability. Because *R. girolae* does not produce fruit every year², *O. mimax* takes advantage of the availability of fruits and behaves as an opportunistic species, consuming and storing these fruits (Campos 2012). The fruits of *R. girolae* contain seeds of high nutritive value, though

¹ Valeria E Campos. Personal observation

² Valeria E Campos. Unpublished data.

they are woody and very hard (Zapata *et al.* 2010). To date, *O. mimax* has been the only species observed to pierce fruits to remove the seeds (Campos 2012), however the camera traps captured *M. australis* manipulating fruits of *R. girolae* plants under their canopy as well. This is the first evidence of interaction between *R. girolae* fruits and *M. australis*.

The habitat under canopies of *R. girolae* is suitable for different species of shrubs, birds and mammals, allowing interactions among them. A high percentage of species could be captured by the camera traps, however probably more sampling time or specific sampling of birds, such as putting camera traps at different heights in trees plus birding, and of mammals, such as alive capture or footprints, would allow us to record more species. Anyway, this is the first study to assess the role of *R. girolae* in the provision of biodiversity-related ecosystem services. The records of native and/or endangered species allow us to know their current distribution and habitat requirements, consequently these records are key elements for the conservation of wildlife. Assessment of plant and animal species richness in woodlands is relevant to planning and management since their conservation can enhance biodiversity in arid ecosystems.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by “Chica, Retamo and Algarrobo: important species for the conservation of Native Forest from Parque Provincial Ischigualasto and neighboring areas. Biological interactions, human activity effects and their mitigation”. Native Forest Conservation Plan – National Act 26.331. We thank the staff of Ischigualasto Provincial Park for providing all the necessary facilities during fieldwork. Samples were processed in the Laboratory of the Institute and Museum of Natural Sciences (National University of San Juan). We acknowledge and are grateful for the help received from all the members of INTERBIODES (Interacciones biológicas del desierto), especially Flavio Cappa for his assistance on field. Nélica Horak assisted us in drafting the English version.

REFERENCES

Brockerhoff EG, H Jactel, JA Parrotta, SFB Ferraz. 2013. Role of eucalypt and other planted forests in biodiversity conservation and the provision of biodiversity-related ecosystem services. *Forest Ecology and Management* 301: 43-50.

Campos VE. 2012. Biología de *Octomys mimax* (Rodentia: Octodontidae): selección de hábitat y conservación en el Monte árido de San Juan. Biological Science Thesis. Córdoba, Argentina. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba. 166 p.

Campos VE, FM Cappa, V Fernández Maldonado, SM Giannoni. 2016. Using remotely sensed data to model suitable habitats for tree species in a desert environment. *Journal of Vegetation Science* 27: 200-210.

Cesca E, PE Villagra, C Passera, JA Alvarez. 2012. Effect of *Pro-*

sopis flexuosa on understory species and its importance to pastoral management in woodlands of the Central Monte Desert. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo* 44(2): 207-219.

Colwell RK. 2011. Estimates: Statistical Estimation of Species Richness and Shared Species from Samples. Version 9. User's Guide and application. Consulted Aug. 2014. Available in <http://purl.oclc.org/estimates>

Cortéz E, SM Giannoni, CE Borghi. 2005. Fase II Plan de Manejo del Parque Provincial Ischigualasto. Período 2005-2010. San Juan, Argentina. Ente Autárquico del Parque Provincial Ischigualasto. 73 p.

Costa G. 1995. Behavioural adaptations of desert animals. New York, USA. Springer-Verlag. 198 p.

Crawley MJ. 2007. The R book. London, England. John Wiley and Sons. 942 p.

Cueto VR, J Lopez de Casenave, MC Sagario, J Damonte. 2005. Relación aves-vegetación: importancia de los algarrobales para la avifauna del desierto del Monte. In Brown A, U Martínez Ortiz, M Acerbi, J Corcuera eds. La Situación Ambiental Argentina 2005. Buenos Aires, Argentina. Fundación Vida Silvestre Argentina. p. 234-236.

García D, R Zamora, GC Amico. 2011. The spatial scale of plant-animal interactions: effects of resource availability and habitat resource. *Ecological Monographs* 81(1):103-121.

Hadad M, M Almirón, J Scaglia. 2014. Estructura de un bosque de *Ramorinoa girolae* (Fabaceae), en la Sierra de Pie de Palo, San Juan (Argentina). *Sociedad Argentina de Botánica* 49(2): 283-292.

IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, UK). 2001. 2001 IUCN Red List Categories and Criteria version 3.1. Available in <http://www.iucnredlist.org/technical-documents/categories-and-criteria/2001-categories-criteria>

Labraga JC, R Villalba. 2009. Climate in the Monte Desert: Past trends, present conditions, and future projections. *Journal of Arid Environments* 73(2):154-163.

Lucero F. 2013. Listado de las aves observadas en la Reserva Natural Municipal articulada: Laguna de Guanacache, Laguna del Toro y Bañados del Carau, provincia de San Juan, y Laguna Seca y los Bañados del Tulumaya, provincia de Mendoza, Argentina. Parte II. *Nótulas Faunísticas (Segunda Serie)* 137: 1-16.

Lucherini M, T de Oliveira, G Acosta. 2008. *Leopardus geoffroyi*. The IUCN Red List of Threatened Species. Versión 2014.3. Consulted Sep. 2015. Available in <http://www.iucnredlist.org>.

Márquez J, E Martínez Carretero, A Dalmasso, G Pastrán, G Ortiz. 2005. Las áreas protegidas de la provincia de San Juan (Argentina) II. La vegetación del Parque Provincial de Ischigualasto. *Multequina* 14(1): 1-25.

Martin P, P Bateson. 1993. Measuring behaviour. An Introductory Guide. Cambridge, UK. Cambridge University Press. 222 p.

Millennium Ecosystem Assessment (MEA). 2005. Ecosystems and Human Well-being: Biodiversity Synthesis. Washington, DC, USA. World Resources Institute. 86 p.

Papú S. 2014. Caracterización general y depredación predispersiva en poblaciones de Chica (*Ramorinoa girolae*) del Parque Provincial Ischigualasto (San Juan, Argentina). Degree Seminars. Mendoza, Argentina. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo. 76 p.

- R Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. Consulted Sep. 2016. Available in <https://www.R-project.org/>
- Rodríguez A, H Andrén, G Jansson. 2001. Habitat-mediated predation risk and decision making of small birds at forest edges. *Oikos* 95(3): 383-396.
- Rossi BE, PE Villagra. 2003. Effects of *Prosopis flexuosa* on soil properties and the spatial pattern of understory species in arid Argentina. *Journal of Vegetation Science* 14(4):543-550.
- Silveira L, ATA Jácomo, JAF Diniz-Filho. 2003. Camera trap, line transect census and track surveys: a comparative evaluation. *Biological Conservation* 114(3): 351-355.
- Thompson I. 2011. Biodiversidad, umbrales ecosistémicos, resiliencia y degradación forestal. *Unasylva* 238(62): 25-30.
- Zapata R, PR Quiroga, NR Grosso. 2010. Valoración química de las semillas de *Ramorinoa girolae* Speg. "chica" para la alimentación humana. In CIEFAP ed. Congreso Eco Productos Forestales No Madereros. 1-3 de diciembre de 2010. Esquel, Argentina. p. 149.

Recibido: 22.11.16
 Aceptado: 19.02.17

Appendix 1. Plant species recorded under the canopy of *R. girolae* and their relative frequency.

Especies de plantas bajo la copa de *Ramorinoa girolae*.

Family	Species	Relative frequency (%)
Asteraceae	<i>Cyclolepis genistoides</i> Gillies ex D.Don.	4.24
Bromeliaceae	<i>Tillandsia</i> sp. L.	8.48
Cactaceae	<i>Cereus</i> sp. Mill.	1.82
	<i>Echinopsis</i> sp. Zucc.	5.45
	<i>Echinopsis terscheckii</i> (J.Parm. ex Pfeiff.) H.Friedrich et G.D.Rowley.	1.21
	<i>Gymnocalycium</i> sp. Pfeiff. ex Mittler.	2.42
	<i>Opuntia sulphurea</i> G.Don.	4.85
	<i>Tephrocactus</i> sp. Lem.	2.42
Capparaceae	<i>Capparis atamisquea</i> Kuntze.	10.91
Chenopodiaceae	<i>Atriplex</i> sp. L.	0.61
Celastraceae	<i>Maytenus viscifolia</i> Griseb.	5.45
Ephedraceae	<i>Ephedra triandra</i> Tul.	1.21
	<i>Cercidium praecox</i> (Ruiz et Pav. ex Hook. et Arn.) Harms.	2.42
	<i>Geoffroea decorticans</i> (Gillies ex Hook. et Arn.) Burkart.	3.03
	<i>Mimosa ephedroides</i> Benth.	0.61
Fabaceae	<i>Prosopis flexuosa</i> DC.	1.21
	<i>Prosopis torquata</i> DC.	5.45
	<i>Senna aphylla</i> (Cav.) H.S. Irwin et Barneby.	3.03
	<i>Zuccagnia punctata</i> Cav.	6.06
Lamiaceae	<i>Salvia cuspidata</i> Ruiz et Pav.	0.61
Loranthaceae	<i>Ligaria cuneifolia</i> Tiegh.	1.21
Poaceae	<i>Pappophorum</i> sp. Schreb.	4.24
Plantaginaceae	<i>Monttea aphylla</i> (Miers) Benth. et Hook.	2.42
Solanaceae	<i>Grabowskia obtusa</i> Arn.	0.61
	<i>Lycium</i> sp. L.	9.09
Zygophyllaceae	<i>Bulnesia retama</i> (Gillies ex Hook. et Arn.) Griseb.	1.21
	<i>Larrea cuneifolia</i> Cav.	9.70

Appendix 2. Bird and mammal species recorded under the canopy of *R. girolae*, relative frequency (%) and type of record (camera traps or signs such as feces, footprints, caches of plant material).

Especies de aves y mamíferos registrados bajo la copa de *Ramorinoa girolae*. Se muestra la frecuencia relativa de cada especie, y el tipo de registro (cámara trampa o signos como heces, huellas, restos de material vegetal).

Family	Species	Common name	Relative frequency	Recorded by	
				camera traps	signs
Birds					
Columbidae	<i>Patagioenas maculosa</i> Temminck	spot-winged pigeon	22.22	X	
	<i>Zenaida auriculata</i> Des Murs	eared dove	12.70	X	
Thraupidae	<i>Saltator aurantiirostris</i> Vieillot	golden-billed saltator	1.59	X	
Emberizidae	<i>Zonotrichia capensis</i> Müller	rufous-collared sparrow	12.70	X	
	<i>Furnarius cristatus</i> Burmeister	crested hornero	3.17	X	
Furnariidae	<i>Pseudasthenes steinbachi</i> Hartert	chestnut canastero	1.59	X	
	<i>Mimus saturninus</i> Lichtenstein	chalk-browed mockingbird	1.59	X	
Rhinocryptidae	<i>Rhinocrypta lanceolata</i> Geoffroy Saint-Hilaire	crested gallito	36.51	X	
Tinamidae	<i>Eudromia elegans</i> Saint-Hilaire	elegant crested-tinamou	3.17	X	
	<i>Nothoprocta cinerascens</i> Burmeister	brushland tinamou	3.17	X	
Tyrannidae	<i>Elaenia albiceps</i> d'Orbigny et La-fresnaye	white-crested elaenia	1.59	X	
Mammals					
Bovidae	<i>Bos taurus</i> Linnaeus	cattle	22.95		X
Camelidae	<i>Lama guanicoe</i> Müller	guanaco	1.64		X
Canidae	<i>Lycalopex griseus</i> Gray	south American gray fox	21.31	X	X
	<i>Microcavia australis</i> I. Geoffroy et d'Orbigny	southern mountain cavy	6.56	X	X
Caviidae	<i>Dolichotis patagonum</i> Zimmermann	Patagonian mara	1.64		X
	<i>Graomys griseoflavus</i> Waterhouse	gray leaf-eared mouse	4.92	X	
Equidae	<i>Equus asinus</i> Linnaeus	feral donkey	19.67		X
Felidae	<i>Leopardus geoffroyi</i> d'Orbigny et Gervais	Geoffroy's cat	1.64	X	
	<i>Lepus europaeus</i> Pallas	European hare	9.84		X
Leporidae	<i>Lagidium viscacia</i> Molina	southern viscacha	1.64		X
	<i>Conepatus chinga</i> Molina	Molina's hog-nosed skunk	1.64	X	
Octodontidae	<i>Octomys mimax</i> Thomas	viscacha rat	6.56	X	X

Variación geográfica de la germinación en *Enterolobium cyclocarpum* en la costa de Oaxaca, México

Geographic variation in germination of the *Enterolobium cyclocarpum* of the coast of Oaxaca, Mexico

Héctor Viveros-Viveros ^{a*}, Karen Quino-Pascual ^b, Mario Valerio Velasco-García ^c,
Gabriela Sánchez-Viveros ^b, Efraín Velasco Bautista ^d

*Autor de correspondencia: ^aUniversidad Veracruzana, Instituto de Investigaciones Forestales, Parque Ecológico “El Haya”, Colonia Benito Juárez, Xalapa, Veracruz, México, C.P. 91070, tel.: 2288421700 Ext. 13964, heviveros@hotmail.com

^bUniversidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Agrícolas, Campus Xalapa, Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán, Isleta, 91090 Xalapa, Veracruz, México.

^cColegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Postgrado en Ciencias Forestales, Carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México.

^dInstituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), México.

SUMMARY

Enterolobium cyclocarpum is recommended in reforestation and ecological restoration programs. However, before starting large-scale plantations some germination parameter from different seed sources should be identified, which can be used for plant production in each location or use elsewhere. In this paper, the variation of some germination parameters from ten provenances of *E. cyclocarpum* from the Coast of Oaxaca, Mexico was explored. Four germination parameters: germination capacity, mean daily germination, peak value and germination value were assessed in the laboratory. From information about geographical location and altitude above sea level of each provenance, climatic variables were obtained and afterward correlated with the germination parameters. Significant differences among provenances were detected for all of the germination parameters. There was not significant relationship among germination parameters and geographic variables, but there was a positive relationship between germination capacity and the proportion of precipitation falling during summer; and between mean daily germination and the total precipitation that falls during the growing season. The germinative capacity varied from 28.2 to 90 %; it depended on provenance. The low germination of some provenances can cause problems in their permanence and conservation.

Key words: climatic variables, germination parameters, geographic variables, provenances, germinative capacity.

RESUMEN

Enterolobium cyclocarpum es recomendada en programas de reforestación y restauración ecológica. Sin embargo, antes de realizar plantaciones a gran escala se deben identificar algunos parámetros germinativos de las diferentes procedencias que se utilicen para la producción de planta, sea local o para otros sitios. En el presente trabajo se estudió la variación entre 10 procedencias de parámetros germinativos de semillas de *E. cyclocarpum* procedentes de la Costa de Oaxaca, México. Se evaluaron cuatro parámetros germinativos en el laboratorio: capacidad germinativa, germinación media diaria, valor pico y valor germinativo. A partir de la información de ubicación geográfica y altitud sobre el nivel del mar de cada procedencia, se obtuvieron variables climáticas de las procedencias, para asociarse a los parámetros germinativos. En todas las variables se detectaron diferencias significativas entre procedencias. La asociación entre los parámetros germinativos y las variables geográficas no fue significativa, pero se encontró asociación positiva entre la capacidad germinativa con la proporción de precipitación que cae durante el verano y entre la germinación media diaria y la precipitación total que ocurre en la estación de crecimiento. La capacidad germinativa varió del 28,2 al 90 %, dependiendo de la procedencia. La baja germinación que presentaron algunas procedencias puede ocasionarles problemas en cuanto a su permanencia y conservación.

Palabras clave: capacidad germinativa, parámetros germinativos, variables climáticas, variables geográficas, procedencias.

INTRODUCCIÓN

Enterolobium cyclocarpum (Jacq.) Griseb. se distribuye en forma natural en México (desde los 25° N), Centroa-

mérica y norte de Sudamérica (hasta los 7° S); también se encuentra en Jamaica, Cuba, Trinidad y Guyana (Espejel y Martínez 1979, CATIE 1997). En México, *E. cyclocarpum* se encuentra ampliamente distribuida en la vertiente del

golfo desde Tamaulipas hasta Yucatán, y en la Vertiente del Pacífico desde Sinaloa hasta Chiapas (Manzanilla *et al.* 2001). Su distribución altitudinal va de 0 a 1.200 m s.n.m (CATIE 1997).

Esta especie tiene gran importancia económica y social por ser un árbol de usos múltiples en sistemas agroforestales, proporciona productos utilizables en forma de bienes y servicios en las regiones rurales. Por ejemplo, su madera se considera como preciosa y es muy cotizada en la Costa Sur del Pacífico en Guatemala, además de que sirve de albergue para la fauna silvestre (Buch-Texaj 1999). En los estados mexicanos de Chiapas, Guerrero, Michoacán y Morelos, los frutos y semillas de este árbol tradicionalmente se destinan para el consumo humano y como forraje (Serratos-Arévalo 2001). Específicamente en la región Costa de Oaxaca, México, la madera por su resistencia y belleza se usa para muebles, leña y artesanías, la corteza tiene usos medicinales, el fruto se usa como forraje y las semillas tienen usos medicinales (Cano-Hernández y Romero-Guillot 2012).

Es ampliamente recomendada en programas de reforestación, enriquecimiento y restauración ecológica (Vázquez-Yanez *et al.* 1999). Se espera que las plantaciones forestales de esta especie se incrementen en los próximos años (Benítez-Badillo *et al.* 2004). Sin embargo, antes de iniciar las plantaciones a gran escala se deben de identificar las procedencias con mayor potencial para producir semilla viable que se pueda utilizar para la producción masiva de planta, asimismo conocer la variación adaptativa de estas procedencias. Esto se puede lograr a través del establecimiento de ensayos de procedencias o poblaciones en los que se evalúe la germinación, la adaptación y el crecimiento en vivero y campo; considerando la procedencia como la fuente geográfica original de la que se obtuvieron las semillas (Zobel y Talbert 1992).

La respuesta germinativa de las semillas varía debido a factores ambientales y geográficos, como por ejemplo la latitud, altitud sobre el nivel del mar, humedad del suelo, temperatura, tipo y densidad de la cobertura arbórea, del grado de disturbio del hábitat donde las semillas maduran y de la disponibilidad de polen viable previo a la formación del embrión (Ginwal *et al.* 2005).

En varias especies de plantas se ha encontrado variación entre procedencias en los parámetros germinativos de semillas, por ejemplo, en la capacidad germinativa, valor pico y valor germinativo según Czabator (1962) de *Alnus sinuata* Rydb. y *Betula papyrifera* Marsh. (Benowicz *et al.* 2000, 2001), en la capacidad germinativa (Juárez-Agis *et al.* 2006) y valor germinativo (Mápula-Larreta *et al.* 2008) de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco y en la capacidad germinativa de *E. cyclocarpum* (Bertsch 1985) y *Abies amabilis* [Dougl.] Forbes (Davidson *et al.* 1996). Sin embargo, se desconoce la relación entre parámetros germinativos con factores geográficos y ambientales de procedencias mexicanas de *E. cyclocarpum*. Además, algunas poblaciones pudieran presentar problemas germina-

tivos, por tanto los trabajos de reforestación necesitarían incluir más esfuerzo en la recolecta de mayores cantidades de germoplasma.

Por lo anterior, los objetivos de la presente investigación son: a) cuantificar la variación entre procedencias de parámetros germinativos de *E. cyclocarpum* de la costa de Oaxaca, México y b) explorar la asociación de los parámetros germinativos con las variables geográficas y climáticas de las procedencias de *E. cyclocarpum* de la costa de Oaxaca, México.

MÉTODOS

Recolección de semillas. Las semillas utilizadas fueron recolectadas de marzo a mayo de 2008, en 10 procedencias de la región Costa de Oaxaca, México (cuadro 1, figura 1). En cada procedencia se seleccionaron de siete a 12 árboles con características fenotípicas deseables, es decir, árboles con fustes rectos, fuste limpio > 2 m de altura, y libre de plagas y enfermedades (Flores-Flores *et al.* 2014). Los frutos se recolectaron mediante escalado en los árboles y en algunos casos se recogieron frutos tirados en el suelo, pero se cuidó que correspondieran al árbol seleccionado, procurando que los frutos no estuvieran alejados a más de 1 m de la copa del árbol seleccionado. Los frutos de cada árbol se almacenaron en costales y se etiquetaron con el nombre de la procedencia y fecha de recolección, para su traslado a las instalaciones de la Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido, Oaxaca, México.

Beneficio y almacenamiento de la semilla. Los frutos se secaron al sol directo y se colocaron al fuego aproximadamente a 90 °C para extraer las semillas; posteriormente se eliminaron las impurezas (semillas dañadas y vanas, trozos de material vegetal y piedras). Por último, las semillas se almacenaron a temperatura ambiente (25 °C) en recipientes de plástico con cierre hermético, etiquetados con la fecha de recolección y almacenamiento, así como el lugar de origen. El tiempo transcurrido del beneficio de la semilla y la prueba de germinación fue de cuatro años.

Parámetros germinativos evaluados. Mediante la prueba de flotabilidad en agua se seleccionaron 400 semillas viables por procedencia, para esto las semillas se colocaron en agua simple y las que flotaron fueron eliminadas. En seguida, cada semilla se sometió a un proceso físico de escarificación, para lo cual se lijó la testa de las semillas hasta que se observó el cotiledón de la semilla (Viveros-Viveros *et al.* 2015). Una vez concluida la escarificación, cuatro réplicas de 100 semillas de cada una de las 10 procedencias se pusieron a germinar a temperatura ambiente (varió de 28 a 30 °C) en charolas de plástico (con un tamaño de 13 x 12 x 7 cm), enrolladas con papel absorbente humedecido con agua purificada, en laboratorio bajo un diseño experimental completamente aleatorio. La prueba

Cuadro 1. Localización geográfica de 10 procedencias de *Enterolobium cyclocarpum* en la región Costa de Oaxaca, México.
 Geographical localization of the 10 *Enterolobium cyclocarpum* provenances in the Oaxaca Coast Region, Mexico.

Procedencia	Municipio	Longitud O	Latitud N	Altitud m	Condición
Pinotepa de Don Luis	Pinotepa de Don Luis	97° 58'	16° 26'	420	Potrero
Tataltepec	Tataltepec de Valdés	97° 32'	16° 17'	370	Potrero
San Pedro	San Pedro Mixtepec	97° 04'	15° 58'	240	ZU
Pochutla	San Pedro Pochutla	96° 27'	15° 49'	234	SBC
San Francisco	Villa de Tututepec Melchor Ocampo	97° 34'	16° 08'	67	ZC
Cortijo	Santa María de Cortijo	98° 16'	16° 27'	59	Potrero
Colotepec	Santa María de Colotepec	96° 58'	15° 53'	37	ZC
Los Limones	Villa de Tututepec Melchor Ocampo	97° 29'	16° 01'	23	Potrero
La Tuza	Santiago de Jalmittepec	97° 51'	16° 02'	15	SMC
El Zarzal	Santiago de Jalmittepec	97° 47'	16° 04'	14	Potrero

ZU: Zona Urbana, SBC: Selva baja caducifolia, ZC: Zona de cultivo, SMC: Selva mediana caducifolia.

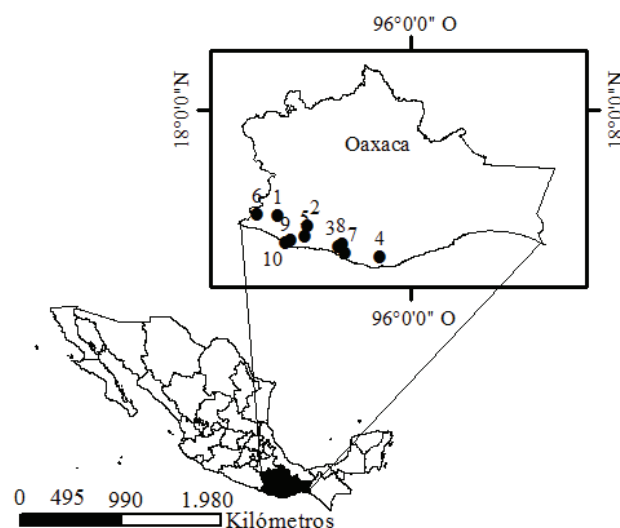


Figura 1. Localización geográfica de 10 procedencias de *Enterolobium cyclocarpum* en la región Costa de Oaxaca, México.
 Geographical localization of the 10 *Enterolobium cyclocarpum* provenances in the Oaxaca Coast Region, Mexico.

de germinación se mantuvo en observación durante cinco días y el conteo fue diario.

Los parámetros germinativos que se evaluaron fueron la capacidad germinativa, la germinación media diaria, el valor germinativo y el valor pico. Se consideró una semilla germinada cuando la radícula alcanzó un tamaño de al menos 2 mm (Trindade-Lessa *et al.* 2015). La capacidad ger-

minativa fue el porcentaje de semilla que germinó; la germinación media diaria se obtuvo al dividir los porcentajes de germinación acumulados diariamente entre la longitud en días del periodo de cada evaluación (Czabator 1962); el valor pico fue la germinación máxima acumulada y el valor germinativo se estimó mediante dos métodos, uno mediante la fórmula propuesta por Czabator (1962):

$$\text{Valor germinativo} = \text{Germinación media diaria} \times \text{valor pico} \quad [1]$$

y el otro, mediante la fórmula propuesta por Djavanshir y Pourbeik (1976):

$$\text{Valor germinativo} = \left(\frac{\sum DGS}{N} \right) \times (GP) \times 10 \quad [2]$$

Donde: DGS = Velocidad de germinación diaria, N = frecuencia del número de DGS que se calcularon durante la prueba, GP = porcentaje de germinación al final de la prueba y 10 es una constante.

Variables climáticas. Con la ubicación geográfica y altitud sobre el nivel del mar de cada procedencia se obtuvieron del Laboratorio de Ciencias Forestales de Moscow (Crookston 2006), algunas variables climáticas con importancia ecológica y geográfica para las plantas (Tuhkanen 1980; cuadro 2). De estas variables se derivaron las siguientes, de acuerdo a Sáenz-Romero *et al.* (2006, 2010) (cuadro 2):

$$\text{Índice anual de aridez (IAA1)} = \frac{GD5}{PMA} \quad [3]$$

Cuadro 2. Variables climáticas de 10 procedencias de *E. cyclocarpum* de la región Costa de Oaxaca, México.
 Climatic variables of the 10 *E. cyclocarpum* provenances in the Oaxaca Coast Region, Mexico.

Procedencia	TMA	TMAX	TMIN	PMA	PTC	PPV	GD5	GDPH5	IAA1	IAA2	IAV
Pinotepa D.L.	27,7	29,4	25,8	1.446	1.217	0,841	8.154	8.113	5,639	0,062	0,995
Tataltepec	28,1	29,9	25,8	1.140	982	0,861	8.298	8.298	7,279	0,079	1,000
San Pedro	27,5	28,8	25,2	985	834	0,846	8.093	8.053	8,216	0,091	0,995
Pochutla	27,0	28,0	24,5	1.168	992	0,849	7.921	7.843	6,762	0,076	0,990
San Francisco	28,5	30,0	26,1	1.083	925	0,854	8.468	8.468	7,819	0,084	1,000
Cortijo	28,5	29,9	25,8	1.031	850	0,824	8.450	8.470	8,196	0,089	1,002
Colotepec	27,9	29,3	25,4	840	726	0,864	8.232	8.232	9,800	0,108	1,000
Limonés	28,5	29,9	26,1	1.070	909	0,849	8.449	8.427	7,896	0,085	0,997
La Tuza	28,4	29,5	26,2	1.064	902	0,847	8.428	8.428	7,921	0,086	1,000
El Zarzal	28,4	29,7	26,2	1.069	908	0,849	8.440	8.440	7,895	0,085	1,000

D.L.: de Don Luis, TMAX: temperatura máxima, TMIN: temperatura mínima, TMA: temperatura media anual, PMA: precipitación media anual, PTC: precipitación total en la estación de crecimiento, GD5: grados días >5 °C, GDPH5: grados días >5 °C en el periodo libre de heladas, IAA1: índice anual de aridez fórmula [3], IAA2: índice anual de aridez fórmula [4], IAV: índice de aridez en verano fórmula [5], PPV: proporción de la precipitación total que cae durante el verano fórmula [6].

$$\text{Índice anual de aridez (IAA2)} = \frac{\sqrt{GD5}}{PMA} \quad [4]$$

$$\text{Índice de aridez en verano (IAV)} = \frac{GDPH5}{PTC} \quad [5]$$

$$\text{Proporción de la precipitación total que cae durante el verano (PPV)} = \frac{PTC}{PMA} \quad [6]$$

Donde: PMA: Precipitación media anual, PTC: Precipitación total en la estación de crecimiento GD5: Grados días > 5 °C, GDPH5: Grados días > 5 °C en el periodo libre de heladas.

Análisis estadísticos. Se realizaron análisis de varianza para las variables evaluadas con el modelo:

$$Y_{ij} = \mu + P_i + R_j + E_{ij} \quad [7]$$

Donde: Y_{ij} es el valor de la ij-ésima observación, μ es la media general, P_i es el efecto de la i-ésima procedencia, R_j es el efecto de j-ésima repetición y E_{ij} es el error experimental.

La transformación con el arcoseno de la raíz de los datos originales divididos entre 100 se realizó para la capacidad germinativa debido a que los datos originales no cumplieron con los supuestos de normalidad estadística. Esta transformación dio un mayor ajuste en la prueba de Shapiro-Wilk. Las demás variables si cumplieron con los supuestos de normalidad, valor de $P > 0,05$ en la prueba de Shapiro-Wilk. Los análisis se realizaron mediante

el procedimiento GLM de SAS (SAS Institute 2004). Los componentes de varianza asociados a cada fuente de variación se estimaron mediante el procedimiento VARCOMP, opción REML (SAS Institute 2004). La prueba de comparación de medias de Tukey se realizó cuando existieron diferencias significativas entre procedencias.

Para conocer las mejores procedencias considerando los parámetros germinativos en conjunto, se llevó a cabo un análisis multivariado de componente principales (ACP). El componente principal uno se obtuvo como nueva variable resultante del ACP. Después las diferencias entre procedencias del componente principal uno (CP1) se determinaron con pruebas no paramétricas de varianza y comparaciones múltiples de rangos de Kruskal-Wallis usando en programa estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.* 2015).

El agrupamiento de las procedencias según los valores de los parámetros germinativos se realizó con la agrupación jerárquica de Ward y la distancia euclidiana. Para conocer la asociación de los parámetros germinativos con las variables geográficas y climáticas de cada procedencia se realizó un análisis de correlación simple con el procedimiento CORR de SAS (SAS Institute 2004).

RESULTADOS

Variación geográfica de la germinación. La germinación de semilla de *E. cyclocarpum* inició a partir del primer día de establecido el ensayo (figura 2). Independientemente de la procedencia, la capacidad máxima de germinación ocurrió al tercer día. Después no ocurrieron incrementos apreciables en la germinación, es decir, el porcentaje máximo de germinación se alcanzó rápidamente y luego se estabilizó.

Por otra parte, existieron diferencias significativas entre procedencias en todos los parámetros de germinación ($P < 0,01$) (cuadro 3). En promedio la aportación de las procedencias a la varianza total fue cercana al 81 % mientras que la aportación del error fue del 19 %. La mayor contribución de las procedencias a la varianza total se dio en la capacidad germinativa y el valor pico, con valores cercanos al 94 y 91 %, respectivamente; mientras que la menor contribución de las procedencias a la varianza se dio en el valor germinativo [tipo 1] (50 %). La aportación de las procedencias y del error a la varianza total fue igual solo para para el vigor germinativo [tipo 1], mientras que

en los demás parámetros germinativos la aportación de las procedencias fue mayor a la del error (cuadro 3).

Las procedencias de Pinotepa de Don Luis, Tataltepec y Colotepec presentaron los mayores porcentajes de germinación, de aproximadamente 90 a 80 %, mientras que la procedencia de Cortijo fue la de menor capacidad germinativa (cuadro 4).

En lo referente al valor pico, las procedencias de Pinotepa de Don Luis y la de Colotepec presentaron los valores pico más elevados, 28,5 y 24,8, respectivamente; mientras que la procedencia Cortijo mostró el valor pico menor (aproximadamente 9, cuadro 4).

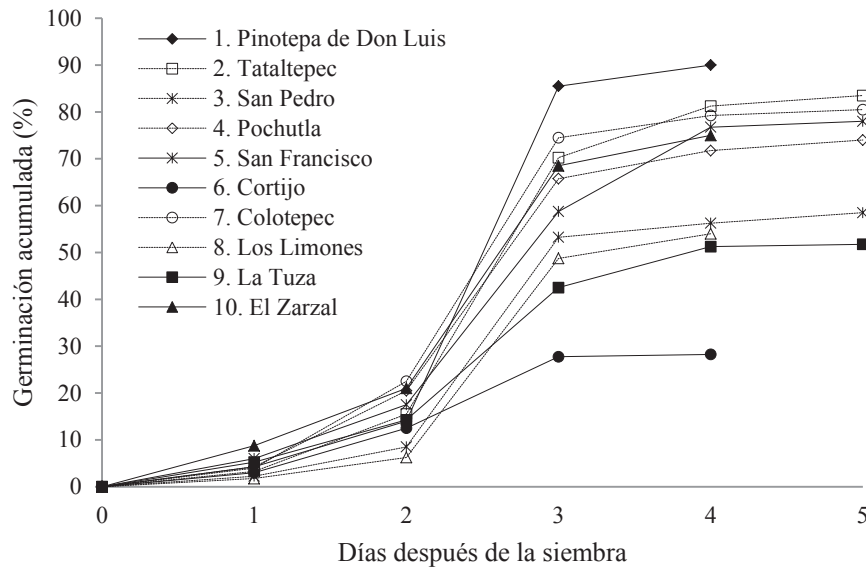


Figura 2. Curvas de germinación acumulada de semillas de *Enterolobium cyclocarpum* de 10 procedencias de la región Costa de Oaxaca, México.

Accumulated germination curves of *Enterolobium cyclocarpum* seeds of the 10 *Enterolobium cyclocarpum* provenances in the Oaxaca Coast Region, Mexico.

Cuadro 3. Nivel de significancia (P) y componentes de varianza (%) de los parámetros de la germinación en semilla de *E. cyclocarpum* de la región Costa de Oaxaca, México.

Significance level (P) and percentage of contribution to total variance (%) of germination parameters of *Enterolobium cyclocarpum* seeds from the Oaxaca Coast Region, Mexico.

Variables	Valor P		Componentes de varianza (%)	
	Procedencia	Repetición	Procedencia	Error
Capacidad germinativa	<0,0001	0,8780	94,34	5,66
Valor pico	<0,0001	0,7269	91,25	8,75
Germinación media diaria	<0,0001	0,9895	81,97	18,03
Valor germinativo [1]	<0,0001	0,9488	50,00	50,00
Valor germinativo [2]	<0,0001	0,9454	86,31	13,69
Promedio	-	-	80,77	19,23

Cuadro 4. Valores promedios de los parámetros germinativos, agrupamiento Tukey ($P \leq 0,05$) y comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis ($P \leq 0,05$) de 10 procedencias de *Enterolobium cyclocarpum* de la región Costa de Oaxaca, México.

Means of germination parameters, Tukey test ($P \leq 0.05$) and Kruskal-Wallis multiple-comparisons test ($P \leq 0.05$) of the 10 *Enterolobium cyclocarpum* provenances in the Oaxaca Coast Region, Mexico.

Procedencias	Parámetros germinativos					CP1
	CG	VP	GMD	VG [1]	VG [2]	
Pinotepa de Don Luis	90,0a	28,5a	22,5a	642,1a	35,0a	3,54f
Tataltepec	81,7ab	23,4bc	18,3ab	428,8b	27,9ab	1,54ef
Colotepec	80,5ab	24,8ab	16,1cde	401,3b	27,6ab	1,27cdef
San Francisco	78,0b	20,0cde	17,6bc	356,9bc	22,6bcd	0,64abcde
El Zarzal	75,0b	22,8bc	18,7ab	429,0b	26,7ab	1,32def
Pochutla	72,0b	21,9bcd	17,0bcd	374,2b	23,4bc	0,67bcdef
San Pedro	56,7c	17,7def	12,7def	228,1cd	14,3cde	-1,36abcd
Limonos	54,0c	16,2ef	13,5cde	221,0cde	13,3def	-1,52abc
La Tuza	51,7c	14,1f	12,3ef	179,8de	11,4ef	-2,08ab
Cortijo	28,2d	9,2 g	8,8f	82,5e	4,6f	-4,02a

Las procedencias se agruparon de mayor a menor capacidad germinativa, CG = capacidad germinativa, VP = valor pico, GMD = germinación media diaria, VG[1] = vigor germinativo [1], VG[2] = vigor germinativo [2], CP1 = componente principal 1. Letras diferentes en cada columna indican diferencias con $P \leq 0,05$.

Las procedencias de Pinotepa de Don Luis, El Zarzal y Tataltepec, presentaron la mayor germinación media diaria, del 18,3 al 22,5 %, aproximadamente; la procedencia del Cortijo se diferenció de todas las demás procedencias ya que presentó la menor germinación media diaria (cuadro 4).

Referente al valor germinativo [tipo 1], la procedencia de Pinotepa de Don Luis fue la de mayor valor germinativo; mientras que los Limonos, la Tuza y el Cortijo fueron las de menores valores (cuadro 4). Por otra parte, en cuanto al valor germinativo [tipo 2], las procedencias de Pinotepa de Don Luis, Tataltepec y Colotepec presentaron los mayores valores (de 35 a 27); y las de los Limonos, la Tuza y el Cortijo presentaron los valores menores. Las dos estimaciones del valor germinativo [tipos 1 y 2] indicaron que la procedencia de Pinotepa de Don Luis fue la que alcanzó los mejores resultados, sólo que el tipo 2 pareciera ser más flexible ya que además de la procedencia de Pinotepa de Don Luis incluye a otras tres procedencias.

En el análisis de componentes principales, el componente principal uno (CP1) de los parámetros germinativos explicó el 97 % de la varianza; todos los parámetros germinativos contribuyeron con valores similares (entre 0,44 y 0,45) para explicar la variabilidad. El CP1 de los parámetros germinativos presentó diferencias estadísticas ($P < 0,0001$) entre las procedencias, con valores de -4,02 (Cortijo) a 3,54 (Pinotepa de Don Luis). Las procedencias con valores positivos o negativos del CP1 (cuadro 4) correspondieron a cada uno de los grupos obtenidos por el análisis de agrupamiento, uno formado por las proce-

dencias con valores positivos y el otro con las de valores negativos (figura 3).

Las comparaciones múltiples de rangos de Kruskal-Wallis del CP1 sugiere que las procedencias de Pinotepa de Don Luis, Tataltepec, el Zarzal, Colotepec y Pochutla se diferenciaron en cuanto a los parámetros germinativos

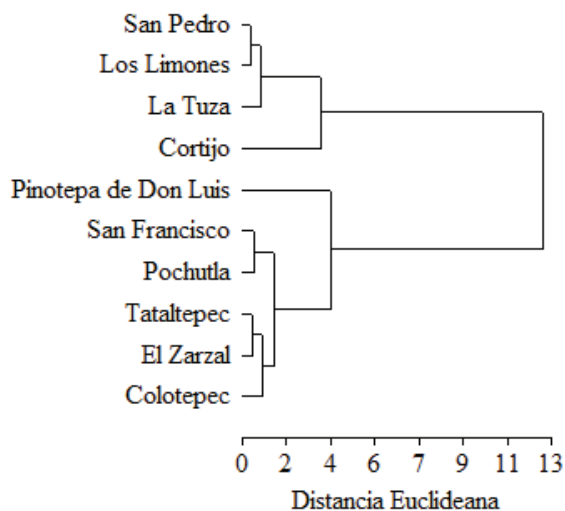


Figura 3. Agrupamiento de 10 procedencias de *Enterolobium cyclocarpum* de la región Costa de Oaxaca, México, utilizando la distancia euclidiana.

Cluster for 10 *Enterolobium cyclocarpum* provenances in the Oaxaca Coast Region, Mexico, using the Euclidean distance.

evaluados de manera conjunta, de las de San Francisco, San Pedro, los Limones, la Tuza y el Cortijo (cuadro 4).

El análisis multivariado indicó que las procedencias se agruparon en dos grandes grupos, el primero formado por las procedencias con mejores resultados en cuanto a los parámetros germinativos evaluados (Pinotepa de Don Luis, San Francisco, Pochutla, Tataltepec, El Zarzal y Colotepec) y, el segundo grupo integrado por las procedencias con los resultados más bajos (San Pedro, Los Limones, La Tuza y El Cortijo). Dentro de cada uno de estos dos grupos se destacó una procedencia, la de Pinotepa de Don Luis dentro del primer grupo por presentar los mejores resultados, y del segundo grupo la del Cortijo por presentar los resultados más bajos, lo que concuerda con los análisis univariados (figura 3).

Asociación entre los parámetros germinativos y las variables geográficas. No se encontró asociación entre los parámetros germinativos y las variables geográficas (altitud, latitud y longitud) de las diez procedencias evaluadas de *E. cyclocarpum* ($P \leq 0,05$).

Asociación entre los parámetros germinativos y las variables climáticas. La asociación entre la capacidad germinativa de las semillas de *E. cyclocarpum* y la proporción de precipitación que ocurre durante el verano en cada una de las procedencias de recolecta de la especie fue positiva y significativa ($r = 0,71$, $P = 0,0216$; cuadro 5, figura 4); es decir, entre mayor fue la proporción (respecto a la precipitación total) de lluvia que cae durante la estación de crecimiento, mayor fue la capacidad germinativa. De la misma manera, existió asociación positiva y significativa entre la germinación media diaria y la precipitación que cae durante los meses de abril a septiembre, en la estación de crecimiento ($r = 0,66$, $P = 0,0382$, cuadro 5, figura 4).

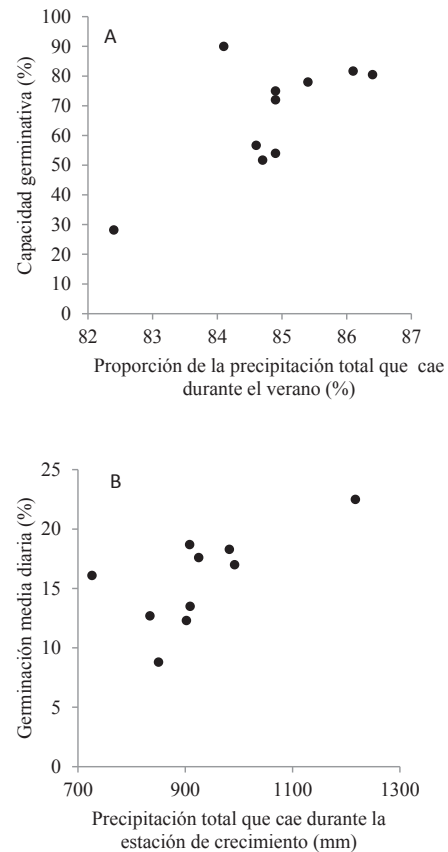


Figura 4. Relación entre A) la capacidad germinativa y la proporción de precipitación que cae durante el verano y B) la germinación media diaria y la precipitación que cae durante la estación de crecimiento en 10 procedencias de *Enterolobium cyclocarpum* de la región costa de Oaxaca, México.

Relationship between A) the germinative capacity and proportion of precipitation that falls during the summer and B) the mean daily germination and total precipitation in the growing season.

Cuadro 5. Coeficiente de correlación de Pearson (r) de la asociación entre los parámetros germinativos y las variables climáticas en 10 procedencias de *Enterolobium cyclocarpum* de la región costa de Oaxaca, México.

Pearson's correlation coefficient (r) of the relationship between the germination parameters and climatic variables of the 10 *Enterolobium cyclocarpum* provenances in the Oaxaca Coast Region, Mexico.

Variable	Variable climática										
	TMA	TMAX	TMIN	PMA	PTC	GD5	GDPH5	IAA[3]	IAA[4]	IAV	PPV
CG	-0,43ns	-0,32ns	-0,11ns	0,45ns	0,42ns	-0,34ns	-0,34ns	-0,32ns	-0,30ns	-0,26ns	0,71*
VP	-0,50ns	-0,43ns	-0,20ns	0,41ns	0,46ns	-0,45ns	-0,45ns	-0,34ns	-0,31ns	-0,34ns	0,61ns
GMD	-0,39ns	-0,26ns	0,09ns	0,61ns	0,66*	-0,29ns	-0,30ns	-0,55ns	-0,54ns	-0,30ns	0,48ns
VG[1]	-0,32ns	-0,47ns	-0,14ns	0,57ns	0,61ns	-0,51ns	-0,51ns	-0,50ns	-0,46ns	0,40ns	0,39ns
VG[2]	-0,46ns	-0,34ns	-0,08ns	0,45ns	0,50ns	-0,37ns	-0,36ns	-0,38ns	-0,36ns	-0,25ns	0,59ns

CG = capacidad germinativa, VP = valor pico, GMD = germinación media diaria, VG[1] = vigor germinativo [1], VG[2] = vigor germinativo [2], TMAX: temperatura máxima, TMIN: temperatura mínima, TMA: temperatura media anual, PMA: precipitación media anual, PTC: precipitación total en la estación de crecimiento GD5: grados días $>5^{\circ}\text{C}$, GDPH5: grados días $>5^{\circ}\text{C}$ en el periodo libre de heladas, IAA[3]: índice anual de aridez [3], IAA[4]: índice anual de aridez [4], IAV: índice de aridez en verano [5], PPV: proporción de la precipitación total que cae durante el verano [6], * = $P < 0,05$, ns = no significativo.

DISCUSIÓN

Variación geográfica de la germinación. Bertsch (1985) encontró un patrón similar en las curvas de germinación de semilla de esta misma especie, pero de procedencias de Costa Rica y germinadas en vivero, aunque las semillas germinaron a partir de la segunda semana de sembradas, e independientemente de las procedencias la capacidad máxima de germinación ocurrió en la tercera semana. La diferencia en el tiempo de germinación entre lo determinado en el presente trabajo y lo reportado por Bertsch (1985) puede ser que la germinación en este trabajo se evaluó en el laboratorio, con condiciones más controladas que en el vivero. También puede ser que el experimento de Bertsch (1985) se realizó sembrando las semillas en sustrato, por lo que no se pudo observar cuándo realmente se inició la germinación, solo hasta que las plántulas fueron visibles al emerger del sustrato, aunque se desconoce la profundidad a la que fue sembrada la semilla.

No es sorprendente la variación encontrada de los parámetros germinativos a nivel de procedencias debido a la amplia distribución de la especie a lo largo de la costa de Oaxaca, México, la que debe estar relacionada con la variación ambiental en las procedencias evaluadas. Diversos trabajos en plantas, reportan variación entre procedencias en parámetros germinativos (Bertsch 1985, Davidson *et al.* 1996, Benowicz *et al.* 2000, 2001, Juárez-Agis *et al.* 2006, Mápula-Larreta *et al.* 2008). La variación encontrada en el presente trabajo puede ser de origen genético, sin embargo, también se puede deber a factores ambientales, causados por condiciones locales en donde se desarrolló y maduró la semilla (Mamo *et al.* 2006). La baja germinación que mostró la procedencia del cortijo puede tener repercusiones en la regeneración, ocasionando que esta sea escasa, lo que en consecuencia puede provocar problemas en la permanencia y conservación de la procedencia en un futuro.

Al igual que en este estudio, Davidson *et al.* (1996), Bertsch (1985), Juárez-Agis *et al.* (2006) y Mamo *et al.* (2006) encontraron diferencias significativas entre procedencias para la capacidad germinativa en *E. cyclocarpum*, *Abies amabilis*, *Pseudotsuga menziesii* y *Juniperus procera* Endl., respectivamente; mientras que Mápula-Larreta *et al.* (2008) reportaron diferencias significativas entre procedencias para el vigor germinativo en *P. menziesii* y Benowicz *et al.* (2000, 2001) en la capacidad germinativa, valor pico y valor germinativo de *Alnus sinuata* y *Betula papyrifera*.

Asociación entre los parámetros germinativos y las variables geográficas. La falta de asociación entre los parámetros germinativos y las variables geográficas indica que la altitud, latitud y longitud de origen de las semillas de *E. cyclocarpum* de la Costa de Oaxaca, México no tienen efecto y no definen algún gradiente sobre los parámetros germinativos evaluados. Lo anterior coincide con

lo reportado en *A. amabilis*, *P. menziesii* y *J. procera*, en los que no se encontró asociación significativa entre la capacidad germinativa y las variables geográficas (Davidson *et al.* 1996, Juárez-Agis *et al.* 2006, Mamo *et al.* 2006).

Asociación entre los parámetros germinativos y las variables climáticas. En cuanto a la asociación positiva significativa entre la capacidad germinativa de las semillas de *E. cyclocarpum* y la proporción de precipitación que cae durante el verano, y entre la germinación media diaria y la precipitación total que cae en la estación de crecimiento, Bertsch (1985) menciona que posiblemente la capacidad germinativa de semilla de *E. cyclocarpum* sea mayor en lugares o zonas donde la precipitación es mayor. *E. cyclocarpum* es una especie estacional y de manera natural habita lugares caracterizados por alternar periodos de sequía con el de lluvias, por lo que la semilla de esta especie debe aprovechar el periodo del año en que cae mayor proporción de precipitación para completar la germinación.

En especies de clima templado frío se ha encontrado que los parámetros de germinación están fuertemente asociados a los regímenes de temperatura de los sitios de recolección de semillas (Benowicz *et al.* 2001). Sin embargo, en el caso de *E. cyclocarpum*, una especie tropical que crece sin presencia de heladas, deja de tener relevancia mayor la temperatura, y toma importancia la precipitación.

Otro factor que puede estar influyendo en la diferenciación de las procedencias y que no fue evaluado en el presente trabajo es el efecto materno de las semillas. Existen evidencias que indican que efectos maternos, como la posición de la semilla en el fruto y del fruto en el árbol, la edad del árbol madre, y el tamaño de la semilla influyen en la germinación de la semilla (Guterman 2000). Como las semillas fueron recolectadas en bosques naturales de la especie, es de esperar que los árboles madres no fueran de la misma edad.

CONCLUSIONES

La germinación de *Enterolobium cyclocarpum* evaluada por los parámetros germinativos difiere entre procedencias (entre 28 y 90 %). En las procedencias que presentan bajo porcentaje de germinación, posiblemente en un futuro pueden presentar problemas en su repoblación. La procedencia que muestra los mayores valores de los parámetros germinativos evaluados fue la de Pinotepa de Don Luis. Las variables geográficas del origen de las semillas no tienen efecto sobre los parámetros germinativos. En cambio, la precipitación que cae durante el periodo de crecimiento influye en la capacidad germinativa y germinación media diaria; esta asociación muestra que, a mayor precipitación, mayor capacidad germinativa y mayor germinación media diaria de semillas de *E. cyclocarpum* en la costa de Oaxaca, México.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a René Robles Silva y María Luisa Hernández Hernández por la donación y recolecta de semillas.

REFERENCIAS

- Benítez-Badillo G, MT Pulido-Salas, M Equihua-Zamora. 2004. Árboles multiusos nativos de Veracruz para reforestación: restauración y plantaciones. Xalapa, Veracruz, México. Instituto de Ecología, A.C. SIGOLFO, Comisión Nacional Forestal. 288 p.
- Benowicz A, YA El-Kassaby, RD Guy, CC Ying. 2000. Sitka Alder (*Alnus sinuata* Rydb): genetic diversity in germination, frost hardiness and growth attributes. *Silvae Genetica* 49(4-5): 206-212.
- Benowicz A, R Guy, MR Carlson, YA El-Kassaby. 2001. Genetic variation among paper birch (*Betula papyrifera* Marsh.) populations in germination, frost hardiness, gas exchange and growth. *Silvae Genetica* 50(1): 7-13.
- Bertsch CS. 1985. Germinación y crecimiento del guanacaste *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb en vivero y en el campo. Tesis Licenciada en Biología. San José, Costa Rica. Facultad de Ciencias, Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. 68 p.
- Buch-Texaj MS. 1999. Evaluación de la germinación de semillas pretratadas de *Caesalpinia velutina* (Britt. et Rose) Standl (Aripin), *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. (Leucaena) y *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. (conacaste) almacenadas a dos temperaturas. Tesis Ingeniero Agrónomo. Guatemala, Guatemala. Facultad de Agronomía, Instituto de Investigaciones Agronómicas, Universidad San Carlos de Guatemala. 70 p.
- Cano-Hernández A, S Romero-Guillot. 2012. Uso alimentario y prácticas culinarias del guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum*) en el municipio de Santa María Huatulco, Oaxaca. *Ciencia y Mar* 16(48): 37-43.
- CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CR). 1997. Biología de semillas forestales. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 32 p. (Material de Enseñanza No. 36).
- Crookston N. 2006. Research on forest climate change: Potential effects of global warming on forests and plant climate relationships in western North America and Mexico. Consultado 15 de ene. 2013. Disponible en <http://forest.moscowfsl.wsu.edu/climate/customData/>
- Czabator FJ. 1962. Germination value: An index combining speed and completeness of pine seed germination. *Forest Science* 8(4): 386-396.
- Davidson RH, DGW Edwards, O Sziklai, YA El-Kassaby. 1996. Genetic variation in germination parameters among populations of pacific silver fir. *Silva Genetica* 45(2-3): 165-171.
- Di Rienzo JA, F Casanoves, MG Balzarini, L Gonzalez, M Tablada, CW Robledo. 2015. InfoStat versión 2015. Consultado 21 de dic. 2015. Disponible en <http://www.infostat.com.ar>
- Djavanshir K, H Pourbeik. 1976. Germination value – a new formula. *Silvae Genetica* 25(2): 79-83.
- Espejel I, E Martínez. 1979. El guanacaste. Jalapa, Veracruz, México. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Botánicos. 4 p. (Comunicado 33).
- Flores-Flores C, J López-Upton, S Valencia-Manzo. 2014. Manual técnico para el establecimiento de ensayos de procedencias y progenies. Zapopan, Jalisco, México. Comisión Nacional Forestal. 152 p.
- Ginwal HS, SS Phartyal, PS Rawat, RL Srivastava. 2005. Seed sources variation in morphology, germination and seedling growth of *Jatropha curcas* Linn. in Central India. *Silvae Genetica* 54(2): 76-80.
- Guterman Y. 2000. Maternal effects on seeds during development. In Fenner M ed. Seeds: The ecology of regeneration in plant communities. Wallingford, UK. CAB International. p. 27-59.
- Juárez-Agis A, J López-Upton, JJ Vargas-Hernández, C Sáenz-Romero. 2006. Variación geográfica en la germinación y crecimiento inicial de plántulas de *Pseudotsuga menziesii* de México. *Agrociencia* 40(6): 783-792.
- Mamo N, M Mihretu, M Fekadu, M Tigabu, D Teketay. 2006. Variation in seed and germination characteristic among *Juniperus procera* populations in Ethiopia. *Forest Ecology and Management* 225: 320-327.
- Manzanilla BH, M Martínez D, A Moreno M. 2001. Monografías de especies nativas promisorias para el establecimiento de plantaciones comerciales en Jalisco cedro rojo y rosa morada. Guadalajara, México. Programa de Desarrollo Forestal de Jalisco. 57 p. (Documento Técnico 31).
- Mápula-Larreta M, J López-Upton, JJ Vargas-Hernández, A Hernández-Livera. 2008. Germinación y vigor de semillas en *Pseudotsuga menziesii* de México. *Ra Ximhai* 4(1): 119-134.
- Sáenz-Romero C, R Guzmán-Reyna, GE Rehfeldt. 2006. Altitudinal genetic variation among *Pinus oocarpa* populations in Michoacán, México; implications for seed zoning, conservation of forest genetic resources, tree breeding and global warming. *Forest Ecology and Management* 229(1-3): 340-350.
- Sáenz-Romero C, GE Rehfeldt, NL Crookston, D Pierre, R St-Amant, J Beaulieu, B Richardson. 2010. Contemporary and projected spline climate surfaces for Mexico and their use in understanding climate-plant relationships. *Climatic Change* 102: 595-623.
- SAS Institute Inc. 2004. SAS/STAT 9.1 User's Guide. North Carolina, USA. SAS Institute Inc. Cary.
- Serratos-Arévalo JC. 2001. Extracción y caracterización de proteínas de la almendra de las semillas maduras de *Enterolobium cyclocarpum* para su aprovechamiento alimenticio. Tesis Doctor en Ciencias. Colima, México. Posgrado Interinstitucional en Ciencias Pecuarias. Universidad de Colima. 67 p.
- Trindade-Lessa BF da, JP Nobre-de Almeida, C Lobo-Pinheiro, F Melo-Gomes, S Medeiros-Filhos. 2015. Germinación y crecimiento de plántulas of *Entelobium contortisiliquum* en función del peso de la semilla y las condiciones de temperatura y luz. *Agrociencia* 40(3): 315-327.
- Tuhkanen S. 1980. Climatic parameters and indices in plant geography. *Acta Phytogeographica Suecica* 67: 1-105.
- Vázquez-Yanez C, AI Batis-Muñoz, MI Alcocer-Silva, M Gual-Díaz, C Sánchez-Dirzo. 1999. Árboles y arbustos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. México DF, México. CONABIO. 13 p. (Reporte técnico del proyecto J084).
- Viveros-Viveros H, JD Hernández-Palmeros, MV Velasco-Gar-

cía, R Robles-Silva, C Ruiz-Montiel, A Aparicio-Rentería, M de J Martínez-Hernández, J Hernández-Villa, ML Hernández Hernández. 2015. Análisis de semillas, tratamientos pregerminativos de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Gri-

seb. y su crecimiento inicial. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 30: 52-65.

Zobel B, J Talbert. 1992. Técnicas de mejoramiento genético de árboles forestales. México DF, México. Limusa. 545 p.

Recibido: 09.11.16

Aceptado: 16.03.17

Diversidad genética de *Handroanthus heptaphyllus* a partir de calidad fisiológica de semillas

Genetic diversity of *Handroanthus heptaphyllus* from seed physiological quality

Tamara Mariel Valdovinos ^{*,*}, Rinaldo Cesar de Paula ^b

*Autor de correspondencia: ^a Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP-FCAV), Programa de Pós-graduação em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), Jaboticabal, São Paulo, Brasil, tel.: +55 16-999613883, ta.mariel@hotmail.com

^b Universidade Estadual Paulista, UNESP-FCAV, Jaboticabal, San Pablo, Brasil.

SUMMARY

Handroanthus heptaphyllus (lapacho negro) is one species that stands out for its high economic value, mainly for the high quality of its wood; it is also required for medicinal use, landscaping and urban forestry projects. This study aimed at determining the genetic diversity among *H. heptaphyllus* mother trees from traits of seed physiological quality, evaluated in tests of germination and vigor; and to identify the most influential variables for genetic diversity among trees. The seeds were collected from 25 mother trees, located in the city of Jaboticabal, Sao Paulo, Brazil. In total, 11 traits of physiological quality of seeds, determined by germination, electrical conductivity, accelerated aging and submersion tests, were evaluated. Five replications of 20 seeds were used for each mother tree evaluated. Genetic diversity was assessed using the hierarchical method of Ward and dispersion by Principal Components from the Euclidean Distance calculated between pairs of access. Genetic diversity among the mother trees was expressive. The peak value and electric conductivity were the most effective traits for differentiating trees. The distribution of 25 mother trees in the bi-dimensional plane, from the analysis of the main components, detected the similarities and differences among the trees, based on the evaluated traits, and was consistent with the clusters formed with the Ward's method. The peak value, synchronization index and seedlings length were the variables with higher diversity. This result allows the identification of mother trees for seed collection, supporting conservation programs and genetic improvement of this species.

Key words: germination and vigor, clusters analysis, breeding, conservation.

RESUMEN

Handroanthus heptaphyllus (lapacho negro) es una especie arbórea de alto valor económico, principalmente por la calidad de su madera; además tiene uso medicinal y en proyectos paisajísticos para arborización urbana. El presente trabajo tuvo como objetivos determinar la variabilidad genética entre árboles de *H. heptaphyllus* a partir de caracteres de calidad fisiológica de semillas, evaluados en ensayos de germinación y vigor; e identificar las variables más influyentes para la diversidad genética entre árboles. Las semillas fueron recolectadas de 25 árboles madre, localizados en la ciudad de Jaboticabal, San Paulo, Brasil. Se evaluaron 11 caracteres de calidad fisiológica de semillas, mediante ensayos de germinación, conductividad eléctrica, envejecimiento acelerado e inmersión. Se utilizaron cinco repeticiones de 20 semillas por cada árbol madre. La diversidad genética se evaluó utilizando el método jerárquico de Ward y la dispersión por componentes principales, a partir de la distancia euclidiana calculada entre los pares de accesos. La variabilidad genética entre los árboles resultó expresiva. El valor pico y la conductividad eléctrica fueron las características más efectivas para la diferenciación de los árboles. El análisis de componentes principales detectó semejanzas y diferencias entre los árboles, basadas en las características evaluadas, y se mostró coherente con los agrupamientos del método de Ward. El valor pico de la germinación, el índice de sincronización del proceso germinativo y la longitud de las plántulas fueron las que presentan mayor diversidad. Estos resultados permiten identificar árboles para la recolección de semillas, dando soporte a programas de conservación y mejoramiento genético de la especie.

Palabras clave: germinación y vigor, análisis de agrupamiento, mejoramiento, conservación.

INTRODUCCIÓN

Handroanthus heptaphyllus (Mart.) Mattos (lapacho negro) es una especie arbórea de la familia Bignoniaceae, de alto valor económico. Además, se destaca su importan-

cia ecológica y sus propiedades medicinales. Su madera de alta calidad es utilizada para la construcción civil y naval. Bastante común en proyectos de paisajismo y arborización urbana, debido a su intensa floración de color rosa (Carvalho 2003). Por causa de su crecimiento relativamente rápi-

do, es indicada para sistemas agroforestales y silvicultura industrial (CNCFlora 2012). Es una especie que se adapta a diversos tipos de suelo y clima (Tonetto *et al.* 2015) y con distribución natural en Brasil, Uruguay (Grings y Brack 2011), Paraguay, Argentina y Bolivia (Gentry 1992). Informaciones sobre manejo y/o análisis de semillas de esta especie son necesarias, para que puedan ser caracterizados sus atributos fisiológicos y su variabilidad genética.

La obtención de semillas de especies forestales constituye una parte indisociable del proceso de producción de plantas, y esta producción tiene diversas finalidades y aplicaciones, como ser, conservación *ex situ* por medio del establecimiento y la manutención de bancos de germoplasma, investigación científica, mejoramiento de especies nativas para uso comercial o extractivo, prácticas de restauración ecológica, paisajismo, arborización urbana y uso ornamental (Martins 2012).

Es fundamental utilizar lotes de semillas genéticamente diversos, para proveer suficiente variación, y que sean adaptadas a la ecología de las diferentes regiones (Broadhurst *et al.* 2006), sobre todo, considerando que el potencial adaptativo y evolutivo de las poblaciones, es dependiente, en gran medida, del nivel de variabilidad genética (Ribeiro y Rodrigues 2006). Por otro lado, a menudo, se desconoce la estructura genética de las poblaciones que son fuentes de semillas (Martins 2012). La falta de atención, en cuanto a la base genética, puede provocar el llamado “efecto fundador” y pérdida de diversidad por deriva genética, en poblaciones establecidas por regeneración artificial (Giudice-Neto *et al.* 2005).

La calidad fisiológica de las semillas puede ser definida por dos características diferentes: la germinación y el vigor de semillas (Labouriau 1983, Marcos Filho 1999). La germinación, evaluada en ensayos de germinación, busca determinar el máximo potencial germinativo de un lote de semillas, bajo condiciones medio ambientales consideradas óptimas. El vigor de semillas, coloca en evidencia, algunos atributos más sutiles de la calidad fisiológica, los cuales no logran ser detectados en los ensayos de germinación, por consiguiente, el vigor es determinado en condiciones ambientales desfavorables o bajo la deficiencia de alguna función bioquímica o fisiológica. Por consiguiente, los ensayos de vigor son usados en distintas etapas de los programas de producción de semillas, siendo útiles para evaluar el potencial fisiológico de lotes con germinación semejante, seleccionar lotes para siembra, determinar la calidad fisiológica y como auxilio para los métodos de selección durante el mejoramiento de plantas, entre otras (Marcos Filho 1999).

El conocimiento de la diversidad, en las características fisiológicas de las semillas, contribuye al uso adecuado de las mismas, como ejemplo, ayuda a definir las estrategias de recolección, principalmente la selección de árboles madre productores de semillas. Además de contribuir a la conservación y al mejoramiento genético de las especies (Roveri Neto y Paula 2017).

La hipótesis de este trabajo es que existe variabilidad genética entre árboles de *H. heptaphyllus* y que es posible evaluarla por medio de características de las semillas. A base de lo expuesto y a la creciente demanda por semillas en cantidad y calidad adecuada, el objetivo de este estudio es determinar la variabilidad genética entre árboles madre de *H. heptaphyllus* a partir de caracteres de calidad fisiológica de semillas, e identificar los caracteres más influyentes para la diversidad genética entre los árboles.

MÉTODOS

Para el desarrollo de este trabajo fueron utilizadas semillas de *H. heptaphyllus* provenientes de frutos en inicio de dehiscencia, que mostraban las primeras aperturas, pero todavía sin presentar dispersión de semillas. Los frutos fueron recolectados de 25 árboles, conformados por árboles remanentes y plantados, localizados en la Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias de la Universidad Estadual Paulista (FCAV-UNESP), Campus de Jaboticabal, y en áreas urbanas de la ciudad de Jaboticabal, en septiembre del 2014. La selección de los árboles se basó en la presencia abundante de frutos y se respetó una distancia de 20 m entre los árboles seleccionados, esto para disminuir la posibilidad de cruzamientos relacionados. Sin embargo, considerando el sistema de cruzamiento de *H. heptaphyllus*, en que, debido a la ocurrencia de cruzamientos correlacionados, ocurre un aumento de la coancestría dentro de las progenies, Mori *et al.* (2015) recomiendan, para fines de mejoramiento, conservación o recuperación de áreas degradadas, recolectar semillas de, al menos, 49 árboles, para obtener un tamaño efectivo (N_e) de 150.

Los frutos fueron recolectados directamente de los árboles, con ayuda de una podadora aérea. Enseguida se colocaron dentro de fundas plásticas, y fueron llevadas al Vivero Experimental de Plantas Ornamentales y Forestales de la FCAV-UNESP, donde pasaron por un proceso de secado natural. Luego de completarse la abertura natural de los frutos, las semillas fueron extraídas de forma manual, colocadas en bolsas de papel, debidamente identificadas e inmediatamente llevadas para el Laboratorio de Semillas y Mejoramiento Forestal, de la FCAV-UNESP, donde fueron beneficiadas y utilizadas para la realización de los ensayos de calidad fisiológica (germinación y vigor).

Para analizar la germinación, las semillas de cada árbol fueron colocadas en cajas de plástico transparente, de 11 x 11 x 3,5 cm, con tapa, sobre dos hojas de papel filtro humedecidas con agua destilada (volumen de agua equivalente a 2,5 veces el peso del papel), siguiendo las recomendaciones de las Reglas para Análisis de Semillas (Brasil 2009). El experimento de germinación fue realizado en cámaras verticales, tipo B.O.D., a 25 °C y fotoperiodo de 8 h. Se registró diariamente el número de semillas germinadas, y se adoptó como criterio de germinación, a la formación de raíz primaria con largo igual o mayor a 0,5 cm, para el cálculo del índice de velocidad de germinación (IVG). Al

final de este ensayo, que tuvo una duración de 21 días, fueron calculados: porcentaje de germinación (G); índice de velocidad de germinación (IVG), según Maguire (1962); valor pico de la germinación (VP) –que corresponde al valor máximo de la razón entre el porcentaje de germinación acumulada y el número de días necesarios para alcanzarla (Czabator 1962); valor germinativo (VG) –resultado del producto entre el valor pico y la germinación media diaria (GMD - razón entre el total de semillas germinadas y el número total de días (duración) del ensayo de germinación), conforme Czabator (1962) y el índice de sincronización (E) utilizando la siguiente expresión (Labouriau 1983):

$$\bar{E} = -\sum_{i=1}^k f_i \cdot \log_2(f_i) \text{ siendo } f_i = \frac{n_i}{\sum_{i=1}^k n_i} \quad [1]$$

Donde f_i : frecuencia relativa de la germinación; k: último día de observación y n_i : número de semillas germinadas en el día i.

Al final del ensayo de germinación se determinó el porcentaje de plántulas normales (PN) y anormales (PA) –relación entre el número de plántulas con y sin las estructuras esenciales perfectas, respectivamente, y el número de semillas colocadas para germinar; y también se midió la longitud de plántulas (CP, mm) en todas las plántulas normales de cada repetición/tratamiento.

Para el ensayo de envejecimiento acelerado (GEA) se utilizaron cajas de plástico transparente (11 x 11 x 3,5 cm), con tapa, conforme el método “gerbox” descrito por Marcos Filho (1999), con 40 mL de agua destilada en su interior. Las semillas se colocaron encima de una tela de aluminio, formando una camada uniforme, y la tela fue acomodada dentro de las cajas, encima del nivel del agua. Las cajas tapadas fueron colocadas en germinadores verticales tipo B.O.D. regulados a 45 °C, por 72 h (tiempo determinado en ensayos preliminares, conducidos por 24, 48, 72 y 96 h). Una vez transcurridas las 72 h, las muestras de semillas fueron colocadas para germinar bajo las mismas condiciones descritas anteriormente, y luego de 14 días, se registró el porcentaje de germinación (GEA) de las semillas envejecidas.

El experimento de conductividad eléctrica (CE) se realizó a 25 °C, utilizando cinco repeticiones de 20 semillas por árbol madre, con las semillas inmersas en 75 mL de agua destilada ($\leq 2,5 \mu\text{S cm}^{-1}$ de conductividad) durante 48 h (tiempo determinado en ensayos preliminares, en que se evaluaron diferentes períodos de inmersión por 24, 48, 72, 96 y 120 h). La conductividad eléctrica de la solución fue medida usando un conductímetro de mesa, con constante 1,0. Se pesaron todas las repeticiones en una balanza analítica (0,0001 g). Los resultados de la lectura de la conductividad fueron divididos por los respectivos valores de masa fresca (g) de semillas, y los valores fueron expresados en $\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ de semillas.

Para el ensayo de inmersión (GTS) se utilizaron las semillas provenientes del ensayo de conductividad eléctrica,

donde estas semillas permanecieron sumergidas en 75 mL de agua destilada a 25 °C, durante 120 h. Transcurrido este tiempo, las semillas fueron retiradas del agua y colocadas para germinar conforme a procedimientos descritos anteriormente. Luego de 14 días, contados desde el inicio del experimento de germinación, se registró el porcentaje de semillas con desarrollo de raíz primaria (GTS).

El diseño experimental utilizado fue bloques completos al azar con 25 tratamientos (árboles madre) y cinco repeticiones de 20 semillas. Los datos se sometieron a la prueba de normalidad de Lilliefors (Cruz 2001). Y como siete características no alcanzaron la normalidad, se aplicó la transformación logarítmica [$\text{Log}(x+1)$] en los valores de velocidad de germinación, valor pico y valor germinativo, y la transformación raíz cuadrada [$\sqrt{X+0,5}$] en los valores de porcentaje de plántulas normales y anormales, y germinación de las semillas envejecidas y sumergidas; donde X representa las respectivas características, sin embargo, en los cuadros de resultados están presentados los datos originales (sin transformar), para facilitar la interpretación de los mismos. También se realizó la prueba de Bartlett para verificar la homogeneidad entre las varianzas. Para verificar la existencia de variabilidad genética entre los árboles estudiados, con los valores de las variables se realizó un análisis de varianza y las medias fueron agrupadas por la prueba de Scott y Knott a 5 % de probabilidad. Adicionalmente se estimaron los coeficientes de correlación de Pearson entre todas las características evaluadas en los diferentes ensayos.

Para agrupar los árboles madre más similares e identificar los principales caracteres para la divergencia genética, se realizó un análisis de los componentes principales y un agrupamiento usando el método jerárquico de Ward. Para el método de Ward, la medida de disimilitud fue la distancia euclidiana (Cruz *et al.* 2004), calculada en base a las medias estandarizadas de cada carácter evaluado por árbol madre. Se tomó como punto de corte del eje horizontal del dendrograma, a la media de las distancias euclidianas.

La importancia de las características para estudio de la divergencia genética, se determinó mediante el análisis de componentes principales, de esta manera, se estimaron los valores propios (varianza asociada a cada componente principal) a partir de las raíces características de la matriz R (matriz de correlación) y los vectores propios (conjunto de coeficientes de ponderación de los componentes principales) a partir de los elementos de los vectores característicos correspondientes. Para identificar la importancia relativa de cada variable, se consideró como de menor importancia, a aquellas variables de mayor vector propio (en valor absoluto) a partir del último componente hasta aquel cuyo valor propio no excedía 0,70, según las recomendaciones de Cruz *et al.* (2004).

Para los métodos de Ward y componentes principales se utilizó el paquete estadístico STATISTIC (2011), versión 10.0, los demás análisis estadísticos se realizaron con el GENES (Cruz 2001).

RESULTADOS

El análisis de varianza de los 25 árboles detectó diferencias estadísticas ($P > 0,01$) en todas las variables (cuadro 1). En lo referente al coeficiente de variación (CV), se encontraron valores entre 12,2 % a 21,6 %, presentando

mayores coeficientes de variación las variables: índices de sincronización (21,6 %), porcentaje de plántulas normales (20,5 %) y anormales (20,5 %). De todas las variables, el valor pico (VP) y la conductividad eléctrica (CE) resultaron más efectivas para diferenciar los 25 árboles madre, ya que formaron siete y seis grupos de medias, respecti-

Cuadro 1. Valores de F, coeficientes de variación experimental (CV), media general (Media) y comparación de medias de porcentaje de germinación (G), índice de velocidad de germinación (IVG), valor pico (VP), valor germinativo (VG), índice de sincronización informacional (E), longitud de plántulas (CP), porcentaje de plántulas normales (PN) y anormales (PA) del ensayo de germinación; porcentaje de germinación del ensayo de inmersión (GTS), envejecimiento acelerado (GEA) y conductividad eléctrica de masa (CE) evaluados en semillas de 25 árboles madre de *Handroanthus heptaphyllus*.

F values, experimental variation coefficients (CV), overall average (Mean) and comparison of average for percentage of germination (G), germination speed index (IVG), peak value (VP) germination value (VG) and informational entropy (E), seedlings length (CP), percentage of normal seedlings (PN) and abnormal (PA), of germination test; germination percentage in submersion (GTS), accelerated aging test (GEA) and mass electrical conductivity (CE) evaluated in seeds of 25 in mother trees of *Handroanthus heptaphyllus*.

	G (%)	IVG	VP	VG	E	CP(mm)	PN (%)	PA (%)	GTS (%)	GEA (%)	CE (µS, cm g ⁻¹)
Valor F	27,34**	18,99**	19,08**	23,76**	4,22**	3,44**	8,78**	5,73**	10,71**	19,61**	16,06**
CV (%)	18,6	17,8	12,9	16,8	21,6	17,1	20,5	20,5	17,7	12,2	13,2
Media	49	1,63	5,58	16,24	2,13	76,42	24	29	26	42	249,28
Madre	Medias										
1	73a	2,21b	8,36b	31,01a	2,38a	93,06a	45a	32b	39b	74a	180,05e
2	27d	1,10c	3,23e	4,95d	1,79b	81,54a	20c	15c	15c	22d	303,62c
3	78a	2,58a	8,78b	34,24a	2,58a	76,24a	42a	32b	48a	65a	184,30e
4	75a	3,00a	10,95a	39,96a	2,21a	82,46a	35b	41a	34b	53b	249,18d
5	75a	3,00a	10,38a	37,17a	2,13a	83,68a	51a	26b	53a	75a	133,79f
6	47c	1,31c	4,55d	10,59b	2,30a	67,48b	26b	27b	17c	49b	263,78c
7	33c	1,09c	3,58e	6,35c	2,06a	74,32a	18c	19c	17c	33c	266,86c
8	23d	0,71d	2,69f	3,19d	1,61b	46,86c	9d	20c	16c	24d	306,87c
9	51b	1,66b	5,49c	13,45b	2,47a	60,66c	25b	30b	22c	32c	235,42d
10	39c	1,30c	4,44d	8,28c	2,22a	56,00c	18c	29b	15c	20d	283,33c
11	60b	2,22b	7,57b	22,48a	2,25a	82,86a	35b	31b	40a	67a	211,04d
12	76a	2,46a	7,80b	29,11a	2,59a	83,08a	46a	33b	37b	56b	173,23e
13	26d	1,01c	3,47e	5,91d	1,43b	81,90a	10d	20c	17c	18e	280,39c
14	40c	0,97c	3,31e	6,84c	2,16a	70,48b	16c	29b	25c	37c	253,45d
15	60b	1,86b	6,13c	17,54b	2,66a	69,14b	25b	43a	23c	43b	218,42d
16	37c	0,82d	2,64f	4,86d	2,32a	89,94a	11d	36b	9d	31c	233,50d
17	29d	0,63d	2,26f	3,23d	1,81b	77,28a	16c	16c	22c	32c	236,34d
18	16d	0,40d	1,32g	0,97e	1,47b	70,14b	12d	11c	7d	22d	355,75b
19	72a	2,75a	10,10a	34,98a	2,26a	82,44a	35b	40a	35b	66a	210,97d
20	74a	2,39a	7,73b	27,30a	2,47a	77,28a	22c	55a	28b	61a	275,60c
21	69a	2,51a	7,83b	26,46a	2,45a	77,72a	26b	44a	29b	46b	224,62d
22	17d	0,77d	3,04e	3,71d	1,38b	84,60a	8d	10c	16c	14e	399,93a
23	24d	0,76d	3,10e	4,27d	1,30b	76,74a	7d	12c	10d	13e	314,74c
24	65b	1,71b	5,27c	16,91b	2,79a	72,06b	28b	43a	45	44b	238,84d
25	45c	1,56b	5,41c	12,10b	2,15a	92,62a	13d	32b	32b	44b	197,95e

** $P < 0,01$ - valor significativo para la prueba F. Medias seguidas por la misma letra en la columna, no difieren entre sí según la prueba de Scott-Knott ($P > 0,05$).

vamente. En contraste, el índice de sincronización (E) no discriminó bien los árboles. Las medias de valor pico variaron de 1,32 (madre 18) a 10,95 (madre 4) y las de conductividad eléctrica de 133,79 (madre 5) a 399,93 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ (madre 22), así, ambas variables mostraron amplia variación. La germinación tras el envejecimiento acelerado (GEA) y el valor germinativo (VG), dividieron los árboles madre en cinco grupos, con medias que variaron de 13 % (madre 23) a 75 % (madre 5) y de 0,97 (madre 18) a 39,96 (madre 4), respectivamente. Cuatro variables formaron cuatro grupos de árboles madre: la germinación (G) que varió de 16 % (madre 18) a 78 % (madre 3), índice de velocidad de germinación (IVG) cuyas medias fueron de 0,40 (madre 18) a 3,00 (madre 4), porcentaje de plántulas normales (PN) con variación de 7 % (madre 23) a 51 % (madre 5) y la germinación del ensayo de inmersión (GTS) con medias desde 7 % (madre 18) a 53 % (madre 5). La longitud de plántula (CP) y el porcentaje de plántulas anormales (PA) dividieron los árboles en tres grupos, que variaron de 46,86 mm (madre 8) a 93,06mm (madre 1) y de 10 % (madre 22) a 55 % (madre 20), respectivamente. Para el índice de sincronización (E), apenas se formaron dos grupos y las medias variaron de 1,30 (madre 23) a 2,79 (madre 24). Aunque las variables germinación (G), índice de velocidad de germinación (IVG), germinación del ensayo de inmersión (GTS) y porcentaje de plántulas normales (PN) separaron los árboles en igual número de grupos, se encontraron alteraciones en la constitución de los grupos.

Para las estimativas de los coeficientes de correlación se encontraron valores de alta magnitud ($r > 0,70$) para la mayoría de los pares de caracteres, con excepción de la longitud de plántulas (cuadro 2). En general, las caracte-

rísticas evaluadas en el ensayo de germinación presentaron altas estimativas de los coeficientes de correlación entre sí. Como excepción, las correlaciones entre valor pico e índice de sincronización, y las correlaciones entre la variable plántula anormal con plántula normal y con el ensayo de inmersión, que mostraron estimativas moderadas, de 0,50 a 0,70. La conductividad eléctrica mostró correlaciones negativas, moderadas a altas, con todas las características de calidad fisiológica de semillas, indicando una relación inversa entre conductividad y vigor de semillas. Se evidenció una alta correlación entre los ensayos de envejecimiento acelerado y de inmersión; además, una correlación moderada a alta, de ambas, con todos los caracteres evaluados en el ensayo de germinación.

Con el método de Ward se identificaron siete grupos de árboles de *H. heptaphyllus* distribuidos dentro de dos conjuntos mayores (I y II) (figura 1). El conjunto I se integró por los grupos 1 al 5, y el conjunto II por los grupos 6 y 7. Comparativamente al conjunto I, el conjunto II agrupó a los árboles de mayor calidad fisiológica, ya que presentaron medias elevadas para las variables: germinación, índice de velocidad de germinación, valor pico, valor germinativo, porcentaje de plántulas normales y germinación en los ensayos de inmersión y envejecimiento acelerado. Sin embargo, esos árboles se diferenciaron por dos características de desempeño de plántulas: longitud (CP) y desarrollo de plántulas anormales (PA). De ese modo, los árboles del grupo 6 (árboles 24, 15, 21, 20, 19 y 4) se caracterizaron por tener altos porcentajes de plántulas anormales y bajos valores de longitud de plántulas, al contrario de los árboles del grupo 7 (árboles 5, 12, 3, 11 y 1). Dentro del conjunto I, donde fueron agrupados

Cuadro 2. Estimativas de correlaciones entre 11 características de calidad fisiológica de semillas evaluadas en los ensayos de germinación, envejecimiento acelerado, inmersión y conductividad eléctrica, en 25 árboles madre de *Handroanthus heptaphyllus*.

Estimates of correlations between 11 physiological qualities of seed characteristics evaluated in the germination, accelerated aging, electrical conductivity and submersion tests in 25 mother trees of *Handroanthus heptaphyllus*.

	IVG	VP	VG	E	PN	PA	GTS	GEA	CE	CP
G	0,958	0,941	0,980	0,813	0,885	0,811	0,844	0,902	-0,780	0,274
IVG		0,992	0,990	0,711	0,854	0,751	0,836	0,839	-0,719	0,284
VP			0,988	0,672	0,835	0,726	0,834	0,826	-0,707	0,284
VG				0,764	0,865	0,788	0,849	0,870	-0,756	0,276
E					0,689	0,857	0,626	0,720	-0,698	0,041
PN						0,514	0,829	0,877	-0,777	0,249
PA							0,570	0,681	-0,605	0,106
GTS								0,837	-0,769	0,304
GEA									-0,813	0,339
CE										-0,331

G – germinación; IVG – índice de velocidad de germinación; VP – valor pico; VG – valor germinativo; E – índice de sincronización de la germinación; PN – plántulas normales; PA – plántulas anormales; GTS – ensayo de inmersión; GEA – envejecimiento acelerado; CE – conductividad eléctrica; CP – longitud de plántulas.

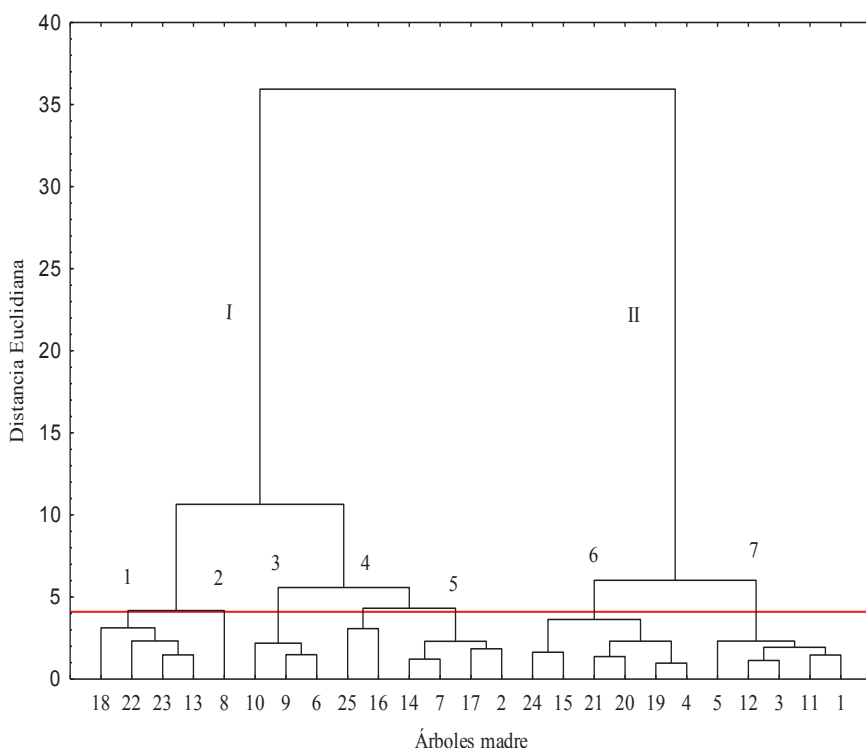


Figura 1. Dendrograma basado en la distancia euclidiana entre 25 árboles madre de *Handroanthus heptaphyllus*, obtenido por el método Ward a partir de 11 caracteres evaluados en los ensayos de germinación, envejecimiento acelerado, inmersión y conductividad eléctrica de semillas. La línea roja representa el “punto de corte” (definido como la media de las distancias entre pares de árboles madre) de los grupos (identificados con números de 1 a 7 encima de la línea roja) pertenecientes a los conjuntos (I y II).

Dendrogram based on the Euclidean distance between 25 mother trees of *Handroanthus heptaphyllus* obtained by Ward’ method based on 11 characters evaluated in the germination test, accelerated aging, submersion and electrical conductivity of seeds. The red line represents the “point cutting” (defined as the mean of the distances between pairs of mother trees) of the groups (identified with numbers 1 through 7 above the red line) belonging to two conglomerates (I and II).

los árboles con semillas de menor calidad, el grupo 1 se formó con los árboles 18, 22, 23 y 13, el grupo 2 se formó solo con el árbol 8, los árboles 10, 9 y 6 formaron el grupo 3, los arboles 25 y 16 el grupo 4 y el grupo 5 se formó con los arboles 14, 7, 17 y 2.

Todos los árboles madre de los grupos 2, 3, 4 y 5, presentan un desempeño germinativo inferior, y algunas diferencias que sobresalen dentro de cada grupo. Los grupos 2 y 3 presentan plántulas de menor longitud, particularmente el árbol madre 8. Los arboles del grupo 4 se distinguen por la longitud de plántulas, aunque tienen altos porcentajes de plántulas anormales y escasas plántulas normales. Los árboles del grupo 5 presentan buen tamaño de plántulas. Entre las características del grupo 1, que son los más contrastantes con el grupo 7, sobresale su baja calidad fisiológica, ya que presentan valores elevados de conductividad eléctrica y menor desempeño germinativo para todas las características evaluadas.

Los dos primeros componentes principales explican 85,3 % de la variación total (cuadro 3; figura 2A).

El primer componente se asoció positivamente con la mayoría de las variables y negativamente con la conducti-

vidad eléctrica (figura 2B), y permitió separar a los arboles madre de mejor calidad fisiológica en el cuarto cuadrante (IV) (figura 2A). El segundo componente principal se relacionó positivamente con el índice de sincronización (E) y el porcentaje de plántulas anormales (PA), y de manera negativa con la longitud de plántulas (figura 2B), por tanto, resultó útil para identificar los árboles madre con bajo desempeño germinativo, de forma desordenada en el tiempo, con plántulas anormales y de alturas menores que se ubicaron en el área izquierda e inferior del gráfico (III) (figura 2A).

Al adoptar el criterio citado por Cruz *et al.* (2004) para identificar los caracteres de menor importancia, es decir, los mayores coeficientes de ponderación en los componentes con valores propios inferiores a 0,70 (cuadro 3, valores subrayados), se evidenció que 14,7 % de la variabilidad contenida en los datos, se concentró entre el tercero y el último componente principal, situación en que ocho, o sea, 73 % de los caracteres resultaron aptos para ser descartados. De acuerdo con estas consideraciones, se determinó eliminar las siguientes variables, en orden de menor importancia: valor germinativo, índice de velocidad de ger-

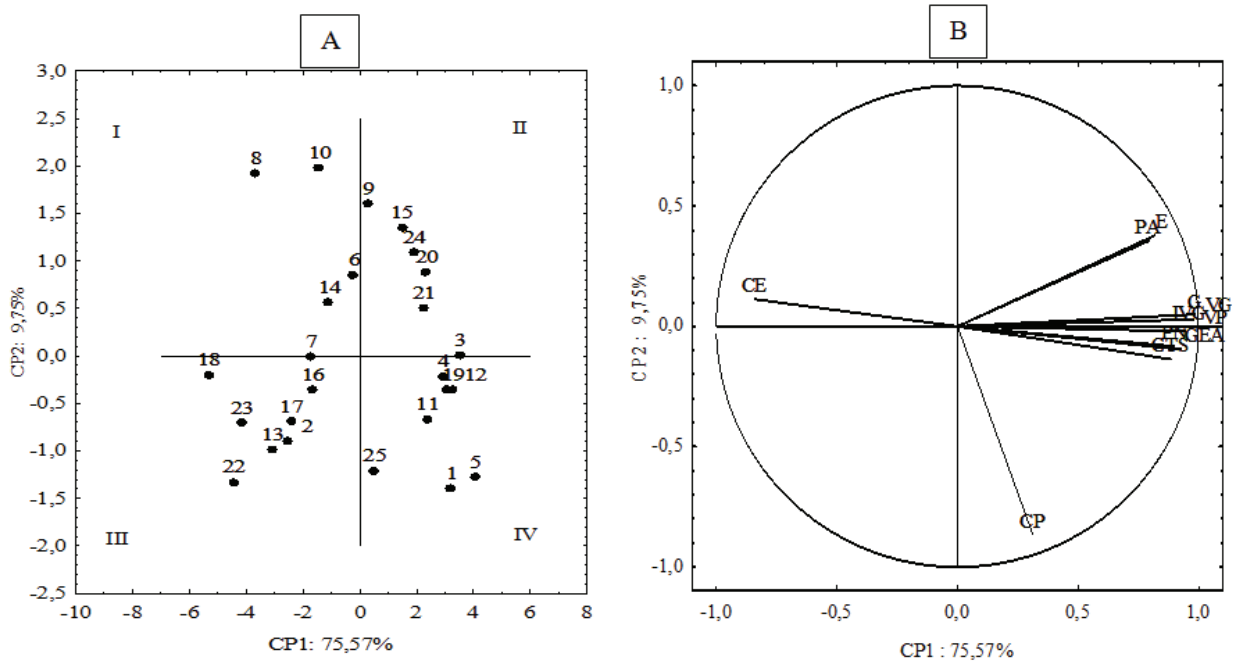


Figura 2. (A) Dispersión grafica de los 25 árboles madre de *Handroanthus heptaphyllus* en relación al primero y al segundo componente principal, establecidos por la combinación lineal de 11 caracteres de calidad de semillas. (B) Correlación de los 11 caracteres que discriminan la posición de los árboles madre, referente a los dos componentes principales (CP1 x CP2).

(A) Graphic dispersion of 25 mother trees of *Handroanthus heptaphyllus* in relation to the first and the second main component established by linear combination of 11 characters of seed quality. (B) Correlations of 11 characters which discriminate the position of the mother trees, referring to the two principal components (CP1x CP2).

Cuadro 3. Valores propios (varianza-v) asociados a los componentes principales (CP) y los respectivos vectores propios para los 11 caracteres evaluados en 25 árboles madre de *Handroanthus heptaphyllus*.

Eigenvalues (variance-v) associated with the principal components (CP) and their eigenvectors for the 11 traits evaluated in 25 mother trees of *Handroanthus heptaphyllus*.

CP	A	AV	Autovector asociado										
			G	IVG	VP	VG	E	PN	PA	GTS	GEA	CE	CP
CP1	8,313	75,575	0,342	0,333	0,328	0,340	0,284	0,312	0,276	0,308	0,322	-0,292	0,108
CP2	1,072	85,325	0,049	-0,001	-0,020	0,028	0,365	-0,080	0,344	-0,133	-0,091	0,109	-0,837
CP3	0,589	90,679	0,019	-0,075	-0,107	-0,030	0,338	-0,409	<u>0,597</u>	-0,306	-0,080	0,009	0,493
CP4	0,468	94,932	-0,110	-0,369	-0,416	-0,268	0,338	0,162	-0,109	0,068	0,214	<u>-0,634</u>	-0,035
CP5	0,204	96,783	0,137	-0,025	-0,112	-0,013	0,335	<u>0,544</u>	-0,206	-0,524	0,204	0,427	0,137
CP6	0,164	98,275	-0,005	-0,196	-0,235	-0,137	0,202	-0,071	0,078	<u>0,666</u>	0,268	0,562	0,066
CP7	0,135	99,503	0,045	-0,085	-0,044	-0,039	-0,469	-0,151	0,230	-0,252	<u>0,780</u>	0,003	-0,138
CP8	0,032	99,793	0,551	-0,156	-0,367	-0,094	-0,400	0,358	0,358	0,069	-0,329	-0,012	-0,001
CP9	0,016	99,938	<u>-0,677</u>	0,220	0,031	-0,231	-0,135	0,470	0,439	0,054	-0,044	0,029	0,029
CP10	0,006	99,997	-0,157	<u>-0,780</u>	0,390	0,403	-0,050	0,171	0,123	0,007	-0,062	0,030	0,018
CP11	0,000	100,000	0,246	-0,141	0,592	<u>-0,752</u>	0,054	0,011	0,016	0,001	-0,003	-0,004	0,005

A- valor propio; AV- varianza acumulada (AV, en %); G – germinación; IVG – índice de velocidad de germinación; VP – valor pico; VG – valor germinativo; E – índice de sincronización de la germinación; PN – plántulas normales; PA – plántulas anormales; GTS – ensayo de inmersión; GEA – envejecimiento acelerado; CE – conductividad eléctrica; CP – longitud de plántulas. * – valores subrayados identifican los caracteres eliminados.

minación, germinación, germinación tras el envejecimiento acelerado y la inmersión, plántulas normales, conductividad eléctrica y plántulas anormales, porque presentaron los mayores coeficientes de ponderación en los componentes con valores propios inferiores a 0,70 (cuadro 3). Mientras que, se apuntó a las variables valor pico, índice de sincronización y longitud de plántulas (apenas 27 % de las variables) como portadoras de mayor variabilidad y, por tanto, más influyentes para determinar la diversidad entre los 25 árboles madre estudiados.

DISCUSIÓN

A partir de las diferencias entre las medias presentadas en todas las características evaluadas, se puede inferir que la variabilidad genética entre los árboles madre es de gran magnitud. Resultados semejantes fueron observados en otros estudios sobre variabilidad genética entre árboles a partir de calidad fisiológica de semillas (Santos *et al.* 2009, Roveri Neto y Paula 2017). Por otro lado, Tonetto *et al.* (2015) determinaron coeficientes de variación similares para la germinación y el índice de velocidad de germinación de *H. heptaphyllus*. Estos valores evidenciaron buena precisión de los experimentos, para evaluar todas las características.

La composición de los grupos de medias para el índice de velocidad de germinación, se aproxima bastante al observado para porcentaje de germinación, demostrando la eficiencia del mismo para caracterizar la calidad fisiológica de las semillas y para discriminar los genotipos. Marcos Filho (2005) señala que las condiciones de temperatura y humedad relativa son los factores ambientales más influyentes para el deterioro de las semillas. Se evidencia que el envejecimiento acelerado, provoca una pequeña reducción sobre la germinación, en relación al ensayo de germinación de semillas no envejecidas, pero, por otro lado, consigue separar los árboles en un mayor número de grupos, comparativamente a este, lo que facilita la selección de los mismos. Durante la inmersión en agua, las semillas permanecen en un ambiente anaeróbico cerrado, donde grandes cantidades de etanol son excretados por las semillas y provocan reducción del poder germinativo (Neumann *et al.* 1999). El ensayo de inmersión disminuye significativamente la germinación, demostrando ser más drástico en cuanto al grado de estrés que es sufrido por las semillas, en relación al envejecimiento acelerado, sin embargo, proporciona la formación del mismo número de grupos que el ensayo de germinación. Según Santos *et al.* (2009), al ser sometidas a estrés, gran parte de las semillas de bajo vigor, de cada árbol madre, son afectadas. Por el contrario, en condiciones óptimas para la germinación, las semillas de alto, medio y bajo vigor, de un mismo árbol, consiguen germinar. Por otro lado, dada la formación de un mayor número de grupos de árboles madre, a partir de la determinación del valor pico de la germinación y de la conductividad eléctrica de la solución de inmersión de las semillas, se

evidencia que estas características tienen mayor influencia en la descripción de la variabilidad, permitiendo una mejor separación y selección de árboles productores de semillas con las características deseadas, en relación a los caracteres estudiados. La conductividad eléctrica de las semillas, posibilita la formación de varios grupos de árboles madre, contribuyendo, de ese modo, al análisis de la variabilidad genética; sin embargo, no siempre presenta la relación esperada con la germinación. Este hecho ya fue relatado por otros autores que también trabajaron con semillas de especies forestales (Santos *et al.* 2009, Roveri Neto y Paula 2017). Uno de los inconvenientes de este ensayo, en relación a los estudios de calidad fisiológica de semillas forestales, es exactamente, la presencia de variabilidad genética en los lotes de semillas, principalmente, cuando se trata de especies sin domesticación o mejoramiento (Bonner 1998). Justamente, este trabajo no pretendía evaluar la calidad fisiológica por medio del ensayo de conductividad eléctrica, sino acceder a la variabilidad existente entre los árboles madre. Al respecto, Bonner (1998) menciona que, para las semillas forestales, el ensayo de conductividad eléctrica difícilmente alcanza la misma precisión verificada con semillas agrícolas, ya que, en estas últimas, existe una mayor uniformidad genética dentro de cada lote.

Los genotipos más indicados para comenzar un programa de mejoramiento son los que presentan mayor distancia genética, sin embargo, su recomendación debe ser realizada, solamente, después de un profundo análisis de sus desempeños, en relación a los caracteres de interés (Cruz *et al.* 2004). La obtención de una medida de divergencia genética antes que los cruzamientos sean efectuados, permite al mejorador de plantas, concentrar sus esfuerzos en aquellas combinaciones que presentan mayor probabilidad de éxito. Para lograrlo, se busca trabajar con una población-base compuesta por genotipos que presenten variabilidad genética, y a la vez, valores con medias altas, para el carácter que se pretende seleccionar (Cruz *et al.* 2011). Para los caracteres, germinación, índice de velocidad de germinación, valor germinativo, plántulas normales, conductividad eléctrica, germinación tras el envejecimiento acelerado y la inmersión, los árboles madre 3 y 5 originan semillas de mejor calidad fisiológica en relación a los demás. Por otro lado, los árboles 5 y 18 están localizadas en conjuntos diferentes, además presentan la mayor distancia genética (datos no presentados), demostrando así, mucha divergencia entre sí.

Los resultados del análisis de correlaciones confirman que los árboles con buen desempeño germinativo en el ensayo de germinación, evidencian mantener, en grande parte, este desempeño en los ensayos de envejecimiento acelerado y de inmersión.

La distribución de los 25 árboles madre en el plano bidimensional, a partir del análisis de componentes principales, evidencia las semejanzas y diferencias entre los mismos, en base a los 11 caracteres evaluados, y se muestra bastante coherente con los agrupamientos del método de

Ward. Oliveira (2010) al estudiar la variabilidad genética de caracteres morfológicos y de germinación en *Tabebuia caraiba* Bureau con la técnica de componentes principales, resalta que, cuanto más periférica es la posición de un árbol madre, su calidad específica aumenta, y que los valores extremos identifican aquella variabilidad que requiere de mayor investigación.

De ese modo, en base a los resultados de los agrupamientos de los árboles madre, se sugiere que para la recolección de semillas se prefieran árboles madre pertenecientes a grupos distintos, pues estos posibilitan la retención de variabilidad genética para el conjunto de caracteres evaluados. Por otro lado, semillas recolectadas de árboles madre pertenecientes a un mismo grupo, pueden, en un principio, constituir un mismo lote de semillas, ya que estas presentan semejanzas en cuanto a su calidad. Estas sugerencias pueden ser aplicadas para futuros trabajos, involucrando a los mismos árboles madre, por ejemplo, para la formación de ensayos de descendencia, visando a la conservación o mejoramiento de la especie.

La importancia o la contribución relativa de cada carácter para el estudio de la diversidad genética, evaluada a partir de los coeficientes asociados a los vectores propios, por la técnica de los componentes principales, tiene como principio el hecho de que la importancia o varianza de los componentes principales decrece desde el primero hasta el último componente estimado (Cruz *et al.* 2004). Por consiguiente, según estos autores, los últimos componentes son los responsables de explicar una mínima parte de la varianza total. De esta forma, es común descartar el carácter de mayor coeficiente de ponderación (elementos de vectores propios) a partir del último componente, hasta aquel cuyo valor propio no exceda 0,70.

También, Cruz *et al.* (2004) consideran que por lo menos 80 % de la variación total debe ser retenida por los dos primeros componentes principales, y en este estudio esto fue alcanzado, ya que los dos primeros componentes explican el 85,3 % de la variabilidad total contenida en los datos. Para los mismos autores, los caracteres dispensables en los estudios de diversidad genética son aquellos invariantes y/o redundantes por presentar correlación con otros caracteres. Las estimativas de los coeficientes de correlación evidencian estas afirmativas. Así, el valor pico presenta altas correlaciones ($r > 0,70$) con todos los caracteres eliminados; también, se evidencian altas estimativas de correlación entre el índice de sincronización y el porcentaje de plántulas anormales ($r = 0,857$). Por lo tanto, se verifica que estos pares están involucrando un carácter importante para la divergencia, de acuerdo con la técnica de los componentes principales. El valor pico representa a todos los caracteres que fueron descartados por ser redundantes. La longitud de plántulas muestra correlaciones bajas con todos los caracteres, razón por la cual, no es eliminada y permanece para explicar la divergencia. El índice de sincronización, al contrario de los demás caracteres que fueron descartados, muestra una correlación moderada con

el valor pico ($r = 0,672$). Vale resaltar que 73 % de los caracteres pueden ser excluidos, por no auxiliar en la discriminación de la diversidad genética. El principal interés en utilizar la técnica de los componentes principales reside en la posibilidad de descartar aquellos caracteres que no contribuyen para la discriminación del material evaluado, de este modo, mano de obra, tiempo y costos son reducidos (Cruz *et al.* 2004), facilitando la definición de estrategias para estudios similares con esta especie.

CONCLUSIONES

Las evidencias del estudio confirman la diversidad genética entre los árboles de *H. heptaphyllus*. Los ensayos de germinación, envejecimiento acelerado, conductividad eléctrica e inmersión evidencian variabilidad en la calidad fisiológica de semillas.

De los 11 caracteres de calidad fisiológica de semillas, evaluados mediante el análisis de componentes principales, ocho pueden ser eliminados. El valor pico, el índice de sincronización y la longitud de plántulas contribuyen efectivamente para la discriminación de los árboles madre.

La diversidad genética encontrada entre los árboles de *H. heptaphyllus*, permite orientar colectas de semillas de estos mismos árboles, para fines de conservación o mejoramiento de esta especie.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresamos nuestro total agradecimiento al personal de apoyo técnico y estudiantes de la Universidad Estadual Paulista, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias (UNESP-FCAV) que colaboraron con el trabajo de campo y laboratorio. También agradecemos el apoyo financiero de la Coordinación de Perfeccionamiento de Personas de Nivel Superior (CAPES) y del Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (CNPq).

REFERENCIAS

- Bonner FT. 1998. Testing tree seeds for vigor: a review. *Seed Technology* 20(1): 5-17.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. Regras para análise de sementes. Brasília, Brasil. MAPA/ACS. 399 p.
- Broadhurst LM, T North, AG Young. 2006. Should we be more critical of remnant seed sources being used for revegetation? *Ecological Management & Restoration* 7(3): 211-217.
- Carvalho PER. 2003. Espécies arbóreas brasileiras. Brasília, Brasil. Embrapa Informação Tecnológica. p. 567-572.
- CNCFlora (Base de Dados do Centro Nacional de Conservação da Flora, BR). 2012. Consultado 20 jul. 2016. Disponible en <http://www.cncflora.jbrj.gov.br/portal/ptbr/profile/Handroanthus%20heptaphyllus>.
- Cruz CD. 2001. Programa genes: Versão Windows: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa, Brasil. UFV. 648 p.

- Cruz CD, AJ Regazzi, PCS Carneiro. 2004. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa, Brasil. UFV. 480 p.
- Cruz CD, FM Ferreira, AL Pessoni. 2011. Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética. Visconde do Rio Branco, Minas Gerais, Brasil. Suprema. 620 p.
- Czabator FJ. 1962. Germination value: an index combining speed and completeness of pine seed germination. *Forest Science* 8(4): 386-396.
- Gentry AH. 1992. Bignoniaceae-Part II (Tribe Tecomeae). *Flora Neotropica* 25 (II): 1-370.
- Giudice-Neto JD, AM Sebbenn, PY Kageyama. 2005. Genetic diversity of ex situ populations of *Caesalpinia echinata* Lam. *Scientia Forestalis* (69): 125-133.
- Grings M, P Brack. 2011. *Handroanthus heptaphyllus* (ipê-roxo). In Coradin L, A Siminski, A Reis eds. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região sul. Brasília, Brasil. MMA. p. 461-464.
- Labouriau LG. 1983. A germinação das sementes. Washington, USA. OEA. 174 p.
- Maguire JD. 1962. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. *Crop Science* 2(2): 176-177.
- Marcos Filho J. 1999. Testes de vigor: importância e utilização. In Krzyzanowski FC, RD Vieira, JB França Neto eds. Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina, Brasil. Abrates. p. 1-21.
- Marcos Filho J. 2005. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Piracicaba, Brasil. FEALQ. 495 p.
- Martins SV. 2012. Restauração ecológica de ecossistemas degradados. Visçosa, Brasil. UFV. 293 p.
- Mori NT, ES Mori, EV Tambarussi, MLT Moraes, Sebbenn AM. 2015. Sistema de cruzamento em populações de *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos e suas implicações para a coleta de sementes para fins de conservação e melhoramento genético. *Scientia Forestalis* 43(107): 675-681.
- Neumann G, M Preissler, HA Azaizeh, V Romheld. 1999. Thiamine (Vitamin B1) deficiency in germinating seeds of *Phaseolus vulgaris* L. exposed to soaking injury. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 162(3): 295-300.
- Oliveira LZ. 2010. Variabilidade genética de caracteres morfológicos e germinação de *Tabebuia caraiba* (Mart.) Bur. (Bignoniaceae) no Município de Macapá, AP. Tesis de Maestría en Agronomía (Genética y Mejoramiento de Plantas). Japoticabal, Brasil. Facultad de Ciencias Agrarias e Veterinarias, Universidad Estadual Paulista. 98 p.
- Ribeiro RA, FM Rodrigues. 2006. Genética da conservação em espécies vegetais do cerrado. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas* 5(3): 253-260.
- Roveri Neto A, RC Paula. 2017. Variabilidade entre árvores matrizes de *Ceiba speciosa* St. Hil para características de frutos e sementes. *Revista Ciência Agrônômica* 48(2): 318-327.
- Santos FS, RC Paula, DZ Sabonaro, J Valadares. 2009. Biometria e qualidade fisiológica de sementes de diferentes matrizes de *Tabebuia chrysostricha* (Mart. Ex A. DC.) Standl. *Scientia Forestalis* 37(82): 163-173.
- STATISTIC. 2011. Data Analysis Software System, version 10 (Software Statistic). Consultado 2016. Disponible en <http://www.statsoft.com>
- Tonetto T, MM Araujo, MFB Muniz, C Walker, ALP Berghetti. 2015. Storage and germination of seeds of *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos. *Journal of Seed Science* 37(1): 40-46.

Recibido: 14.10.16
Aceptado: 16.03.17

Leaf stomatal traits variation within and among black poplar native populations in Serbia

Variación de las características de los estomas de las hojas dentro y entre álamos negros de poblaciones autóctonas en Serbia

Dijana Čortan **, Dragica Vilotić ^b, Mirjana Šijačić-Nikolić ^b, Danijela Miljković ^c

*Corresponding author: ^a University of Novi Sad, Faculty of Education, Department of Natural Science and management in education, Podgorička 4, Sombor, Serbia, dijanacortan@yahoo.com, dijana.cortan@per.uns.ac.rs

^b University of Belgrade, Faculty of Forestry, Department of seedling, nursery and reforestation, Kneza Višeslava 1, Belgrade, Serbia.

^c University of Belgrade, Institute for Biological Research “Siniša Stanković”, Department of Evolutionary Biology, Bulevar Despota Stefana 142, Belgrade, Serbia.

SUMMARY

Populus nigra as a keystone riparian pioneer tree species is one of the rarest and most endangered species in Europe due to the loss of its natural habitats. Genetic diversity existence is a key factor in survival of one species, and stomata as genetically controlled trait could be used for differentiation studies. With the aim of proving stomatal phenotypic variation of the four native populations of *Populus nigra* located on the banks of three biggest river valleys (Dunabe, Tisa and Sava) in the region of Vojvodina in northern Serbia, we examined various leaf stomatal traits (stomatal length and width, pore length and width, stomatal density, shape coefficient and stomatal and pore area). We tested the differences of stomatal traits among populations, interindividual variability - differences among trees, the intraindividual variability, the differences between sun-exposed and shaded leaves, among leaves nested in exposition and the differences in adaxial and abaxial leaf surface. Based on mixed model ANOVA results, interpopulation variability, as statistically significant differences, observed only for stomatal pore length and shape, while all examined traits showed interindividual variability. On the intraindividual level the results showed differences for stomatal traits, except for stomatal width, stomatal shape coefficient and stomatal density regarding leaf exposure. For better understanding of how morphological and stomatal characteristics vary in black poplar populations, further studies should be necessary involving controlled environmental conditions with the aim of examining phenotypic plasticity to changing climate conditions.

Key words: *Populus nigra*, population differentiation, riparian forests, stomatal characteristics.

RESUMEN

Populus nigra es una especie importantes entre las pioneras de los ríos en Europa, debido a la pérdida de su hábitat natural. La existencia de diversidad genética es un factor clave en la supervivencia de una especie y los estomas, como rasgo genéticamente controlado, es usado para estudios de diferenciación. Con el objetivo de comprobar la variación fenotípica de los estomas de cuatro poblaciones autóctonas de *Populus nigra* en tres valles del río más grandes del norte de Serbia (Danubio, Tisa y Sava), región de Vojvodina, fueron analizados los estomas de las hojas (longitud y ancho de estomas, longitud y ancho de poros (ostíolos), densidad estomática, coeficiente de forma y área de estomas y poros). Se analizaron las diferencias de las características de los estomas entre poblaciones, la variabilidad interindividual, la variabilidad intraindividual, las diferencias entre hojas expuestas al sol y sombreadas, entre hojas anidadas en exposición y las diferencias de superficie adaxial y abaxial de las hojas. Según los resultados del modelo mixto ANDEVA, la variabilidad entre poblaciones, estadísticamente significativa, fue observada únicamente en la longitud y la forma de los poros estomáticos, mientras que todas las características analizadas mostraron variabilidad interindividual. En el nivel intraindividual, fueron observadas diferencias en las características de los estomas, excepto en su ancho, el coeficiente de forma y la densidad estomática respecto a la exposición de las hojas. Para comprender mejor cómo varían las características morfológicas y estomáticas en *Populus nigra*, es necesario que investigaciones futuras incluyan condiciones medioambientales controladas, para analizar la plasticidad fenotípica para el cambio de las condiciones climáticas.

Palabras clave: *Populus nigra*, diferenciación de población, bosques de ribera, características estomáticas.

INTRODUCTION

Stomata are the apertures found on the surface of leaves, flanked by guard cells, which regulate the gas exchan-

ge between the internal plant tissue and the atmosphere, especially water vapor and CO₂ (Zhang *et al.* 2012.), and the environment, allowing the plant to optimize and balance the photosynthetic performance with water availa-

bility and usage (Chaerle *et al.* 2005). The gas exchange regulation is achieved not only through the actual opening and closing of the stomatal pore, but by either increasing or reducing the stomatal conductance (Casson and Gray 2008), as well as by the number and size of stomata on leaf surfaces (Zhang *et al.* 2012).

Stomatal characteristics are highly dependent on the genetic background of the plants as well as on growth conditions or leaf ontogeny (Al Afas *et al.* 2006, Ruso *et al.* 2014). Stomatal density has shown significant variation within individuals, cultivars or ecotypes of a single species, as well as within community (Jones 1992). Within *Populus* genus, a wide inter-specific as well as inter-clonal variation in stomatal density, dimension and stomatal index has already been observed (Ceulemans *et al.* 1995, Ferris *et al.* 2002, Pearce *et al.* 2006). Stomatal traits could also be used as criteria for clonal discrimination within *Populus* genus (Ceulemans *et al.* 1995), which has six taxonomic sections (Eckenwalder 1996). The issue of sectional affiliation remains, pertaining to the relationship between the section *Aigeiros* and *Tacamahaca*, and status of *Populus nigra* L. (Eckenwalder 1996) which has a genetic affinity towards the species of section *Tacamahaca* (Hamzeh and Dayanandan 2004). Some species have been reported as possessing generally high heritability in their stomatal characteristics (Orlović *et al.* 1998), while others have been reported as being more sensitive to environmental factors. Many researchers have so far reported that stomatal density may vary depending on environmental factors such as atmospheric CO₂ concentration (Woodward *et al.* 2002), drought (Dunlap and Stettler 2001, Hetherington and Woodward 2003) or light (Batos *et al.* 2010). Even though they are showing a plastic physiological response to the environmental factors, they are also under genetic control and could go through evolutionary changes if selection differs among environments (Gailing *et al.* 2008).

Populus nigra as a keystone riparian pioneer tree species is one of the rarest and most endangered species in Europe due to the loss of its natural habitats. Considering that genetic diversity existence is a key factor in survival of one species, stomata as genetically controlled trait are used for differentiation studies. Trees display a remarkable phenotypic variation of stomatal leaf traits in growth habits as well. Hence, the main hypothesis of this research is that differences, based on stomatal characteristics of leaves, exist among examined *P. nigra* native populations considering that they are located in the valley of three big rivers (Danube, Tisa and Sava) in the region of Vojvodina in northern Serbia. With the aim of proving the default hypothesis, we test (i) the differences of anatomical traits among populations (interpopulation variability), (ii) the interindividual variability differences among trees in populations, (iii) the differences between sun-exposed and shaded leaves of every tree in population, the differences among leaves; (iv) the differences of adaxial and abaxial leaf surface. The last three goals present the intraindividual variability.

METHODS

Study species and area. *Populus nigra* is one of the most endangered riparian tree species in Europe due to the loss of its natural habitats. It occurs naturally in Vojvodina, which is considered as the least afforested area in Europe (7.1 %, Banković *et al.* 2009), where native poplars are represented in a very low percentage of 1.9 % within total forest area. In the total native poplars area *P. nigra* participates with only 15.87 % (Radosavljević 2009) is considered a rare species in the studied area as well. This species is a typical pioneer tree species of the riparian forest ecosystem; it is heavily dependent on the hydrologic conditions of the riverside environment for its regeneration. It has been used as a parent pool in breeding programs in many parts of the world.

The studied populations are situated in four localities in northern Serbia, in the Vojvodina region. These native populations belong to the basins of the three biggest rivers of this area, Danube, Sava and Tisa, as in Čortan *et al.* (2015). The selected locations (figure 1) have uniform environmental conditions; they are next to river banks as part of the willow and black poplar community on alluvial plane with regular flooding, on the flat grounds and without significant exposure, with altitude range between 62-87 m a.s.l. Annual mean air temperature is about 11 °C, while average sum of precipitation is about 615.7 mm per population (table 1).

Plant material and foliar analyses. In the present study, 10 adult trees from each of the four sites were used for the analyses. Leaf sampling was conducted in September of the same year (2013) around noon, on a sunny day without wind. From the south/south west side of the crown, at the height between 3-6 m; several short shoots were taken from the sunny and shade part of the crown (Batos *et al.* 2010). The sample consisted of ten leaves per one tree, five leaves from sunny and five from shade crown positions. Stomatal impressions from both leaf surfaces (adaxial and abaxial) were taken between the second and third leaf vein near the central vein of the leaf (Orlović *et al.* 1998), using colorless nail polish and adhesive cellophane tape (Ceulemans *et al.* 1995). In total 800 impressions (4 populations x 10 trees x 10 leaves x 2 leaf surfaces) were fixed to glass slides and examined under a light microscope.

Phenotypic variation of the four native populations of *P. nigra* were examined with various genetically controlled leaf stomatal traits (stomatal length and width, pore length and width, stomatal density, shape coefficient and stomatal and pore area) as described in Batos *et al.* (2010) and Balasooriya *et al.* (2009). Stomatal density (SD) was determined at 100x magnification under microscope CETI®MAGNUM-T/Trinocular Microscope, UK with an attached camera Si3000® (UK). The stomata were counted at five randomly selected microscopic fields at each impression (0.33 mm²) using the “tpsDIG2” software (Rohlf 2001) and afterward calculated as the number of sto-

mata per unit area (1 mm²). Considering that *P. nigra* has amphistomatous leaves, we did analyses separately on the adaxial (SDd) and the abaxial (SDb) leaf surfaces, in total 4,000 microscopic fields were analyzed for stomatal density (4 populations x 10 trees x 10 leaves x 2 leaf surfaces x 5 microscopic fields) (figure 2). The ratio adaxial/abaxial stomatal density was calculated as well.

Stomatal size was determined at the magnification of 400× under ZEISS light microscope AxioVision Release 4.8.1. The image analyzing system Motic 2000 software

was used to measure stomatal size, stomatal length (SL) and width (SW) and pore length (PL) and width (PW), separately on both leaf surfaces (adaxial – d and abaxial – b). Fifteen randomly selected stomata per one impression were measured (5 stomata per each of tree microscopic field), which is in total 12,000 analyzed stomata (4 populations x 10 trees x 10 leaves x 2 leaf surfaces x 3 microscopic fields x 5 stomata).

The following parameters were calculated from the directly measured parameters (Balasooriya *et al.* 2009):

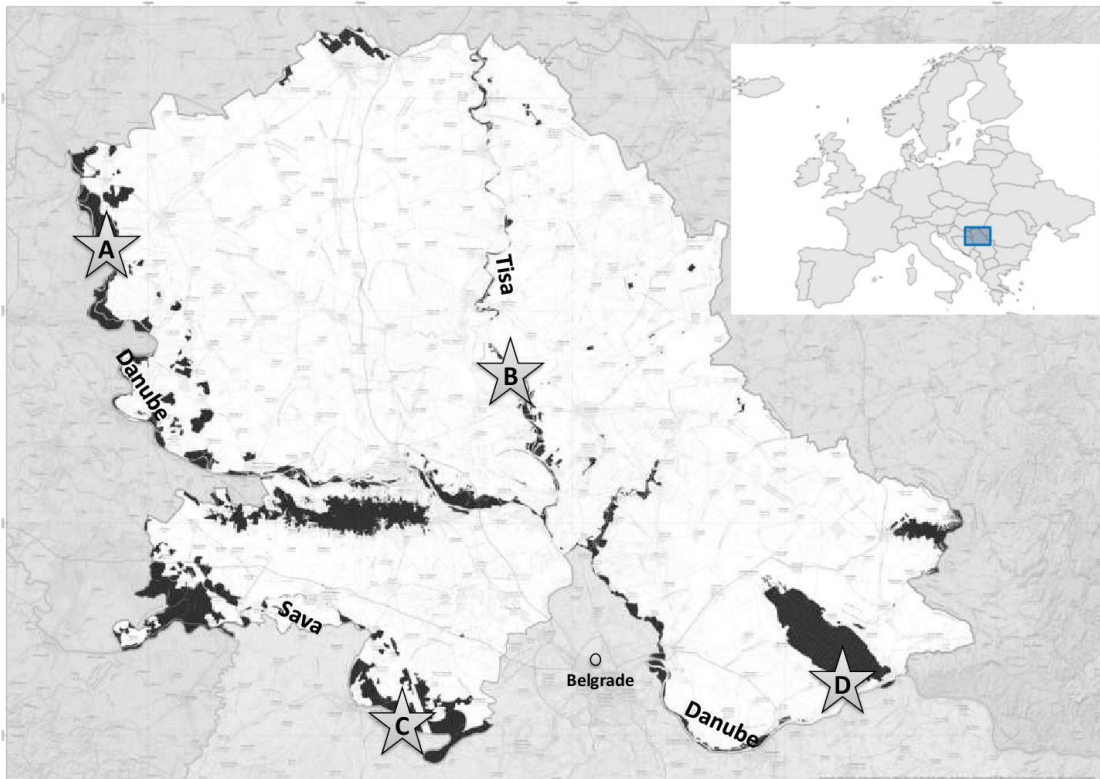


Figure 1. Forest coverage map of Vojvodina region, northern Serbia, with selected study sites: A) upper Danube, B) Tisa, C) Sava and D) lower Danube population (modified map by B. Tubić).

Mapa de cobertura de bosques de la región de Voivodina, norte de Serbia, con los sitios de estudio seleccionados: población de A) Danubio superior, B) Tisa, C) Sava, D) Danubio inferior (modificado por B. Tubić).

Table 1. Basic characteristics of four *Populus nigra* populations used in study.

Características básicas de cuatro poblaciones de *Populus nigra* utilizadas en el estudio.

Population	Location – River basin	Coordinates		Altitude range (m)	Mean annual temperature (°C)	Annual precipitations (mm)
		x	y			
A	Upper Danube	7,338,178	5,064,085	82 – 87	11.2	612.4
B	Tisa	7,446,577	5,008,043	72 – 80	10.9	583.2
C	Sava	7,413,348	4,951,019	76 – 78	11.3	614.2
D	Lower Danube	7,510,888	4,955,118	66 – 82	11.3	653.0

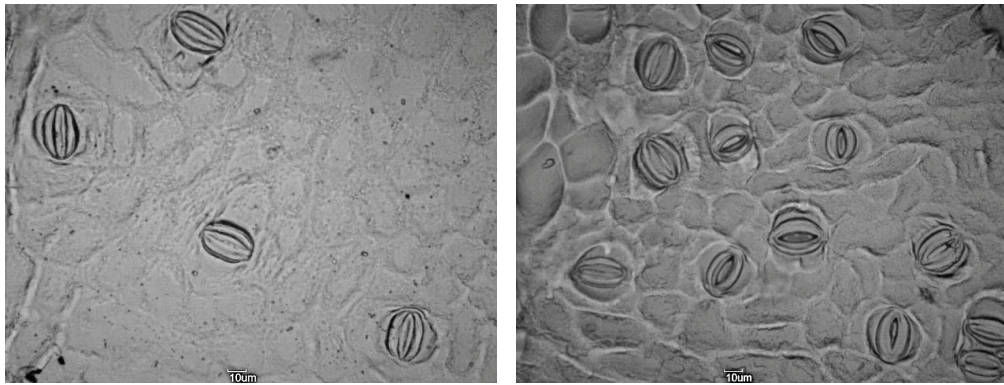


Figure 2. Stomata on adaxial (A) and abaxial (B) leaf surface, magnification 400×, ZEISS light microscope AxioVision Release 4.8.1.
 Estomas en la superficie adaxial (A) y abaxial (B) de la hoja, magnificación 400×, microscopio ZEISS Light AxioVision Release 4.8.1.

– Stomatal area: $SA = (SL \times SW \times \pi) / 4 \text{ } [\mu\text{m}^2]$ [1]

– Pore area (with widely opened stomatal pore):
 $PA = (PL \times PW \times \pi) / 4 \text{ } [\mu\text{m}^2]$ [2]

– Stomatal shape coefficient:
 $SSC = 100 \times (SW / SL) \text{ } [\%];$ [3]

– Pore shape coefficient:
 $PSC = 100 \times (PW / PL) \text{ } [\%].$ [4]

Data analyses. Statistical analyses were conducted using procedure of the SAS statistical package (SAS Institute, Inc. 2011) for each of the analyzed characteristics. In order to satisfy normal distribution, values of stomatal characteristics were subjected to log-transformation. Statistical significance of different source levels of phenotypic variations was estimated with mixed model analysis of variance. The following sources of phenotypic variation were evaluated through the ANOVA model: population (variation among populations), tree (inter-individual variations within populations), exposure (variation depending of sunny or shaded leaf position in the crown for each tree of present populations), leaf (leaf intra-individual variation for each exposure on the sampled trees in present populations), surface (variation within each leaf surface - adaxial and abaxial, for each leaf exposure on the sampled trees in present populations). We employed a nested model of ANOVA where hierarchical low level subgroups nested in a hierarchical higher level and in a group variable. In the applied nested model of ANOVA tree nested in population - Tree (P), exposure nested in tree and population - Exposure (P T), leaf nested in exposure, tree and population (P T E), surface (leaf surface) nested in leaf, exposure, tree and population - Surface (P T E L). Descriptive statistic was provided for all analyzed stomatal characteristics, carried out separately for each locality, leaf exposure (sunny and shaded) and leaf surface (adaxial and abaxial).

RESULTS

Results of mixed model of ANOVA (table 2) showed statistically significant differences ($P < 0.05$) among populations just for pore length (PL, $P = 0.0154$) and stomatal pore shape coefficient (PSC, $P = 0.0012$), where population B was the one with longer and elongated pores while population A had oval shaped pores with short opening (figure 3). For other traits there is no difference among present populations. Statistical differences exist on individual level, between trees and leaves and between abaxial and adaxial sides of leaves ($P < 0.001$). Leaf position within tree, depending on light exposure (sunny or shaded), showed significant differences for stomatal (SL, $P = 0.0018$) and pore length (PL, $P = 0.0014$), for stomatal (SA, $P = 0.0034$) and pore area (PA, $P = 0.0050$), pore width (PW, $P = 0.0202$) and shape coefficient (PSC, $P = 0.0161$) (table 2). Stomatal and pore area had higher surface on sunny exposures, stomatal and pore length were higher on sunny exposure as well (figure 3).

Stomatal density (SD) did not show statistically significant differences between sun exposed and shaded leaves (table 2), but differences between adaxial and abaxial surface were more than evident (figure 3). Adaxial surface had density in range of 43.64 – 48.01 per mm^2 , while abaxial surface of the leaf had a range of 154.22 – 171.79 per mm^2 (figure 3). The ratio of adaxial/abaxial stomatal densities showed the average value of about 0.29 (from 0.18 up to 0.44 per tree, results not shown).

DISCUSSION

Stomata are considered as one of the key regulation factors of the relation between plant and environmental factors (Bayramzadeh 2011). Stomatal traits are characteristics of species, although certain variations can present the micro-environmental conditions and global ecosystem changes (Batos *et al.* 2010). According to our analysis, the

Table 2. Results of mixed-model analyses of variance performed on nine traits of *Populus nigra* genotypes originating from four natural populations in Vojvodina. F-values with the star (*) are statistically significant for * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ns – not significant.

Resultados del análisis de varianza de tipo modelo mixto realizado en nueve características del genotipo *Populus nigra* que proviene de cuatro poblaciones autóctonas en Voivodina. Los acrónimos de las características son definidos en Métodos. Valores F con asterisco (*) son estadísticamente significativos: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; ns – no significativos.

Source of variation	Stomatal length			Stomatal width			Stomatal shape coefficient		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Population (P)	3	4.28	1.79 ns	3	0.01	0.13 ns	3	0.11	1.98 ns
Tree (T) (P)	36	2.39	8.31***	36	0.04	13.91***	36	0.06	7.93***
Exposure (E) (P T)	40	0.54	1.87**	40	0.00	1.36 ns	40	0.01	1.03 ns
Leaf (L)(P T E)	320	0.29	6.14***	320	0.00	4.33***	320	0.01	3.28***
Surface (P T E L)	400	0.27	5.83***	400	0.00	4.69***	400	0.01	3.56***
Error	11,200	0.05	-	11,200	0.00	-	11,200	0.00	-

Source of variation	Pore length			Pore width			Pore shape coefficient		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Population (P)	3	0.83	3.94*	3	1.13	0.58 ns	3	44.69	6.51**
Tree (T) (P)	36	0.21	6.89***	36	1.96	7.60***	36	6.87	8.68***
Exposure (E) (P T)	40	0.06	1.90**	40	0.40	1.56*	40	1.26	1.59*
Leaf (L)(P T E)	320	0.03	4.72***	320	0.26	3.17***	320	0.79	2.47***
Surface (P T E L)	400	0.03	5.29***	400	0.29	3.51***	400	0.94	2.93***
Error	11,200	0.01	-	11,200	0.81	-	11,200	0.32	-

Source of variation	Stomatal area			Pore area			Stomatal density		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Population (P)	3	0.01	0.5 ns	3	0.91	0.51 ns	3	0.59	0.21 ns
Tree (T) (P)	36	0.02	11.99***	36	1.78	6.84***	36	2.80	8.12***
Exposure (E) (P T)	40	0.00	1.79**	40	0.45	1.74**	40	0.40	1.17 ns
Leaf (L)(P T E)	320	0.00	5.56***	320	0.26	4.42***	320	0.35	10.97***
Surface (P T E L)	400	0.00	5.67***	400	0.28	4.80***	400	10.77	342.19***
Error	11,200	0.00	-	11,200	0.06	-	3,200	0.03	-

only trait that contribute to population differentiation are pore length (PL) and shape (PSC). Length is considered to be under strong genetic control and less under environmental influence (Zhang *et al.* 2012). However, stomatal density (SD), which is considered as a genetically determined quantitative trait (Gailing *et al.* 2008), did not show significant differences ($P = 0.8884$) in this study. Traits that characterized width are influenced by environmental conditions at the moment when samples were collected. Since width characteristics, as highly plastic trait, are not that prominent among populations, it could be confirmed that these populations have similar environmental characteristics as shown in table 2, while differences in length could be connected to micro-environmental

conditions and to genetic variability as well. High influence of micro-environmental conditions might be confirmed by high inter-individual variability and by significant differences among single leaves for all analyzed traits as well.

The differences between sunny and shaded exposition leaves, as two micro-climatic sites within crown, present plant adaptation aiming at the best possible exploitation of available light (Batos *et al.* 2010). In contrast with the inner part of the crown, leaves from the outer part of the crown are more exposed to stressful environment such as higher solar irradiance, larger temperature variation, lower air humidity, various pests. Stomatal traits variation in relation to the leaf exposure (sun and shade exposure)

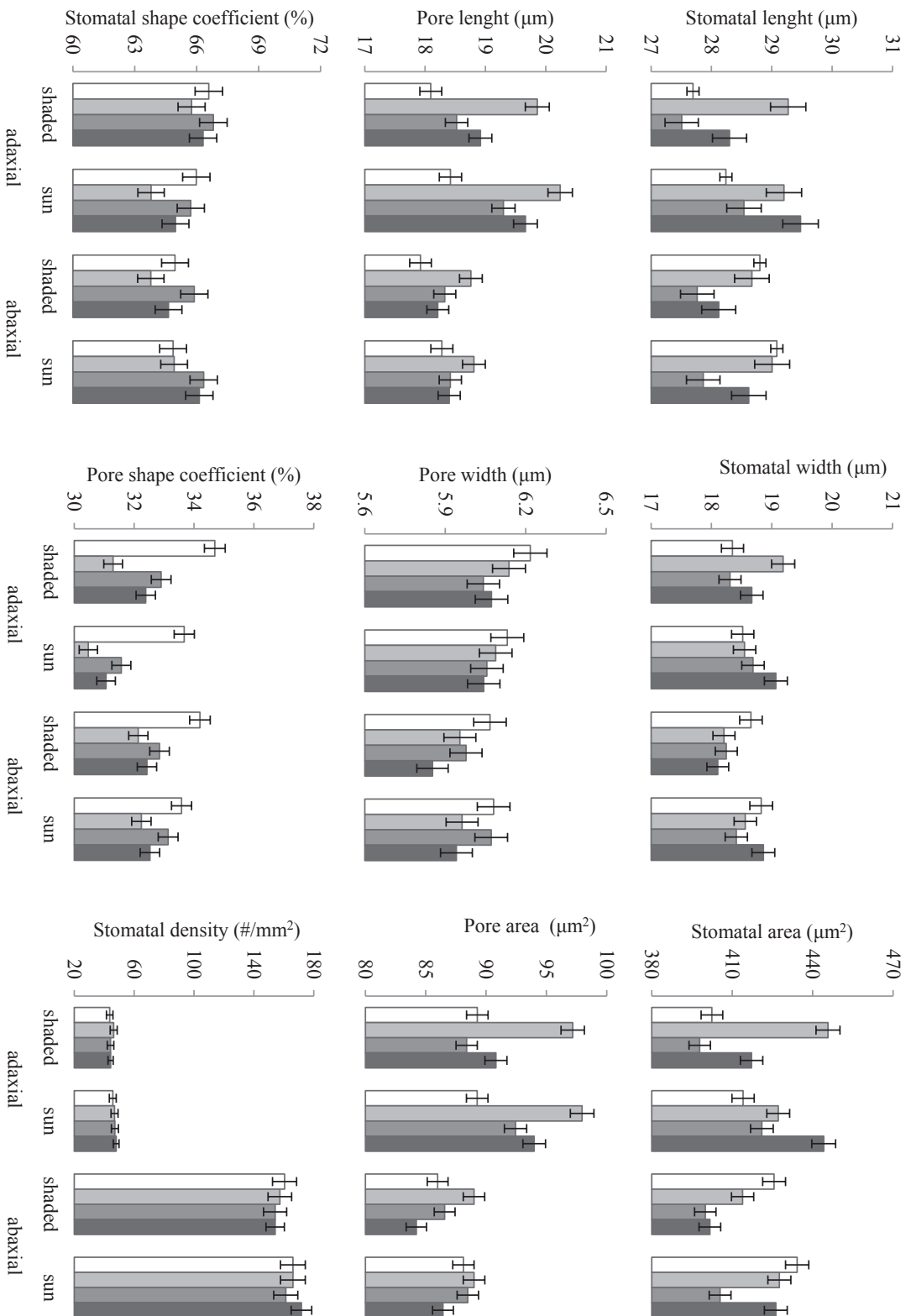


Figure 3. Mean values of nine analyzed traits of *Populus nigra* genotypes originating from four natural populations in Vojvodina. Values are separated by leaf exposure to light (shaded and sunny leaf positions), by leaf surface (adaxial and abaxial surface) and by populations (upper Danube: white bars, Tisa: light grey bars, Sava: dark grey bars, lower Danube: black bars).
 Valores medios de nueve características analizadas del genotipo *Populus nigra* que proviene de cuatro poblaciones autóctonas en Vojvodina. Los valores están separados por la exposición a la luz de la hoja (sombreadas y posiciones soleadas de hojas), por la superficie de la hoja (superficie adaxial y abaxial) y por las poblaciones (Danubio superior: barras blancas, Tisa: barras grises claras, Sava: barras gris oscuro, Danubio inferior: barras negras).

in the tree crown showed significant differences for most of analyzed traits (table 2). Numerous investigations show high sensitivity of stomatal traits to light exposure, where in most cases stomatal density decreases by reducing light intensity, meaning that sun exposed leaves have higher stomatal density than the density presented by shaded leaves (Batos *et al.* 2010, Stojnić *et al.* 2015), but there are several studies that say otherwise (Bruschi *et al.* 2003). Leaf position did not influence significantly on stomatal density in our study, while stomatal and pore area from sun exposition had higher values than those presented by shaded leaves (sun SA = 425.01 μm^2 and PA = 90.71 μm^2 ; shade SA = 413.07 μm^2 and PA = 88.93 μm^2 , in average). Furthermore, stomatal and pore length also showed significant differences between different expositions, showing longer stomata on sun exposed leaves.

Stomatal patterning in the leaf epidermis is species dependent, and in most cases stomatal density is higher on the abaxial leaf surface (Casson and Gray 2008). However, the poplars are known as *amphistomatous* species, but there are some exceptions such as *Populus trichocarpa* Torr. *et* A.Gray *ex* Hook. and *Populus balsamifera* Lyall which belong to the section *Tacamahaca* which are the *hypostomatous* type, while *Populus maximowiczii* Henry, which belongs to the same section, is the *amphistomatous* type (Pearce *et al.* 2006, Al Afas *et al.* 2007, Dillen *et al.* 2008). *Populus nigra*, as a part of section *Aigeiros*, is an *amphistomatous* species (Ceulemans *et al.* 1995, Al Afas *et al.* 2006, 2007), which was confirmed in our research, where the abaxial stomatal density (in average 161.46 per mm^2) was considerably higher than the adaxial stomatal density (in average 45.79 per mm^2) for all individuals and for all canopy positions (figure 3). Our results are consistent with the results in Orlović (1992) who studied different poplar clones in a nursery. Those results showed that the adaxial density was between 69 (*P. nigra* clones) and 164 (*Populus deltoides* W.Bartram *ex* Marshall clones) stomata per mm^2 , while the abaxial density was between 184 (*P. nigra* clones) and 208 (*P. deltoides* clones) stomata per mm^2 . Significant differences among studied clones in Orlović (1992) were explained by different clonal reactions to environmental changes, *i.e.* low phenotypic stability and high adaptability of poplar clones. In general *P. deltoides* and some Euroamerican poplar clones have a high stomatal density on both leaf surfaces, while *P. nigra* showed the lowest density values (Orlović *et al.* 1999). This stomatal distribution pattern is present in most cases, where stomatal density is considerably larger on the abaxial leaf surface, it may help prevent water loss since abaxial surface is less exposed to heating (Casson and Gray 2008). Besides the density ANOVA analysis also showed significant differences between other stomatal characteristics of adaxial and abaxial leaf surface.

The ratio of adaxial/abaxial stomatal densities is considered as a significant characteristic in poplar taxonomy differentiation (Ceulemans *et al.* 1995, Orlović *et al.* 1999) and it showed the average value of about 0.29 within pre-

sent *P. nigra* populations. Previous research showed the highest stomatal ratio present in *amphistomatous* poplar species within *Aigeiros* section, where *P. deltoides* had 0.8-0.9, followed by Euroamerican poplars with 0.6-0.7 and the lowest values were presented by *P. nigra* 0.3-0.4 (Orlović 1992, Orlović *et al.* 1999, Al Afas *et al.* 2006, Dillen *et al.* 2008), while few poplars from *Tacamahaca* section as *hypostomatous* species showed low ratio (Al Afas *et al.* 2006, 2007). Therefore, variations in stomatal characteristics among different poplar genotypes seem to be species specific (Al Afas *et al.* 2006). Poplar hybrids resulting from crosses between the *Tacamahaca* \times *Aigeiros* sections and within the same section showed median values of stomatal density, length and ratio of adaxial/abaxial densities, when compared to parental species (Al Afas *et al.* 2007). Significant stomatal differences among different poplar clones infer that these stomatal characteristics are genetically controlled to a high degree (Orlović *et al.* 2002), which confirmed that there are no hybrids within sampled *P. nigra* genotypes in our study.

Numerous investigations conducted in populations or provenance trials of various tree species characteristics have shown the same results: that the differences among individuals at the intra-population level were statistically significant and most often considerably larger than differences among populations (Batos *et al.* 2010, Poljak *et al.* 2014, Čortan *et al.* 2015). The determined variability patterns, where variability is much more pronounced within rather than among populations, could indicate the existence of the gene flow among the populations so that each population has a similar combination of genotypes (Poljak *et al.* 2014); nonetheless thorough molecular analyses are need.

CONCLUSIONS

Our results showed that environmental conditions of studied populations did not influence on phenotypic differences of stomatal characteristics among populations, which did not confirm our hypotheses for most leaf stomatal characteristics that have been examined (except for stomatal pore length and shape). However, inter- and intra-individual variability was confirmed with gain results, which show us that these characteristics are more under micro environmental influence.

Hence, we could conclude that the variation in *Populus nigra* might have evolved due to inter-individual variability and environmentally induced morphological and stomatal leaf traits specific variation. Since there are no specific patterns of stomatal traits variations among and within populations, further studies involving controlled environmental conditions should be necessary for better understanding of how morphological and stomatal characteristics vary in black poplar populations across the studied area and wider area and their possible phenotypic plasticity to changing climate conditions.

CLARIFICATION

Authors Dijana Čortan and Danijela Miljković contributed equally to this work.

REFERENCES

- Al Afas N, N Marron, R Ceulemans. 2006. Clonal variation in stomatal characteristics related to biomass production of 12 poplar (*Populus*) clones in a short rotation coppice culture. *Environmental and Experimental Botany* 58(1): 279-286. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2005.09.003
- Al Afas N, N Marron, R Ceulemans. 2007. Variability in *Populus* leaf anatomy and morphology in relation to canopy position, biomass production and varietal taxon. *Annals of Forest Science* 64(5): 521-532. DOI: 10.1051/forest:2007029
- Balasoorya BLWK, R Samson, F Mbikwa, UWA Vitharana, P Boeckx, M van Meirvenne. 2009. Biomonitoring of urban habitat quality by anatomical and chemical leaf characteristics. *Environmental and Experimental Botany* 65(2): 386-394. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2008.11.009
- Banković S, M Medarević, D Pantić, N Petrović, B Šljukić and S Obradović. 2009. The growing stock of the Republic of Serbia-state and problems. *Bulletin of Faculty Forestry – University of Belgrade* 100: 7-29.
- Batos B, D Vilotić, S Orlović, D Miljković. 2010. Inter and intrapopulation variation of leaf stomatal traits of *Quercus robur* L. in Northern Serbia. *Archives of Biological Sciences* 62(4): 1125-1136. DOI:10.2298/ABS1004125B
- Bayramzadeh V. 2011. Stomatal characteristics of *Fagus orientalis* Lipsky in geographically separated locations in the Caspian forest of Northern Iran. *Research Journal of Environmental Sciences* 5(11): 836-840. DOI: 10.3923/rjes.2011.836.840
- Bruschi P, P Grossoni, F Bussotti. 2003. Within- and among-tree variation in leaf morphology of *Quercus* (Matt.) Liebl. natural populations. *Trees-Structure and Function* 17(2): 164-172. DOI: 10.1007/s00468-002-0218-y
- Casson S, JE Gray. 2008. Influence of environmental factors on stomatal development. *New Phytologist* 178(1): 9-23. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2007.02351.
- Ceulemans R, L Van Praet, XN Jiang. 1995. Effects of CO₂ enrichment, leaf position and clone on stomatal index and epidermal cell density in poplar (*Populus*). *New Phytologist* 131(1): 99-107. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1995.tb03059.x
- Chaerle L, N Saibo, D van der Straeten. 2005. Tuning the pores: towards engineering plants for improved water use efficiency. *Trends in Biotechnology* 23(6): 308-315. DOI: 10.1016/j.tibtech.2005.04.005
- Čortan D, B Tubić, M Šijačić-Nikolić, D Borota. 2015. Variability of Black poplar (*Populus nigra* L.) leaf morphology in Vojvodina, Serbia. *Šumarski list* 139(5-6): 245-252.
- Dillen S, N Marron, B Koch, R Ceulemans. 2008. Genetic variations of stomatal traits and carbon isotope discrimination in two hybrid poplar families (*Populus deltoides* 'S9-2' x *P.nigra* 'Ghoy' and *P.deltoides* 'S9-2' x *P.trichocarpa* 'V24'). *Annals of Botany* 102(3): 399-407. DOI: 10.1093/aob/mcn107
- Dunlap JM, RF Stettler. 2001. Variation in leaf epidermal and stomatal traits of *Populus trichocarpa* from two transects across the Washington Cascades. *Canadian Journal of Botany* 79(5): 528-536. DOI: 10.1139/b01-029
- Eckenwalder JE. 1996. Systematics and evolution of *Populus*: Biology of *Populus*. In Stettler RF, HD Bradshaw, PE Heilman Jr., TM Hinckley eds. *Biology of Populus and its Implications for Management and Conservation*. Ottawa. Canada NRC Research Press. p. 7-32.
- Ferris R, L Long, SM Bunn, KM Robinson, HD Bradshaw, A Rae, G Taylor. 2002. Leaf stomatal and epidermal cell development: identification of putative quantitative traits loci in relation to elevated carbon dioxide concentration in poplar. *Tree Physiology* 22(9): 633-640. DOI: 10.1093/treephys/22.9.633.
- Gailing O, R Langenfeld-Heyser, A Polle, R Finkeldey. 2008. Quantitative trait loci affecting stomatal density and growth in a *Quercus robur* progeny: implications for the adaptation to changing environments. *Global Change Biology* 14 (8): 1934-1946.
- Hamzeh M, Dayanandan, S. 2004. Phylogeny of *Populus* (Salicaceae) based on nucleotide sequences of chloroplast trnT-trnF region and nuclear rDNA. *American Journal of Botany* 91(9): 1398-1408.
- Hetherington A, FJ Woodward. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* 424 (6951): 901-908. DOI:10.1038/nature01843
- Jones H. 1992. *Plants and Microclimate: A Quantitative Approach to Environmental Plant Physiology*: second edition. New York, USA. University Press. 323 p.
- Orlović S. 1992. Proučavanje morfologije i varijabilnosti stoma topola. Magistarski rad. Beograd, Serbia. Šumarski fakultet Univerziteta u Beogradu. 118 p.
- Orlović S, V Guzina, B Krstić, Lj Merkulov. 1998. Genetic variability in anatomical, physiological and growth characteristics of hybrid poplar (*Populus x euramericana* Dode (Guinier)) and eastern cottonwood (*Populus deltoides* Bartt.) clones. *Silvae Genetica* 47(4): 183-190.
- Orlović S, S Pajević, B Krstić. 1999. Anatomical and physiological parameters in selection of poplars (*Populus* sp.). In Proceedings for Natural sciences. Serbia and Montenegro. p. 27-39.
- Orlović S, S Pajević, B Krstić. 2002. Selection of black poplars for water use efficiency. In Proceedings for Natural sciences. Serbia and Montenegro. p. 45-51.
- Pearce D, S Millard, D Bray, S Rood. 2006. Stomatal characteristics of riparian poplar species in a semi-arid environment. *Tree Physiology* 26(2): 211-218.
- Poljak I, M Idzajtović, I Sapić, J Vukelić, M Zebec. 2014. Population variability of grey (*Alnus incana* L.) and black alder (*A. glutinosa* L.) in the Mura and Drava region according to the leaf morphology. *Šumarski list* 1-2: 7-16.
- Radosavljević N. 2009. The general management plan of forest and green lands in Autonomous Province of Vojvodina (APV), official document of Provenance government.
- Rohlf FJ 2001. TPSDig2: a program for landmark development and analysis. Available in <http://life.bio.sunysb.edu/morph/soft-dataacq.html>
- Ruso G, P De Angelis, J Mickle, MR Barone Lumaga. 2014. Stomata morphological traits in two different genotypes of *Populus nigra* L. *iForest – Biogeo Sciences and Forestry* 8: 547-551.
- SAS Institute, INC. 2011. SAS/STAT Users Guide, Version 9.1.3. Cary, NC: SAS Institute, Inc.

- Stojnić S, S Orlović, B Trudić, U Živković, G von Wuelisch, D Miljković. 2015. Phenotypic plasticity of European beech (*Fagus sylvatica* L.) stomatal features under water deficit assessed in provenance trial. *Dendrobiology* 73: 163-173. DOI: 10.12657/denbio.073.017
- Woodward FI, JA Lake, WP Quick. 2002. Stomatal development and CO₂: ecological consequences. *New Phytologist* 153(3): 477-484. DOI: 10.1046/j.0028-646X.2001.00338.x
- Zhang L, H Niu, S Wang, X Zhu, C Lou, Y Li, X Zhao. 2012. Gene or environment? Species-specific control of stomatal density and length. *Ecology and Evolution* 2(5): 1065-1070. DOI: 10.1002/ece3.233

Recibido: 23.01.17

Aceptado: 04.04.17

Effect of pre-treatments on the germination of jasmin box (*Phillyrea latifolia*) seeds in Greece

Efecto de tratamientos previos sobre la germinación de semillas de *Phillyrea latifolia* en Grecia

Gavriil Spyroglou ^a, Kalliopi Radoglou ^{b*}

^aHellenic Agricultural Organization “DEMETER”, Forest Research Institute, Thessaloniki, Greece.

*Corresponding author: ^bDemocritus University of Thrace (DUTH), Department of Forestry and Management of the Environment and Natural Resources, Pantazidou str 193, 682 00 N. Orestiada, Greece, phone: +30 25520 41171, kradoglo@fmenr.duth.gr, radoglou@fri.gr

SUMMARY

The major problem in seedlings production of jasmin box (*Phillyrea latifolia*) is the poor and irregular germination due to seed dormancy. The objective of the present study was to evaluate methods of seed pre-treatments to increase germination. The effect of different solutions of KOH and NaOH, wood ash lye, GA₃ and cold or warm stratification on germination were evaluated. Sets of four replicates of 25 seeds were soaked for 24 hours in KOH and NaOH solutions of 0.2, 0.5, 1 and 2 %, in wood ash lye solutions of 33, 66, 133, 166, 532 g L⁻¹ and in GA₃ solutions of 250, 500, 1000, 2,000, 3,000 mg L⁻¹. A control set of seeds was imbibed in water for 48 hours. All sets went through zero, two, four and six months of cold (2-4 °C) or warm (15 °C) stratification. The seeds were incubated in petri dishes filled with moistened sand, at two alternating temperatures (20/15 and 30/20 °C) with a light period of 16 hours. From the results we conclude that: Chemical pre-treatments with KOH and ash lye and warm stratification increased germination to 96 %. Treatment with water and warm stratification also increased germination to 79 %. Treatment with 250 mg L⁻¹ GA₃ and six months warm stratification increased germination to 70 % while higher concentrations had a negative effect. Cold stratification did not break dormancy. Optimum germination temperature in a growth chamber was 15-20 °C, while temperature at 20-30 °C inhibited germination.

Key words: dormancy breaking, seed germination, stratification, lye solutions, gibberellic acid.

RESUMEN

Un problema en la producción de plantas de labiérnago (*Phillyrea latifolia*) es la irregular y baja germinación debido al letargo de las semillas. El objetivo del presente estudio fue evaluar tratamientos previos a las semillas para aumentar su capacidad germinativa. Se evaluó el efecto de soluciones de KOH y NaOH (0,2, 0,5, 1 y 2 %), lejía de ceniza de madera (33, 66, 133, 166, 532 g L⁻¹) y GA₃ (250, 500, 1.000, 2.000, 3.000 mg L⁻¹) y estratificación en frío o en caliente. Conjuntos de cuatro repeticiones de 25 semillas se sumergieron durante 24 horas en las soluciones. Adicionalmente, se aplicó un tratamiento control conjunto de semillas embebidas 48 horas en agua. Todos los conjuntos pasaron por 0, 2, 4 y 6 meses de estratificación en frío (2-4 °C) o temperatura ambiente (15 °C). Las semillas, en placas de Petri con arena húmeda, se incubaron a dos temperaturas alternantes (20/15 y 30/20 °C) con un periodo de luz de 16 horas. Se concluyó que: los tratamientos con KOH y lejía de ceniza de madera y la estratificación cálida aumentaron significativamente la germinación hasta el 96 %. Tratamientos con agua y estratificación caliente también aumentaron la germinación a 79 %. El tratamiento con 250 mg L⁻¹ GA₃ y seis meses estratificación cálida aumentó la germinación hasta el 70 %, pero las concentraciones más altas tuvieron efecto negativo. La temperatura de germinación en la incubadora fue 15-20 °C. La alta temperatura de incubación (20-30 °C) y la estratificación fría (2-4 °C) resultaron en nula germinación.

Palabras clave: ruptura del letargo, germinación de semillas, estratificación, soluciones de lejía, ácido giberélico.

INTRODUCTION

One of the typical species of the Mediterranean maquis is the jasmin box (*Phillyrea latifolia* L.). It is an evergreen broad-leaved bush or small tree up to 5 m high (Dimopoulos *et al.* 2013). It grows in the peri-Mediterranean countries and, specifically in Greece, in dry maquis sites and as understory shrub in Aleppo pine and oak forests (Dimopoulos *et al.* 2013). As all evergreen, sclerophyllus shrubs

play an important role in the ecology of maquis vegetation. The genus *Phillyrea* belongs to the Oleaceae family and comprises two species, *P. latifolia* and *P. angustifolia* (L.). The first species grows across the eu-Mediterranean zone, all over Greece, while the second does not occur in Greece (Dimopoulos *et al.* 2013).

Phillyrea latifolia is a species of ecological and economic importance. It can be used as plant for soil protection in reforestations, suitable for landscape restorations becau-

se of its drought tolerance and easy resprouting after fires, as an ornamental shrub or small tree and finally it can be cultivated for the medicinal use of the leaves and fruits (Gucci *et al.* 1997, Yücedağ and Gültekin 2011).

The seeds of *P. latifolia* germinate very irregularly and with long delay if they are not submitted to some pre-treatment (Bachiller 1991). Traditional methods in nurseries usually give bad results in terms of low percentage and long-time germination (Cantos *et al.* 2001). They usually present double dormancy due to the impermeability of the seed coats because of hardness of the coat, the oily substances that may prohibit the water penetration and embryo physiological dormancy (Bachiller 1991, Takos and Efthimiou 2002). However, Mira *et al.* (2015) found that the *Phillyrea* spp. seeds imbibe water and thus do not present morphological dormancy. This type of double dormancy can be overcome by combining immersion in different chemical solutions, such as acids and pre-chilling at 2–4 °C for a certain period (Gordon *et al.* 1991, García–Fayos *et al.* 2001, ISTA 2008). In nature the fruits of *P. latifolia* are dispersed by birds and other fruit eating animals (Herrera *et al.* 1994). With the ingestion of the fruits the seeds are subjected to a chemical pre-treatment by the hydrochloric acid and other enzymes of the animal's ingestion system, hence the hard seed coat structure changes (Traveset *et al.* 2001). The inhibitor substances that are contained in the endosperm can be removed by stratification on forest floor and seeds germinate more easily in the spring.

There is a number of studies that are concerned with the ecology and germination of the seeds of the genus *Phillyrea*. Most of them have been carried out in Spain and few in Turkey. Traveset (1994) studied the effect of galling insects on the reproductive output of *P. angustifolia* in South-eastern Spain. Herrera *et al.* (1994) studied the fruit removal by birds, seed rain, post dispersal seed predation, seed germination and seedlings emergence, survival and establishment of *P. latifolia* in South-eastern Spain. The effect of high temperatures (70 and 120 °C) on the germination of *P. latifolia* was investigated by Raimon and Lloret (1995) in Barcelona, Spain. Cantos *et al.* (2001) reported that traditional methods in nurseries gave bad results in terms of low germination percentages and long germination time. In contrast, *in vitro* cultures of isolated embryos improved the germination of *P. latifolia* seeds collected in Malaga, Spain. Traveset *et al.* (2001) studied the effect of the fruits of bird dispersed trees that passed through bird guts and found interspecific differences in seed germination characteristics of *P. latifolia* growing in Balearic Islands. More recently, Mira *et al.* (2015) studied the seed germination characteristics of both *P. angustifolia* and *P. latifolia* growing in Cáceres and Andalucía, Spain. The effect of fruit collection date on the germination of *P. latifolia* growing in Erdigir, Southwestern Turkey, was conducted by Yücedağ and Gültekin (2011). Aygün *et al.* (2011) used chemical scarification with concentrated sulphuric acid, gibberellins and cold stratification to evaluate

the germination ability of different shrubs, including *P. latifolia* growing in Eskişehir province, Turkey.

Phillyrea latifolia, as a species belonging to Oleaceae family, produces fruits (drupes) that contain oily substances such as fat acids in the endocarp as well as in the endosperm similar to the fruits of olive trees (Barclay and Earle 1974, Royal Botanic Gardens Kew 2016). In the past, fruits of this species were harvested and consumed by people as wild olives (Pieroni and Pachaly 2000). These substances, among other inhibitors, might also be responsible for the physiological dormancy the seeds present and prevent germination. As it was mentioned before, *P. latifolia* is a species of growing ecological and economic importance. Recently, it has been suggested to be included, among other broadleaves, in the reforestations for biodiversity enhancement; although the difficult and irregular germination it presents makes it ineligible by the nurseries. Having this in mind as a general aim, we thought that in order to break dormancy and to improve the germination capacity of this species, it would be useful to treat these seeds with different lye solutions in order to neutralize the fat acids contained in the endocarp and subsequently, with cold at 2–4 °C or warm at 15 °C stratification in moist sand to remove the inhibitors that might be present in the embryo.

More specifically, the aims of this study are to evaluate the effect of lye solutions, of hormone GA₃, as well as of cold or warm stratification and incubation temperatures on dormancy breaking and to improve seed germination of *P. latifolia* seeds for successful plant production.

METHODS

Seed collection. The fruits of *P. latifolia* were collected from Kassandra, Chalkidiki, Northern Greece, (39° 59' 50" N, 23° 30' 14" E and 190 – 320 m a.s.l.) by hand in November 2012. The fruits were collected from 50 different mother trees and from all sides of the crown, packed in plastic bags and transferred to the nursery where cleaning and drying was carried out. The fruits were soaked in water for 24 hours and afterward beaten in a mixer. Using sieves and water under pressure the fleshy pulp was removed and seeds with endocarp were obtained. It must be mentioned here that the term seed is referred to the true seed plus endocarp. Subsequently the seeds were left to dry to a moisture content of 6–8 % and stored in hermetically closed glass containers in the refrigerator at 2–4 °C.

Chemical seed pre-treatments. Various chemical pre-treatments were applied to enhance the germination of *P. latifolia* seeds:

- Soaking in deionized water. Seeds were soaked in deionized water at room temperature for 48 hours (control).
- Soaking in KOH. Seeds were soaked in 0.2, 0.5, 1 and 2 % KOH for 24 h at room temperature for 24 hours.

- Soaking in NaOH. Seeds were soaked in 0.2, 0.5, 1 and 2 % KOH for 24 h at room temperature for 24 hours. Percent concentrations were used instead of Molarity (M) in KOH and NaOH solutions because we did not want to compare the solutions, rather, to study their potential impact on the germination of *P. latifolia* seeds.
- Soaking in ash lye solutions. Seeds were soaked in five different ash lye solutions for 24 hours. These solutions were obtained using fuelwood ash as solute and dissolving 33.25, 66.5, 133, 266 and 532 g L⁻¹ of oak fuelwood ash in water for 24 hours at room temperature and getting only the solution that had formed above the sediment of the fuelwood ash.
- Soaking in GA₃. Seeds were soaked in 250, 500, 1,000, 2,000, 3,000 mg L⁻¹ for 24 h at room temperature for 24 hours. Specifically, for GA₃ concentrations of 1,000, 2,000, 3,000 mg L⁻¹ the GA₃ salt was dissolved in phosphate buffer solution as it is recommended by the International Seed Testing Association (ISTA 2008).

Seed stratification and germination tests. After each one of the above pre-treatments, seeds were stratified in moistened sand for zero, two, four and six months at 2-4 °C (cold stratification) and at 15 °C (warm stratification).

To determine the effect of temperature on germination, seeds were incubated at two different alternating temperatures: (a) 16 hours light at 30 °C and 8 hours dark at 20 °C and (b) 16 hours light at 20 °C and 8 hours dark at 15 °C. Four replicates of 25 seeds were used for each combination of pre-treatments. The seeds were placed in 9 cm plastic petri dishes that were filled with sand as a substrate and moistened with deionized water except the GA₃ pre-treatments where the substrate was moistened with the respective GA₃ solutions (ISTA 2008). Radical emergence was taken as the criterion of seed germination. Germination counts were made for the first time on the seventh day and subsequently, three times per week and the last, on the fifty sixth day.

Data analysis. Germination percentages were calculated for each pre-treatment. Differences among means were tested by the one way analysis of variance and GLM. Duncan's multiple range test was used for the identification of the homogenous groups, when significant differences were identified. A significance level of 5 % was used for all statistical analyses. SPSS statistical software was used for the analyses (Norusis 2002).

RESULTS

Effects of incubation temperature. The set of high germination temperature conditions in growth incubator (20-30 °C) resulted to zero germination for all seed pre-treatments. For this reason data and statistics are not shown for this treatment. Despite the duration of cold stratification, once

the seeds were placed in the incubator at 30/20 °C, some of them seemed to have already started to germinate by the end of the first week (figure 1). Four weeks later, the situation remained the same and no seed developed a regular root of a normal seedling. The second set of low germination temperature conditions in growth incubator 20/15 °C resulted in high germination percentages for *P. latifolia* seeds for all pre-treatments.

Effect of chemical seed pre-treatment. The effect of the different chemical solutions in which the seeds were pre-treated, regardless of the solution concentrations, type and duration of stratifications and for incubation temperatures (20/15 °C), appears to be significant ($F = 3.643$, $P = 0.009$). Seeds pre-treated with KOH, ash lye and NaOH resulted in mean germination of 55.4 %, 52.9 % and 42.9 %, respectively (figure 2). Although the seeds pre-treated with NaOH showed smaller mean germination compared to the other two solutions, there is no statistical significant difference among them. Seeds pre-treated with GA₃, regardless of concentrations and water, resulted in 24.7 % and 21.17 % germination respectively with no statistical significant difference among them.

The water pre-treatment exhibited mean germination 21.2 % for the four durations of stratification. Taking into account that the "no" stratification pre-treatment resulted to zero germination, the above mean germination confirms the positive effect of the stratification on the germination of *P. latifolia* seeds.

Effect of stratification. The effect of the different stratification durations the seeds have passed, regardless of the chemical pre-treatments and concentrations and for incubation temperatures (20/15 °C), appears to be very significant ($F = 17.887$, $P < 0.000$). It is clear that without stratifica-



Figure 1. *Phillyrea latifolia* seed with emerged and stopped growing radicle after four weeks in the incubator at 20-30 °C (Scale: 0-1 cm).

Semilla de *Phillyrea latifolia* germinada con crecimiento radicular después de cuatro semanas dejadas en condiciones de incubadora a 20 – 30 °C.

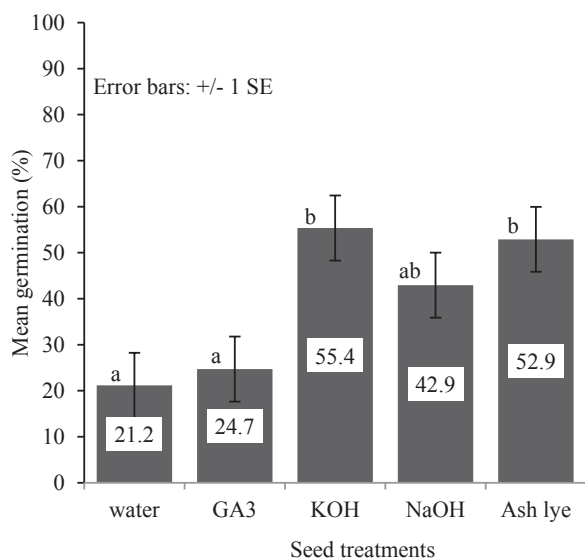


Figure 2. Effect of different chemical solutions on the mean germination percentage of *Phillyrea latifolia* seeds incubated at 20/15 °C. Means are statistically different when they share no common letter (Duncan, $P < 0.01$).

Efecto de diferentes soluciones químicas sobre el porcentaje de germinación de semillas de *Phillyrea latifolia* a 20/15 °C. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas (Duncan, $P < 0.01$).

tion, seeds of *P. latifolia* do not germinate. However, the general mean germination of 4.4 % means that the chemical pre-treatments themselves had a marginal positive effect on germination.

Two months stratification resulted in 39.2 % germination. The stratification periods of four and six months showed mean germination rates of 59.1 % and 68.7 % respectively across all seed pre-treatments and they appear as a homogenous group with no statistical significant difference (figure 3). A potentially negative effect of the six months warm stratification, which is considered long time, was the formation of long roots by several seeds, some of them being as long as 10 cm.

The effect of cold stratification at 2-4 °C was detrimental for all seeds of *P. latifolia*, irrespectively from the chemical pre-treatments that they were subjected to.

Effect of chemical solutions and warm stratification pre-treatment combinations on germination. The highest arithmetic germination percentage mean (96 %) was recorded for seeds pre-treated with 0.2 % KOH solution, followed by six months warm stratification at 15 °C (table 1, figure 4). In general, this pre-treatment resulted to be the second, after ash lye, more homogenous performance of germination across all concentrations and stratification periods.

The second highest germination (91 %) was recorded for 266 g L⁻¹ wood ash lye solution and six months warm stratification at 15 °C (table 1, figure 4). The germination

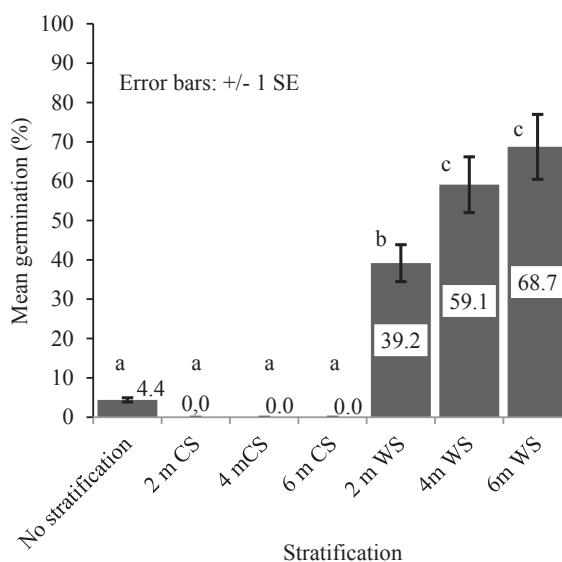


Figure 3. Effect of stratifications on the mean germination percentage of *Phillyrea latifolia* seeds incubated at 20/15 °C. Means are statistically different when they share no common letter (Duncan, $P < 0.01$). CS: Cold stratification, WS: Warm stratification.

Efecto de las estratificaciones en la capacidad germinativa media de semillas de *Phillyrea latifolia* a 20/15 °C. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas (Duncan, $P < 0.001$). CS: estratificación fría, WS: estratificación caliente.

percentage was homogenous and directly analogous to the increase of concentration and duration of stratification. For NaOH solution the best germination (89 %) was recorded in 0.5 % concentration and six months warm stratification at 15 °C (table 1, figure 4). The NaOH pre-treatment shows a different pattern of germination compared to KOH pre-treatment. It is clear that the 2 % concentration of both hydroxides had a negative effect on germination in all stratification durations. The 250 mg L⁻¹ GA₃ solution followed by six months warm stratification at 15 °C resulted in 68 % germination (table 1, figure 4). For the long stratification periods, it was observed that the higher the concentration of GA₃, the lower the germination percentage. The fact that the substrate of all GA₃ pre-treatments was moistened by the respective solution resulted in negative effect on germination for high GA₃ concentrations. The smallest germination (11 %) recorded for 3,000 mg L⁻¹ GA₃ after six months of stratification.

An interesting result from this study was that the highest germination of the seeds pre-treated with water was 79 % after six months of warm stratification (table 1, figure 4).

DISCUSSION

Four interesting findings were derived from this study. First, the incubation temperatures of 30 °C for 16 hours light, alternate with 20 °C for 8 hours dark not only pro-

Table 1. Effects of chemical pre-treatments combined with warm stratification at 15 °C on mean germination percentage of *Phillyrea latifolia* seeds incubated at 20/15 °C [mean (± SD)].

Efectos de los pre-tratamientos químicos, y estratificación caliente en el porcentaje de germinación de las semillas de *Phillyrea latifolia* que se incubaron a 20/15 °C [Media (± desviación estándar)].

Treatment	Warm stratification months	Concentrations				
		0.2 %	0.5 %	1.0 %	2.0 %	
KOH	0	0 (0.00)	1 (0.5)	2 (0.58)	0 (0.00)	
	2	63 (1.71)	56 (2.71)	68 (3.83)	47 (0.96)	
	4	79 (1.71)	83 (2.63)	88 (0.82)	62 (1.91)	
	6	96 (1.41)	89 (1.71)	90 (1.73)	62 (2.65)	
NaOH	0	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (0.58)	0 (0.00)	
	2	55 (1.71)	55 (1.71)	50 (1.29)	11 (1.26)	
	4	84 (1.83)	80 (1.83)	68 (2.45)	23 (3.77)	
	6	75 (2.87)	89 (2.22)	76 (2.45)	19 (2.06)	
		33.25 g L ⁻¹	66.5 g L ⁻¹	133 g L ⁻¹	266 g L ⁻¹	532 g L ⁻¹
Ash lye	0	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	3 (0.96)
	2	36 (2.16)	35 (2.06)	54 (1.73)	63 (1.89)	54 (3.11)
	4	59 (3.95)	66 (2.52)	75 (2.5)	90 (1.73)	84 (3.46)
	6	79 (3.5)	90 (1.00)	90 (1.29)	91 (2.63)	86 (1.29)
		250 mg L ⁻¹	500 mg L ⁻¹	1,000 mg L ⁻¹	2,000 mg L ⁻¹	3,000 mg L ⁻¹
GA ₃	0	2 (0.58)	8 (1.41)	21 (2.36)	22 (2.08)	15 (1.26)
	2	23 (0.96)	21 (4.19)	15 (1.71)	8 (1.41)	17 (4.03)
	4	49 (2.06)	32 (1.83)	32 (2.94)	18 (2.08)	16 (1.83)
	6	68 (2.16)	48 (6.48)	43 (3.86)	25 (0.5)	11 (0.96)
Water	0	0 (0.00)				
	2	13 (1.71)				
	4	35 (4.43)				
	6	79 (3.59)				

moted germination (figure 1), but also induced secondary dormancy on *P. latifolia* seeds, and seeds failed to germinate. The second set of incubation temperatures of 20 °C for 16 hours light, alternate with 15 °C for 8 hours dark proved to be the appropriate germination temperature for all seed pre-treatments. Mira *et al.* (2015) tried different incubation temperatures, from 5 to 25 °C for the germination of *P. angustifolia* and *P. latifolia* seeds in Spain and found that the optimum germination temperature for both species was 15 °C. Temperatures approaching 30 °C are common during the summer months in the Mediterranean zone and this fact sets the seeds automatically at dormant stage, in order to overcome the summer high temperatures. In contrast, in winter and spring time, the prevailing mean temperatures are usually above 7-10 °C in the vegetation zones where *Phillyrea* species grow. It is worth mentioning that after the end of the germination test under the set

of high germination temperature conditions in growth incubator, the petri dishes with the seeds were left in a room with temperature between 8 and 15 °C. After two months they started to germinate. Other studies on germination temperatures for most Mediterranean shrub species suggest 15-20 °C as optimal temperature (Thanos *et al.* 1992, 1995). Concerning stratification, the cold stratification at 2-4 °C for all the combinations of chemical pre-treatments resulted in zero germination, while warm stratification at 15°C significantly increased the germination. Generally, stratification temperatures at 2-4 °C, which are suitable for breaking seed physiological dormancy of many forest species growing in high mountains or high latitudes, for the evergreen broadleaved species of Mediterranean region, are considered very low temperatures, even for winter time and seeds remain dormant as long as stratified in these temperatures. In the case of *P. latifolia*, which grows

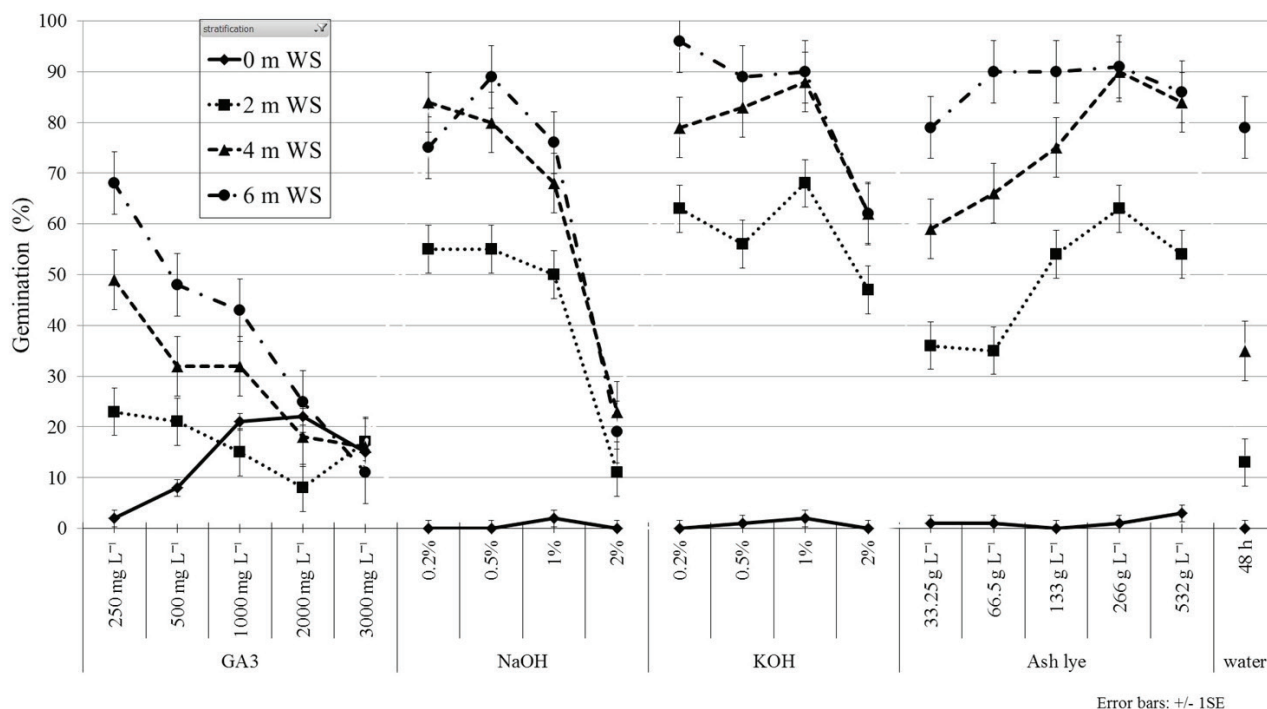


Figure 4. Germination percentage of *Phillyrea latifolia* seeds pre-treated with different concentrations of GA₃, NaOH, KOH, wood ash lye, water (control) and warm stratification (WS) at 15 °C for zero, two, four and six months.

Porcentaje de germinación de semillas de *Phillyrea latifolia* tratados con diferentes concentraciones de GA₃, NaOH, KOH, lejía de ceniza de madera, agua (control) y estratificación caliente (WS) a 15 °C para cero, dos, cuatro y seis meses.

in Mediterranean maquis where the weather conditions are dry summers and mild winters, the warm stratification at 15 °C should be considered more as cold stratification than as warm, because this temperature is closer to real natural winter conditions than is this other temperature of 2-4 °C. Mira *et al.* (2015) found that cold stratification at 5 °C had a negative effect on seed germination of *P. angustifolia* and *P. latifolia* seeds in Spain, probably inducing secondary dormancy. In contrast, 30.1 % germination after two months of cold stratification at 3-4 °C for *P. latifolia* seeds is reported by the Aygün *et al.* (2011), which directly contradicts our results. However, the low incubation temperatures (10 °C in dark and 22 °C in light for 60 days) have created the necessary conditions for overcoming the dormancy induced by the cold stratification and the seeds germinated. Relatively low germination percentages (58 %) were obtained in another study that was performed in Turkey by Yücedağ and Gültekin (2011). The autumn sowing in the nursery at the 926 m a.s.l. worked as if the seeds had been subjected to cold stratification. Another experiment of autumn sowing of *P. latifolia* seeds that was performed in Northern Greece resulted in zero germination in the next spring (Takos and Efthymiou 2002). The meteorological data of the nearby station that was reported in the study show that the winter temperatures were below 5 °C. This is a possible explanation for the germination failure. Raimon

and Lloret (1995) reported that subjecting *P. latifolia* seeds to cold stratification at 6 °C for one month did not improve significantly the germination percentage of seeds exposed to temperatures of 70 and 120 °C.

The positive effect of lye solutions on the germination of *P. latifolia* seeds is illustrated through the second finding of this study. According to figure 2, the effect of KOH, NaOH and wood ash lye solutions on the germination was higher than that of GA₃, which, in statistical sense, did not behave differently from the water, control pre-treatment. The assumption that fat acids may prevent water molecules to penetrate the endosperm and start the germination processes stands true, at least for the seeds collected in the present study. Ellis *et al.* (1985) report as dormancy breaking treatments for olive tree seeds the immersion in KOH or NaOH 0.5-0.75 % for 6 hours. The low performance of GA₃ solutions, irrespectively from concentrations, is attributed to two facts; firstly, that the substrate was moistened by the GA₃ solution and thus there was a constant effect on the seeds during the stratification periods, as well as during incubation time and secondly, that concentrations above 1,000 mg L⁻¹ are too high and may have been harmful to the seeds. Results of studies for other tree species indicate that the seed germination and growth rate is hastened to maximum by the application of 750 mg L⁻¹ GA₃ for 24 hours (Dhupper 2013).

The third finding concerns the stratification time the seeds were subjected to in this study. It is clear that without stratification, germination of *P. latifolia* seeds is roughly close to zero (figure 3). The marginal mean germination percentage of 4.4 % that was recorded can be attributed to the pre-treatment with GA₃ solutions, but in any case, stratification at 15 °C is the main driving factor for breaking dormancy. Finch-Savage and Leubner-Metzger (2006) in their review on dormancy and control of germination classify the seeds of the oleaceae family into those which exhibited morphophysiological dormancy. Piotto and Di Noi in APAT (2003) reported that embryos of the Chalkidikis olive cultivar seeds achieved germination levels up to 73 %, while the ones previously undergoing cold stratification (+10 °C) for at least two weeks germinated more completely (96 %). Our findings indicate that two months stratification, irrespectively from chemical pre-treatments, is the critical time necessary for the inhibitor substances concentrations to start reducing and allow the process of germination to initiate. Further stratification to four months significantly enhances the germination, reaching a mean value of almost 60 %. Six months of stratification increases germination even more, although this is not as statistically significant as that of four months. A problem of treating the seeds with six months stratification is the development of long roots from the seeds that germinated early within the stratification. This might have a potential negative effect of handling the germinated seeds by the nurseries at the time of transplanting them to planting containers. Treating seeds with two- or four-month stratification reduces the germinated seeds in the stratification, without losing much of the seed's germination potential.

The combined effects of solutions, concentrations and durations of stratification gave significant results. The best germination percentage was exhibited by the 0.2 % of KOH concentration, followed by six months of stratification (figure 4). The second best germination percentage was achieved by the 266 g L⁻¹ wood ash lye solution after six months of stratification (figure 4). It must be noted here that ash lye solutions presented the most homogenous germination percentages among the solution concentrations and stratification periods, compared with the other pre-treatments. The third best germination was achieved by the 0.5 % NaOH solution pre-treatment after six months of stratification. The large difference (47 % vs. 11 %) in the germination between 2 % w/v KOH and 2 % w/v NaOH is attributed to the fact that the two solutions are not chemically equivalent, because 2 % w/v KOH corresponds to 0.36 M solution, while 2 % w/v NaOH is equivalent to 0.5 M solution. Despite the higher reactivity of Potassium, due to the higher molecular weight of KOH, the solution is weaker compared to the same w/v NaOH solution. The difference of 0.14 M in the concentrations of the two solutions was responsible for the significantly lower germination performance of seeds pre-treated with NaOH. The use of alkali hydroxides as chemical scarification pre-

treatments is reported by APAT (2003) for the germination of *Olea cuspidata* (Wall ex G. Don) Cif. seeds, a species similar to *Olea europaea* L., which is used as rootstock in many countries. Scarification with alkalis (KOH, NaOH) has also been shown to be effective in breaking seed dormancy in grasses (Perveen *et al.* 2008, Hu *et al.* 2014).

Soaking *P. latifolia* seeds in GA₃ solutions followed by warm stratification also produced satisfactory germination results, nonetheless in a rather irregular pattern, compared with alkali hydroxides and wood ash lye. The seeds that were stratified for four and six months had higher germination percentages (figure 4) only at the lowest concentration (250 mg L⁻¹) of the GA₃, compared with higher concentrations and shorter stratification durations. The same pattern of the hormone behavior combined with stratification found by Smiris *et al.* (2006) on the germination of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) seeds pre-treated with GA₃ and cold stratification. The fact that the substrate of each GA₃ pre-treatment was moistened by the respective solution might have resulted in this low germination percent for the highest GA₃ concentration. The interesting finding of GA₃ pre-treatment was the fairly high germination percentages (15 % to 23 %) achieved by 1,000, 2,000 and 3,000 mg L⁻¹ concentrations without stratification. This clearly shows a certain positive effect of GA₃ on the germination of *P. latifolia* seeds, which is not present in all other pre-treatments (figure 4). Similar results (21 %) of the effect of GA₃ at 1,000 mg L⁻¹ on the germination are reported by Mira *et al.* (2015). The positive effect of high GA₃ concentrations on seeds germination is reported in studies for other forest species such as the *Arbutus unedo* (Smiris *et al.* 2006).

The surprising finding in this study was the water or control pre-treatment performance (figure 4). *Phillyrea latifolia* seeds reached 13 % after two months, 35 % after four months and finally 79 % germination after six months of warm stratification, meaning that very satisfactory results can be obtained by just giving a good hydration to the seeds that are going to be germinated and submitting them to six months of stratification at 15 °C without using expensive or corrosive substances such as Gibberellic acids and alkali hydroxides. Mira *et al.* (2015) reported 14 % germination after 24 h soaking in water. The use of wood ash lye however, could be a good and more environmentally friendly alternative.

Although seeds of shrub species growing in the maquis vegetation zone have no morphological dormancy (underdeveloped embryos), our results showed that stratification at 15 °C for up to six months was the main driving factor for the germination of *P. latifolia* seeds. These seeds may present a combination of morpho-physiological dormancy (Hartmann *et al.* 2011). The cold stratification itself may have broken down the physiological dormancy, however has also prohibited the embryo development. The stratification at 15 °C for at least four months allowed the embryo development, because the temperature was not so low

(near freezing) and at the same time the four or six months stratification time was sufficient to break the physiological dormancy. Since the seed coat of *P. latifolia* is permeable to water and not hard enough to prevent germination mechanically, further research on the embryo maturation may explain the long stratification time needed for germination.

CONCLUSIONS

From the present study the following conclusions can be drawn: (1) The wood ash lye solutions, alkali hydroxides, gibberellic acid and warm stratification have a strong positive effect on the germination capacity of *P. latifolia* seeds. (2) Stratification at 15 °C improved significantly the germination capacity. (3) Stratification treatment at 2-4 °C and incubation temperature at 20-30 °C prevent seeds from germination inducing secondary dormancy. (4) High concentrations of GA₃ and NaOH reduce the germination potential. (5) The control method (pre-treatment with water and stratification at 15 °C for six months) improved significantly the germination capacity and constitutes a cheap and safe germination method easily applied by nurseries.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research received funding from the VERENIKE LIFE09 NAT /GR/000326 project.

REFERENCES

- APAT (Italian Agency for the Protection of the Environment and for Technical Services, IT). 2003. Seed propagation of Mediterranean trees and shrubs. In Piotto B, A Di Noi eds. Propagation of Mediterranean trees and shrubs from seed. Roma, Italy. Agency for the Protection of the Environment and for Technical Services. p. 1-108.
- Aygün C, M Olgun, AL Sever, I Kara, I Erdoğan, AK Atalay. 2011. Evaluation of germinabilities of different shrubs by some methods. *Biological Diversity and Conservation* 4(3): 52-57.
- Bachiller GC. 1991. Semillas de árboles y arbustos forestales. 4ª edición. Madrid, España. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Instituto de la Conservación de la Naturaleza (ICONA). 392 p.
- Barclay AS, FR Earle. 1974. Chemical analyses of seeds III oil and protein content of 1253 species. *Economic Botany* 28(2): 178-236.
- Cantos M, J Liñán, J Troncoso, A Aparicio, A Troncoso. 2001. El cultivo in vitro, un método para mejorar la germinación de plantas con interés forestal en Andalucía. In Sociedad Española de ciencias forestales, ed. Proceedings of the III Congreso Forestal Español on Montes para la Sociedad del nuevo milenio, 2001 septiembre 25-28. Granada, España. Consulted 4 Apr. 2016. Available in www.congresoforestal.es/fichero.php?t=41725&i=1778&m=2185
- Dhupper R. 2013. Effect of Gibberellic Acid on Seed Germination and Seedling Growth Behaviour in Three Desert Tree Species. *Journal of Biological and Chemical Research* 30(1): 227-232.
- Dimopoulos P, TH Raus, E Bergmeier, TH Constantinidis, G Iatrou, S Kokkini, A Strid, D Tzanoudakis. 2013. Vascular plants of Greece: An annotated checklist. *Englera* 31: 1-370.
- Ellis RH, TD Hong, EH Roberts. 1985. Handbook of seed technology for genebanks Volume II: compendium of specific germination information and test recommendation. Rome, Italy. International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR). 456 p.
- Finch-Savage EW, Leubner-Metzger G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171(3): 501-523.
- García-Fayos P, J Guilas, J Martínez, A Marzo, JP Melero, A Traveset, P Veintemilla, M Verdú, V Cerdán, M Gasque, H Medrano. 2001. Bases ecológicas para la recolección, almacenamiento y germinación de semillas de especies de uso forestal de la Comunidad Valenciana. Valencia, España. Banc de Llavors Forestals, Conselleria de Medi Ambient, Generalitat Valenciana. 82 p.
- Gucci R, R Massai, S Casano, E Gravano, M Lucchesini. 1997. The effect of drought on gas exchange and water potential in leaves of seven Mediterranean woody species. In Mohren GJM, K Kramer, S Sabate eds. Impacts of global change on tree physiology and forest ecosystems. Dordrecht, The Netherlands. Kluwer Academic Publishers. p. 225-231.
- Gordon AG, P Gosling, BSP Wang. 1991. Tree and shrub seed handbook. Bassersdorf, Switzerland. International Seed Testing Association. 171 p.
- Herrera CM, P Jordano, L López Soria, A Amat. 1994. Recruitment of a mast-fruited, bird-dispersed tree: bridging frugivore activity and seedling establishment. *Ecological Monographs* 64(3): 315-344.
- Hartmann TH, ED Kester, TF Jr Davies, LR Geneve. 2011. Hartmann and Kester's plant propagation: principles and practice. 8th edition. Upper Saddle River, NJ, USA. Prentice Hall. 880 p.
- Hu XW, YP Wu, XY Ding, R Zhang, YR Wang, JM Baskin, CC Baskin. 2014. Seed Dormancy, Seedling Establishment and Dynamics of the Soil Seed Bank of *Stipa bungeana* (Poaceae) on the Loess Plateau of Northwestern China. *PLoS One* 9(11) e112579: 1-10. DOI: 10.1371/journal.pone.0112579.
- ISTA (International Seed Testing Association, CH). 2008. International rules for seed testing. Edition 2008/1. Bassersdorf, Switzerland. 350 p.
- Norusis MJ. 2002. SPSS 11.0 Guide to data analysis. Upper Saddle River, NJ, USA. Prentice Hall. 637 p.
- Mira S, L Veiga-Barbosa, F Pérez-García. 2015. Seed germination characteristics of *Phillyrea angustifolia* L. and *P. latifolia* L. (Oleaceae), two Mediterranean shrub species having lignified endocarp. *Annals of Forest Research* 58(1): 27-37. DOI: 10.15287/afr.2015.304.
- Perveen A, IM Naqvi, R Shah, A Hasnain. 2008. Comparative Germination of Barley Seeds (*Hordeum Vulgare*) Soaked in Alkaline Media and Effects on Starch and Soluble Proteins. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 12(3): 5-9.
- Pieroni A, P Pachaly. 2000. An ethnopharmacological study on common privet (*Ligustrum vulgare*) and phillyrea (*Phillyrea latifolia*). *Fitoterapia* 71: 89-94.
- Raimon S, F Loret. 1995. Germinación en el laboratorio de varias

- especies arbustivas Mediterráneas: efecto de la temperatura. *Orsis* 10: 25-34.
- Royal Botanic Gardens Kew. 2016. Seed Information Database (SID). Version 7.1. Consulted 19 Oct. 2016. Available from: <http://data.kew.org/sid/>
- Smiris P, E Pipinis, M Aslanidou, O Mavrokordopoulou, E Milios, A Kouridakis. 2006. Germination study on *Arbutus unedo* L. (*Ericaceae*) and *Podocytisus caramanicus* Boiss. et Heldr. (*Fabaceae*). *Journal of Biological Research-Thessaloniki* 5: 85-91.
- Thanos CA, K Georghiou, C Kadis, C Pantazi. 1992. Cistaceae: a plant family with hard seeds. *Israel Journal of Botany* 41: 251-263.
- Thanos CA, C Kadis, F Skarou. 1995. Ecophysiology of germination in the aromatic plants thyme, savory and *C. ladanifer*. *International Journal of Wildlife* 2: 15-20.
- Takos I, SG Efthimiou. 2002. Germination Results on Dormant Seeds of fifteen Tree Species Autumn Sown in a Northern Greek Nursery. *Silvae Genetica* 52(2): 67-71.
- Traveset A. 1994. Reproductive biology of *Phillyrea angustifolia* L. (*Oleaceae*) and effect of galling-insects on its reproductive output. *Botanical Journal of the Linnean Society* 114(2): 153-166.
- Traveset A, N Riera, RE Mas. 2001. Passage through bird guts causes interspecific differences in seeds germination characteristics. *Functional Ecology* 15(5): 669-675.
- Yücedağ C, C Gültekin. 2011. Effects of fruit collection date on *Phillyrea latifolia* L. seed germination. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 14(15): 785-787. DOI: 10.3923/pjbs.2011.785.787.

Recibido: 11.11.16

Aceptado: 18.04.17

Phytosociology of a natural fragment of the floodplain forest in the Lower Tapajós River, Brazil

Fitosociología de un fragmento natural de bosque inundable en el Bajo Río Tapajós, Brasil

Diego dos Santos Vieira ^{,} Marcio Leles Romarco de Oliveira ^{a,} João Ricardo Vasconcelos Gama ^{b,}
Evandro Luiz Mendonça Machado ^{a,} Eric Bastos Görgens ^{a,} Bruno Oliveira Lafetá ^{a,} Josinei Silva Garcia ^b**

*Autor de correspondência: ^a Federal University of Jequitinhonha and Mucuri Valleys,
Department of Forestry, Diamantina, Brazil, tel.: 55-93-991973755, diegovieir4@gmail.com.

^b Federal University of Para West, Department of Forestry, Santarém, Brazil.

SUMMARY

The aim of this study was to describe the floristic, structure and spatial pattern of species occurring in a natural fragment of the floodplain forest in the lower Tapajós River, Pará. Three hundred and eight contiguous sampling unities of 100 m² were installed, comprising a sampling area of 3.08 ha. In each plot, all individuals with DBH (diameter at breast height of 1.30 cm) equal to or higher than 10 cm were measured, identified, and referenced in Cartesian coordinates (X, Y). The analyses of the diversity and spatial pattern were performed using the Shannon-Weaver index and the Ripley's K function, respectively. There were 1,022 individuals surveyed, including 64 tree species and 33 families. The diversity recorded was 3.03; the total density was determined to be 331.8 individuals ha⁻¹ and basal area of 16.10 m² ha⁻¹. The species of high ecological value were *Campsiandra laurifolia*, *Hevea brasiliensis*, *Glicoxylon pedicellatum*, *Tetragastris altissima*, *Vantanea parviflora* and *Mabea caudata*. The diametric distribution of the community and species, except for *Hevea brasiliensis*, behaved as expected for uneven-aged forests, and presented an exponential distribution with an inverted J form. The community spatial pattern showed variations depending on the considered distance, however there was a predominance of aggregated distribution. The spatial patterns detected on the species were: I - partially aggregated and random for *Vantanea parviflora* species, II - completely aggregated to the *Hevea brasiliensis* and *Glicoxylon pedicellatum* species, and III - predominantly aggregated to *Campsiandra laurifolia*, *Tetragastris altissima* and *Mabea caudata*.

Key words: vertical structure, Ripley's K function, Amazon, floristic diversity.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue describir la flora, estructura y distribución espacial de las especies que se producen en un fragmento natural de bosque inundable en el Bajo Río Tapajós, Pará. Se instalaron 308 unidades de muestreo contiguas de 100 m², que comprende un área de muestreo de 3,08 ha. En cada parcela, todos los individuos con diámetro a 1,30 cm del suelo superior o igual a 10 cm fueron medidos, identificados y referenciados en coordenadas cartesianas (X,Y). El análisis de la diversidad y el patrón espacial se realizó mediante el índice de Shannon-Weaver y la función K de Ripley, respectivamente. Se inventariaron 1.022 individuos, distribuidas en 64 especies y 33 familias. La diversidad registrada fue de 3,03, la densidad total de 331,8 individuos ha⁻¹ y el área basal de 16,10 m² ha⁻¹. Las especies de mayor importancia ecológica fueron *Campsiandra laurifolia*, *Hevea brasiliensis*, *Glicoxylon pedicellatum*, *Tetragastris altissima*, *Vantanea parviflora* y *Mabea caudata*. La distribución del diámetro para la comunidad y las especies, excepto la *Hevea brasiliensis*, se comportó como se espera para bosques multietáneos, es decir, distribución exponencial en forma de J-invertida. El patrón espacial de la comunidad mostró variaciones en función de la distancia, sin embargo, hubo predominio de la distribución agregada. Los patrones espaciales de las especies encontradas fueron: I) agregado parcialmente y aleatorio de la especie *Vantanea parviflora*; II) agregado por completo de las especies *Hevea brasiliensis* y *Glicoxylon pedicellatum*; y III) predominantemente agregado para *Campsiandra laurifolia*, *Tetragastris altissima* y *Mabea caudata*.

Palabras clave: estructura vertical, K de Ripley, Amazon, diversidad florística.

INTRODUCTION

The complex set of vegetation types that make up the Amazon biome is the expression of multiple conditioning variables as geological origin, lay of the land, adjacent vegetation and climatic factors, which are of inestimable im-

portance to local biodiversity maintenance and quality of water resources. An integral part of these crop formations, the Alluvial Dense Rainforests, commonly called "riparian forests and riverside forests," mainly constitute environments located on the banks of some rivers and humid lowlands that are influenced by seasonal flooding, which

consequently causes the fragmentation of the natural habitats (IBGE 2012) by exclusive species selectivity.

Due to the intensity and frequency of floods, gradual changes in water flows and the dynamics of removal and deposition of sediments, these biotic communities are prone to constant instability and reorganization, since their establishment processes, growth and reproduction are influenced by water levels. Although they are considered permanent preservation areas by Federal Law N° 12651/2012 of the Brazilian Forest Code, riparian forests are among the most threatened ecosystems, because they are complex and fragile systems that face continuous anthropogenic impacts. According to Freitas *et al.* (2013) and Dias *et al.* (2014) many of these areas, essential for the maintenance and protection of water resources, serve as vegetation corridors that, among other benefits, increase the transit of pollinators and seed dispersers and the possibility of genetic exchange with remote areas.

Despite the environmental benefits of maintaining these ecosystems and that the risks of destruction are well known, efforts for the conservation of these areas normally encounter not very comfortable situations, since besides the increase of illegal deforestation rates in the Amazon, much has been discussed about the construction of a hydroelectric dam complex on the Tapajós River, which may, among other environmental impacts, cause loss of native vegetation and decrease of local biodiversity. However, when pursuing to characterize and circumscribe the tree species in floodplains through floristic surveys, there is a better understanding of the dynamics leading intraspecific relationships of vegetation and its relations with the abiotic environment, in order to contribute to a better conservation or recovery of these ecosystems. Chaves and Manfredi (2010), for example, identified by means of a floristic survey 22 species with medicinal potential, which can be used in the recovery of riparian forests, while Gomes *et al.* (2014) and Ferreira *et al.* (2010) observed that the species of the Fabaceae family are the most occurring in riparian forests, which means that species of this family should be prioritized in projects for the recovery and restoration of these ecosystems.

Several phytosociological studies have been reported in the Amazon, but there are only a few forest inventories that have been carried out in floodplains, mostly concentrated near Manaus (AM) and Belém (PA) (Parolin *et al.* 2004, Hamaguchi and Scudeller 2011). Others have been conducted on the Xingu River and Jaú National Park (Ferreira 1997). Considering the environmental benefits, as well as the lack of information on floodplain forests in the western Pará, phytosociological surveys describing structural and spatial aspects of vegetation become essential. In addition, the available scientific knowledge claims that activities related to conservation, management and restoration of floodplain formations are not susceptible to generalizations, therefore the diversity of species as the producers of ecological restoration projects on such formations must be out of date.

Generally, these projects should be based on studies carried out on the remains of floodplain forests of the region, to support the selection of characteristic species of this formation, considering spatial distribution aspects of species, their adaptability to different environments and ecological groups, ensuring a successful restoration (Rodrigues and Naves 2000). Whereas wetland areas present exclusive species of these environments, this study aims at determining the floristic, structural and spatial aspects of tree species in an area of Alluvial Dense Rainforests in the western Pará, to support forest conservation and restoration plans in the Tapajós River. The hypotheses are: the area has low floristic diversity; the exclusive species are dominant and distributed in aggregate form; the spatial pattern prevalent is the aggregate.

METHODS

Study area. The study was conducted in the Amazonian Peace Island, within the Tapajós National Forest domains. This is an excerpt of the periodically floodplain forests, belonging to the community of Jamaraguá, located in the geographic coordinate 2°49'07.24" S and 55°02'13.52" W on the right bank of the Tapajós River. According to the local community information, the area has suffered severe disruptions since 2003 because of the irregular flooding pulse of the Tapajós River in the last years, which reached up to 8.32 m. The climate of the region, according to Köppen system, is classified as Am, that is humid tropical climate with an annual temperature variations of less than 5 °C and the average annual temperature is 25.5 °C, average relative humidity of the air is 88 % and average annual rainfall is 1,820 mm. According to the classification of the Brazilian Institute of Geography and Statistics - IBGE (2012) the area is considered Alluvial Rainforest, with a flood period from December to June, while the low water period occurs between July and November.

Data collection. The community was delimited in an area of 3.08 ha, subdivided into 308 contiguous plots of 100 m² (10 x 10 m), covering as much of the flooded area as possible. In each plot, all individuals with DBH (diameter at breast height of 1.30 m) equal to or higher than 10 cm were measured, identified, and referenced in Cartesian coordinates (X, Y). The arboreal individuals that met the inclusion criteria and presented bifurcations below 1.30 m were evaluated as a single individual. In such cases, after the registration of the diameters of each branch the quadratic diameter formula [1] was used to determine the overall diameter of the individual. The quadratic diameter of a tree with *n* branches was obtained by the following expression:

$$d = \sqrt{d_1^2 + d_2^2 + d_3^2 + \dots + d_n^2} \quad [1]$$

Where: *d* = quadratic diameter (cm) and *d_i ..._n* = diameter of each branch.

The trees were previously identified in the field by species, and those which raised doubts had their taxonomic determination ascertained by experts, through comparisons, in the herbarium of the Federal University of Western Pará. The classification of species followed the Angiosperm Phylogeny Group III system (2009).

Floristic composition and diversity. The floristic composition was analyzed based on the distribution of individuals in species and families. Shannon-Weaver diversity index [2] and Pielou's evenness index [3] were calculated as indicators of diversity and floristic heterogeneity (Brower *et al.* 1998). Pielou's evenness index allowed representing the uniformity of distribution of individuals among all existing species, reaching values of 0 (zero) to 1 (one).

$$H' = -\sum_{i=1}^S p_i \cdot \ln(p_i) \quad p_i = \frac{n_i}{N} \quad [2]$$

$$J = \frac{H'}{H'_{\max}} \quad H'_{\max} = \ln(S) \quad [3]$$

Where: H' = Shannon-Weaver diversity index, J = Pielou's evenness index, H'_{\max} = maximum sampled diversity, n_i = number of sampled individuals of the i th species, N = total number of sampled individuals, S = total number of sampled species.

Forest structure. In the structural analysis the following parameters were considered for each species, as recommended by Mueller-Dombois and Ellenberg (1974): absolute density and relative density; absolute dominance and relative dominance; absolute frequency and relative frequency; absolute sociological position and relative sociological position. Similarly, the ecological importance of the species in the ecosystem was estimated from the expanded importance value index. A stratification of community heights was performed using multivariate analysis techniques. The trees were arranged in ascending order of their total height, classified by an amplitude of 1 m, and subsequently developed an X matrix of total height data. Each variable x_{ij} represented the total height providing the i th tree classified to j th class height. The X matrix is the input for the cluster and discriminant analysis. The Euclidean distance and Ward's method were used, through the expressions [4] and [5] (Souza *et al.* 2003):

$$d_{ij} = \sqrt{\sum_{h=1}^p (x_{hi} - x_{hj})^2} \quad h = 1, 2, \dots, P \quad [4]$$

$$d_{ij}^2 = (x_i - x_j)^2 \quad [5]$$

Where: d_{ij} = Euclidean distance estimated between i and j , x_i = diameter of the i th class in the i th diameter class, x_j = dia-

meter of the i th class at j th diameter class, and d = distance between the mean of groups I and J .

The discriminant analysis was used to confirm the distinction and classification of height classes obtained by a cluster analysis (Souza *et al.* 2003). The diametric structure of the community and of the species of high ecological value was obtained by the calculation of the individuals of each species within the diametric class to which they belong. The diameter classes were established with amplitude of 10 cm, starting in the minimum diameter of the inclusion of individuals.

Spatial pattern. The spatial pattern was defined by Ripley's $K(s)$ function, which considers the variation of all distances among all events (Ripley 1979). In a simplified way, a circle of s radius centered on each tree was defined, where the number of neighbors present in the area of this circle was counted. Varying the s radius the spatial pattern of the species was detected at different distance scales. However, particular cases occurred when the trees were close to the edge of the area, since the $K(s)$ function is accumulative and computes all distances among all points, trees near the s radius edge that were larger than the map boundary could not be interpreted as if there were no neighbors. Neighbors existed there, but because they are outside the boundaries of the area they were not counted. Therefore, the number of neighboring trees to nearby trees in the map limits would be lower than others, causing a bias in the calculation on the $K(s)$ function estimator. Hence, we used the estimator of the $K(s)$ function with the isotropic edge correction proposed by Ripley (1979) [6].

$$\hat{K}(s) = \frac{1}{\lambda n} \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n W_i^{-1}(X_i, X_j) I(\|X_i - X_j\| \leq s), \text{ para } i \neq j \text{ e } s > 0 \quad [6]$$

Where: n = number of trees in the study area, x_i e x_j = coordinates of the places in the map, d = Euclidian distance among localizations x_i and x_j , s = arbitrary distance vector, $\lambda = n/A$ = number of trees divided by the area of the study area, being a neutral estimator of the process intensity, $W_i(x_i, x_j)$ = isotropic edge correction function, which represents a portion of the circumference with center x_i and with radio s that is out for any convex polygon, $I(U)$ = indicator function that takes the value 1 whenever the U condition is true and zero as false.

The maximum distance that was studied was 110 m, since this is the approximate half of the higher longitudinal axis of the area, while the s radius was set at 5 m. This way, the Ripley's $K(s)$ function evaluated the relationship between pair events every 5 m to a maximum depth of 1,500 m. To analyze the data graphically, a confidence graphic scale was built through 500 Monte Carlo simulations, performed by Complete Spatial Randomness Model (CSR). Afterward, we calculated the $K(s)$ function for the

simulation results, by storing the minimum and maximum values of the estimate of $K(s)$, used to generate confidence intervals to 99 % probability.

To facilitate the analysis, values of the $K(s)$ function were transformed to $L(s)$ [7] and distributed graphically, where the axes of abscissas and ordinates represent the accumulated s distance and the transformed values of $K(s)$ function, respectively (Ripley 1979).

$$\hat{L}(s) = \sqrt{\frac{\hat{K}(s)}{\pi}} - s \quad [7]$$

As a result, we obtained a confidence graphic scale identified by two dotted boundary lines, one positive and one negative. If the observed values of $L(s)$ are within the elaborated scale, the spatial pattern is random, otherwise

the null hypothesis is rejected and it is assumed that the spatial pattern of individuals is added when passing the scale upper limit; and it is regular, when passing the lower limit (Ripley 1979). Calculations were performed using the R software 3.1.2 version, and the $K(s)$ function was estimated by Splancs package.

RESULTS

Floristic composition, structure and diversity. A total of 1,022 individuals were recorded, distributed in 58 genera, 33 botanical families and 64 tree species (table 1). The estimated absolute density was 331.8 individuals ha⁻¹, basal area of 16.10 m² ha⁻¹ and a mean diameter of 24.8 cm. The botanical families with the largest number of individuals were: Fabaceae (437 individuals), Euphorbiaceae

Table 1. Phytosociological parameters of the species sampled in a natural fragment of floodplain forest in the lower Tapajós River, State of Pará, Brazil.

Parámetros fitossociológicos de las especies muestreadas en un fragmento de bosque natural inundable en el bajo río Tapajós, estado de Pará, Brasil.

Species	Families	AF	AD	ADo	ASP	EIV
<i>Campsiandra laurifolia</i> Benth.	Fabaceae	15.58	92.53	1.94	60.99	20.59
<i>Hevea brasiliensis</i> (Willd. ex A.Juss.) Müll.Arg.	Euphorbiaceae	18.18	23.38	3.36	6.74	10.49
<i>Glicoxylon pedicellatum</i> Ducke	Sapotaceae	8.77	25.65	1.22	12.59	6.81
<i>Tetragastris altissima</i> (Aubl.) Swart	Burseraceae	16.56	20.45	0.78	10.94	6.62
<i>Vantanea parviflora</i> Lam.	Humiriaceae	11.04	17.86	0.70	10.09	5.39
<i>Mabea caudata</i> Pax et K.Hoffm.	Euphorbiaceae	9.09	17.86	0.32	12.15	4.81
<i>Inga capitata</i> Desv.	Fabaceae	5.19	9.74	0.86	4.31	3.40
<i>Swartzia</i> sp.	Fabaceae	7.14	10.71	0.33	6.34	3.21
<i>Inga auristellae</i> Harms	Fabaceae	4.87	9.09	0.53	3.80	2.72
<i>Myrciaria floribunda</i> O.Berg	Myrtaceae	7.14	7.47	0.15	3.77	2.33
<i>Nectandra cuspidata</i> Nees et Mart.	Lauraceae	4.87	5.19	0.52	2.26	2.21
<i>Vataireopsis speciosa</i> Ducke	Fabaceae	2.92	3.57	0.74	1.21	2.00
<i>Couepia hoffmaniana</i> Kl.	Chrysobalanaceae	1.95	7.79	0.23	5.09	1.92
<i>Pera glabrata</i> (Schott) Poepp. ex Müll.Arg.	Peraceae	2.92	6.49	0.11	4.47	1.69
<i>Guarea guidonia</i> (L.) Sleumer	Meliaceae	3.90	4.87	0.16	3.35	1.64
<i>Coccoloba latifolia</i> Lam.	Polygonaceae	3.57	7.47	0.12	2.68	1.63
<i>Brosimum guianensis</i> (Aubl.) Huber	Moraceae	3.57	4.87	0.25	2.40	1.59
<i>Crudia pubescens</i> Spruce	Fabaceae	2.60	4.22	0.37	2.29	1.58
<i>Licania kunthiana</i> Hook.f.	Chrysobalanaceae	3.25	3.25	0.27	1.34	1.31
<i>Sideroxylon obtusifolium</i> (Roem. et Schult.) T.D.Penn.	Sapotaceae	1.62	2.27	0.39	0.46	1.07
<i>Dialium guianense</i> (Aubl.) Sandwith.	Fabaceae	2.27	2.27	0.33	0.39	1.06
<i>Couepia robusta</i> Huber	Chrysobalanaceae	2.60	2.60	0.14	1.51	0.99
<i>Dipteryx polyphylla</i> Huber	Fabaceae	1.62	1.62	0.31	0.70	0.94
<i>Duroia fusifera</i> Hook.f. ex K.Schum.	Rubiaceae	2.60	2.92	0.04	2.01	0.93

Continue

Table 1 Continued

<i>Roupala brasiliensis</i> Klotzsch	Proteaceae	1.30	2.92	0.14	2.01	0.90
<i>Tapirira guianensis</i> Aubl.	Anacardiaceae	1.95	2.60	0.19	0.61	0.85
<i>Byrsonima stipulaceae</i> A. Juss.	Malpighiaceae	1.62	1.95	0.09	0.93	0.64
<i>Sloanea dentata</i> L.	Elaeocarpaceae	1.30	1.62	0.07	1.12	0.56
<i>Himatanthus sucuuba</i> (Spruce) Woodson	Apocynaceae	1.62	1.62	0.06	0.71	0.54
<i>Simarouba amara</i> Aubl.	Simaroubaceae	1.62	1.62	0.05	0.71	0.54
<i>Ormosia nobilis</i> Tul.	Fabaceae	0.32	0.97	0.20	0.67	0.53
<i>Qualea cassiquiarensis</i> Spruce ex Warm.	Vochysiaceae	0.97	1.30	0.11	0.76	0.51
<i>Lonchocarpus spruceanus</i> Benth.	Fabaceae	0.97	1.95	0.03	1.20	0.50
<i>Copaifera martii</i> Hayne	Fabaceae	1.30	1.30	0.10	0.48	0.50
<i>Eschweilera grandiflora</i> (Aubl.) Sandwith	Lecythidaceae	0.97	0.97	0.10	0.40	0.43
<i>Anacardium spruceanum</i> Benth. ex Engl.	Anacardiaceae	0.97	1.30	0.03	0.89	0.41
<i>Enterolobium schomburgkii</i> Benth.	Fabaceae	0.97	0.97	0.06	0.40	0.36
<i>Casearia grandiflora</i> Cambess.	Salicaceae	0.97	0.97	0.04	0.67	0.36
<i>Diplostropis leptophylla</i> Kleinhoonte	Fabaceae	0.97	0.97	0.06	0.32	0.35
<i>Arrabidaea chica</i> (Humb. et Bonpl.) B. Verl.	Bignoniaceae	0.97	0.97	0.01	0.67	0.32
<i>Caryocar glabrum</i> Pers.	Caryocaraceae	0.65	0.65	0.09	0.24	0.32
<i>Naucleopsis glabra</i> Spruce ex Pittier	Moraceae	0.97	0.97	0.04	0.26	0.31
<i>Myrcia bracteata</i> DC.	Myrtaceae	0.97	0.97	0.03	0.40	0.31
<i>Iryanthera juruensis</i> Warb.	Myristicaceae	0.97	0.97	0.01	0.53	0.30
<i>Rheedia acuminata</i> Planch. et Triana	Clusiaceae	0.97	0.97	0.01	0.53	0.30
<i>Licania heteromorpha</i> Benth.	Chrysobalanaceae	0.65	0.65	0.06	0.45	0.30
<i>Crataeva benthamii</i> Eichler	Capparaceae	0.65	0.97	0.01	0.67	0.28
<i>Rapanea ferruginea</i> (Ruiz et Pav.) Mez	Primulaceae	0.65	0.65	0.05	0.31	0.27
<i>Derris spruceana</i> (Benth.) Ducke	Fabaceae	0.65	0.65	0.02	0.45	0.24
<i>Myrcia acuminata</i> DC.	Myrtaceae	0.65	0.65	0.01	0.45	0.22
<i>Inga heterophylla</i> Willd.	Fabaceae	0.65	0.65	0.01	0.45	0.22
<i>Genipa americana</i> L.	Rubiaceae	0.65	0.65	0.01	0.45	0.21
<i>Duguetia</i> sp.	Annonaceae	0.65	0.65	0.02	0.17	0.19
<i>Astrocaryum aculeatum</i> Hort ex H.Wendl.	Arecaceae	0.32	0.32	0.03	0.22	0.15
<i>Swartzia laurifolia</i> Benth.	Fabaceae	0.32	0.32	0.03	0.09	0.14
<i>Vismia baccifera</i> Reichardt	Clusiaceae	0.32	0.32	0.03	0.09	0.13
<i>Simaba trichilioides</i> Planch.	Simaroubaceae	0.32	0.32	0.02	0.22	0.13
<i>Cassia fastuosa</i> Benth.	Fabaceae	0.32	0.32	0.03	0.09	0.12
<i>Eriotheca globosa</i> (Aubl.) A. Robyns	Malvaceae	0.32	0.32	0.03	0.01	0.12
<i>Bellucia dichotoma</i> Cogn.	Melastomataceae	0.32	0.32	0.01	0.22	0.12
<i>Ambelania acida</i> Aubl.	Apocynaceae	0.32	0.32	0.01	0.22	0.11
<i>Rudgea cornifolia</i> (Kunth) Standl.	Rubiaceae	0.32	0.32	0.00	0.22	0.11
<i>Miconia ruficalyx</i> Gleason	Melastomataceae	0.32	0.32	0.00	0.22	0.11
<i>Guatteria poeppigiana</i> Mart.	Annonaceae	0.32	0.32	0.00	0.09	0.09
Sum	-	175.86	331.82	16.10	181.50	100

AF: absolute frequency, AD: absolute density (n ha⁻¹), ADo: absolute dominance (m² ha⁻¹), ASP: absolute sociological position, EIV: expanded importance value (%).

(127), Sapotaceae (86), Burseraceae (63), Humiriaceae (55) and Chrysobalanaceae (44), accounting a 79.4 % of total individuals sampled. Regarding species diversity, the families that contributed the most were Fabaceae (17 species), Chrysobalanaceae (4), Myrtaceae (3), Rubiaceae (3), Anacardiaceae (2) and Annonaceae (2). These six families represent 48.4 % of total species. The other 26 families, including one of the species identified at the gender level, totalize 51.6 % of the total species.

The Shannon-Weaver diversity index (H') found in this study was 3.03, and the estimated level of Pielou's evenness (J) recorded was 0.73. The denser species ($AD \geq 9.0$ individuals ha^{-1}), in descending order, were *Campsiandra laurifolia*, *Glicoxylon pedicellatum*, *Hevea brasiliensis*, *Tetragastris altissima*, *Mabea caudata*, *Vantanea parviflora* and *Inga capitata*, which together represent 65.7 % of the absolute density. However, it was observed that 30 species are "locally rare", that is, less than one tree per hectare.

Among the densest species that had the highest absolute frequencies (AF), stand out: *Hevea brasiliensis*, *Tetragastris altissima*, *Campsiandra laurifolia*, *Vantanea parviflora*, *Mabea caudata* and *Glicoxylon pedicellatum*, representing over 45 % of the sample units. The species with the highest absolute dominance ($ADo \geq 0.50 m^2 ha^{-1}$) were *Hevea brasiliensis*, *Campsiandra laurifolia*, *Glicoxylon pedicellatum*, *Inga capitata*, *Tetragastris altissima*, *Vataireopsis speciosa*, *Vantanea parviflora*, *Inga auristellae* and *Nectandra* sp., which together represent 61.2 % of the total dominance.

The stratification achieved by means of multivariate techniques showed that the community is composed of three main groups of height classes, according to conventional total height strata; the average height was equivalent to 10 m. The classification of individual trees in a range of 1 m allowed a sequential grouping of the total height classes in three strata: low, medium and high (figure 1). Figure 1 demonstrates that the results obtained by means of multivariate techniques corroborate the actual data field, suggesting an efficiency in the use of these techniques for the definition of the strata and, allowing a more coherent discussion on the behavior of the species in the community.

A discriminant analysis already showed that 100 % of height classes were properly classified in the strata defined by the cluster analysis. The low stratum ($H_T \leq 11$ m) presented 703 individuals, being the *Campsiandra laurifolia* the most representative species of this stratum (figure 1). The medium stratum ($12 m \leq H_T \leq 19$ m) registered 274 individuals, of which *Hevea brasiliensis* and *Glicoxylon pedicellatum* were the most abundant in this stratum. The high stratum covered trees with heights above 20 m ($H_T \geq 20$ m), totalizing 45 individuals. In this stratum the most abundant species was the *Hevea brasiliensis*.

The most common species of the forest in all strata that obtained the highest ASP values were: *Campsiandra laurifolia*, *Glicoxylon pedicellatum*, *Mabea caudata*, *Tetragas-*

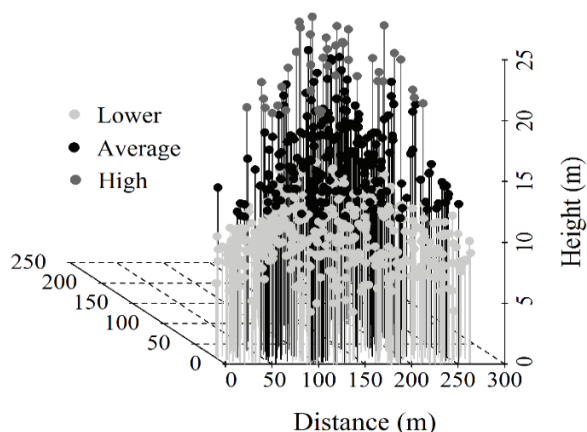


Figure 1. Total height strata of a natural fragment of the floodplain forest on the banks of the Tapajos River, State of Pará, Brazil.

Estratos de altura total de un fragmento natural de bosque inundable en las orillas del río Tapajós, estado de Pará, Brasil.

tris altissima, *parviflora Vantanea* and *Hevea brasiliensis*, which together represent 54.7 % of the total amount of the studied selection. Regarding the ecological importance of the species in the community, defined by the expanded importance value index, the seven highest values were achieved by *Campsiandra laurifolia*, *Hevea brasiliensis*, *Glicoxylon pedicellatum*, *Tetragastris altissima*, *Vantanea parviflora*, *Mabea caudata* and *Inga capitata*.

Diametric distribution. The distribution curve of the individuals considering the community follows the typical pattern of uneven-aged tropical forests, expresses an exponential distribution in the form of an inverted J, with a predominance of 83.6 % of the individuals sampled in the first two diameters (figure 2). However, this analysis referred to the community may not be sufficient to evaluate the conditions of arboreal component, requiring an evaluation of the populations to allow more accurate detection standards regarding the forest structure. The diametric structure of six of the seven species of superior ecological importance showed a similar community distribution, having a larger presence of individuals in the first diameter classes.

The species *Campsiandra laurifolia*, *Mabea caudata*, *Vantanea parviflora*, *Glicoxylon pedicellatum* and *Tetragastris altissima* prevailed in the first two diameter classes, therefore more than 82 % of tree individuals showed DBH in the range of 10 to 30 cm, while *Inga capitata* presented a better distribution in the diameter classes larger than 30 cm, likewise at lower density. Furthermore, a discontinuity of the distribution was detected in more than one diameter class, and in the successive classes for these species.

The distribution pattern of individuals in diameter classes was not recurrent in all species with big ecological importance. The *Hevea brasiliensis* species was the only one

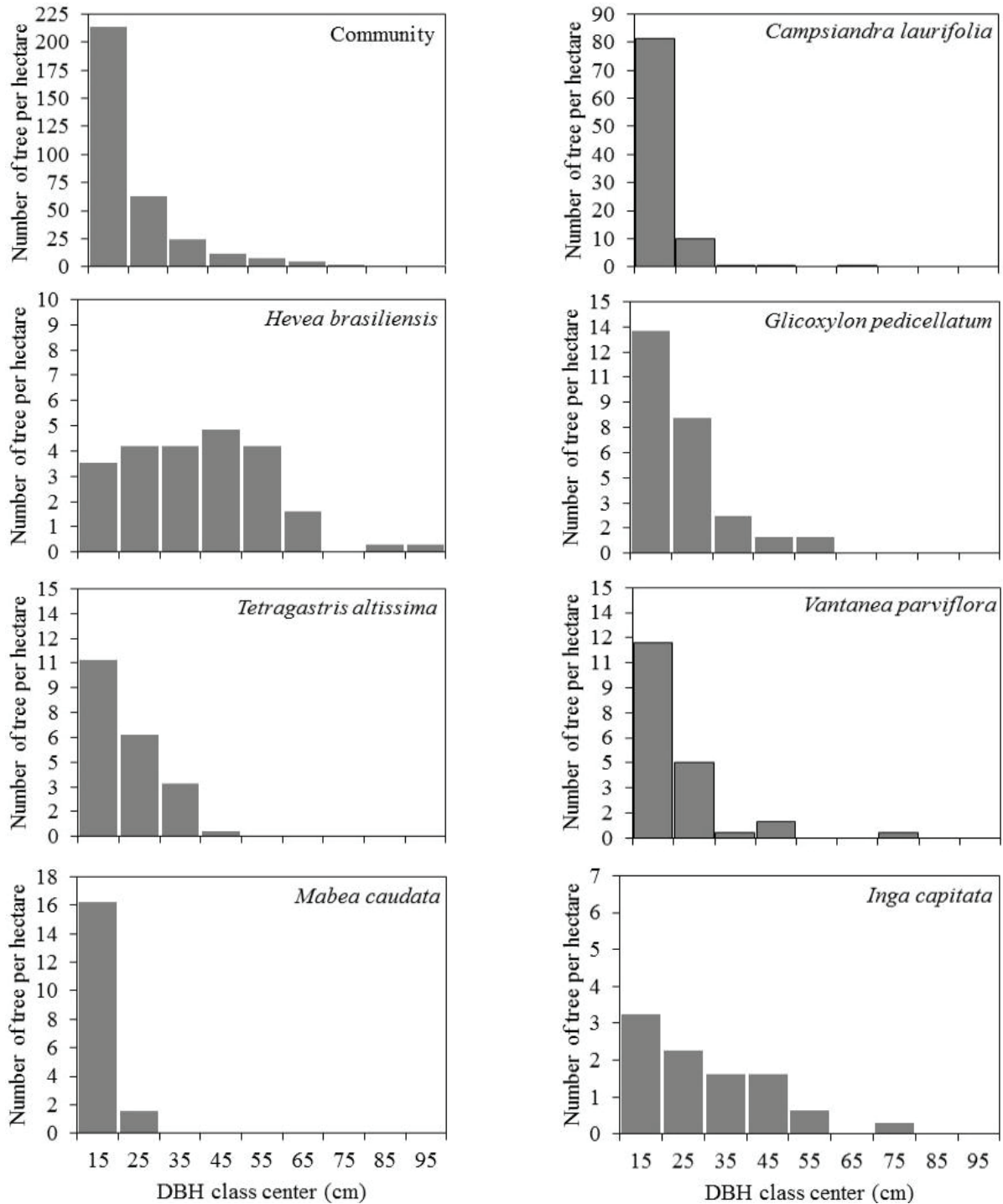
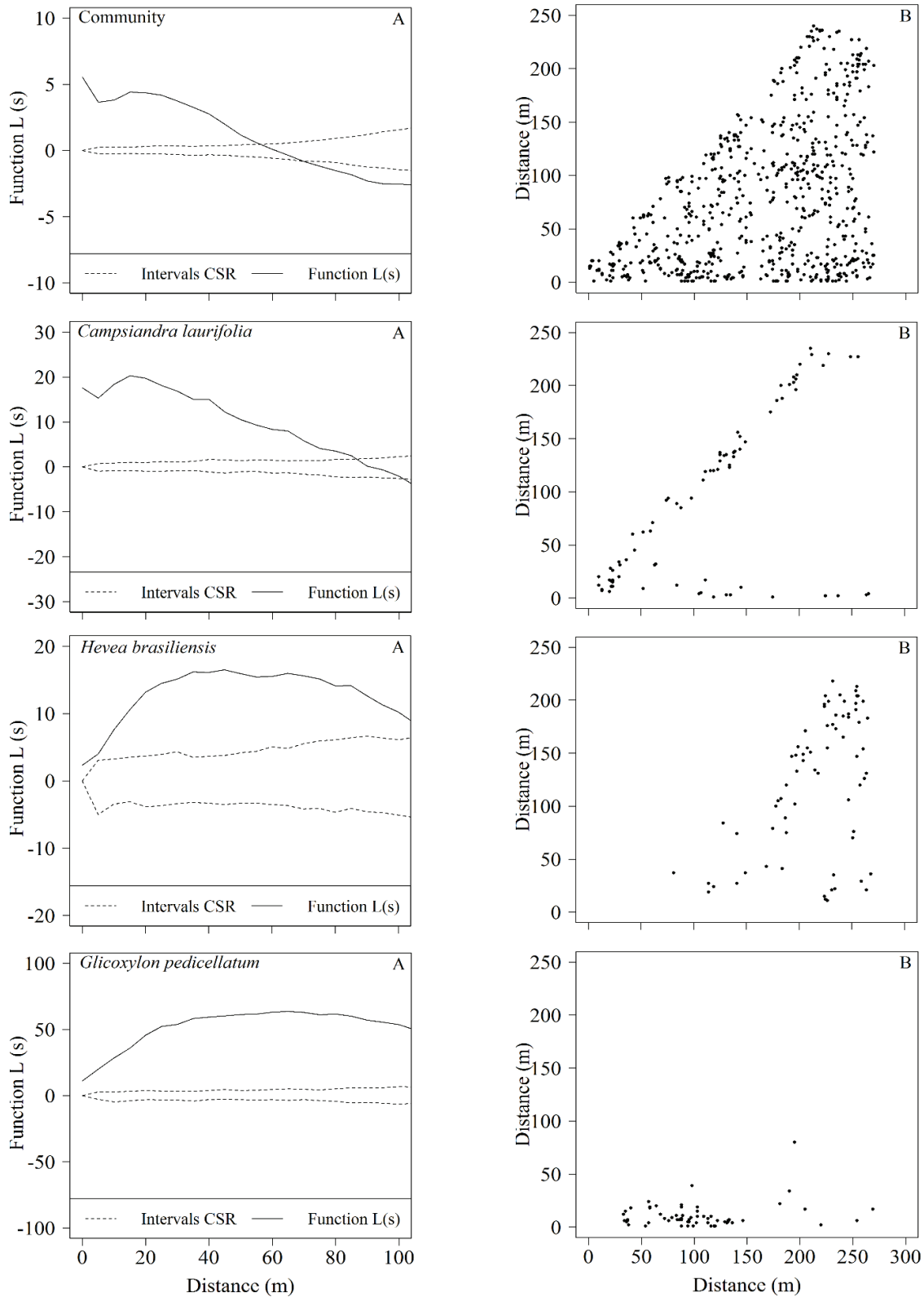


Figure 2. Diametric distribution of the community and species of high ecological value in a natural fragment of the floodplain forest on the banks of the Tapajós River, State of Pará, Brazil.

Distribución diamétrica de la comunidad y de las especies de mayor importancia ecológica en un fragmento natural de bosque inundable en las orillas del río Tapajós, estado de Pará, Brasil.

that did not have a negative exponential tendency, presenting a lower amount of trees in the first two diameter classes and a larger number of individuals in the intermediate classes ($30 \text{ cm} \leq \text{dbh} < 70 \text{ cm}$).

Spatial pattern. The community has a predominantly aggregated spatial distribution pattern (figure 3A). In that case, the hypothesis of complete spatial randomness (CSR) is rejected for the community. For the species of



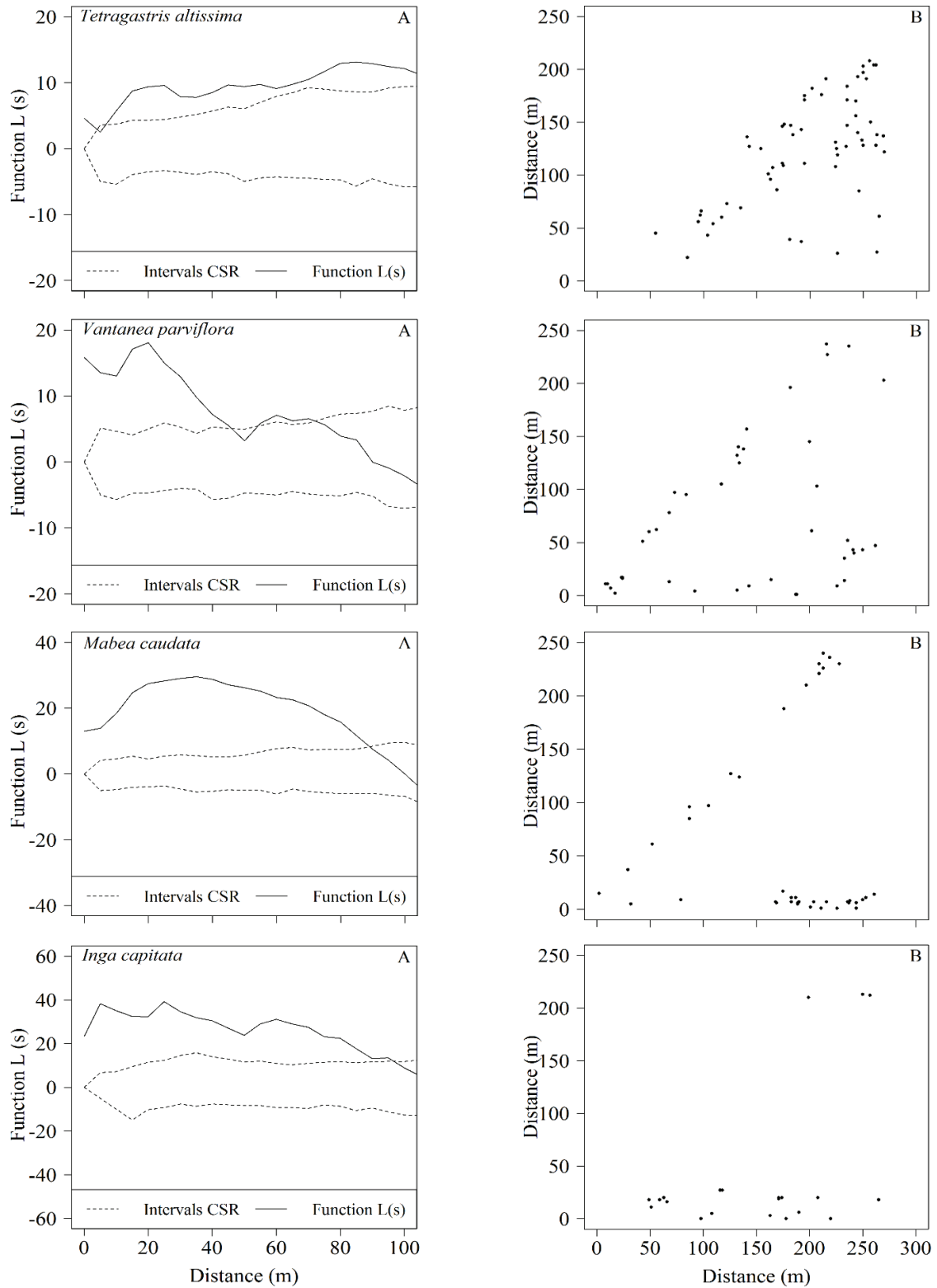


Figure 3. Spatial pattern [A] and distribution of trees [B] in the community and major species [B] in a natural fragment of floodplain forest on the Amazonian Peace Island, State of Pará.

Patrón espacial y mapa de distribución de la comunidad y las principales especies arbóreas en un fragmento de bosque natural inundable en la isla de la Paz Amazónica, estado de Pará.

high ecological value, the confidence graphic scale showed that CSR hypothesis was also rejected, consequently at a certain point of the distance scale there was some degree of aggregation, regularity or both. It was also observed, through the distribution maps, that these species, except for *Tetragastris altissima* and *Hevea brasiliensis*, were mainly present near the shores of the island. The analysis of figures 3B corroborates these assertions, because the points represent the trees that are generally distributed on the shores of the island. The contour formed by the points of the species *Campsiandra laurifolia* perfectly demonstrate the margin of the island.

For the species *Campsiandra laurifolia* and *Mabea caudata* the function $L(s)$ remained above the upper limit of the confidence graphic scale (confidence envelope) with 85 m, showing an aggregated pattern, but after this distance function $L(s)$ the CSR region is introduced, indicating randomness of individuals. *Hevea brasiliensis*, *Glicoxylon pedicellatum* and *Inga capitata* had a completely aggregated spatial pattern, while *Tetragastris altissima* presented a degree of aggregation for distances shorter than 5 m, reaching a partially aggregated and random spatial pattern up to 10 m, approximately, from which individuals return to an aggregated pattern and remain with it up to 110 m. *Vantanea parviflora* had the lowest estimation on the function $L(s)$ with values close to each other, which contributed to an oscillation between aggregated and random patterns at different distance scales.

DISCUSSION

The relation of the number of families, genera and species of this study is similar to other surveys conducted in the Amazonian floodplain forests areas (Ferreira 1997, Parolin *et al.* 2004, Ferreira *et al.* 2010, Hamaguchi and Scudeller 2011). Considering floristic surveys in non-floodplain forests (Almeida *et al.* 2012, Ribeiro *et al.* 2013), it was found, in general, a superior number of species. According to Hamaguchi and Scudeller (2011), this reduction in the number of species is caused by characteristics of the environment, that is, soils with high levels of saturation during flood periods, resulting in a negative relationship between soil moisture and species prosperity. This relationship is even more evident when analyzing gradients of soil drainage, as noted by Cattanio *et al.* (2002) in a floodplain forest of the Amazon estuary, where lower places with poor drainage and low levels of oxygen for long periods were less rich, with an ecological dominance of the surrounding typical species.

Among the botanical families found, the Fabaceae was the most significant in wealth (17 species) and abundance (437 individuals) corroborating the studies by Ferreira and Prance (1998) and Parolin *et al.* (2004) in other Amazonian floodplain forests. Among the 17 species of the Fabaceae family, ten belong exclusively to mainland and they have a low general abundance, while only seven are presented as

unique species of wetland environments, of which four of them are abundant. This behavior suggests that the propagules sources are influencing more species that are present at lower densities, which are the habitat general species. According to Marques *et al.* (2003), general species from drained soils increase the prosperity of floodplain forests, since species adapted to water excess, usually few, are important in defining the community dominance and density, which explains the fact that the studied area presents a high dominance and density of *Campsiandra laurifolia*.

It was observed that the area has a low floristic diversity, as the value of the Shannon-Weaver index for tropical forests normally varies from 3.83 to 5.85 (Knight 1975). However, when compared with the results presented by Ferreira (1997) ($H'_1 = 1.63$, $H'_2 = 3.00$ e $H'_3 = 3.3$) and Hamaguchi and Scudeller (2011) ($H' = 2.29$), diversity was considered high and equivalent, which indicates that diversity of species, when compared to other areas within the same phyto-physiognomy, is compatible with other floodplains in the Amazon. At the same time, the Pielou's evenness index ($J = 0.73$) suggested that the plant community has moderately high flora heterogeneity. Salomão *et al.* (2007) analyzed a similar forest configuration in the river Xingu (PA), and found a value of 0.80, while Vale *et al.* (2014) found values above 0.79 for six different floodplain forests in the hydrographic subbasin of the river Peixe-Boi (PA).

The low diversity values found in this study are the result of the abundance of few species, such as *Campsiandra laurifolia*, *Glicoxylon pedicellatum*, *Hevea brasiliensis* and *Tetragastris altissima*, which together represent 48.8 % of all individuals, and of environmental variations caused by annual flood periods in the Tapajós River, along with the visible rising rates of erosion and sedimentation on the island. However, the small amount of dominant species simplifies the process of choosing species for the floodplain forest restoration, since there are few species with high ecological value.

When the analysis of phytosociological parameters was performed, it was observed that *Campsiandra laurifolia*, *Hevea brasiliensis*, *Glicoxylon pedicellatum*, *Tetragastris altissima*, *Vantanea parviflora*, *Mabea caudata* and *Inga capitata* stood out for their high ecological value, due to the combination of frequency, dominance and density with which they were found in the plots. These results corroborated those found by Ferreira and Prance (1998) that mentioned the *Campsiandra laurifolia*, *Mabea caudata* and *Tetragastris altissima* as important species and stated characteristics of flood-prone areas, therefore they can be recommended for wetlands restoration and flooded riparian areas in the Tapajós River basin. It is worth noting that *Campsiandra laurifolia* has herbal phytotherapy uses in many of the Amazon rural communities, mainly treating wounds, bruises, malaria and ulcer (Chagas *et al.* 2010). According to Chagas *et al.* (2010), maroons from Arancuã community in the state of western Pará, use the infusion of the leaves, decoction of the bark and tapioca fruit (star-

chy part obtained from aqueous maceration and drying in sunlight exposure) for cutaneous leishmaniasis treatment.

Although *Campsiandra laurifolia* is predominant, there was abundant presence of mainland general and unique species, such as *Hevea brasiliensis*, *Vantanea parviflora*, *Glicoxylon pedicellatum*, *Tetragastris altissima* and *Inga capitata*. According to Kubitzki and Ziburski (1994), the origin of many of these species is related to floristic composition of the mainland adjacent areas, while Wittmann *et al.* (2006) relate this behavior to probable periods of relatively small flood levels, which would have favored the establishment of these tree species in flooded environments whose soils are more fertile due to the influence of the many nutrients the river carries. Subsequently, these species have colonized floodplain areas and some have developed their own adaptations to periodic flooding. The historical sequence of the National Water Agency shows that in the years 1970-2002 the flood levels in the Tapajós River were below average, during which the higher areas of the island would have been provided with the necessary soil conditions for the establishment of these species. Since 2003 there has been a continuous increase in flood levels, registering in 2009 a historical milestone of 8.32 m.

The ecological importance of *Hevea brasiliensis* seems to reflect the historical influence of these low flood levels and of the adjacent floristic composition, as there are native rubber plantations surrounding the island. However, it is noted that the selection of this species for restoration purposes in flood-prone areas should be cautious, since locations with excessive humidity are less suitable for planting this species, because it offers the ideal conditions for the activation of diseases, which limits the growth of smaller individuals, as noted in the diametric structure of the species. By virtue of the root system development, it is recommended that the planting of this species should be in medium textured soils with good depth, avoiding flood-prone areas, clayey and poorly drained.

Generally, the diameter distribution analysis allows us to infer the forests demographic status and their possible conservation problems. At first, the diametric distribution in the inverted J, showed a high concentration of individuals in the smaller diameter classes, possibly corresponding to younger trees, and therefore ensuring the communities prosperity and regeneration. Other studies conducted in floodplains by Parolin *et al.* (2004) and Salomão *et al.* (2007) demonstrated a similar behavior to that found in this study. Nevertheless, the high concentration of individuals in the first diametric classes is the result of the abundance of *Campsiandra laurifolia* and *Mabea caudate*, understory species that belong exclusively to floodplain areas that present low diameter values.

In general, the diameter distribution of the species of high ecological value is caused by the dynamics of mortality and birth of new individuals to the community, as a result of the falling trees in this location. Unstable soil increases the possibility of the falling of larger trees, and

limits the growth of others, since, according to the root system, the reduced depth is not adequate to settle a tree, which ends up causing a large number of short stature individuals in the community. Connected to this, the constant falling of the largest trees allows the recruitment of previously established juvenile individuals, associated also with the good availability of water, nutrients and light available by falling trees, presenting a higher density.

The community and species of high ecological value present predominantly aggregated distribution patterns. According to Negrini *et al.* (2012), tropical forests have aggregated patterns especially given the dispersion syndrome and the presence of micro-sites favorable to the establishment of species that make up the community. Species with hydrochoric dispersal syndromes (*Campsiandra laurifolia*), autochoric (*Mabea caudata* and *Hevea brasiliensis*) and zoochoric (*Glicoxylon pedicellatum*, *Inga capitata*, *Tetragastris altissima* and *Vantanea parviflora*) favor an aggregated distribution in virtue of a limited distribution of propagules, since many of these species are preferably distributed in flooded areas (Negrini *et al.* 2012).

Among these species, *Vantanea parviflora* was the only one with variations in the spatial pattern at different distance scales, behavior that was also observed by Araújo *et al.* (2014) in individuals from *Callisthene major* Mart. These variations may be related to the size of the individual, since the younger individuals tend to appear closer to each other, forming aggregates. According to Araújo *et al.* (2014), there is an increasing competition as these individuals grow, and few reach the larger diameter being more distant from each other, causing random distribution.

From a quantitative point of view, the gathered knowledge about the spatial patterns of these species, in particular *Campsiandra laurifolia*, used also for medical purposes, facilitates the setting of the sampling systems that is applied on flood-prone environments, in order to estimate properly the species density. For populations that are distributed in an aggregated manner, density estimations becomes more complicated because of the difficulty of finding clusters by traditional sampling methods, which constitutes a random or even distribution of the sampling units. However, studies indicate that sampling procedures with a disposition of grouped plots, just as the clustered adaptive sampling, would probably have a better possibility of success in the estimation of these populations' parameters, since the grouped plots increased the chance of detecting individual's aggregates. Bruzinga *et al.* (2013) studied sampling methods applicable to aggregated populations, concluding that adaptive cluster sampling provides a higher precision in estimating the density parameter.

CONCLUSIONS

According to diversity and evenness indicators, the area presents a low diversity, although compatible with other floodplains, and a moderate concentration of species

with high uniformity in the proportions individuals/species within the plant community.

For being abundant, dominant and always conditioned to the soil humidity, the use of *Campsiandra laurifolia* is recommended for the recovery of floodplain forests. The species with high ecological value presented a diametric distribution in the form of an inverted J, except for *Hevea brasiliensis*.

The community presented a predominantly aggregated spatial pattern, as the most important species followed, in general terms, the spatial pattern of the community, except *Vantanea parviflora*, which proved to be partially and aggregated and random.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the research funding agency CAPES for the scholarships granted to the post-graduate student participating in the study.

REFERENCES

- Almeida LS, JRV Gama, AS Oliveira, JOP Carvalho, DCM Gonçalves, GC Araújo. 2012. Fitossociologia e uso múltiplo de espécies arbóreas em floresta manejada, Comunidade de Santo Antônio, município de Santarém, Estado do Pará. *Acta Amazonica* 42(2): 185-194.
- Angiosperm Phylogeny Group III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161(2): 105-121.
- Araújo EJJ, HC David, N Péllico-Neto, VA Moraes, JRS Scolforo. 2014. Padrão espacial de espécies arbóreas em fragmento de floresta estacional semidecidual. *Ciências Agrárias* 57(2): 166-171.
- Brower JE, JH Zar, CN Ende. 1998. Field and laboratory methods for general ecology. Boston, U.S. McGraw-Hill. 273 p.
- Bruzina JS, MLR Oliveira, ELM Machado, HG Leite, IM Pereira, GS Nogueira. 2013. Distribuição espacial de indivíduos adultos de pequi. *Scientia Forestalis* 41(98): 249-256.
- Cattanio JH, AB Anderson, MS Carvalho. 2002. Floristic composition and topographic variation in a tidal floodplain forest in the Amazon Estuary. *Revista Brasileira de Botânica* 25(4): 419-430.
- Chagas AP, AD Muller, MBP Soares, LM Garcez. 2010. Potencial anti-Leishmanina e imunomodulador dos extratos de *Campsiandra laurifolia* Benth. (Fabaceae). *Revista Pan-Amazônica de Saúde* 1(1): 117-124.
- Chaves CL, CS Manfredi. 2010. Arbóreas medicinais das matas ciliares do Rio Canoas: potenciais de uso em projetos de restauração. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* 12(3): 322-332.
- Dias RM, NNB Salvador, MBC Branco. 2014. Identificação dos níveis de degradação de mata ripárias com o uso de SIG. *Floresta e Ambiente* 21(2): 150-161.
- Ferreira LV. 1997. Effects of the duration of flooding on species richness and floristic composition in three hectares in the Jaú National Park in floodplain forest in Central Amazonia. *Biodiversity and Conservation* 6(10): 1353-1363.
- Ferreira LV, GT Prance. 1998. Structure and species richness of lowdiversity floodplain forest on the Rio Tapajós, Eastern Amazonia, Brazil. *Biodiversity and Conservation* 7(5): 585-596.
- Ferreira LV, SS Almeida, P Parolin. 2010. Amazonian white - and blackwater floodplain forests in Brazil: large differences on a small scale. *Ecotropica* 16(1): 31-41.
- Freitas EP, JFL Moraes, A Peche Filho, M Storino. 2013. Indicadores ambientais para áreas de preservação permanente. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 17(4): 443-449.
- Gomes FS, MLS Guedes, RM Valadão, ARS Prates, MAA Costa. 2014. Florística e estrutura de um trecho de mata ciliar do rio Carinhanha, Feita da Mata, Bahia, Brasil. *Biotemas* 27(3): 41-55.
- Hamaguchi JO, VV Schudelller. 2011. Estrutura arbórea de uma floresta de igapó no lago Tupé, Manaus, AM. In Santos-Silva EM, VV Schudeller, MJ Calvacanti eds. Biotupé: Meio Físico, Diversidade Biológica, Sociocultural do Baixo Rio Negro, Amazônia Central. Manaus, Brazil. UEA. p. 83-97.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, BR). 2012. Manual técnico da vegetação brasileira. Brasília, Brasil. IBGE. 271 p.
- Knight DHA. 1975. Phytosociological analysis of species-rich tropical forest on Barro Colorado Island, Panama. *Ecological Monographs* 45(3): 259-284.
- Kubitzki K, A Ziburski. 1994. Seed dispersal in flood plain forests of Amazonia. *Biotropica* 26(1): 30-43.
- Marques MCM, SM Silva, A Salino. 2003. Florística e estrutura do componente arbustivo-arbóreo de uma floresta higrófila da bacia do rio Jacaré-Pepira, SP, Brasil. *Acta Botanica Brasileira* 17(4): 495-506.
- Mueller-Dombois D, H Elleberg. 1974. Aims and methods of vegetation ecology. New York, U.S. John Wiley & Sons. 547 p.
- Negrini M, MD Aguiar, CT Vieira, AC Silva, P Higuchi. 2012. Dispersão, distribuição espacial e estratificação vertical da comunidade arbórea em um fragmento florestal no planalto catarinense. *Floresta* 36(5): 919-929.
- Parolin P, Adis J, IL Amaral, L Schmidt, MTF Piedade. 2004. Floristic study of an igapó floodplain Forest in Central Amazonia, Brazil (Tarumã-Mirim, Rio Negro). *Amazoniana* 18(1/2): 29-47.
- Ripley BD. 1979. Tests of randomness for spatial point patterns. *Journal of the Royal Statistic Society* 41(3): 368-374.
- Ribeiro RBS, JRV Gama, SV Martins, A Moraes, CAA Santos, AD Carvalho. 2013. Estrutura florestal em projeto de assentamento, comunidade São Mateus, município de Placas, Pará, Brasil. *Ceres* 60(5): 610-620.
- Rodrigues RR, AG Nave. 2000. Heterogeneidade florística das matas ciliares. In Rodrigues RR, HF Leitão-Filho eds. Matas ciliares - Conservação e Recuperação. São Paulo, Brasil. Fapesp. p. 45-71.
- Salomão RP, ICG Vieira, C Suemitsu, NA Rosa, SS Almeida, DD Amaral, MPM Menezes. 2007. As florestas de Belo Monte na grande curva do rio Xingu, Amazônia Oriental. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi* 2(3): 57-153.
- Souza DR, AL Souza, JRV Gama, HG Leite. 2003. Emprego de análise multivariada para estratificação vertical de florestas ineqüíneas. *Árvore* 27(1): 59-63.
- Vale I, LGS Costa, IS Miranda. 2014. Espécies indicadoras para

recomposição da floresta ciliar da sub-bacia do rio Peixe-Boi, Pará. *Ciência Florestal* 24(3): 573-582.
Wittmann F, J Schongart, JC Montero, TMWJ Junk, MTF Pie-

dade, HL Queiroz, M Worbes. 2006. Tree species composition and diversity gradients in white-water forests across the Amazon Basin. *Journal of Biogeography* 33(8): 1334-1347.

Recibido: 05.09.16
Aceptado: 18.04.17

Shading as a conditioning factor to forest species planting: a study with *Apuleia leiocarpa*

Intensidad de sombra como condición para la plantación de especies forestales:
estudio con *Apuleia leiocarpa*

Suelen Carpenedo Aimi ^{**}, Maristela Machado Araujo ^b, Thaíse da Silva Tonetto ^b, Luciane Almeri Tabaldi ^c,
Cleber Witt Saldanha ^d, Júlia Gomes Farias ^c, Gisele Gomez de Oliveira ^b

*Autor de correspondência: ^a Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Ciências Florestais, Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria, Brasil, tel.: 55-3220-8276, suaيمي@gmail.com

^b Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Ciências Florestais, Santa Maria, Brasil.

^c Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Biologia, Santa Maria, Brasil.

^d Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, FEPAGRO, Santa Maria, Brasil.

SUMMARY

This study aimed at identifying the most appropriate level of shading for initial growth of *Apuleia leiocarpa* seedlings, through their survival, morphological and physiological/biochemical parameters. The following treatments were evaluated: 0 (full sun), 18, 50 and 70 % of shading. Survival was assessed at 30 and 360 days after planting and morphological parameters such as height (H), stem diameter (SD) and H/SD ratio were measured bimonthly for a year. Physiological parameters as contents of chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, chlorophyll *a/b* ratio, carotenoids, lipid peroxidation, acid phosphatase enzyme activity, initial fluorescence, maximum fluorescence, maximum quantum yield of photosystem II and electron transport rate were estimated at 180 and 360 days after planting. At 30 days after planting (d.a.p) there was no mortality of *Apuleia leiocarpa* seedlings influence of different levels of shading. In the assessments performed at 180 and 360 d.a.p., there was no significant difference among levels of shading for H and SD. However, high mortality rates were observed at 360 d.a.p., especially in full sun. Morphological and physiological parameters of *Apuleia leiocarpa* plants showed this species requires shading (18 and 50 %) in their early stages of growth.

Key words: Fabaceae, morphological and physiological parameters, native species.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue identificar la intensidad de sombra más adecuada para el crecimiento inicial de plantas de *Apuleia leiocarpa*, por medio de la supervivencia y parámetros morfológicos y fisiológicos/bioquímicos. Los tratamientos fueron: 0 (pleno sol); 18, 50 y 70 % de sombra. La supervivencia se evaluó a los 30 y 360 días después del trasplante y los parámetros morfológicos altura (H), diámetro del cuello (DC) y la relación H/DC, bimensualmente durante un año. Los parámetros fisiológicos contenido de clorofila *a*, clorofila *b*, relación clorofila *a/b*, carotenoides, peroxidación lipídica, actividad de la enzima fosfatasa ácida, fluorescencia inicial, fluorescencia máxima, rendimiento cuántico máximo del fotosistema II y la tasa de transporte de electrones fueron estimados a los 180 y 360 días después del trasplante. A los 30 días después de la siembra (d.a.p) no hubo mortalidad de plántulas de *Apuleia leiocarpa* ni influencia de diferentes niveles de sombreado. En las evaluaciones realizadas a 180 y 360 d.a.p. No hubo diferencia significativa entre los niveles de sombreado para H y SD. Los parámetros morfológicos y fisiológicos de las plantas de *Apuleia leiocarpa* evidencian que la especie necesita sombra (18 y 50 %) en su etapa inicial de crecimiento.

Palabras clave: Fabaceae, parámetros morfológicas y fisiológicas, especie nativa.

INTRODUCTION

Anthropic activities have been causing significant changes in the structure and functioning of ecosystems, resulting in new conditions that lead to alterations of the original environments, consequently, contributing to decrease and loss of species diversity and habitat extinction (Bogaert *et al.* 2011).

According to a study of endangered native flora of Rio Grande do Sul State (Brazil) (SEMA 2014), several tree species with economic value were identified, including *Apuleia leiocarpa* J.F. Macbr (grápia), which is among the critically endangered species. *Apuleia leiocarpa* was described as having commercial value due to high wood qualities, such as easy workability, high natural resistance and multiple uses. Seedlings of *Apuleia leiocarpa* do

not present significant regeneration in forests understory being replaced by others with superior tolerance to shade. Furthermore, this species has commercial biotechnology potential due to its antimicrobial effect for combating phytopathogenic bacterium of *Xanthomonas campestris* (Carvalho *et al.* 2015). Carvalho (2003) describes that species as having semi-heliophile behavior while Backes and Irgang (2009) classify it as an aggressive pioneer in fallow vegetation, with wide distribution in Brazil and other Latin American countries.

Apuleia leiocarpa has a wide geographic distribution that includes from the state of Pará to Rio Grande do Sul, Brazil, as well as Argentina, Bolivia, Paraguay, Peru and Uruguay (Carvalho 2003). Furthermore, this species is associated with environmental variation of the regions might be a determining factor in the classification of behavior when it comes to light demand. In this context, species with such importance in ecological and timber production should be studied regarding the effects of growth environment, thus enabling its establishment in pure and/or enrichment plantations, with low risk of losses in the field.

The selection of tree species must be established based on the characteristics of the site, planting purpose and, crucially, their physiological, ecological and silviculture requirements (Lamprecht 1990). Lamprecht (1990) also mentions that the main obstacle in native forest refers to insufficient knowledge about tropical tree species. Regarding that, Kageyama and Castro (1989) analyzed forest planting of native species, aiming at systematizing some criteria that would serve as a basis to such research. Currently, despite the available and highly relevant work, however, there is a lack of detailing that encourages the use of native tree species of high timber value for outplanting, which could provide species conservation associated with timber use. Although Brancalion *et al.* (2012) describe the existence of information of Brazilian native species with exception of publications such as Carvalho (2003) and Kageyama and Castro (1989), other experiences are only restricted to queries.

The species requirements regarding intensity, duration and periodicity of light are among the factors that interfere in the production of forest plants (Azevedo *et al.* 2015). Response of plants to light availability has a central role in determining their distribution and success. Demand for light by native forest species is commonly described based on phytosociological studies (Lima *et al.* 2010). However, no studies were found evaluating shading in post-planting, whose limitations become more significant for the plants and require adaptation to the new environment. This information is important because, with plasticity, species are more likely to survive in harsh conditions for their ability to adapt physiologically, biochemically and morphologically.

Evaluating plants in shading experiments addresses physiological parameters such as chlorophylls and carotenoids contents, which provides important information on the establishment, growth and plasticity of the pho-

tosynthetic apparatus (Afonso *et al.* 2012). In addition to morphological parameters as height and stem diameter. These photosynthetic pigments are used in works as quality indicators for the seedlings. It is expected that shading may affect the growth of *Apuleia leiocarpa* seedlings in the field, presenting higher growth as the intensity of shading increases. Thus, to establish the suitable planting condition for *Apuleia leiocarpa*, the study aimed to identify the most appropriate level of shading for the initial growth of seedlings of species, through plant survival and morphological and physiological/biochemical parameters.

METHODS

Characterization of the study area. The experiment was conducted for a year (2012-2013) in an area near to the Forestry and Nursery Laboratory of the Department of Forest Sciences of the Federal University of Santa Maria (UFSM) (29° 43' 12.65" S; 53° 43' 08.74" O), Rio Grande do Sul State (RS), Brazil. According to Köppen's classification, the local climate is 'Cfa' (humid subtropical), with mean temperature in the coldest month between 3 and 18 °C, and in the warmest month above 22 °C; and mean annual precipitation of 1,600-1,900 mm (Alvares *et al.* 2013). Temperature (minimum, average and maximum) and monthly precipitation data are according to Alvares *et al.* (2013) during the study period and can be observed in figure 1.

Seedlings of *Apuleia leiocarpa* were produced from October to July in the Forestry Laboratory in 110 cm³ containers. The commercial substrate peat based on *Sphagnum*, plus 20 % of carbonized rice husk, was used. In the base fertilization Osmocote® (15-9-12), 6 g L⁻¹ substrate was used. They were randomly selected for planting in the field and presented the following averages: 31.60 (± 3.94) cm of height (H); 3.94 (± 0.40) mm of stem diameter (SD) and 8.05 (± 0.89) cm mm⁻¹ of H/SD ratio.

Prior to planting, soil characterization of the area was performed in the Soil Analysis Laboratory (UFSM), which showed the following characteristics: low organic matter content (1.3 to 2.0 %), phosphorus level from very low to low (3.4 to 5.3 mg dm⁻³), high potassium level (60 to 82 mg dm⁻³), high magnesium level (1.3 to 2.5 cmol_c dm⁻³), calcium level from medium to high (3.5 a 7.4 cmol_c dm⁻³), average cation exchange capacity (CEC_{pH 7.0}) (12.4 to 13.2 cmol_c dm⁻³), SMP index ranging from 5.4 to 6.4 and texture 3 (SBCS/CQFS 2004). Based on chemical properties, soil pH was adjusted to 5.5 with lime (PRNT 75.1 %) in the total area and it was incorporated into the soil one month before planting. Different intensities of shading were used as treatments: T1 – 0 % (full sun - control), T2 – 18 %, T3 – 50 % and T4 – 70 %. The different shading intensities were obtained using nylon mesh on 2-meter-high arches in the center of the tunnel.

Planting spots were opened (30 cm of diameter x 35 cm depth) and aligned in the east/west direction, spaced 1 x 1 m. Spots were filled with the same soil as described

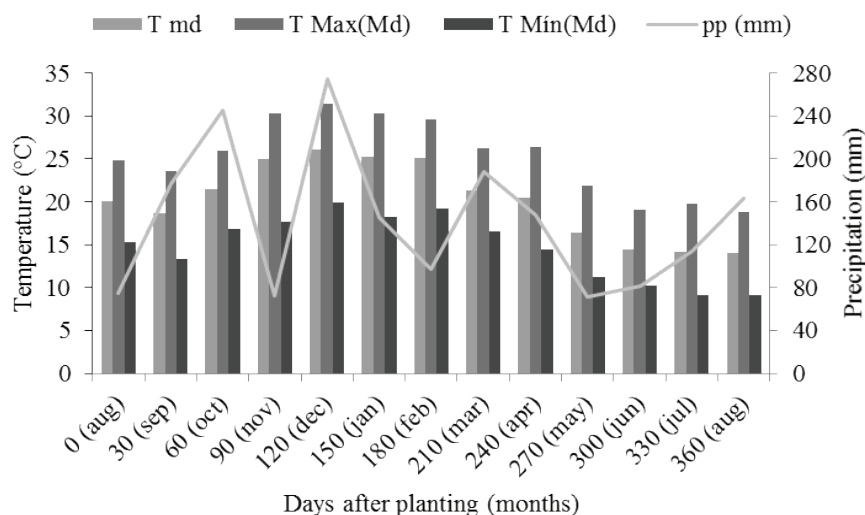


Figure 1. Monthly climatic data of Santa Maria (RS) in “year” during the experiment with *Apuleia leiocarpa* seedlings. T = temperature (md = average; Max = maximum; Min = minimum); pp = precipitation. Source: Climatological Station of Santa Maria, Federal University of Santa Maria.

Datos climatológicos de Santa Maria (RS) durante el experimento a campo con plantas *Apuleia leiocarpa*. T = temperatura (md = media; Max = máxima; Min = mínima); pp = precipitaciones. Fuente: Estación Climatológica Principal de Santa María, Universidad Federal de Santa María.

previously and added with 500 mL of commercial substrate containing barley residue, to improve both physical and chemical qualities of the soil. Substrate used showed these characteristics: pH 4.66, 560.12 kg m⁻³ dry density, 81.05 % total porosity, 5.83 % aeration space, 23.39 % easily available water and 18.72 % buffering water

In absence of precipitation, seedlings were irrigated every two days in the first month, with two liters of water per plant and subsequently once a week. Dry vegetation cover (mulching) was placed around the seedlings with approximately 35 cm in diameter and 5 cm in height. Cover fertilizing was performed at 30 and 180 days after planting (d.a.p), with NPK (5-20-20). Two lateral holes were opened for each seedling for application of 100 g of fertilizer (50 g in each side) at a distance of approximately 10 cm from the plant. Silvicultural treatments, such as insecticide application, ant control, crowning with manual weeding surrounding the seedlings and in line control of weed competition by herbicide application on two occasions (120 and 180 days after planting), were performed during the experiment.

Survival evaluation was performed at 30 and 360 d.a.p and morphological parameters such as height (H) and stem diameter (SD) were measured at the time of planting and, afterward, bimonthly (60, 120, 180, 240, 300 and 360 d.a.p). Height was measured with a ruler (cm) and stem diameter with a digital caliper (mm) to provide the H/SD ratio. In addition, an analysis of the absolute growth rate (AGR) for H and SD was performed by using the following formula (Benincasa 2003):

$$AGR = (H_1 - H_0)/(T_1 - T_2) \quad [1]$$

Where: AGR = Absolute growth (AGR); H₁ = Height at time n; H₀ = Height at time n-1; T₁ = Number of days of time n; T₀ = Number of days of time n-1.

Physiological characteristics such as chlorophyll content, carotenoids, lipid peroxidation and activity of acid phosphatase enzyme were analyzed in the Plant Biochemistry Laboratory of the Biology Department (UFMS) at 180 and 360 d.a.p. For these analyses, the fourth expanded leaf from the apical meristem of three plants was collected per treatment, which were immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80 °C in an ultrafreezer until quantification. The contents of chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and carotenoids were determined by following the methodology described by Hiscox and Israelslam (1979) and estimated using the formula of Lichtenthaler (1987). The fresh samples of leaves (0.1 g) were incubated at 65 °C with dimethylsulfoxide (DMSO) for two hours. Subsequently, the absorbance of the solution was measured in a spectrophotometer at 663, 645 and 470 nm. The peroxidation of membrane lipids was estimated according to the methodology of El-Moshaty *et al.* (1993) and expressed as nmol MDA mg⁻¹ of protein. The activity of the acid phosphatase enzyme was determined according to the methodology of Tabaldi *et al.* (2007).

Determination of chlorophyll *a* fluorescence was performed using a portable fluorometer (Junior-Pam®) in fully expanded leaves from plants at 180 and 360 d.a.p. The selected leaves were submitted to 30 minutes in the dark. After that, they were exposed to saturated light pulses at an induced wavelength by red light (peak at 650 nm)

for approximately $3.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, obtaining the initial fluorescence signs (F_0), maximum fluorescence (F_m), maximum quantum yield of the photosystem II (F_v/F_m) and electron transport rate (ETR).

Design and statistical analysis. Experimental design was set up as randomized blocks, with four treatments (shading levels) in five blocks totaling 80 seedlings. The statistical analysis was carried out using SISVAR software 5.3 (Ferreira 2011), submitting the data to normality and homogeneity and subsequently to the ANOVA analysis. Means were compared by Tukey test at 5 % probability.

RESULTS

At 30 days after planting (d.a.p), there was no mortality of *Apuleia leiocarpa* seedlings. Survival rate was high and without influence of different levels of shading. However, high mortality rates were observed at 360 d.a.p., especially in full sun (table 1).

Table 1. Survival rate of *Apuleia leiocarpa* seedlings at 30 and 360 days after planting in the field, at different levels of shading.

Tasa de supervivencia de plantas de *Apuleia leiocarpa* a los 30 y 360 días después del trasplante a campo, en diferentes niveles de sombra.

Level of shading (%)	Survival (%)	
	30 d.a.p	360 d.a.p
0	100 a*	50 b
18	100 a	90 a
50	100 a	80 ab
70	100 a	95 a

* Averages followed by different letters in the column differ from each other by the Tukey test ($P < 0.05$).

Table 2. Height (cm), stem diameter (mm) and ratio H/SD averages of *Apuleia leiocarpa* seedlings in full sun (0 %) and different intensities of shading (18, 50 and 70 %), at 180 and 360 days.

Medias de altura (cm), diámetro del cuello (mm) y relación H/DC de plantas de *Apuleia leiocarpa*, a pleno sol (0 %) y diferentes niveles de sombra (18, 50 y 70 %) a 180 y 360 días.

Level of shading (%)	Height (H)	Stem diameter (SD)	H/SD ratio	Height (H)	Stem diameter (SD)	H/SD Ratio
	180 days			360 days		
0	46.04 a*	7.41 a	6.25 ab	79.65 a	11.50 a	6.53 a
18	47.60 a	7.92 a	6.01 a	82.18 a	12.36 a	6.68 ab
50	51.02 a	7.25 a	6.97 ab	92.33 a	10.19 a	9.04 c
70	59.19 a	7.23 a	8.33 b	92.63 a	10.41 a	8.79 bc
CV (%)	33.46	29.02	18.23	41.95	33.07	14.75

* Averages followed by different letters in the column differ from each other by the Tukey test ($P < 0.05$). CV: Coefficient of variation.

Absolute growth rate (AGR) in height and stem diameter shows the same behavior, which is observed zero or reduced growth at 60 days. However, after the establishment during the spring, there was significant growth in subsequent seasons in up to 240 days, which coincides with the fall (figure 1), followed by the decrease in the dormant period (figures 2 and 3).

In the assessments performed at 180 and 360 d.a.p., there was no significant difference among levels of shading for H and SD (table 2). The H/SD showed lower seedling stability under 50 and 70 % of shading, especially at 180 days, when there was a reduction of photoperiod and temperature (figure 1).

Shading levels and age of the plants (180 and 360 days) significantly influenced ($P < 0.05$) the content of photosynthetic pigments (table 3). Chlorophyll contents were higher at the highest shading condition, especially at 360 d.a.p (winter) under 70 %. Moreover, it is important to emphasize that *Chl a* was always higher in the winter, while *Chl b* showed the highest oscillation (table 3). *Chl a/b* ratio shows more variation in data when comparing both shading and different season growths (winter and summer). At 360 d.a.p, a higher content of 18 and 50 % levels was observed.

Carotenoid content was higher in plants with 50 % of shading at 180 days and with 70 % at 360 days (table 3). Similarly, *Chl a* content values were the highest at 360 days under any level of shading.

There was no significant difference among treatments for lipid peroxidation content at 180 days, although, at 360 days that value was higher in absence of protective mesh (full sun) (table 4). For acid phosphatase enzyme, there was no difference among treatments at 180 days, while at 360 days that activity was higher with 0 and 50 % of shading. The acid phosphatase enzyme was enhanced at 180 days, although there was no difference among treatments. On the other hand, at 360 days, full sun and 50 % of shading were higher.

There was no significant interaction between shading x time for chlorophyll *a* fluorescence variables. Initial fluorescence (F_o), maximum fluorescence (F_m), F_v/F_m ratio and ETR showed significance for isolated factors ($P < 0.05$). F_o values increased at higher levels of shading

(50 and 70 %), similarly to F_m . During winter (360 days) F_o was significantly higher in the summer (360 days), which was similar to F_m , however, in this case there was no statistical difference ($P = 0.2980$) (table 5).

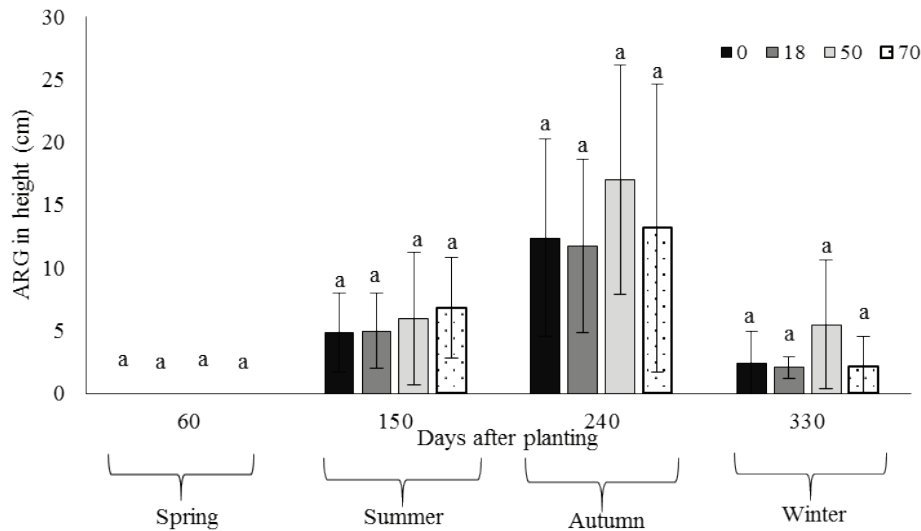


Figure 2. Absolute growth rate (AGR) in height of *Apuleia leiocarpa* seedlings in different levels of shading (0, 18, 50 and 70 %), as a function of days after planting. Averages followed by different letters in each season differ from each other by the Tukey test ($P < 0.05$).

Tasa de crecimiento absoluto (TCA) en altura de plantas *Apuleia leiocarpa* en diferentes intensidades de sombra (0, 18, 50 y 70 %), en función de los días después del trasplante. Medias seguidas por letras diferentes en cada estación, se diferencian por la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

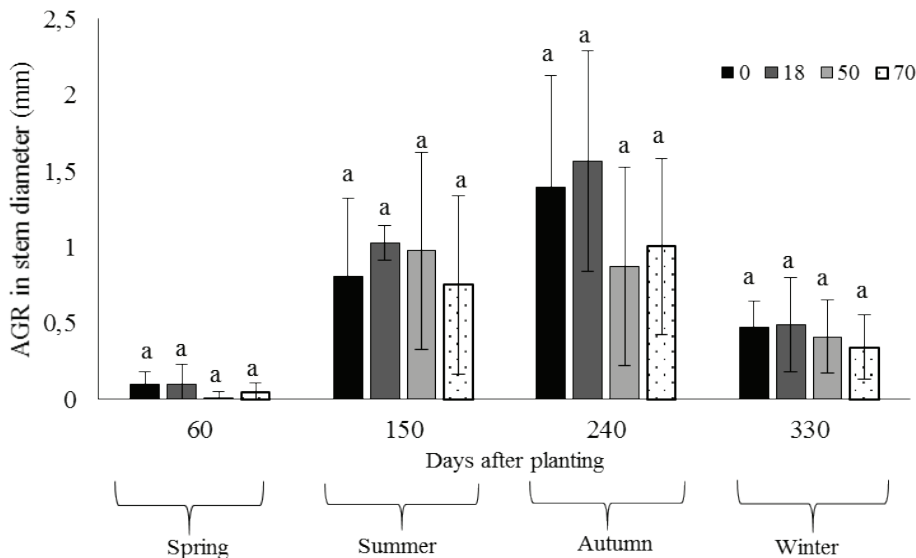


Figure 3. Absolute growth rate (AGR) in stem diameter of *Apuleia leiocarpa* seedlings in different levels of shading (0, 18, 50 and 70 %), as a function of days after planting. Averages followed by different letters in each season differ from each other by the Tukey test ($P < 0.05$).

Tasa de crecimiento absoluto (TCA) del diámetro del cuello de plantas de *Apuleia leiocarpa* en diferentes intensidades de sombra (0, 18, 50 y 70 %), en función de los días después del trasplante. Medias seguidas por letras diferentes en cada estación, se diferencian entre sí por la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Table 3. Averages of chlorophyll *a*, *b* and Chl *a/b* ratio of *Apuleia leiocarpa* seedlings in full sun (0 %) and in different levels of shading (18, 50 and 70 %), at 180 and 360 days after planting.

Medias de clorofila *a*, clorofila *b*, y relación *Chl a/b* de plantas de *Apuleia leiocarpa* en pleno sol (0 %) y diferentes intensidades de sombra (18, 50 y 70 %) después de 180 y 360 días en campo.

Level of shading (%)	Chlorophyll <i>a</i> (mg g ⁻¹ FM)		Chlorophyll <i>b</i> (mg g ⁻¹ FM)		<i>Chl a/b</i> ratio		Carotenoids (mg g ⁻¹ FM)	
	Days after planting							
	180	360	180	360	180	360	180	360
0	0.82 Bc*	1.26 Ab	0.15 Bc	0.27 Ab	5.57 Aa	4.65 Ba	0.28 Bb	0.45 Ab
18	1.00 Bb	1.15 Ab	0.24 Ab	0.24 Ab	4.24 Acb	4.72 Aa	0.17 Bd	0.40 Ac
50	1.10 Bb	1.28 Ab	0.33 Aa	0.26 Bb	3.33 Bc	4.86 Aa	0.32 Ba	0.42 Ac
70	1.32 Ba	1.84 Aa	0.29 Bab	0.69 Aa	4.63 Aab	2.68 Bb	0.25 Bc	0.55 Aa
CV (%)	5.45		7.78		12.19		3.74	

*Averages followed by different capital letters on the line and lower in the column differ from each other by the t (line) and Tukey (column) tests ($P < 0.05$); CV: Coefficient of variation and FM = fresh mass.

Table 4. Averages of lipid peroxidation and acid phosphatase enzyme of *Apuleia leiocarpa* seedlings in full sun (0 %) and in different levels of shading (18, 50 and 70 %), at 180 and 360 days after planting.

Medias de peroxidación lipídica y actividad de la enzima fosfatasa ácida de plantas de *Apuleia leiocarpa* en pleno sol (0 %) y diferentes intensidades de sombra (18, 50 y 70 %), a los 180 y 360 días en campo.

Level of shading (%)	Lipid peroxidation (mmol de MDA g ⁻¹ FM)		Acid phosphatase enzyme (nmol Pi g FW ⁻¹ min ⁻¹)	
	Days after planting			
	180	360	180	360
0	0.77 Aa	1.23 Bc	5.97 Aa	8.90 Ba
18	0.59 Aa	0.77 Aab	5.93 Aa	9.47 Bb
50	0.48 Aa	0.44 Aa	5.96 Aa	8.59 Ba
70	0.49 Aa	0.89 Bb	5.88 Aa	9.52 Bb
CV (%)	20.27		1.87	

*Averages followed by different capital letters on the line and lower in the column differ from each other by the t (line) and Tukey (column) tests ($P < 0.05$); CV: Coefficient of variation and FM = fresh mass.

Table 5. Chlorophyll *a* initial fluorescence (Fo), maximum fluorescence (Fm), maximum quantum yield of photosystem II (Fv/Fm) and electron transport rate (ETR) in *Apuleia leiocarpa* seedlings in different levels of shading (0, 18, 50 and 70 %), at 180 and 360 days after planting.

Fluorescencia inicial de la clorofila *a* (Fo), fluorescencia máxima (Fm), rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (Fv/Fm) y tasa de transporte de electrones (ETR) en plantas de *Apuleia leiocarpa* en diferentes intensidades de sombra (0, 18, 50 y 70 %), a los 180 y 360 días en campo.

Level of shading (%)	Fo	Fm	Fv/Fm	ETR
0	206.83 b*	393.92 b	0.53 a	22.37 a
18	252.50 b	527.00 b	0.52 a	19.67 a
50	306.33 ab	794.17 a	0.62 a	17.29 a
70	457.33 a	879.33 a	0.52 a	15.71 a
Time	Fo	Fm	Fv/Fm	ETR
180	227.92 b	617.04 a	0.6267 a	21.82 a
360	383.58 a	680.17 a	0.4675 b	15.70 b
CV (%)	31.35	22.16	21.74	31.94

*Averages followed by different letters in the column differ from each other by the Tukey test (levels of shading) and the t test (time) ($P < 0.05$) e CV: Coefficient of variation.

The Fv/Fm ratio was not significant among shading levels, corresponding to 55 % of photons arriving in the plant and being transferred to the photochemical route. The largest luminous energy transfer occurred in the summer (table 5). These results correspond to the electron transport rate as observed, regarding both, level of shading and evaluation season.

DISCUSSION

The present study shows the effect of shading during the initial establishment of *Apuleia leiocarpa* seedlings in the field, required to achieve higher survival rates and to increase the physiological performance of the plants (tables 3, 4 and 5). In this study, the effect of shading levels on survival, growth and physiological characteristics of *Apuleia leiocarpa* seedlings in the initial field establishment is reported for the first time.

Among the environmental factors, solar radiation has an important role in photosynthesis, regulating the survival, growth and adaptation of plants (Zervoudakis *et al.* 2012). The survival of *Apuleia leiocarpa* seedlings in 360 days was positively influenced by increased levels of shading. High mortality of *Apuleia leiocarpa* in full sun could be associated with the fact that the species requires more protection in the early stage of development, which possibly is related to the reduced shading and the influence of lower temperatures. This result could be associated with the level of lipid peroxidation, which was higher in full sun at 360 days, and with the content of carotenoids, which were lower in less shaded treatments at 360 days. Probably, carotenoids did not protect *Apuleia leiocarpa* plants from the excess of light and, consequently, there was higher lipid peroxidation and plant mortality. Some of these results corroborates Carvalho (2003), who classifies *Apuleia leiocarpa* as a species with semi-heliophile behavior. Under natural conditions, in the regeneration phase, this species has a tolerance to low light intensities, due to closed canopy.

Apuleia leiocarpa plants showed similar behavior for TCR in height and stem diameter. Variation of AGR is an expected response, since any increase over a certain period is directly related to the dimensions previously reached (Lima *et al.* 2007).

The species behavior in relation to the irradiance is distinguished, mainly when seedlings come to growth in the field, indicating different tolerance levels demanded, which is important for plant development and use in forestry. Aimi (2014) and Tonetto (2014), studying respectively *Cabralea canjerana* Vell. Mart. (canjerana) and *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos (ipê-roxo), observed antagonistic behavior of species in relation to light requirement, with the highest growth occurring under 50 % of shading and full sun, respectively.

In addition to the high survival of *Apuleia leiocarpa* seedlings under 18 % of shading, we also found a higher

carbon allocation in stem diameter in relation to height, a fact opposed to the condition of 50 % of shading. The acid phosphatase enzyme was more active at 360 days under 70 % shading, indicating that the phosphorus mobilization promoted by this enzyme may have contributed to increasing stem diameter. Several studies have shown that height/stem diameter ratio of trees decreases with light availability, suggesting that shading affects the growth in diameter more negatively than does height growth (Petritan *et al.* 2009).

Almeida *et al.* (2004) reported that plant growth might reflect the ability of species adaptation to environmental radiation conditions in which they are developing. Furthermore, Scalon *et al.* (2002) reported that growth characteristics are used to infer the degree of species tolerance to low light availability.

The increase of photosynthetic pigment content in leaves of plants due to the increase in shading is a response widely described in literature (Lichtenthaler *et al.* 2007). In this study, increasing the level of shading for *Apuleia leiocarpa* plants caused an increase in photosynthetic pigment content. At 180 days (summer), an increase of chlorophyll *a* and *b* was observed in higher shading levels in order to meet the minor incident radiation, as well as at 360 days.

It is noteworthy that, possibly, the species needs to invest in the production of pigments to better capture incident light energy. This response allows the plant to maximize the gain in carbon and changes in light interception. Chlorophyll is constantly being synthesized and destroyed (photooxidation) in the presence of light, nevertheless, under higher light intensities further degradation occurs and balance is established at a lower concentration (Almeida *et al.* 2004). This is confirmed by the increase of carotenoids, which absorb different wavelengths, from those absorbed by *Chl a* and *b*. There was an increase in chlorophyll production and 70 % shading at 360 days. Typically, carotenoids acquire the ability to increase with decreasing light intensity and may perform different functions during photosynthesis, such as absorption in the light-harvesting complex and photoprotection of the photochemical apparatus (Kerbaui 2004).

The behavior of *Apuleia leiocarpa* in the south region of Brazil demonstrated to be similar to which was found in other studies, such as Rêgo and Possamai (2006); when evaluating light (full sun, 34, 44, 64 and 70 %) in *Cariniana legalis Cariniana legalis* Kuntze (jequitibá-rosa), they observed that the contents of chlorophyll *a*, *b* and total were higher in plants under lower light condition. Lima *et al.* (2010) confirmed that the highest carotenoid content in *Hymenaea courbaril* L. (jatoba) and *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. (timbaúva) occurred under shading, thus differing from those in full sun.

In the present study, it was found that the chlorophyll *a/b* ratio showed high values under full sun (5.5 and 4.6, respectively at 180 and 360 d.a.p) with reduction due to

shading increase (2.6; 70 % shading to 360 d.a.p). In general, chlorophyll *a/b* ratio increases with higher irradiance in plants, however this feature could respond differently given the availability of nitrogen (Maina and Wang 2015). Under shading conditions, plants show less chlorophyll *a/b* compared to plants in full sun due to the high portion of chlorophyll *b* assigned to the antenna complex. Streit *et al.* (2005) describe this relationship in plants occurs at 3:1 ratio.

According to Taiz and Zeiger (2013), some plants have plasticity to adapt to a range of light regimes and can grow in full sun or in shady environments. The Fv/Fm ratio has been the most commonly used parameter for characterizing conditions affecting the photochemical efficiency of plants under stress conditions (Lichtenthaler *et al.* 2007, Bussotti and Pollastrini 2015). In general, low values of Fv/Fm ratio indicate foliar photoinhibition (Cascio *et al.* 2010). According to our results, there was a significant difference between the values of Fv/Fm estimated in leaves of *Apuleia leiocarpa* in different seasons. Plants subjected to stress caused by low winter temperatures had lower values of Fv/Fm (0.47) compared to the value observed at higher temperatures (0.63).

Even there was higher initial and maximum fluorescence in the treatments with 50 and 70 % of shading, no significant difference was found among treatments for maximum quantum yield of photosystem II (Fv/Fm) and electron transport rate (ETR). That indicates the biomass production was not affected in high shading treatments, since there was no significant difference between treatments for height and stem diameter of *Apuleia leiocarpa* under 18 % and 50 % of shading, they showed values of Fv/Fm closed to 0.55 and electron transport rate around 18 $\mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Ritchie *et al.* (2010) described that Fv/Fm below 0.6 and electron transport rate higher than 300 $\mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ represent stress to plants. However, there is wide variation between species, and we believe that in these environments (18 % and 50 % of shading) in which there was high survival rate, such values were not limited to the establishment of the species and could be considered appropriate to be a reference on the photochemical efficiency of *Apuleia leiocarpa*.

The significant reduction of photochemical efficiency (Fv/Fm) of the plants of *Apuleia leiocarpa* between 180 and 360 days after planting was probably due to the inhibitory effect of photosynthesis because of the average temperature difference among times. Probably, at 360 days, higher temperatures were observed, which might have reduced Fv/Fm values. This pattern of reducing the photochemical efficiency due to injuries caused by low temperature has already been observed in *Pinus sylvestris* L. (Linkosalo *et al.* 2014).

Adaptation to light intensities is a genetic characteristic, since leaves have anatomical structure and physiological properties able to, effectively, use the available solar radiation. In this sense, considering that *Apuleia leiocar-*

pa has wide distribution, it could be planted in different latitudes, light intensities and temperatures, except in the condition of full sun and high shading.

CONCLUSIONS

The initial hypothesis of this study is confirmed: shading affects the growth of seedlings *Apuleia leiocarpa* in the field.

Morphological and physiological parameters of *Apuleia leiocarpa* plants evidence that this species requires shading (18 to 50 %) in its early stage of development in the field.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the Higher Education Personnel Improvement Coordination (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES) for granting scholarships to the first and third authors and to the National Scientific and Technological Development Council (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq) for the scholarship of productivity in research provided to the second author.

REFERENCES

- Afonso MV, EG Martinazzo, TZ Aumonde, FA Villela. 2012. Composição do substrato, vigor e parâmetros fisiológicos de mudas de timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong). *Revista Árvore* 36(6): 1019-1026.
- Aimi SC. 2014. Tecnologia de sementes e crescimento inicial de mudas de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. Master Thesis (Mestrado em Engenharia Florestal). Santa Maria, Brasil. Universidade Federal de Santa Maria. 110 p.
- Almeida LP, AA Alvarenga, EM Castro, SM Zanela, CV Vieira. 2004. Crescimento inicial de plantas de *Cryptocaria aschersoniana* Mez. submetidas a níveis de radiação solar. *Revista Ciência Rural* 34(1): 83-88.
- Alvares CA, JL Stape, PC Sentelhas, JLM Gonçalves, G Sparovek. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift* 22(6): 711-728.
- Azevedo GT de OS, AB de Novaes, GB de Azevedo, HF Silva. 2015. Desenvolvimento de mudas de nim indiano sob diferentes níveis de sombreamento. *Floresta Ambiente* 22(2): 249-255.
- Backes P, B Irgang. 2009. Árvores do sul: guia de identificação e interesse ecológico. Porto Alegre, Brasil. Paisagem do Sul. 332 p.
- Benincasa MMP. 2003. Crescimento absoluto-apresentação dos dados. In Benincasa MMP. Análise de crescimento de plantas (noções básicas). Jaboticabal, Brasil. FUNEP. p. 20-24.
- Bogaert J, YSS Barima, WML Iyongo, I Bamba, A Mama, M Toyi. 2011. Forest fragmentation: causes, ecological impacts and implications for landscape management. In Li C, R Laforteza, J Chen eds. Landscape Ecology in Forest Management and Conservation: Challenges and Solutions for Global Change. Beijing, China. Higher Education

- Press-Springer. p. 273-296.
- Brancalion PHS, RAG Viani, RR Rodrigues, S Gandolfi. 2012. Avaliação e Monitoramento de Áreas em Processo de Restauração. In Martins SV. (Org.). Restauração ecológica de ecossistemas degradados. Viçosa, Minas Gerais. FV. p. 262-293.
- Bussotti F, M Pollastrini. 2015. Do tree-species richness, stand structure and ecological factors affect the photosynthetic efficiency in European forests? *Web Ecology* 15(1): 39-41.
- Carvalho PER. 2003. Espécies Arbóreas Brasileiras. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica. Colombo, Brasil. EMBRAPA Florestas. 1039 p.
- Carvalho AS, MV Silva, FS Gomes, PMG Paiva, CB Malafaia, TD Silva, AFM Vaz, AG Silva, IRS Arruda, TH Napoleão, MG Carneiro-da-Cunha, MTS Correia. 2015. Purification, characterization and antibacterial potential of a lectin isolated from *Apuleia leiocarpa* seeds. *International Journal of Biological Macromolecules* 75: 402-408.
- Cascio C, M Schaub, K Novak, R Desotgiu, F Bussotti, RJ Strasser. 2010. Foliar responses to ozone of *Fagus sylvatica* L. seedlings grown in shaded and in full sunlight conditions. *Environmental and Experimental Botany* 68(2): 188-197.
- El-Moshaty FIB, SM Pike, AJ Novacky, OP Sehgal. 1993. Lipid peroxidation and superoxide production in cowpea (*Vigna unguiculata*) leaves infected with tobacco ringspot virus or southern bean mosaic virus. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 43(2): 109-119.
- Ferreira DF. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia* 35(6): 1039-1042.
- Hiscox JD, GF Israelstam. 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany*. 57(12): 1132-1134.
- Kerbaux GB. 2004. Fisiologia Vegetal. Rio de Janeiro, Brasil. Guanabara Koogan. 452 p.
- Kageyama PY, C Castro. 1989. Sucessão secundária, estrutura genética e plantações de espécies nativas. *IPEF, Piracicaba* 41(42): 83-93.
- Lamprecht H. 1990. Silvicultura nos trópicos: ecossistemas florestais e respectivas espécies arbóreas – possibilidades e métodos de aproveitamento sustentado. Eschborn: Instituto de Silvicultura da Universidade de Göttingen. Göttingen, Germany. GTZ. 343 p.
- Lichtenthaler HK. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Lichtenthaler HK, AC Alexander, V Michal, MV Marek, J Kalina, O Urban. 2007. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Plant Physiology and Biochemistry* 45(8): 577-588.
- Lima JL, CP Peixoto, CAS Ledo. 2007. Índices fisiológicos e crescimento inicial de mamoeiro (*Carica papaya* L.) em casa de vegetação. *Ciência Agrotécnica* 31(5): 1358-1363.
- Lima ALS, F Zanella, LDM Castro. 2010. Crescimento de *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Hayne) Lee et Lang. e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (Legumi-
nosae) sob diferentes níveis de sombreamento. *Acta Amazonica* 40(1): 43-48.
- Linkosalo T, J Heikkinen, P Pulkkinen, R Mäkipää. 2014. Fluorescence measurements show stronger cold inhibition of photosynthetic light reactions in Scots pine compared to Norway spruce as well as during spring compared to autumn. *Frontiers in Plant Science* 5: 1-8.
- Maina JN, Q Wang. 2015. Seasonal Response of Chlorophyll a/b Ratio to Stress in a Typical Desert Species: *Haloxylon ammodendron*. *Arid Land Research and Management* 29(3): 321-334.
- Petrutan AM, B von Lupke, IC Petrutan. 2009. Influence of light availability on growth, leaf morphology and plant architecture of beech (*Fagus sylvatica* L.), maple (*Acer pseudoplatanus* L.) and ash (*Fraxinus excelsior* L.) saplings. *European Journal of Forest Research* 128(1): 61-74.
- Rêgo GM, E Possamai. 2006. Efeito do sombreamento sobre o teor de clorofila e crescimento inicial do jequitibá-rosa. *Boletim de Pesquisa Florestal*, Colombo 53: 179-194.
- Ritchie GA, TD Landis, RK Dumroese. 2010. Assessing plant quality. Seedling Processing, Storage, and Outplanting. Vol 7, Agriculture Handbook 674. Washington DC, USA. U.S. Department of Agriculture Forest Service. 200 p.
- SBCS/CQFS (Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, BR / Comissão de Química e Fertilidade do Solo, BR). 2004. Manual de adubação e de calagem para os estados do RS e SC. 10 ed. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo - Núcleo Regional Sul. 394 p.
- SEMA (Secretaria Estadual do Meio Ambiente, BR). 2014. Homologada a nova lista de espécies ameaçadas de extinção. 08/12/2014. Anexo 1. Consulted 03 Apr. 2017. Available in <http://www.fzb.rs.gov.br/conteudo/4809/?Homologada_a_nova_Lista_da_Flora_Ga%20C3%B9A%20Amea%20A7ada_de_Extin%20A7%C3%A3o>.
- Scalon S de PQ, RM Mussury, MR Rigoni, F Veraldo. 2002. Crescimento inicial de mudas de espécies florestais nativas sob diferentes níveis de sombreamento. *Revista Arvore* 26(1): 1-5.
- Streit NM, LP Canterle, MW Canto, LHH Hecktheuer. 2005. As clorofilas. *Ciência Rural* 35(3): 748-755.
- Tabaldi LA, R Ruppenthal, D Cargnelutti, VM Morsch, LB Pereira, MRC Schetinger. 2007. Effects of metal elements on acid phosphatase activity in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. *Environmental and Experimental Botany* 59(1): 43-48.
- Taiz L, E Zeiger. 2013. Fisiologia Vegetal 3 ed. Porto Alegre, Brasil. Artmed. 720 p.
- Tonetto TS da. 2014. Tecnologia de sementes e desenvolvimento de mudas de *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos sob diferentes formas de manejo no viveiro e no campo. Master Thesis (Mestrado em Engenharia Florestal). Santa Maria, Brasil. Universidade Federal de Santa Maria. 137 p.
- Zervoudakis G, G Salahas, G Kaspiris, E Konstantopoulou. 2012. Influence of Light Intensity on Growth and Physiological Characteristics of Common Sage (*Salvia officinalis* L.). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 55(1): 89-95.

Within-tree carbon concentration variation in three Mexican pine species

Variación de la concentración de carbono en tres especies mexicanas de pino

Diego Hernández-Vera ^a, Marín Pompa-García ^{a*}, José I Yerena-Yamallel ^b, Eduardo Alanís-Rodríguez ^b

*Corresponding author: ^a Universidad Juárez del Estado de Durango, Facultad de Ciencias Forestales, Río Papaloapan, Valle del Sur, 34120 Durango, México, mpgarcía@ujed.mx

^b Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Forestales, km 145 Carretera Linares-Cd. Victoria, Linares, Nuevo León, México.

SUMMARY

Assessing carbon content in forest species is considered essential for programs designed to mitigate global warming. A value of 50 % has been assumed as a generic percentage. However, recent research indicates that there are substantial variations in carbon concentration even within a tree or tissues. The aim of this study was to assess the variations of carbon concentration along the longitudinal profile of *Pinus durangensis*, *P. engelmannii* and *P. leiophylla* in northern Mexico, including its components: root, bark, stem, branches, twigs, leaves and fruits. Using a selective sampling design, dominant and well-shaped trees were selected, whose samples were processed by chemical analyses. Results indicated significant differences in the mean concentration of carbon along the longitudinal profile, with the maximum value always at the base of the tree. Variations at the species level were also recorded. *Pinus engelmannii* had the lowest percentage with 49.31 %, followed by *P. leiophylla* (50.18 %) and *P. durangensis* (50.36 %). In the components of all species, the carbon concentration in the bark was higher than in the rest (52.48 %). A wide range of variation was observed in the carbon coefficients of the components of the species, from 47.39 % in the root of *P. engelmannii* to 53.49 % in the bark of *P. leiophylla*. It is therefore appropriate to consider these variations when making more accurate estimates of carbon stocks in forest ecosystems.

Key words: *Pinus durangensis*, *Pinus engelmannii*, *Pinus leiophylla*, components, trees.

RESUMEN

Evaluar el contenido de carbono se considera esencial para programas diseñados a mitigar el calentamiento global. Se ha asumido un valor de 50 % como porcentaje genérico. Sin embargo, investigaciones recientes indican que existen variaciones substanciales en concentraciones de carbono incluso entre árboles y tejidos. El objetivo de este estudio fue evaluar las variaciones de la concentración de carbono a lo largo del perfil longitudinal de *Pinus durangensis*, *P. engelmannii*, y *P. leiophylla* en el norte de México, incluyendo sus componentes: raíz, corteza, tallo, ramas, ramillas, hojas y frutos. Los resultados indican diferencias significativas en la concentración media de carbono a lo largo del perfil longitudinal, con máximos valores siempre en la base del árbol. También se registraron variaciones al nivel de especie. *Pinus engelmannii* tuvo el más bajo porcentaje con 49,31 %, seguido por *P. leiophylla* (50,18 %) y *P. durangensis* (50,36 %). En los componentes de todas las especies, la concentración de carbono en la corteza fue más alta que en el resto (52,48 %). Un amplio rango de variación se observó en los coeficientes de carbono de los componentes de las especies, desde 47,39 % en la raíz de *P. engelmannii* a 53,49 % en la corteza de *P. leiophylla*. Es por tanto apropiado considerar estas variaciones cuando se hagan estimaciones más precisas de almacenes de carbono en los ecosistemas forestales.

Palabras clave: *Pinus durangensis*, *Pinus engelmannii*, *Pinus leiophylla*, componentes, árboles.

INTRODUCTION

Global averages of carbon dioxide (CO₂), methane (CH₄) and nitrous oxide (N₂O) reached their maximum levels in 2014. In 2015 the National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) found an unprecedented increase (+3.01 parts per million) in CO₂. Climate change is mainly attributed to greenhouse gasses (GHG). In the period 1990-2014, the annual GHG index increased by 36 %, of which 80 % was CO₂ (OMM 2016).

Forests are terrestrial ecosystems that capture and store most carbon (Martin and Thomas 2011) and play an important role in the carbon cycle (Wang *et al.* 2015). Carbon capture and storage give to forests additional value since they contribute to the absorption of GHGs (Aguirre-Calderón and Jiménez-Pérez 2011). For instance, environmental services offer very valuable indirect benefits (Pagiola *et al.* 2005).

Several studies have demonstrated the best yields obtained by ecosystem services compared to timber uses

(Martin-Ortega 2013, Álvarez and Rubio 2013). In some cases, environmental services (*e.g.* carbon sequestration) have an average value 1.47 times higher than that of wood (Álvarez and Rubio 2013). Therefore, knowing the variation of carbon in the different compartments of the tree will help to improve the estimates of the commercial value of the forest for the carbon bonds, and to contribute to the knowledge of carbon flows. Knowing the concentration of carbon in different compartments of the tree provides precise and useful information in generating strategies and actions to counteract climate change, forest productivity and anthropogenic impact (Aguirre-Calderón and Jiménez-Pérez 2011, Wang *et al.* 2015).

The procedures for estimating carbon content are based on biomass estimation, assuming a 50 % carbon concentration for practical purposes (Lamloom and Savidge 2006). This operational methodology leads to inaccurate results, due to variation of the carbon concentration between arboreal components (Pompa and Yereña 2014) and within tree components (Bert and Danjon 2006, Martin *et al.* 2015). The stem is the aerial component with the highest biomass and consequently stores significant amounts of carbon, thus knowing longitudinal carbon variation is a priority issue. This specific problem has rarely been studied given the difficulties involved (Castaño-Santamaría and Bravo 2012), although dissimilarities of carbon at different tree heights are well known (Bert and Danjon 2006, Herrero *et al.* 2011). In Mexico, no study has presented vertical variations of carbon despite the high abundance of Pinaceae (González-Elizondo *et al.* 2012). The species *Pinus durangensis* Martínez, *P. engelmannii* Carrière and *P. leiophylla* Schiede ex Schltdl. *et* Cham., have huge ecological and economic interest and they are widely distributed in Nor-

thern Mexico (González-Elizondo *et al.* 2012), therefore they constitute an ideal group of species to contribute to the knowledge of the variations of carbon.

Although recent studies have reduced the uncertainty of carbon calculation around the world (Thomas and Martin 2012, Durkaya *et al.* 2013), there is a current concern to determine the flow of carbon, which allows having precise indicators for future tradable projects of carbon. The most frequent studies aim at determining the concentrations of carbon in different tree components, finding variations that do not coincide with that of 50 % (Pompa and Yereña 2014). For instance, in Mexican forest many studies use a constant value for carbon concentration (often 50 %) to model carbon flux in different ecosystems, providing a limited understanding of the role of trees as a carbon sink. Knowing within-tree carbon concentration variation in representative pine species could reduce biases of such estimates. In addition, for this species, to our knowledge, no such effort has been made to date.

By hypothesizing that concentrations of carbon differ from 50 % conventionally assumed, the aim of this study is to assess the variations in carbon concentration along the stem of three species of Pinaceae, including other structures such as root, bark, branches, twigs, leaves and fruits.

METHODS

Study area. The present study was carried out in the cooperative Sierra del Nayar (2,350 m a.s.l.), which forms part of the municipalities of Durango and Pueblo Nuevo located in the southwest of the state of Durango (northwest of Mexico), within the Occidental Sierra Madre (figure 1). From the study area, a population of three commercial

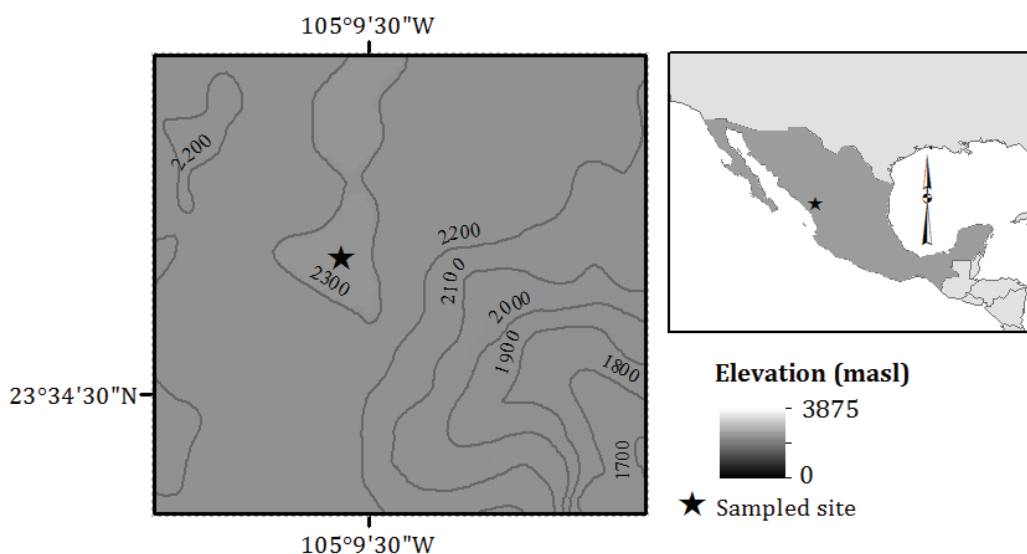


Figure 1. Location of the study area.
Localización del área de estudio.

pine species was selected: *Pinus durangensis*, *P. engelmannii* and *P. leiophylla*.

The climate of the area is temperate. The dominant vegetation types are Pine and Pine – Oak forests. These mixed forests include *P. durangensis*, *P. leiophylla*, *P. strobiformis* and *P. pseudostrobus*, which are often associated with *Quercus* and *Arbutus* species (González-Elizondo *et al.* 2012). The forest has an irregular structure, an average site quality, with real stocks per weighted hectare of 78.6 m³ ha⁻¹, density of 520 trees ha⁻¹, and a current annual increment of 1.6 m³ per year (CCMSS 2002).

Data. We used a selective sampling design from the extraction forest stands. A total of well-shaped 12 trees of each species were selected. Trees were of dominant heights and had no signs of damage, had diameters > 35 cm and were older than 70 years. From each tree, samples of 50 g of leaves, branches, twigs (diameter < 5 cm), bark, root and fruit were collected without any pattern of sampling. Radial cores of each tree were collected using a Pressler increment borer, at different heights: core 1 at 0.30 m, core 2 at 2.74 m, core 3 at 5.18 m, core 4 at 7.62 m and core 5 at 8.28 m, following the length of commercially sawn timber. The samples were taken to the laboratory following the procedures of Karlik and Chojnacky (2013), and immediately placed in paper bags to minimize the loss of volatile carbon (Lamlom and Savidge 2003, Martin and Thomas 2011). Samples were dried at room temperature until reaching a constant weight. Following the procedure of Lamlom and Savidge (2003), the samples were ground using a pulverizing mill (Fritsch pulverisette 2), which produces fractions smaller than 10 µg. Total carbon concentration (TCC) was obtained using the Solids TOC Analyzer (1020A from O I Analytical, USA), which analyzes solid samples of 30 mg by complete combustion at a temperature of 900 °C. The resulting gases were measured through a non-dispersive infrared detector that counts the carbon molecules (Yerena *et al.* 2012).

Statistical analyses. After the verification of the statistical assumptions of normality, homoscedasticity and independence, the data were subjected to an analysis of variance (ANOVA) using the statistical program SAS (Statistical Analysis System 2004) to determine if there were significant differences ($P \geq 0.05$) in the carbon concentration among the averages of the different heights of the stems, species and their components. We tested two factors (treatments): species, which were divided into three levels (*P. engelmannii*, *P. leiophylla* and *P. durangensis*) and components, where seven levels were determined (root, stem, branch, leaves, twig, fruit and bark). Thus, a 3 x 7 factorial experimental design with 21 interactions between treatments was analyzed. Whenever significance was observed between factor levels –component groups and species groups–, a totally randomized ANOVA ($P \leq 0.05$) was performed for the components. Similarly, we performed an

ANOVA to test if there were significant differences along the stem profile of tree species. We determined two factors: species (three levels) and heights (five levels: 0.30, 2.74, 5.18, 7.62 and 8.28 m), with 15 interactions (3 x 5). When significance was found, we used a totally randomized ANOVA design for stem heights. When statistical differences were detected, we compared the means with a Tukey test ($P = 0.05$).

RESULTS

There was more carbon in the two lowest heights of the stems ($P = 0.002$, table 1). *Pinus engelmannii* with 49.31 % had the lowest carbon concentration, while *P. leiophylla* and *P. durangensis* (50.18 % and 50.36 %, respectively) had higher concentrations ($P = 0.005$, table 2).

There were differences among the components across species ($P < 0.0001$). Across species, carbon concentration was higher for bark (52.48 %) than for other components, and was similar for the groups formed by root-stem-branch-leaves and stem-branch-leaves-twigs-fruits (table 3).

The range of variation of carbon concentration among the components of the species was 6.1 percentage points, from 47.39 % in the *P. engelmannii* root to 53.49 % in the bark of *P. leiophylla* ($P = 0.006$). The Tukey test

Table 1. Carbon concentration of different heights along the stem.

Concentraciones de carbono de las diferentes alturas en el perfil longitudinal.

Tree cores at different heights (m)	Mean ± SE	Tukey ¹ grouping
1 - 0.30	49.08 ± 0.40	A
2 - 2.74	49.14 ± 0.36	A
3 - 5.18	48.14 ± 0.34	B
4 - 7.62	47.40 ± 0.42	B
5 - 8.28	47.86 ± 0.32	B

¹Means with different letters are statistically different (Tukey $P = 0.05$).

Table 2. Carbon concentration of species (%).

Concentración de carbono de las especies (%).

Species	Mean ± SE
<i>Pinus engelmannii</i>	49.31 ± 0.22a
<i>Pinus leiophylla</i>	50.18 ± 0.27b
<i>Pinus durangensis</i>	50.36 ± 0.18b

Means with different letters are statistically different (Tukey $P = 0.05$). EE = standard error of the sample.

($P = 0.05$) showed six groups of means. The roots and stems of the three species together with branches of *P. leiophylla* and *P. engelmannii*, leaves of *P. engelmannii* and *P. durangensis* had lower values (from 47.39 to 49.57%); in contrast, bark of the species had the highest carbon concentration of all components of the species, with values ranging from 51.47 to 53.49 % (table 4).

DISCUSSION

This is the first study that shows differences in the concentration of carbon along heights of the stems and tissues in Mexican pine species. This study has evidenced that even in the same stem there are variations that should be considered to improve the estimates of the assimilation capacity of carbon in the forest. As with Bert and Danjon (2006), the results showed differences in the concentration of carbon that were found in each sample obtained from the longitu-

dinal cut of the stem and the maximum value was always found at the base of the tree. A possible explanation for these values found is attributed to the geometric effect and age at the base. This is explained by the fact that, at an older age, rings with a higher percentage of latewood are formed and this increases the density of the wood (Bert and Danjon 2006). It is also well known that, comparatively, late wood has more carbon than that found in early wood (Pallardy 2008). In contrast, the amount of early wood increases as the height of the tree grows. Consequently, the chemical composition of the base gradually differentiates along the vertical profile. This implies that, if the concentration of carbon along the stem varies, sampling should be carried out by weighting this aspect. Recent studies have shown that variations in biomass and hence carbon, depend on the height of the stem (Jones and O'Hara 2012). Although this analysis goes beyond the objectives of the present study, a representative stem height should be considered. Until now, considering 1.3 m as a source of information could produce biased values, despite the advantage of non-destructive methods (e.g., tree core extraction using Pressler borer).

Our results showed significant differences in mean carbon concentration among species, with two groups of differentiated means: on the one hand, *P. engelmannii* that is a species of wide ecological distribution, varying from 1,800 to 2,600 m a.s.l. (González-Elizondo *et al.* 2012), therefore their low concentrations of carbon could be attributed to the minimum nutrition requirements. The other group consists of *P. leiophylla* and *P. durangensis*, with higher values. According to Sáenz-Esqueda *et al.* (2010) these species are rich in volatiles and carbohydrates that contribute to increase the concentrations of carbon.

Significant differences of carbon concentration among components were evident (see table 4). The high concentration value of carbon in the bark agrees with Zhang *et al.* (2014), who found that bark contains high concentrations of carbon. Similarly, in the study by Bert and Danjon

Table 3. Carbon concentration per component of all species (%).

Concentración de carbono por componente de todas las especies (%).

Component	Mean ± SE
Root	48.72 ± 0.31a
Stem	49.23 ± 0.36ab
Branch	49.32 ± 0.41ab
Leaves	49.59 ± 0.15ab
Twig	50.24 ± 0.15b
Fruit	50.47 ± 0.29b
Bark	52.48 ± 0.17c

Means with different letters are statistically different (Tukey $P = 0.05$).
SE = standard error of the sample.

Table 4. Average concentration of carbon per component per species.

Concentración promedio de carbono por componente por especies.

<i>Pinus engelmannii</i>		<i>Pinus leiophylla</i>		<i>Pinus durangensis</i>	
Component	Mean ± SE	Component	Mean ± SE	Component	Mean ± SE
Root	47.39 ± 0.65a	Branch	48.34 ± 1.14ab	Root	49.19 ± 0.33abcd
Leaves	48.71 ± 0.13abc	Stem	49.06 ± 0.51abc	Leaves	49.44 ± 0.19abcd
Stem	49.08 ± 0.75abc	Root	49.57 ± 0.35abcd	Stem	49.54 ± 0.67abcd
Branch	49.15 ± 0.25abc	Fruit	49.91 ± 0.17bcd	Branch	50.48 ± 0.29bcde
Twig	49.83 ± 0.23bcd	Twig	50.05 ± 0.18bcd	Fruit	50.72 ± 0.52bcde
Fruit	50.57 ± 0.08bcde	Leaves	50.61 ± 0.11bcde	Twig	50.82 ± 0.29cde
Bark	51.47 ± 0.14def	Bark	53.49 ± 0.23f	Bark	52.49 ± 0.18ef

Means with different letters are statistically different (Tukey $P = 0.05$).
SE = standard error of the sample.

(2006), bark was the part of the tree with the highest concentration of carbon. In contrast, roots and stems had low values of carbon across species, which has been attributed to the chemical composition of cellulose and lignin, the primary components of wood (Fonseca *et al.* 2012).

Usually the most conventional method to determine the amount of stored carbon is by multiplying the total dry weight of trees by a coefficient of 0.5 (Durkaya *et al.* 2013). In the case of the average concentration of carbon in the components of the three species, the variation was between 47 % and 53 %. This result is consistent with those found by other authors (Thomas and Martin 2012, Durkaya *et al.* 2013, Pompa and Yerena 2014) and would be helpful to improve carbon estimations in Mexican forests (Carrillo *et al.* 2016).

CONCLUSIONS

Carbon concentration for three Mexican pines differed among species, stem height and tissues. Results for this study show that the generalized 50 % of carbon concentration assumption may produce consistently misleading estimates. Therefore, variations in compartments should at least be considered when attempting to define the most appropriate carbon fraction used to estimate carbon stocks in Mexican pine species. These multi-species data contribute to improve precision on estimates of carbon balance in terrestrial ecosystems, to yield superior insights into the carbon inventories. Additional comparative analyses of inter- and intraspecific variations are needed to reduce uncertainty of carbon variation in forest ecosystem.

ACKNOWLEDGEMENTS

We recognize financial support from CONACyT (CB-2013/222522) in Mexico. Also, we thank the editor for an early review of this manuscript and two anonymous reviewers that helped to improve the article.

REFERENCES

- Aguirre-Calderón OA, J Jiménez-Pérez. 2011. Evaluación del contenido de carbono en bosques del sur de Nuevo León. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 2(6): 73-84.
- Álvarez S, A Rubio. 2013. Carbon baseline in a mixed pine-oak forest in the Juárez mountain range (Oaxaca, Mexico) using the co2fix v.3.2 model. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 19(1): 125-137.
- Bert D, F Danjon. 2006. Carbon concentration variations in the roots, stem and crown of mature *Pinus pinaster* (Ait.). *Forest Ecology and Management* 222: 279-295.
- Carrillo AF, MA Mireles, CDRJ Cruz, LG Molina, JDE Barra. 2016. Ecuaciones alométricas para estimar la biomasa y el carbono de la parte aérea de *Pinus hartwegii* en el Parque Nacional Ixta-Popo, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7(3): 681-691.
- Castaño-Santamaría J, F Bravo. 2012. Variation in carbon concentration and basic density along stems of sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and Pyrenean oak (*Quercus pyrenaica* Willd.) in the Cantabrian Range (NM Spain). *Annals of Forest Science* 69(6): 663-672.
- CCMSS (Consejo Civil Mexicano para la Silvicultura Sostenible, MX). 2002. Resumen Público de Certificación de Sociedad Civil "Sierra del Nayar". México DF, México. 35 p. Consultado 02 ene. 2016. Disponible en <http://www.rainforest-alliance.org/business/forestry/documents/nayar.pdf>
- Durkaya B, A Durkaya, E Makineci, M Ülküdü. 2013. Estimation of above-ground biomass and sequestered carbon of Taurus Cedar (*Cedrus libani* L.) in Antalya, Turkey. *iForest* 6(5): 278-284.
- Fonseca W, FE Alice, JM Rey-Benayas. 2012. Carbon accumulation in aboveground and belowground biomass and soil of different age native forest plantations in the humid tropical lowlands of Costa Rica. *New Forest* 43(2): 197-211.
- González-Elizondo MS, M González-Elizondo, JA Tena-Flores, L Ruacho-González, IL López-Enríquez. 2012. Vegetación de la Sierra Madre Occidental, México: Una síntesis. *Acta Botánica Mexicana* 100: 351-403.
- Herrero C, MB Turrión, V Pando, F Bravo. 2011. Carbon in heartwood, sapwood and bark along the stem profile in three Mediterranean *Pinus* species. *Annals of Forest Science* 68(6):1067-1076.
- Jones DA, KL O'Hara. 2012. Carbon density in managed coast redwood stands: implications for forest carbon estimation. *Forestry* 85(1): 99-110.
- Karlik FJ, CD Chojnacky. 2013. Biomass and carbon data from blue oaks in a California oak savanna. *Biomass and Bioenergy* 62: 228-232.
- Lamlom SH, RA Savidge. 2003. A reassessment of carbon content in wood: variation within and between 41 North American species. *Biomass and Bioenergy* 25(4): 381-388.
- Lamlom SH, RA Savidge. 2006. Carbon content variation in boles of mature sugar maple and giant sequoia. *Tree Physiology* 26(4): 459-468.
- Martin AR, SC Thomas. 2011. A reassessment of carbon content in tropical trees. *PLoS One* 6(8): e23533.
- Martin AR, S Gezahegn, SC Thomas. 2015. Variation in carbon and nitrogen concentration among major woody tissue types in temperate trees. *Canadian Journal of Forest Research* 45:744-757.
- Martin-Ortega J, E Ojea, C Roux. 2013. Payments for Water Ecosystem Services in Latin America: A literature review and conceptual model. *Ecosystem Services* 6: 122-132.
- OMM (Organización Meteorológica Mundial, CH). 2016. Declaración de la OMM sobre el estado del clima mundial en 2015. Ginebra, Suiza. OMM. 25 p.
- Pagiola S, A Arcenas, G Platais. 2005. Can payments for environmental services help reduce poverty? An exploration of the issues and the evidence to date from Latin America. *World Development* 33(2): 237-253.
- Pallardy SG. 2008. Physiology of woody plants. San Diego, USA. Academic Press. 454 p.
- Pompa M, JI Yerena. 2014. Concentration of carbon in *Pinus cembroides* Zucc: Mitigation potential source of global warming. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 20(3): 169-175.
- Sáenz-Esqueda MA, M Rosales-Castro, NE Rocha-Guzmán, JA Gallegos-Infante, RF González-Laredo. 2010. Contenido

- fenólico y acción antioxidante de extractos de acículas de *Pinus cooperi*, *P. durangensis*, *P. engelmannii* y *P. teocote*. *Madera y Bosques* 16(3): 37-48.
- SAS (Statistical Analysis System, US). 2004. SAS user's guide statistics. Release 9.1. Cary, NC, USA. SAS Institute Inc.
- Thomas S, A Martin. 2012. Carbon Content of Tree Tissues: A Synthesis. *Forest* 3(2): 332-352.
- Wang XW, YH Weng, GF Liu, MJ Krasowski, CP Yang. 2015. Variations in carbon concentration, sequestration and partitioning among *Betula platyphylla* provenances. *Forest Ecology and Management* 358: 344-352.
- Yerena JI, J Jiménez, OA Aguirre, EJ Treviño. 2012. Contenido de carbono total de especies arbóreas y arbustivas en áreas con diferente uso, en el matorral espinoso tamaulipeco, en México. *Bosque* 33(2): 145-152.
- Zhang H, C Wang, X Wang. 2014. Spatial variations in non-structural carbohydrates in stems of twelve temperate tree species. *Trees - Structure and Function* 28(1): 77-89.

Recibido: 21.03.17
Aceptado: 15.05.17

Reconstrucción de la precipitación invierno-primavera con base en anillos de crecimiento de árboles para la región de San Dimas, Durango, México

Winter-spring precipitation reconstruction from tree-rings for San Dimas region, Durango, Mexico

Marcia Polet Chávez-Gándara ^a, Julian Cerano-Paredes ^{b*}, Juan Abel Nájera-Luna ^a, Viridiana Pereda-Breceda ^a, Gerardo Esquivel-Arriaga ^b, Rosalinda Cervantes-Martínez ^b, Víctor Hugo Cambrón-Sandoval ^c, Francisco Cruz-Cobos ^a, Sacramento Corral-Rivas ^a

^aInstituto Tecnológico de El Salto, Mesa del Tecnológico s/n, El Salto, Pueblo Nuevo, Durango, México.

*Autor de correspondencia: ^bINIFAP CENID-RASPA, km. 6,5 Margen Derecha del Canal Sacramento, Gómez Palacio, Durango, México, C.P. 35140, cerano.julian@gmail.com

^cUniversidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ciencias Naturales, Querétaro, México.

SUMMARY

The studies on reconstruction of paleoclimatic series play an important role in analyzing regional climate variability when instrumental information is not available. Tree-ring samples from stands of *Pinus durangensis*, *Pinus cooperi* and *Pinus lumholtzii* were used to generate chronologies in order to reconstruct and analyze the historical hydroclimatic variability for the region of San Dimas, Durango, Mexico. A principal component analysis (PCA) indicates that those series showed a common variability; subsequently, a regional series was developed covering a period of 294 years. An analysis of response function suggests that the most important climate variable influencing tree growth was the seasonal winter-spring precipitation (January-June), which accounted for 52 % of the variability. Reconstruction of the variability of the winter-spring precipitation for the last three centuries was possible. Such a profile allowed us to identify important drought periods (1740-1746, 1766-1780, 1785-1786, 1819-1824, 1890-1900, 1935-1940, 1950-1957 and 2011-2015). Because of their extension, the periods 1766-1780, 1890-1900 and 1950-1957 were the longest. Based on historical records, four events of severe drought (1785-1786, 1935-1940, 1891-1902 and 1950) were associated with strong havoc in central Mexico and their effects were extended to northern Mexico. In addition, a wavelet coherence analysis suggests a strong relationship between the reconstructed precipitation (Winter-Spring) and NIÑO 3 SST (December to February) in phase from 1770 to 1978 with frequencies from 1 to 5 years, ENSO has significantly modulated climate variability in this region of the state of Durango.

Key words: chronologies, reconstructed precipitation, drought, ENSO.

RESUMEN

Los estudios de reconstrucción de series paleoclimáticas juegan un papel importante para analizar la variabilidad del clima regional cuando no se dispone de información instrumental. Muestras de anillos de árboles de rodales de *Pinus durangensis*, *Pinus cooperi* y *Pinus lumholtzii* fueron empleados para generar cronologías con el objetivo de reconstruir y analizar la variabilidad hidroclimática histórica para la región de San Dimas, Durango, México. Un análisis de componentes principales (PCA) determinó que las series presentan variabilidad común, se desarrolló una serie regional de 294 años. Un análisis de función de respuesta mostró que la variable climática que más ha influido en el crecimiento es la precipitación estacional invierno-primavera (enero-junio), que explicó el 52 % de la variabilidad. Se logró reconstruir la lluvia invierno-primavera para los últimos tres siglos. Esta reconstrucción permitió identificar importantes periodos de sequía (1740-1746, 1766-1780, 1785-1786, 1819-1824, 1890-1900, 1935-1940, 1950-1957 y 2011-2015), por su extensión destacaron los periodos 1766-1780, 1890-1900 y 1950-1957. Con base en archivos históricos, se corroboraron cuatro eventos de sequía severa (1785-1786, 1935-1940, 1891-1902 y la década de 1950) que propiciaron fuertes estragos a la sociedad del centro del país y cuyos efectos se extendieron hasta el norte de México. Un análisis de coherencia de ondeletas mostró una fuerte relación entre la precipitación reconstruida (invierno-primavera) y NIÑO 3 SST (diciembre-febrero) en fase de 1770 a 1978 con frecuencias de 1 a 5 años, ENSO ha modulado significativamente la variabilidad climática en esta región del estado de Durango.

Palabras clave: cronologías, precipitación reconstruida, sequía, El Niño Oscilación del Sur.

INTRODUCCIÓN

Existe un interés creciente por el estudio de los cambios del clima global a través del tiempo y su posible com-

portamiento futuro (Cerano *et al.* 2011). La información climática que cubre periodos de siglos o milenios soporta decisiones técnicas que se fundamentan en un conocimiento más amplio (Woodhouse y Lukas 2006). La forma más

común de analizar la variabilidad del clima es a través del uso de información instrumental; sin embargo, el principal problema radica en su corta extensión y calidad. Para reconstruir series climáticas extensas se emplean diferentes fuentes alternativas naturales indirectas que registran dicha variación en el tiempo, tales como: anillos de crecimiento de los árboles, capas de hielo, polen fósil, sedimentos marinos y corales (Bradley 1999).

La dendrocronología emplea anillos de crecimiento de los árboles para reconstruir y analizar eventos climáticos pasados que alcanzan varios siglos, para algunos casos llegan a rebasar los 1000 años (Stahle *et al.* 2011). Es la fuente indirecta más apropiada de resolución anual para entender el comportamiento histórico del clima (Fritts 2001).

El análisis histórico de la variabilidad climática es fundamental para conocer su impacto en aspectos económico-sociales, disponibilidad de agua, determinar las fluctuaciones climáticas de alta y baja frecuencia, causas de su variabilidad, así como analizar el presente e inferir posibles tendencias climáticas futuras (Villanueva *et al.* 2007). Reconstrucciones paleoclimáticas para el norte de México, han permitido analizar la recurrencia de eventos extremos de sequía (Cerano *et al.* 2011) con un efecto directo en la recarga de los mantos acuíferos y un impacto negativo sobre la sociedad (Cerano *et al.* 2012a), propiciando el abandono del campo y la migración hacia las grandes ciudades o hacia los Estados Unidos.

En México, en los últimos 15 años, se ha desarrollado una red de reconstrucciones paleoclimáticas de más de 120 series a lo largo del país, constituyendo una base de datos de alta resolución y gran importancia para reconstruir información histórica del clima en los últimos siglos, información que se puede incorporar a modelos de predicción bajo diversos escenarios climáticos (Cerano *et al.* 2009).

Sin embargo, a pesar de este arduo trabajo, las series se han desarrollado con base en los crecimientos anuales de pocas especies, sobresaliendo *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco y *Taxodium mucronatum* Ten., México posee una gran diversidad de coníferas, 47 especies de pino (Perry *et al.* 1998), lo que indica, que existe mucho por explorar, analizar y determinar el potencial de nuevas especies para reconstruir el clima. Conocer el potencial dendroclimático de nuevas especies, representa una alternativa para reconstruir información climática por varios siglos en zonas del país donde se carece de datos instrumentales, datos esenciales para analizar el impacto, extensión y recurrencia de eventos extremos como sequías, y a su vez, determinar la influencia de fenómenos climáticos de circulación general en dicha variabilidad.

Por lo anterior, el presente estudio se plantea los siguientes objetivos: 1) desarrollar cronologías con base en los crecimientos anuales de *Pinus durangensis* Martínez, *Pinus cooperi* Blanco y *Pinus lumholtzii* Rob. et Fern., 2) determinar el potencial de las cronologías para reconstruir variables climáticas, 3) reconstruir la variabilidad climá-

tica para esta región del norte de México y 4) analizar la influencia de El Niño Oscilación del Sur (ENSO, por sus siglas en inglés) en la variabilidad histórica del clima. Así mismo, se plantean las siguientes hipótesis de investigación: 1) los crecimientos anuales de *Pinus durangensis*, *Pinus cooperi* y *Pinus lumholtzii* presentan potencial para reconstruir la variabilidad climática que ha caracterizado en los últimos siglos a la región de San Dimas, Durango y 2) el fenómeno climático ENSO ha modulado la variabilidad climática histórica en esta región del norte del país.

MÉTODOS

Área de estudio. El estudio se desarrolló en la región del Río de Miravalles, municipio de San Dimas, al noroeste del estado de Durango, delimitada geográficamente por los paralelos 24° 43' 52" y 24° 44' 27" N y 106° 43' 41" y 105° 16' 48" O (figura 1). El área de estudio comprendió una extensión aproximada de 586.335 ha. Presenta un clima templado subhúmedo (C_w) con temperaturas que oscilan entre -16,5 °C como mínima en el mes de diciembre, hasta los 33 °C en los meses de abril y mayo, una precipitación media anual que varía de 500 a 1.500 mm, el gradiente altitudinal inicia en los 400 hasta los 3.262 m s.n.m, la altitud predominante oscila entre los 2.000 y 2.800 m s.n.m, el tipo de vegetación que predomina son los bosques de clima templado frío (INEGI 2010).

Métodos de campo. Con base en recorridos de campo se seleccionaron tres áreas de estudio, cada una dominada por una especie diferente, *Pinus durangensis*, *Pinus cooperi* y *Pinus lumholtzii*. Por medio de un muestreo selectivo se identificaron los individuos con las características adecuadas para desarrollar estudios dendroclimáticos tales como: árboles lo más longevos posible caracterizados por un fuste o ramas en forma de espiral, corteza delgada, copa reducida con ramas gruesas colgantes y con el menor disturbio posible. Se colectaron un total de 35 árboles por especie, se extrajeron de dos a tres muestras por árbol para lo cual se emplearon taladros de Pressler (figura 1A) de diferentes longitudes (45, 55 y 65 cm) y diámetros (5 y 12 mm). Así mismo, en la medida de lo posible, se obtuvieron secciones transversales de árboles muertos con el apoyo de motosierra, esto con el objetivo de extender en el tiempo las series paleoclimáticas.

Método de laboratorio. En el Laboratorio de Dendrocronología del CENID-RASPA, INIFAP localizado en la ciudad de Gómez Palacio, Durango, las muestras se montaron y pulieron con diferentes granos de lija (de 120 a la 1.200) para lograr una mejor visibilidad de las estructuras de crecimiento anual. Con el apoyo de un estereomicroscopio con resolución de 10 a 30X, se contó cada uno de los anillos de crecimiento y con base en técnicas dendrocronológicas estándar se pre fechó cada uno de los crecimientos (Stokes y Smiley 1996).

Para cada anillo de crecimiento se midió la madera temprana, tardía y anillo total empleando un sistema de medición VELMEX de fase deslizable y precisión de 0,001 mm. La calidad del fechado y la medición se verificó con el programa COFECHA (Holmes 1983).

Las tendencias biológicas (competencia, supresión, liberación) y las geométricas (incremento del área de fuste

con la edad y disminución del crecimiento anual al distribuirse en una mayor superficie) para cada una de las muestras de las tres diferentes especies no relacionadas con clima, se removieron con el programa ARSTAN, para lo cual se insertó una curva exponencial negativa o línea recta a la serie de medición y posteriormente se dividió cada valor anual de medición entre el valor obtenido de la curva. Esto

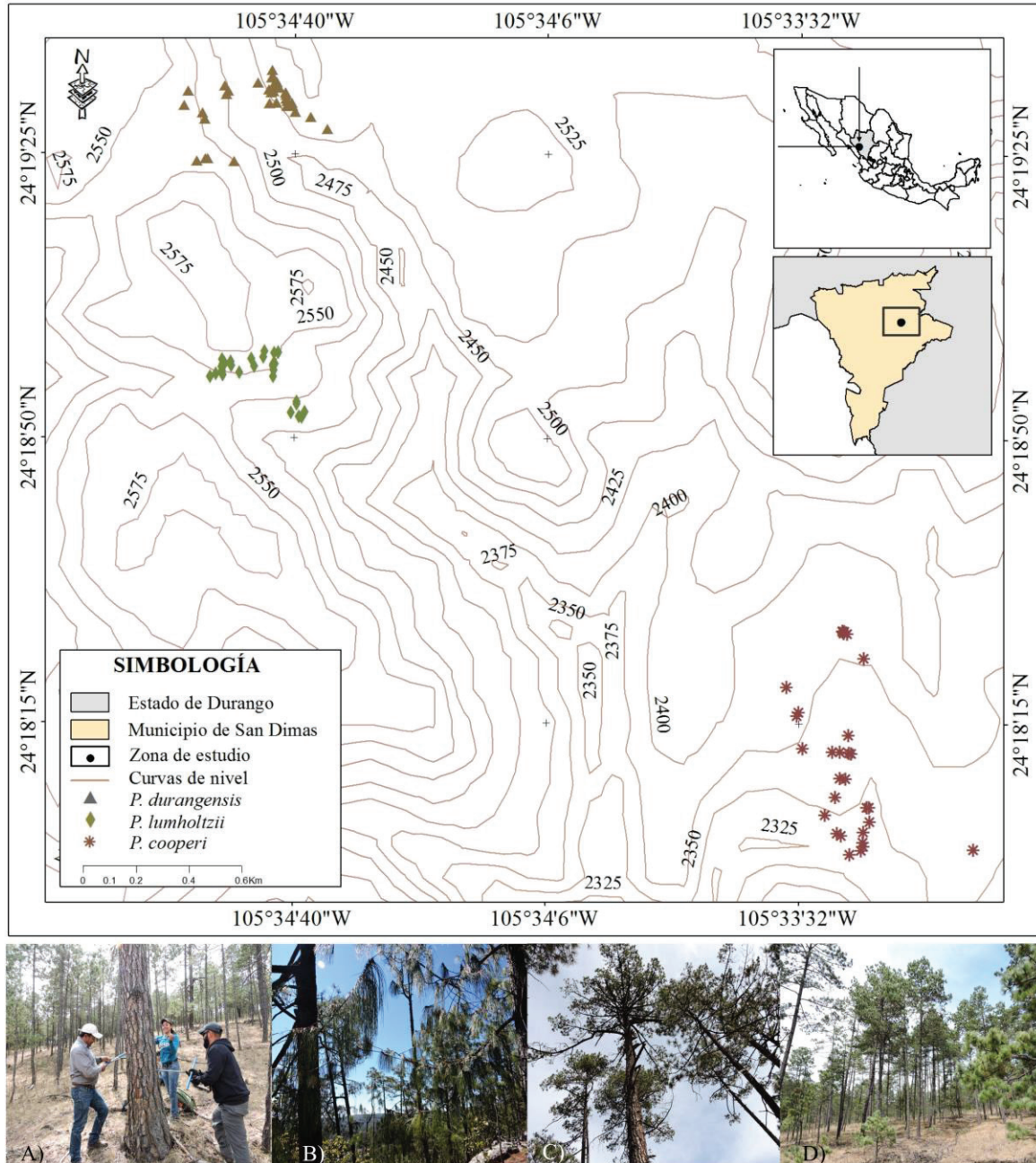


Figura 1. Distribución de las áreas de estudio en la zona del Río Miravalles, San Dimas, Durango. En la parte inferior se muestran cuatro fotografías, A) toma de muestras empleando taladros de Pressler, B) bosque de *Pinus lumholtzii* C) bosque de *Pinus cooperi* y D) bosque de *Pinus durangensis*.

Distribution of the sample points at Río Miravalles, San Dimas, Durango. At the bottom four photographs that show: A) taking the samples using an increment borer in stands of the three pine species, B) *Pinus lumholtzii* C) *Pinus cooperi* and D) *Pinus durangensis*.

creó tres series de índices normalizados (cronologías) con media de 1,0 y varianza homogénea (Fritts 2001).

Análisis de datos. Después de obtener las tres cronologías, se corrió un análisis de correlación y un análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) para el período común de las tres series (120 años; 1896-2015) para esto se empleó el programa STATISTICA Kernel Release 5.5 (Stat Soft Inc. 2000). Se determinó una variabilidad común entre cronologías y se desarrolló una serie paleoclimática regional.

Para conocer la variable climática y el período anual que más influye en el crecimiento de *Pinus durangensis*, *Pinus cooperi* y *Pinus lumholtzii* de la región de San Dimas, se utilizaron registros climáticos (precipitación, temperatura máxima y mínima) de las estaciones de El Salto y El Río de Miravalles, estaciones pertenecientes a la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) y las más cercanas a las áreas de estudio. Dado que las variables climáticas de ambas estaciones mostraron una correlación significativa ($P < 0,05$) con los índices de anillo de la cronología regional, las estaciones se combinaron para trabajar con datos promedio regionales, registros de 1991-2014 (24 años). Para determinar la variable climática que más influye en el crecimiento de las especies de pino, se corrió un análisis de función de respuesta entre los índices de anillo total, madera temprana y tardía y los datos climáticos (precipitación y temperaturas).

Una vez analizada la respuesta climática y definida la variable que más influye en el crecimiento, se procedió a desarrollar una ecuación de transferencia entre los datos observados y el índice de anillo, para ello se usó el programa STATISTICA Kernel Release 5.5 (Stat Soft Inc. 2000). Con este modelo se reconstruyó la precipitación para el período común que cubren dichos registros, y con la subrutina VERIFY5 del paquete de Programas Dendrocronológicos de la Universidad de Arizona (DPL por sus siglas en inglés) se aplicó una prueba de calibración a la mitad de los datos climáticos, tanto observados como reconstruidos para examinar la relación entre ambas variables; en una etapa posterior, a la mitad restante se le asignó una prueba de verificación (Fritts 2001). Por último, la ecuación se validó para el período total de datos de lluvia disponibles y se utilizó para generar la reconstrucción de la precipitación en la longitud total de la serie dendrocronológica regional, 294 años.

A la reconstrucción de precipitación de resolución anual o serie de alta frecuencia se le ajustó una curva decenal flexible o de baja frecuencia, para resaltar los eventos secos y lluviosos presentes en la reconstrucción. Las sequías detectadas en la reconstrucción se validaron con documentos históricos y estudios dendrocronológicos para el norte de México.

Finalmente, para analizar el impacto de ENSO sobre la variabilidad climática de esta región del estado de Durango, se relacionaron los índices de ancho de anillo y los índices NIÑO 3.4 SST (estimativos de la variabilidad del ENSO) mediante el programa MATLAB 6.5 (MathWorks 2002). Para tal efecto, se utilizaron gráficos de resolución anual y sus espectros potenciales de ondeleta.

RESULTADOS

Se logró fechar un total de 130 núcleos de crecimiento de tres diferentes especies: 47 de *Pinus durangensis*, 44 de *Pinus cooperi* y 41 de *Pinus lumholtzii*. La intercorrelación entre series fue estadísticamente significativa para cada una de las especies (cuadro 1), superando el parámetro establecido por el programa COFECHA (Holmes 1983), que establece como mínima correlación significativa entre muestras $r = 0,3281$ ($P < 0,01$). Ello indica que las tres especies poseen una buena sensibilidad a los cambios ambientales (cuadro 1) y presentan potencial para fines de reconstrucción de series paleoclimáticas.

Se generaron tres cronologías de diferente longitud (figura 2, cuadro 1), 120 años para *Pinus durangensis* que cubrió el período de 1896-2015; 126 años para *Pinus cooperi* (1890-2015) y 294 años para *Pinus lumholtzii* (1722 al 2015).

Se determinó una correlación significativa ($P < 0,01$) entre las series dendrocronológicas generadas y una distribución normal de los datos (figura 3A). Así mismo, el PCA indicó que las tres cronologías se agruparon en el PC1 (figura 3B). Se determinó una variabilidad común y se logró desarrollar una cronología regional para los pasados tres siglos que mostró la variabilidad climática de baja y alta frecuencia para la región de San Dimas, Durango.

Función de respuesta. Este análisis indicó que los meses individuales de precipitación de enero a julio, presentaron una relación positiva con la cronología regional de anillo

Cuadro 1. Parámetros estadísticos de las cronologías.

Statistical parameters of the chronologies.

Especie	Intercorrelación	Longitud de cronología	Sensibilidad
<i>Pinus durangensis</i>	0,60 ($P < 0,01$)	1896-2015 (120 años)	0,34
<i>Pinus cooperi</i>	0,65 ($P < 0,01$)	1890-2015 (126 años)	0,37
<i>Pinus lumholtzii</i>	0,60 ($P < 0,01$)	1722-2015 (294 años)	0,23

total, madera temprana y tardía (figura 4). Los meses de enero, marzo y abril mostraron una correlación significativa ($P < 0,05$) con la cronología de anillo total y madera temprana, siendo el mes de marzo el de mayor correlación ($r = 0,57$, $P < 0,01$). La lluvia acumulada mostró correlaciones significativas ($P < 0,01$) para las tres cronologías (anillo total, madera temprana y tardía) en diferentes períodos a lo largo del año (figura 4B). Sin embargo, el período

estacional de lluvia acumulado enero-julio presentó la mayor correlación $r = 0,73$ ($P < 0,01$), $r = 0,72$ ($P < 0,01$) y $r = 0,67$ ($P < 0,01$), para anillo total, madera temprana y madera tardía, respectivamente (figura 4). La cronología regional de anillo total presentó el mayor potencial para reconstruir la variabilidad de la lluvia estacional enero-julio, mayor asociación entre la cronología y los datos observados de lluvia ($r = 0,73$, $P < 0,01$).

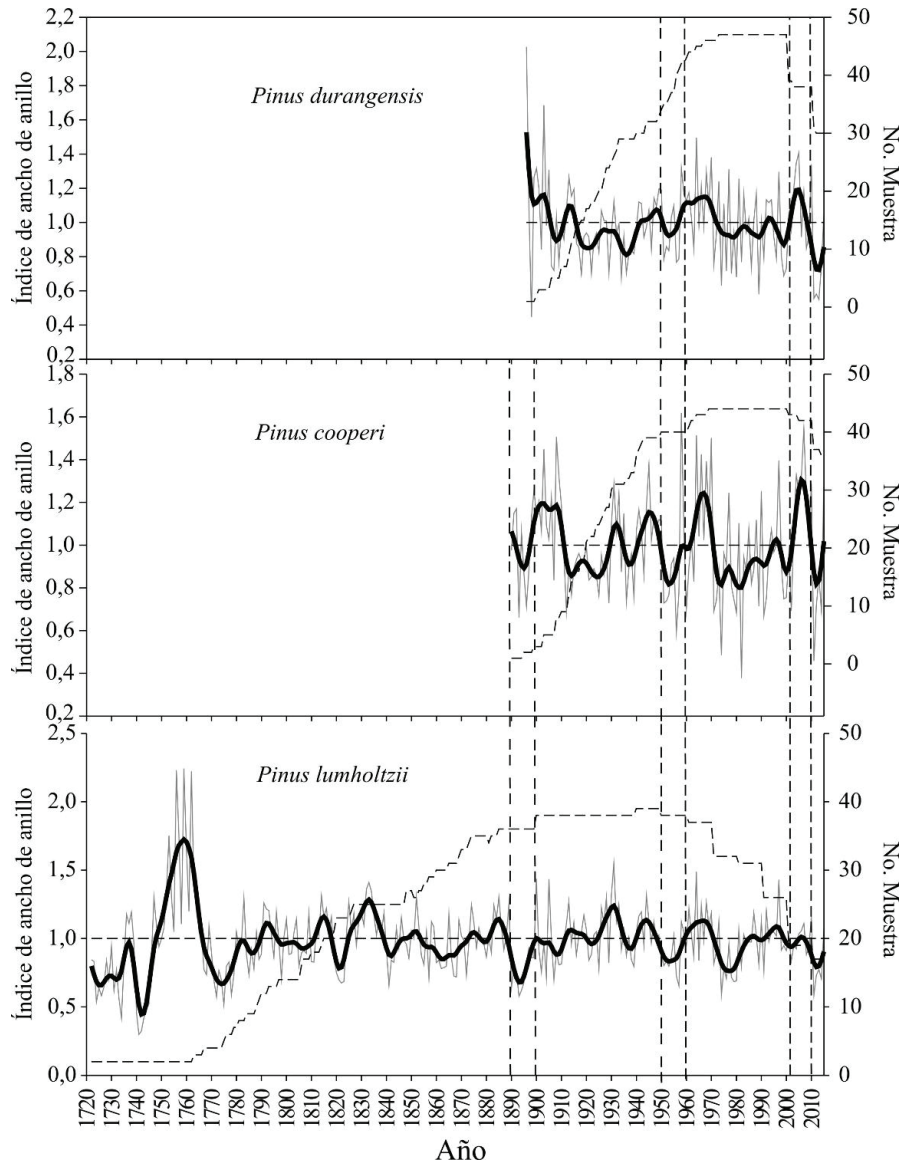


Figura 2. Cronologías generadas con base en el ancho de anillo de *Pinus durangensis*, *Pinus cooperi* y *Pinus lumholtzii*, las series muestran la variabilidad climática de baja y alta frecuencia de los últimos 300 años para la región de San Dimas, Durango. La línea en color gris de fondo representa la variabilidad anual, la línea horizontal punteada la media, la línea resaltada en color negro es un spline suavizado a 10 años para observar eventos de baja frecuencia y la línea punteada por arriba y debajo de la serie representa el tamaño de muestra para cada segmento de las cronologías. Las líneas verticales punteadas muestran la similitud en la variabilidad de las cronologías.

Chronologies generated based on the ring-width of *Pinus durangensis*, *Pinus cooperi* and *Pinus lumholtzii*; the series show climatic variability, low and high frequency of the last 300 years for San Dimas, Durango Region. The gray line in the background represents the annual variability, the horizontal dotted line is the mean, the highlighted black line is a spline smoothing to 10 years to observe low frequency events and the dotted lines above and below the series represent the sample size for each segment of the chronologies. The dotted vertical lines show the similarity in the variability of the chronologies.

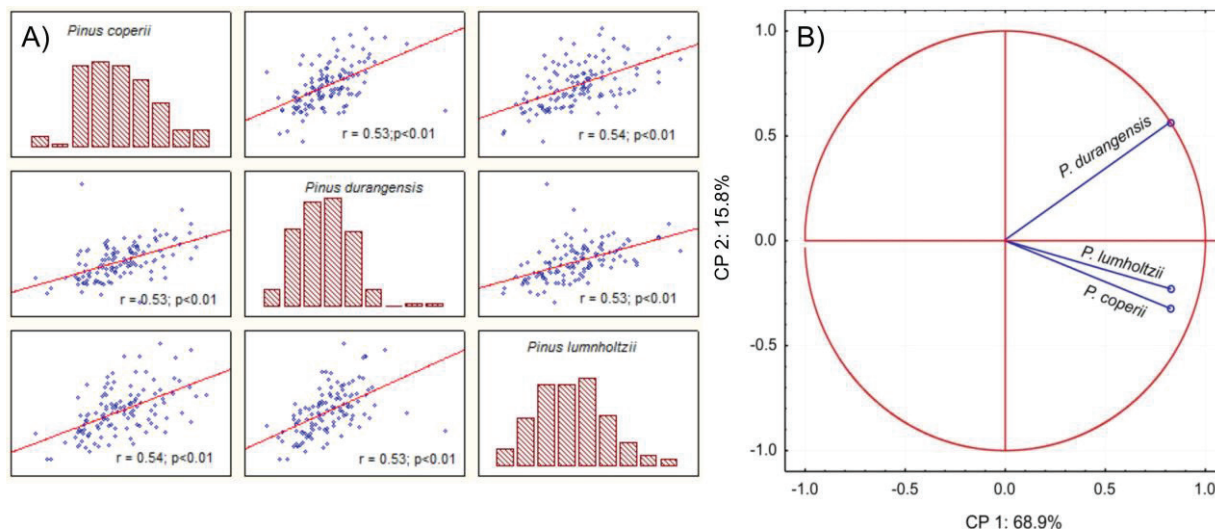


Figura 3. Matriz de correlación entre las tres cronologías (A) y análisis de componentes principales (PCA) que indicó la agrupación de las cronologías en el PC1, una misma variabilidad (B). Coeficientes del análisis de componentes principales (CP): i) cronología de *Pinus cooperii*: CP1 = 0,84; CP2 = -0,33; ii) cronología de *Pinus durangensis*: CP1 = 0,83; CP2 = 0,56; iii) cronología de *Pinus lumholtzii*: CP1 = 0,83; CP2 = -0,23.

Correlation matrix between the three chronologies (A) and principal component analysis (PCA) that indicated the grouping of chronologies in PC1, a same variability (B). Coefficients of the analysis of principal components (CP): i) chronology of *Pinus cooperii*: CP1 = 0.84; CP2 = -0.33; (ii) chronology of *Pinus durangensis*: CP1 = 0.83; CP2 = 0.56; iii) chronology of *Pinus lumholtzii*: CP1 = 0.83; CP2 = -0.23.

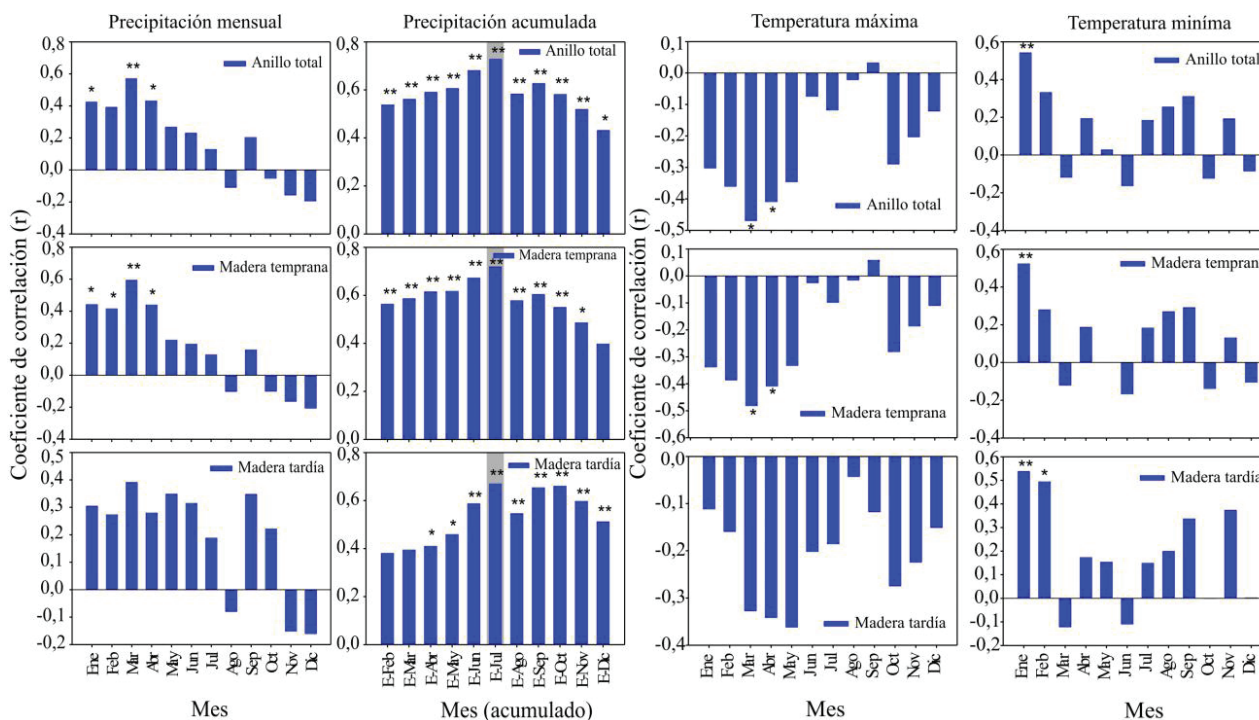


Figura 4. Análisis de función de respuesta entre variables climáticas (precipitación mensual, precipitación acumulada, temperatura máxima y temperatura mínima) y la cronología regional de anillo total, madera temprana y tardía. Donde * = $P < 0,05$ y ** = $P < 0,01$ indican el grado de significancia de la correlación entre ambas variables.

Response function analysis between climatic variables (monthly rainfall, accumulated rainfall, maximum temperature and minimum temperature) and the ring-width regional chronology, earlywood and latewood. Where * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ indicates the degree of significance of the correlation between the two variables.

Con respecto a las variables temperatura máxima y mínima, los índices de crecimiento indicaron correlaciones negativas con la temperatura máxima (figura 4). Los meses de marzo y abril presentaron las correlaciones más bajas tanto para anillo total como para madera temprana, $r = -0,47$, ($P < 0,05$), $r = -0,41$ ($P < 0,05$), $r = -0,48$ ($P < 0,05$) y $r = -0,41$ ($P < 0,05$), respectivamente. Únicamente la temperatura máxima del mes de septiembre presentó una relación positiva pero no significativa ($P > 0,05$) con el crecimiento de las especies (figura 4). Caso contrario, la asociación entre los índices de las cronologías y la temperatura mínima mostraron correlaciones positivas para la mayoría de los meses del año (figura 4). La temperatura invernal de los meses enero-febrero indicó la correlación más alta, siendo el mes de enero la temperatura más importante en el crecimiento con valores de correlación de $r = 0,54$ ($P < 0,01$), $r = 0,52$ ($P < 0,01$) y $r = 0,54$ ($P < 0,01$) para anillo total, madera temprana y tardía, respectivamente (figura 4). De igual manera, los meses de julio-septiembre y noviembre presentaron una influencia positiva no significativa ($P > 0,05$) en el crecimiento anual de *Pinus durangensis*, *Pinus cooperi* y *Pinus lumholtzii* (figura 4).

Las variables climáticas precipitación y temperatura influyeron de manera significativa ($P < 0,05$) a lo largo del año en el crecimiento de *Pinus durangensis*, *Pinus cooperi* y *Pinus lumholtzii* de la región de San Dimas, Durango. Sin embargo, la variable que resultó más importante en el crecimiento de las especies fue la precipitación. El índice regional de ancho de anillo presentó potencial para reconstruir la variabilidad de la lluvia estacional enero-julio, que explica el 52 % ($r = 0,73$, $P < 0,01$) de la variabilidad.

Reconstrucción de la precipitación. El periodo de datos observados (1991-2014) de precipitación estacional enero-

julio presentó una asociación significativa con el índice regional de ancho de anillo ($r = 0,73$, $P < 0,001$), indicó potencial para generar un modelo de regresión y reconstruir la variabilidad de la precipitación invierno-primavera (figura 5A). El modelo de regresión lineal generado para la reconstrucción [1] se consideró estadísticamente ($P < 0,001$) aceptable como se observa en los cuadros 2 y 3.

$$Y_t = 75,4751 + 391,0180 * X_t \quad [1]$$

Donde:

Y_t = Valor de precipitación (mm) enero-julio reconstruido para un año t .

X_t = Índice de ancho anillo para un año t .

Calibración y verificación del modelo. La calibración (subperiodo 2005-2014) mostró una correlación altamente significativa $r = 0,85$, $P < 0,001$, la cual explicó el 72 % de la variabilidad de la lluvia (figura 5C). La verificación (subperiodo 1991-2004) indicó una correlación altamente significativa $r = 0,64$, $P < 0,001$, que explicó el 41 % de la variabilidad de la lluvia.

Dado que ambos subperiodos, tanto la calibración como la verificación del modelo mostraron una relación significativa, se empleó el lapso total de datos climáticos disponibles (1991-2014) para generar la ecuación de reconstrucción, que tuvo una $r = 0,73$ ($r^2 = 0,53$, $P < 0,01$) (cuadro 3, figura 5C).

Variabilidad de la precipitación reconstruida. Se reconstruyó la precipitación invierno-primavera para los pasados 294 años, que comprendió el periodo de 1722-2015. La serie indicó una alta variabilidad interanual y multianual, que históricamente ha caracterizado la precipitación estacional invierno-primavera para la región de San Dimas, Durango (figura 6).

Cuadro 2. Modelo generado para la reconstrucción de la precipitación enero-julio.

Regression model for the reconstruction of January-July precipitation.

Período	Coefficientes	Error estándar	Prueba de t	P
1991-2014	a 75,4751	78,26444	0,964360	0,000001
	b 391,0180	78,24125	4,997594	0,000001

Cuadro 3. Análisis de varianza del modelo generado.

Analysis of variance for the regression model generated.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	g.l.	Cuadrados medios	F	P
Regresión	159.314,2	1	159.314,2	24,97	0,000001
Residual	140.331,6	22	6.378,7	-	-
Total	299.645,8	-	-	-	-

En los últimos tres siglos se reconstruyeron importantes eventos de fuerte sequía para los periodos de 1740-1746, 1766-1780, 1785-1786, 1819-1824, 1890-1900, 1935-1940, 1950-1957 y 2011-2015 (figura 6). Por su extensión y extrema sequía sobresalieron los periodos 1766-1780 (15 años), 1890-1900 (11 años) y 1950-1957 (8 años).

Influencia ENSO sobre el clima. El análisis espectral de coherencia de ondeletas al asociar la serie de precipitación reconstruida invierno-primavera (figura 7A) y el índice del NIÑO 3 SST (figura 7B), permitió observar, que el espectro de ondeleta para la precipitación reconstruida invierno-primavera, mostró áreas significativas ($P < 0,05$) que

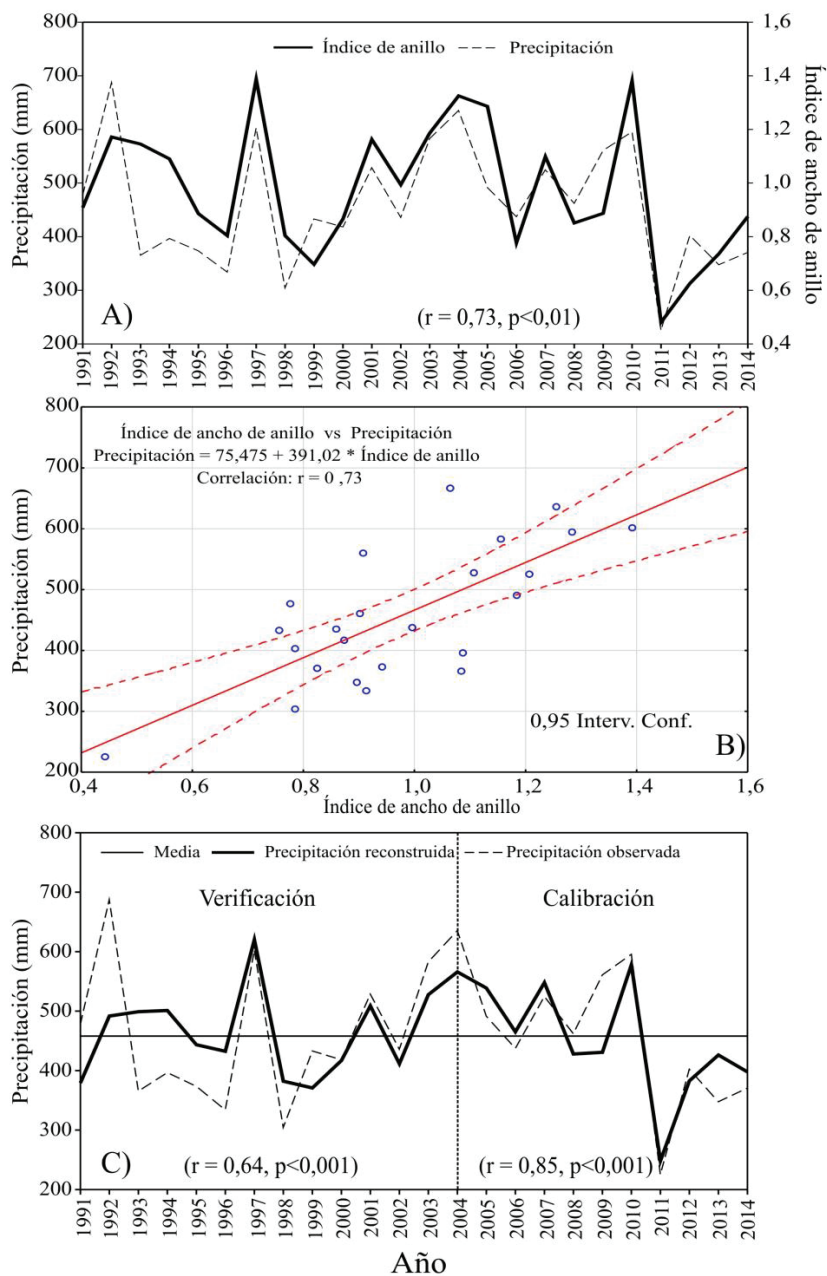


Figura 5. Asociación entre la precipitación estacional enero-julio y el índice regional de ancho de anillo que comprendió el periodo de 1991-2014 (A), modelo de regresión lineal entre las dos variables desarrollado empleando el programa STATISTICA Kernel Release 5.5 (Stat Soft Inc. 2000) (B) y comparación de la precipitación estacional reconstruida enero-julio (línea sólida) y la precipitación observada (línea punteada) para el periodo 1991-2014 (24 años), verificación y calibración del modelo de regresión (C).

Association between seasonal rainfall January-July and the regional ring width index covering the period of 1991-2014 (A), linear regression model between the two variables generated using the program STATISTICA Kernel release 5.5 (Stat Soft Inc. 2000) (B) and comparing the reconstructed seasonal precipitation January-July (solid line) and observed precipitation (dotted line) for the period 1991-2014 (24 years), verification and calibration of the regression model (C).

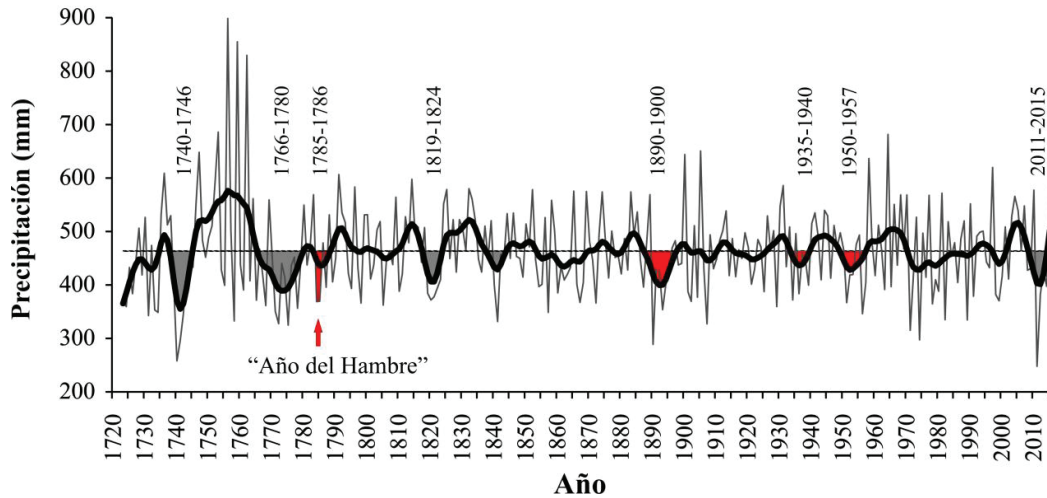


Figura 6. Reconstrucción de la variabilidad de la precipitación estacional invierno-primavera de los últimos tres siglos (294 años) para la región de San Dimas, Durango. La línea gris de fondo indica la variabilidad anual, la línea resaltada en color negro representa una curva decenal flexible que permite observar eventos de baja frecuencia (sequías y períodos húmedos) y la línea horizontal representa la lluvia promedio. Relleno en color gris se resaltan las sequías más fuertes en los últimos 300 años para esta región del norte de México, y en color rojo cuatro de las sequías más severas documentadas por archivos históricos para el centro del país.

Reconstruction of the variability of seasonal precipitation winter-spring of the last three centuries (294 years) for the region of San Dimas, Durango. The bottom gray line indicates the annual variability, the line highlighted in black represents a flexible decennial curve that permitted to observe low frequency events (droughts and wet periods) and the horizontal line represents the average rainfall. The grey-filled area represents the strongest droughts in the past 300 years for this region of northern Mexico, and in red four of the most severe droughts documented by historical archives to the center of the country.

corresponden a periodos anuales, bianuales, tetra-anuales, de 5, 11 y 16 años. Mientras que el espectro de ondeleta de ENSO mostró su ciclicidad irregular de 1 a 7 años y de 10 a 12 años.

Se determinó una coherencia significativa ($P < 0,05$) de la variabilidad climática regional y el índice del NIÑO 3 SST durante el periodo 1770-1978 a frecuencias de 1 a 5 años, para todo el periodo ambos fenómenos coinciden en fase (figura 7C). Así mismo, se observaron periodos en fase para 1800-1830, 1810-1860 y 1770-1910, con frecuencias de 10-14, 20-27 y 40-52 años, respectivamente. Los periodos de sequía más extensos reconstruidos para la región de San Dimas, Durango, en los últimos 294 años (1766-1780, 1819-1824, 1890-1900 y 1950-1957) fueron modulados de manera significativa ($P < 0,05$) por la ocurrencia de ENSO (figura 7C).

DISCUSIÓN

Sensibilidad de las series. Las tres cronologías desarrolladas en la región de San Dimas, Durango, presentan valores de correlación entre series que oscilan de 0,60 – 0,65 ($P < 0,01$) y una sensibilidad media de 0,23 – 0,37 (cuadro 1), el programa COFECHA (Holmes 1983) establece como mínima correlación significativa entre muestras de $r = 0,3281$ ($P < 0,01$). Los valores estadísticos de las series son similares y en algunos casos superiores a otras especies de la Sierra Madre Oriental, como *Pinus cembroides*

Zucc. (Constante *et al.* 2009), *Pinus pincea* Gordon (Santillán *et al.* 2010) y *Pinus hartwegii* Lindl. (Villanueva *et al.* 2015); y de la Sierra Madre Occidental *Pinus cooperi* Blanco (Cerano *et al.* 2012a), que se han empleado con éxito en la reconstrucción de variables climáticas. Lo anterior confirma el potencial de las series de *Pinus durangensis*, *Pinus cooperi* y *Pinus lumholtzii* (figura 2) para ser consideradas proxy de la variabilidad climática de la región y desarrollar estudios paleoclimáticos.

Variabilidad común de las series. Las tres cronologías presentan una variabilidad climática común a través del tiempo, lo que sugiere que el crecimiento anual de las tres especies está influenciado por condiciones climáticas que modulan el clima regional. Estudios climáticos para el norte de México, reportan que el clima en esta región es modulado de manera significativa ($P < 0,01$) por El Niño Oscilación del Sur (ENSO, por sus siglas en inglés) (Stahle *et al.* 1998, Magaña *et al.* 1999, Cerano *et al.* 2012a), a lo que se atribuye la misma variabilidad entre series de diferentes especies. Resultados similares sobre una respuesta común entre cronologías de diferentes especies se han reportado para la Sierra Madre Oriental, atribuible a una variabilidad climática de gran escala (Cerano *et al.* 2011). Así mismo, para la Sierra Madre Occidental, se ha determinado una variabilidad común entre cronologías de la misma especie separadas por kilómetros de distancia, pero condiciones climáticas comunes (Cerano *et al.* 2012b, Villanueva *et al.* 2015).

Respuesta de la cronología a las variables climáticas. La reconstrucción de la precipitación para la región de San Dimas, Durango, se fundamentó en el crecimiento anual como variable independiente, cuya formación está relacionada significativamente ($r = 0,73$, $P < 0,01$) con la preci-

pitación invierno-primavera. Una explicación a esta respuesta es, que los inviernos más húmedos contribuyen a un mejor proceso de fotosíntesis en la estación cálida y, por tanto, en mayor crecimiento de los árboles (Kerhoulas *et al.* 2013). Las lluvias en invierno suelen ser de baja inten-

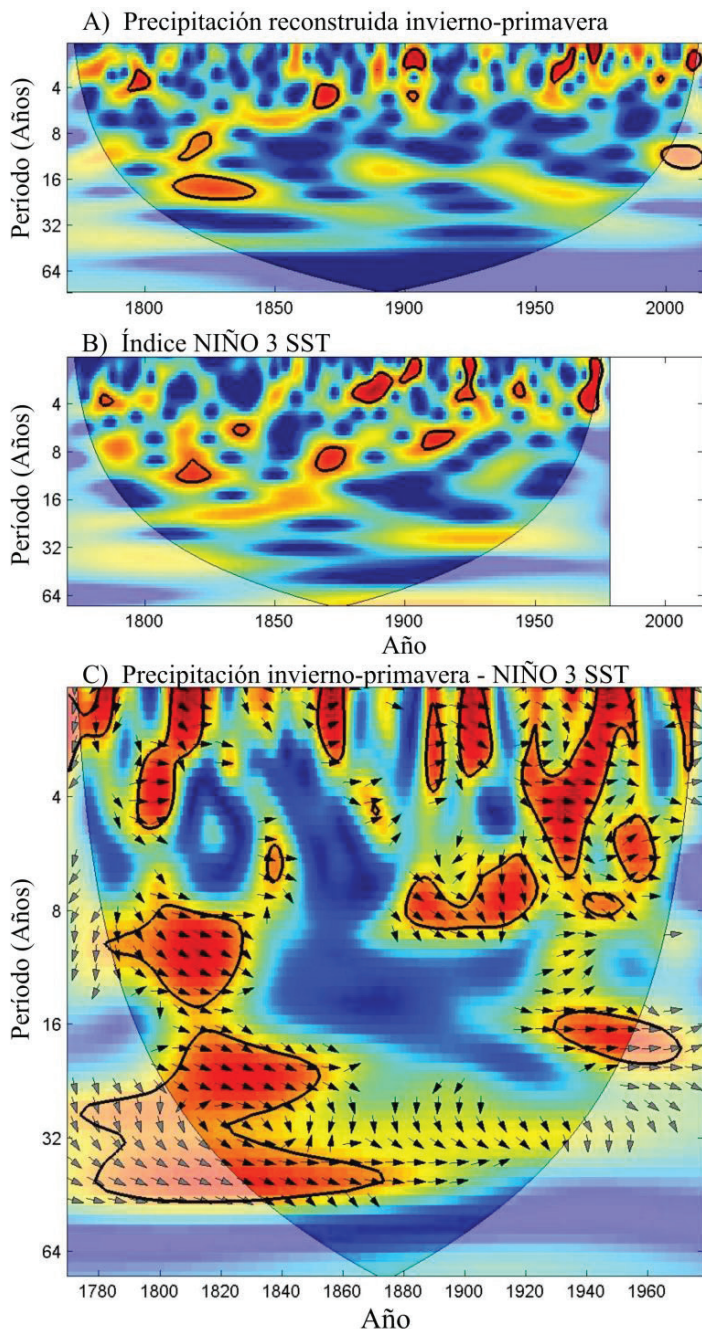


Figura 7. Espectros potenciales de ondeleta a nivel anual, precipitación reconstruida invierno-primavera A), índice NIÑO 3 SST B) y C) representa el dominio de coherencia de ondeleta entre la serie de precipitación reconstruida y el índice NIÑO 3 SST. Las manchas en color rojo delimitadas por una línea de color negro, representan períodos con frecuencias significativas ($P < 0,05$) y las flechas orientadas hacia la derecha indican que ambos fenómenos están en fase (correlación positiva).

Potential wavelet spectrum at annual level, winter-spring precipitation reconstructed A), NIÑO 3 SST index B) and C) represents the wavelet coherence domain between the reconstructed precipitation series and NIÑO 3 SST index. Red spots bounded by a black line represent periods with significant frequency ($P < 0.05$). Right oriented arrows indicate that both phenomena are in phase (positive correlation).

sidad, lo que favorece la infiltración, saturación del suelo y una baja evapotranspiración, resultando en un balance hídrico positivo que es empleado por el árbol al inicio de la estación de crecimiento (Fritts 2001).

La falta de una asociación significativa ($P > 0,05$) entre el crecimiento anual y la precipitación de verano, se puede atribuir a que antes del período de verano, el anillo anual presenta una formación alrededor del 60 %; además, en este periodo del año las lluvias superan la capacidad de infiltración del suelo y el agua se escurre como flujo superficial, no es registrada en el crecimiento del árbol (García 1978).

La respuesta del crecimiento de diferentes coníferas a la precipitación invernal en la región norte de México ha sido documentada y discutida ampliamente en diversos estudios paleoclimáticos (Cleaveland *et al.* 2003, Villanueva *et al.* 2007, Cerano *et al.* 2009, 2011, 2012a).

Con respecto a las variables de temperatura, existe una relación negativa significativa ($P < 0,05$), entre las temperaturas máximas y el crecimiento del anillo total y el de la madera temprana en los meses de marzo y abril (figura 4). Esto se explica por el hecho de que en estos meses ocurren los valores más extremos de las temperaturas máximas (33 °C) que se asocia a la baja humedad relativa que ocurre y que caracterizan la temporada de mayor riesgo de incendios forestales. Temperaturas elevadas del aire por encima de 25 °C disminuyen drásticamente la apertura de estomas, en consecuencia, también se reduce la asimilación de fotosintatos (Leverenz 1981). Otra explicación, es que temperaturas elevadas incrementan el déficit de vapor de agua en la capa fronteriza de las acículas, en el orden de 2,0 a 3,0 kPa, lo que induce una reducción en la apertura de los estomas, alcanzando su cierre total a los 3,5 kPa cuando la temperatura del aire sobrepasa los 30 °C, afectando la transpiración y la difusión de CO₂ (Leverenz 1981).

Existe una relación positiva, altamente significativa ($P < 0,01$), entre las temperaturas mínimas y el crecimiento del anillo total, madera temprana y tardía en el mes de enero, dicha relación solo es significativa ($P < 0,05$) para la madera tardía en el mes de febrero (figura 4). Lo anterior se puede atribuir a que en estos meses se registran las temperaturas mínimas promedio más bajas, -9,2 y -8,6, respectivamente. Lo cual se relaciona con una menor evaporación y por lo tanto mayor humedad en el suelo, agua que el árbol tiene disponible para emplear al inicio de la estación de crecimiento.

Sequías reconstruidas. La disponibilidad de información histórica que permita analizar eventos climáticos extremos, su recurrencia y los estragos propiciados a la sociedad son escasos, y para algunas regiones del norte de México nulos. Las series paleoclimáticas son el proxy que permite analizar varios siglos en el tiempo la variación del clima y sus efectos a diferentes escalas geográficas.

Documentos históricos reportan para el centro de México, siete episodios (1550, 1594-1604, 1692-1713, 1785-1786, década de 1830, 1891-1902 y la década de 1950)

bien documentados de sequía, hambre y agitación social (Florescano 1980, 1986). Siete períodos graves y prolongados que se asocian a un pobre rendimiento de maíz después del año 1500 (Therrell *et al.* 2006).

Para la región de San Dimas, Durango, la reconstrucción de la variabilidad de la lluvia de los pasados 294 años (1722-2015), registra los últimos cuatro eventos más severos de sequía (1785-1786, la década de 1830, 1891-1902 y la década de 1950) documentados para el centro de México (Florescano 1980, 1986). Estas sequías no son eventos localizados de una región, las series paleoclimáticas permiten observar la amplitud geográfica de eventos climáticos extremos, la severidad de sus efectos negativos y comparar entre regiones.

El período de 1785-1786 representa la primera de cuatro sequías ampliamente documentadas, 1785 dio lugar a una terrible hambruna que se agudizó en 1786, comúnmente conocida como “El Año del Hambre” (Florescano 1986, figura 6). Este fenómeno se describe como el acontecimiento más desastroso en toda la historia de la agricultura del maíz en la época colonial, esta hambruna al parecer también condujo a un brote de enfermedad y epidemia que mató a unas 300.000 personas (Florescano 1986). Esta extraordinaria carencia de alimentos, combinada con la epidemia tuvo un efecto devastador en la economía y la sociedad de la Nueva España. Florescano (1986) ha planteado la hipótesis de que este episodio contribuyó a los disturbios civiles que pudieron haber influido en el movimiento de independencia de 1810. Aunque este evento se extendió hasta la región norte del país, reconstrucciones para el centro de México (Therrell *et al.* 2006), muestran un efecto más severo comparado con esta parte del estado de Durango. Por el contrario, la sequía reconstruida pocos años atrás (1766-1780) parece haber tenido un mayor impacto para esta región de Durango que para el centro del país.

Debido a la agitación y el desorden que siguió a la Guerra de la Independencia que duró desde 1810 hasta 1821, los registros históricos son menos accesibles (O’Hara y Metcalfe 1995). Sin embargo, al igual que para el centro del país, se corrobora la condición de sequía que prevaleció de 1817-1823 para esta región de Durango, y se reafirma la amplitud de los estragos negativos (sequías). Florescano (1980) se refiere a una grave sequía y la escasez de cultivos en el Valle de México durante la década de 1830, especialmente en la primavera de 1836, y los registros eclesiásticos indican una sequía en el período 1838-1841. La reconstrucción para el norte de México, confirma estas observaciones, indica una década de déficit en las lluvias 1835-1845 (figura 6). Así mismo, se corrobora que para años específicos el clima es modulado a gran escala por fenómenos climáticos comunes.

Una disminución de la lluvia se reconstruyó de nuevo para 1890-1900 (figura 6). De acuerdo con referencias históricas ocurrió una extraordinaria sequía y cosechas deficientes en gran parte de México a partir de 1891 y hasta 1906 (Florescano 1980). Un periodo considerado como

sequía nacional, es el intervalo de tiempo de 1890-1895, seis años en los cuales la agricultura, ganadería y personas se vieron fuertemente afectados en la mayor parte de México (Florescano 1980). Este periodo de sequías severas de finales del siglo XIX es reportado en otras reconstrucciones para el norte de México, en los estados de Coahuila, Durango, Chihuahua y Baja California Sur (Pohl *et al.* 2003, Cleaveland *et al.* 2003, Cerano *et al.* 2011, 2012a). O'Hara y Metcalfe (1995) sugieren que las condiciones de déficit de precipitaciones y la escasez de alimentos durante los primeros 15 años del siglo XX también pueden haber contribuido al malestar social que resultó en la Revolución Mexicana de 1910.

Finalmente, las intensas sequías de la década de 1950 (1950-1957), son uno de los eventos secos que han impactado severamente la región norte de México. La década de 1950, se considera una sequía extrema que impactó a México y gran parte del suroeste de los Estados Unidos (Florescano y Swam 1995). Los años de 1950, 1951, 1953, 1956 y 1958, se reportan como años con sequía severa y 1957 como sequía extremadamente severa. Dichas sequías han impactado no únicamente a México, las sequías de los años 1950, 1956 y 1957 impactaron en toda América (Florescano 1980).

Las sequías de 1956 y 1957, ocasionaron desempleo y migración, así como movilizaciones campesinas. La sequía de 1956, afectó esencialmente el norte de México, afectando a 60.000 campesinos de los cuales muchos tuvieron que emigrar a los Estados Unidos. Esta crisis económica y ocupacional fue particularmente grave en la Comarca Lagunera, la carencia de agua paralizó las labores agrícolas y se incrementó de igual manera la emigración laboral (Florescano 1980).

Influencia ENSO sobre el clima. Los eventos de sequía más fuertes reconstruidos para esta región del estado de Durango, son episodios registrados en gran parte del país, con variaciones en intensidad entre regiones, lo cual obedece a que el clima es modulado a gran escala por fenómenos climáticos comunes. Así mismo, se ha determinado una frecuencia o recurrencia de eventos extremos de sequía aproximadamente cada 50 años, cada mediado y final de siglo.

Los eventos de baja frecuencia con intervalos de 50 años aproximadamente, son modulados de manera significativa ($P < 0,05$) por la variabilidad del ENSO. Estos resultados coinciden con lo reportado tanto para el norte (Cerano *et al.* 2011) como para el centro (Therrell *et al.* 2006) de México, eventos extremos de sequías presentan una recurrencia de 50 años. Con base en estos resultados se evidencia una relación en fase significativa ($P < 0,05$) del ENSO y la variabilidad de la lluvia. En los últimos tres siglos el ENSO ha influido de manera significativa en la variabilidad de lluvia para esta región de San Dimas, Durango. El fenómeno ENSO actualmente se puede predecir con antelación, por lo tanto, el conocimiento de cómo este fenómeno modula la variabilidad climática, representa in-

formación esencial para los manejadores de los recursos naturales y tomadores de decisiones, a quienes les permitirá saber con anticipación su efecto negativo (Niña-Sequía) o positivo (Niño-Lluvias) y poder tomar las acciones necesarias para prevenir y reducir condiciones adversas en las actividades productivas y la sociedad.

CONCLUSIONES

Las especies *Pinus cooperi*, *Pinus durangensis* y *Pinus lumholtzii* presentan potencial para desarrollar series paleoclimáticas, sus anillos de crecimiento anual representan un excelente proxy del clima, que permitirán generar información en regiones donde se carece de registros observados. Se acepta la primera hipótesis de investigación, que establece que los crecimientos anuales de las tres especies presentan potencial para reconstruir la variabilidad climática que ha caracterizado en los últimos siglos a la región de San Dimas, Durango.

Se observa una influencia significativa del ENSO en la variabilidad de la precipitación para esta región del estado de Durango, resultados que sustentan la segunda hipótesis de investigación, que plantea que el ENSO modula la variabilidad climática histórica en esta región del norte del país. En los últimos tres siglos, los eventos extremos de sequía muestran patrones recurrentes cada 50 años aproximadamente, cada mediados y finales de siglo, asociados de manera significativa a la variabilidad del ENSO.

Es importante dar continuidad al desarrollo de series paleoclimáticas con base en *Pinus cooperi*, *Pinus durangensis* y *Pinus lumholtzii*, desarrollar una red de cronologías que permita extender los registros climáticos y con una base de datos más robusta analizar a mayor escala la extensión, severidad y recurrencia de eventos climáticos extremos.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue posible gracias al financiamiento CONAFOR-CONACYT a través del proyecto "Variabilidad climática e interacción con otros factores que afectan la dinámica poblacional de descortezadores en bosques amenazados de México", con registro: CONAFOR-2014, C01-234547.

REFERENCIAS

- Bradley RS. 1999. Paleoclimatology. Reconstruction climates of the Quaternary. Amsterdam. Harcourt Academic Press. 613 p.
- Cerano PJ, DJ Villanueva, PZ Fulé, AJG Arreola, CI Sánchez, CRD Valdez. 2009. Reconstrucción de 350 años de precipitación para el suroeste de Chihuahua, México. *Madera y Bosques* 15(2): 27-44.
- Cerano PJ, DJ Villanueva, CRD Valdez, GJ Méndez, GV Constante. 2011. Sequías reconstruidas en los últimos 600 años para el noreste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2: 235-249.

- Cerano PJ, DJ Villanueva, CRD Valdez, GV Constante, BJJ González, AJ Estrada. 2012a. Precipitación reconstruida para la parte alta de la cuenca del Río Nazas, Durango. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 3(10): 7-23.
- Cerano PJ, GM Rivera, AJ Estrada, CR Trucíos, SJC Ríos. 2012b. Análisis dendrocronológico de *Pinus cooperi* en Durango, México. *Agrofaz* 12(3): 81-88.
- Cleaveland MK, DW Stahle, MD Therrell, DJ Villanueva, BT Burns. 2003. Tree-ring reconstructed winter precipitation in Durango, Mexico. *Climatic Change* 59(3): 369-388.
- Constante GV, DJ Villanueva, PJ Cerano, OEH Cornejo, M Valencia. 2009. Dendrocronología de *Pinus cembroides* Zucc. y reconstrucción de precipitación estacional para el Sureste de Coahuila. *Ciencias Forestales en México* 34(106): 17-39.
- Florescano ME. 1980. Análisis histórico de las sequías en México. México. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 158 p.
- Florescano ME. 1986. Precios del maíz y crisis agrícolas en México: 1708-1810. Distrito Federal, México. Ediciones Era. 236 p.
- Florescano ME, S Swam. 1995. Breve historia de la sequía en México. Xalapa, México. Universidad Veracruzana. 246 p.
- Fritts HC. 2001. Tree rings and climate. New Jersey, USA. Blackburn Press Caldwell. 567 p.
- García E. 1978. Apuntes de climatología. México DF, México. UNAM. 153 p.
- Holmes RL. 1983. Computer-assisted quality control in tree-ring dating and measurement. *Tree-Ring Bulletin* 43: 69-78.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, MX). 2010. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, San Dimas, Durango, Clave geostadística10026. Disponible en: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/méxicocifras/datos-geograficos/10/10026.pdf>
- Kerhoulas LP, TE Kolb, GW Koch. 2013. Tree size, stand density, and the source of water used across seasons by ponderosa pine in northern Arizona. *Forest Ecology Management* 289: 425-433.
- Leverenz JW. 1981. Photosynthesis and transpiration in large forest-grown Douglas-fir: diurnal variation. *Canadian Journal of Botany* 59(3): 349-356.
- Magaña V, JL Pérez, JL Vázquez, E Carrizosa, J Pérez. 1999. El Niño y el clima. In Magaña V ed. Los impactos de El Niño en México. México. SEP-CONACYT. 23-68.
- Mathworks. 2002. Documentation-Signal Processing Toolbox. Versión 6.5. MATLAB.
- O'Hara SL and SE Metcalfe. 1995. Reconstructing the climate of Mexico from historical records. *The Holocene* 5(4): 485-490.
- Perry Jr JP, A Graham, MD Richardson. 1998. The history of pines in México and Central America. In Richardson DM ed. Ecology and Biogeography of *Pinus*. Cambridge, UK. Cambridge University Press. p. 137-147.
- Pohl K, MD Therrell, JS Blay, N Ayotte, JJ Cabrera, SC Díaz, EH Cornejo, JA Elvir, ME González, D Opland, J Park, G Pederson, SS Bernal, LS Vázquez, DJ Villanueva, DW Stahle. 2003. A cool season precipitation reconstruction for Saltillo, Mexico. *Tree-ring Research* 59(1): 11-19.
- Santillán HM, OE Cornejo, DJ Villanueva, PJ Cerano, MS Valencia, AMA Capó. 2010. Potencial dendroclimático de *Pinus pincea* Gordon en la Sierra Madre Oriental. *Madera y Bosques* 16(1): 17-30.
- Stahle DW, RD D'Arrigo, PJ Krusic, MK Cleaveland, ER Cook, RJ Allan, JE Cole, RB Dunbar, MD Therrell, DA Gay, MD Moore, MA Stokes, BT Burns, J Villanueva-Díaz, LG Thompson. 1998. Experimental dendroclimatic reconstruction of the Southern Oscillation. *Bulletin of the American Meteorological Society* 79(10): 2137-2152.
- Stahle DW, DJ Villanueva, DJ Burnette, PJ Cerano, RR Heim Jr, FK Fye, SR Acuña, MD Therrell, MK Cleaveland, DK Stahle. 2011. Major Mesoamerican droughts of the past millennium. *Geophysical Research Letters* 38(L05703): 1-4.
- Stat Soft Inc. 2000. Statistica Software, Kernel Release version 5.5 A. 1984-2000. Tulsa, Oklahoma, USA.
- Stokes MA, TL Smiley. 1996. An Introduction to tree-ring dating. Tucson, USA. University of Arizona Press. 73 p.
- Therrell MD, DW Stahle, DJ Villanueva, OE Cornejo, MK Cleaveland. 2006. Tree-ring reconstructed maize yield in central Mexico: 1474-2001. *Climate Change* 74: 493-504.
- Villanueva DJ, DW Stahle, BH Luckman, PJ Cerano, MD Therrell, MK Cleaveland, OE Cornejo. 2007. Winter-spring precipitation reconstruction from tree rings for northeast Mexico. *Climate Change* 83(1): 117-131.
- Villanueva DJ, PJ Cerano, SL Vázquez, DW Stahle, PZ Fulé, LL Yocom, OF Ramos, CJA Ruiz. 2015. Red dendrocronológica del pino de altura (*Pinus hartwegii* Lindl.) para estudios dendroclimáticos en el noreste y centro de México. *Investigaciones Geográficas, Boletín del Instituto de Geografía, UNAM* 86: 5-14.
- Woodhouse CA, JJ Lukas. 2006. Multi-century tree-ring reconstructions of Colorado streamflow for water resource planning. *Climate Change* 78(2-4): 293-315.

Recibido: 01.02.17
Aceptado: 22.05.17

NOTAS

Influencia de la densidad del arbolado sobre el desfronde y su reciclado en pinares de repoblación del norte de España

Effects of stand density on litterfall and its turnover in pine plantations in northern Spain

Teresa Bueis ^{a,b}, Felipe Bravo ^{a,c}, Valentín Pando ^{a,d}, M^a Belén Turrión ^{a,b,*}

^a Universidad de Valladolid, Instituto Universitario de Investigación en Gestión Forestal Sostenible, Palencia, España.

* Autor para correspondencia: ^b Universidad de Valladolid, Departamento de Ciencias Agroforestales, Avda. Madrid 44, 34004 Palencia, España, tel.: +34979108331, bturrión@agro.uva.es

^c Universidad de Valladolid, Departamento de Producción Vegetal y Silvopascicultura. Palencia, España.

^d Universidad de Valladolid, Departamento de Estadística e Investigación Operativa, Palencia, España.

SUMMARY

The main objective of this work was to study the dynamics of litterfall and litter decomposition in *Pinus sylvestris* and *Pinus halepensis* plantations in Castilla y León Region (Spain) as well as the effect of local density on these parameters. Four stands of each species were selected and eight plots were established on each stand. A littertrap and 15 litterbags were set on each plot. Litterfall was collected monthly and a litterbag was removed every three months. The dry weight of litterfall was determined separately for each fraction. The loss of weight over time of needles in the litterbags was also determined. Finally, the relationship between local basal area in the plots and the studied parameters was assessed. The obtained results show significant and positive effects of basal area on litterfall and significant and negative effects on decay rate of needles in the litterbags.

Key words: basal area, litterbag, *Pinus halepensis*, *Pinus sylvestris*, littertrap.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue estudiar las dinámicas de desfronde y descomposición de acículas en plantaciones de *Pinus halepensis* y *Pinus sylvestris* de Castilla y León (España) así como el efecto de la densidad de las masas sobre dichos parámetros. Para ello se seleccionaron cuatro rodales de cada una de las especies estudiadas y en cada uno de ellos se establecieron ocho parcelas considerando un gradiente de áreas basimétricas, estudiándose un total de 32 parcelas. En el centro de cada parcela se situó una trampa de desfronde y 15 bolsas de descomposición. El desfronde contenido en las trampas se recogió mensualmente. Trimestralmente se retiró una bolsa de descomposición de cada parcela. Se determinó el peso seco de desfronde separado en las distintas fracciones así como la pérdida de peso de las bolsas de descomposición a lo largo del tiempo. Finalmente se estudió la relación existente entre el área basimétrica local de las parcelas y los parámetros antes descritos. Se constató la existencia de diferencias significativas en las cantidades de desfronde y en la tasa de descomposición de las acículas contenidas en las bolsas en función del área basimétrica de la parcela.

Palabras clave: área basimétrica, litterbag, *Pinus halepensis*, *Pinus sylvestris*, trampa de desfronde.

INTRODUCCIÓN

Pinus halepensis Mill. y *Pinus sylvestris* L. son dos especies ampliamente utilizadas en repoblaciones productoras y protectoras en España. *Pinus halepensis* es una especie mediterránea, tolerante a la sequía que se ha plantado frecuentemente en zonas áridas o semiáridas para proteger de la erosión y mejorar suelos pobres o degradados. *Pinus sylvestris* es la especie de pino de mayor distribución mundial y las masas españolas constituyen el límite meridional de su distribución.

El desfronde procedente del arbolado constituye la principal entrada de materia orgánica al suelo. La cantidad

de desfronde producido por la masa forestal y el retorno al suelo de los nutrientes que contiene a través de la descomposición son elementos determinantes para la fertilidad del suelo. Es fundamental conocer las tasas de desfronde y descomposición de las masas, así como la relación existente entre el desfronde y su descomposición y la densidad de las masas para asegurar el mantenimiento de la sostenibilidad a través de la gestión forestal. La producción de desfronde disminuye a medida que se reduce el área basimétrica de las masas (Roig *et al.* 2005, Kunhamu *et al.* 2009, Navarro *et al.* 2013), igualmente la descomposición de dicho material se ve influida por el distinto microclima ocasionado

bajo masas de distintas densidades, aunque el signo de esta relación no siempre es el mismo (Aceñolaza y Gallardo-Lancho 1995, Roig *et al.* 2005, Kunhamu *et al.* 2009).

El presente trabajo se plantea a la vista de la escasez de información disponible acerca de las dinámicas de desfronde en las masas de repoblación de *P. halepensis* y *P. sylvestris* de Castilla y León (Gallardo-Lancho *et al.* 1989, Gallardo-Lancho y Santa-Regina 1991). Dado que la producción de hojarasca es función, entre otros factores, de las condiciones climáticas, es difícil establecer un patrón general en zonas con una variabilidad climática elevada como es la zona Mediterránea (Martínez-Alonso *et al.* 2007).

Asimismo, se pretende arrojar luz sobre el efecto del área basimétrica de las masas determinado por la gestión forestal de las mismas, sobre las dinámicas de desfronde y descomposición de acículas a la vista de la existencia de resultados contradictorios en la bibliografía (Kunhamu *et al.* 2009, Lado-Monserrat *et al.* 2015).

Como primera hipótesis en el presente trabajo se considera que la producción de hojarasca y el momento de desfronde en las masas de estudio diferirán a las observadas para estas mismas especies en otras zonas de España. Como segunda hipótesis se plantea que la espesura de las masas (medida a través del área basimétrica) tendrá un efecto significativo sobre el desfronde así como sobre la descomposición de acículas en las masas de *P. halepensis* y *P. sylvestris* de los páramos (calizos y ácidos respectivamente) de Castilla y León.

MÉTODOS

En este trabajo se estudiaron cuatro rodales de *P. sylvestris* ubicados en los páramos ácidos (rañas) y cuatro

rodas de *P. halepensis* ubicados en los páramos calizos de la región de Castilla y León en España, todos ellos procedentes de repoblación (figura 1).

Según el índice de Vernet el clima de las zonas de estudio es Mediterráneo y Submediterráneo. Las zonas de estudio de *P. halepensis* presentan una temperatura media anual de 12 °C y una precipitación anual de 445 mm. Las de *P. sylvestris* presentan una temperatura media anual de 9 °C y una precipitación anual de 778 mm (Ninyerola *et al.* 2005).

En cada uno de los ocho rodales se establecieron ocho parcelas circulares de 6 m de radio cubriendo un gradiente de áreas basimétricas (cuadro 1). Se midió el diámetro normal (a 1,3 m de altura) de todos los árboles presentes en cada parcela para calcular el área basimétrica local (AB_{local}). En el centro de cada parcela se estableció una trampa de desfronde y 15 bolsas de descomposición elaboradas con malla de 1,5 mm de luz. Las bolsas de descomposición se rellenaron con 5 g de acículas senescentes recién caídas y secadas al aire. El experimento sobre *P. halepensis* se estableció en octubre de 2013 y el de *P. sylvestris* en octubre de 2014. En este trabajo se presentan resultados correspondientes al periodo de estudio comprendido entre el establecimiento de los experimentos y octubre de 2015 (dos años para *P. halepensis* y un año para *P. sylvestris*).

Mensualmente se llevó a cabo la recogida del desfronde de las trampas y en el momento de recoger el desfronde se midió la temperatura y la humedad de los 10 cm superficiales de suelo mediante sondas de temperatura y humedad. Cada tres meses se extrajo una bolsa de descomposición de cada una de las parcelas. Todas las muestras se llevaron al laboratorio y se secaron en estufa a 65 °C hasta peso constante (Lado-Monserrat *et al.* 2015). Las muestras de desfronde se separaron en las siguientes fracciones: aci-

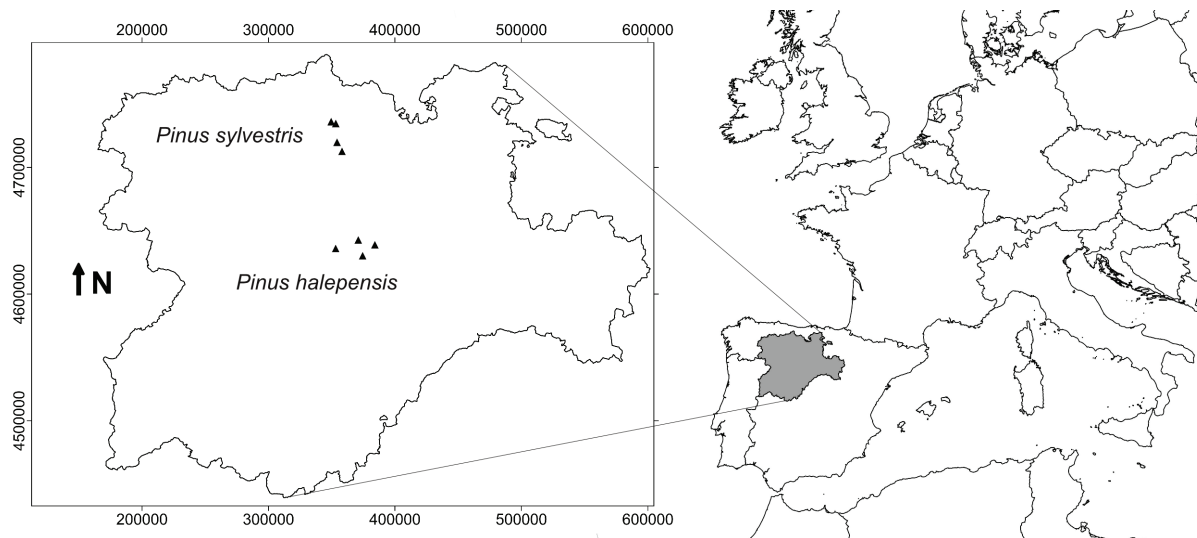


Figura 1. Localización de los rodales de *Pinus sylvestris* y *Pinus halepensis* estudiados (coordenadas UTM, huso 30, sistema de referencia ETRS89).

Location of the stands (UTM, ETRS89).

Cuadro 1. Características de las parcelas estudiadas ^a.
 Characteristics of the stands.

Parámetro	Especie	Valor medio	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Edad (años)	<i>Pinus sylvestris</i>	49,8	10,6	34	57
	<i>Pinus halepensis</i>	56,5	5,4	50	63
Dap (cm)	<i>Pinus sylvestris</i>	25,3	3,4	21,4	36,9
	<i>Pinus halepensis</i>	24,7	3,6	18,8	32,1
Hm (m)	<i>Pinus sylvestris</i>	14,0	2,7	11,4	17,7
	<i>Pinus halepensis</i>	8,4	1,8	5,9	9,7
Cobertura (%)	<i>Pinus sylvestris</i>	85,0	16,3	25	100
	<i>Pinus halepensis</i>	71,3	24,7	20	100
AB _{local} (m ² ha ⁻¹)	<i>Pinus sylvestris</i>	29,1	13,1	6,9	50,4
	<i>Pinus halepensis</i>	33,9	17,8	5,6	77,0

^aDap: diámetro a la altura del pecho; Hm: altura media; Cobertura: fracción de cabida cubierta; AB_{local}: área basimétrica local.

culas, corteza, ramillos, piñas, yemas, flores y piñones. Se registró el peso de cada una de las fracciones del desfronde y de las acículas contenidas en las bolsas extraídas. Los datos de pérdida de peso de las bolsas de descomposición a lo largo del tiempo se ajustaron a la ecuación exponencial de Olson (1963) (ecuación 1):

$$X = X_0 e^{-k t} \quad [1]$$

Donde:

X = Peso de la hojarasca extraída de la bolsa al cabo del tiempo t (meses)

X₀ = Peso inicial de la hojarasca introducida en la bolsa (g)

k = Tasa de descomposición de la hojarasca (meses⁻¹)

Asimismo se estimó el tiempo de vida medio (t_{0,5}) de la hojarasca (tiempo necesario para que se produzca una pérdida de peso del 50 %) a partir de los valores de k y a través de la ecuación 2 (Olson 1963):

$$t_{0,5} = \frac{\ln 0,5}{-k} \quad [2]$$

Se estudió la influencia del AB_{local} sobre dichos parámetros (k y t_{0,5}) para las dos especies por separado.

Para el estudio del desfronde se utilizó un modelo lineal mixto de análisis de la varianza con un factor inter-sujetos aleatorio (masa) con ocho réplicas (ocho parcelas por masa), un regresor (AB_{local}) y un factor intra-sujetos de medidas repetidas (mes). Se rechazó la hipótesis de normalidad de los datos y, por tanto, se transformaron a través del logaritmo. La formulación matemática del modelo fue la expresada por la ecuación 3:

$$Y_{ij;t} = \mu + \alpha_i + \tau_t + \beta X_{ij} + \varepsilon_{ij;t} \quad [3]$$

Donde:

i = 1, 2, 3, 4 para las cuatro masas

j = 1, 2, ..., 8 para las ocho parcelas dentro de cada masa

t = 1, 2, ..., 24 meses en *P. halepensis* y t = 1, 2, ..., 12 meses en *P. sylvestris*

Y_{ij;t} = Logaritmo del peso de desfronde en la parcela j de la masa i en el mes t (kg ha⁻¹)

μ = Efecto de media general

α_i = Efecto aleatorio de la masa i, con α_i ~ N(0, σ_α²)

τ_t = Efecto principal del mes t

X_{ij} = AB_{local} de la parcela j de la masa i (m² ha⁻¹)

β = Tasa lineal de cambio en el logaritmo del peso de desfronde por unidad de AB_{local}

ε_{ij;t} = Error aleatorio en el logaritmo del peso de desfronde de la parcela j de la masa i en el mes t, con ε_{ij;t} ~ N(0, σ²) y con estructura de varianzas auto regresiva de orden 1 AR(1).

Para el estudio de la descomposición a través de los parámetros k y t_{0,5} se utilizó un modelo lineal mixto de análisis de la varianza con un factor inter-sujetos aleatorio (masa) con ocho réplicas (parcelas) y un regresor (AB_{local}). La formulación matemática del modelo fue la expresada por la ecuación 4:

Para el estudio de la descomposición a través de los parámetros k y t_{0,5} se utilizó un modelo lineal mixto de análisis de la varianza con un factor inter-sujetos aleatorio (masa) con ocho réplicas (parcelas) y un regresor (AB_{local}). La formulación matemática del modelo fue la expresada por la ecuación 4:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta X_{ij} + \varepsilon_{ij} \quad [4]$$

Donde:

i = 1, 2, 3, 4 para las cuatro masas

j = 1, 2, ..., 8 para las ocho parcelas dentro de cada masa

Y_{ij} = Valor del parámetro en la parcela j de la masa i

μ = Efecto de media general

α_i = Efecto aleatorio de la masa i, con α_i ~ N(0, σ_α²)

X_{ij} = AB_{local} de la parcela j de la masa i (m² ha⁻¹)

β = Tasa lineal de cambio en el valor del parámetro por unidad de AB_{local}

ε_{ij} = Error aleatorio en el valor del parámetro para la parcela j de la masa i, con ε_{ij;t} ~ N(0, σ²)

Se estudiaron las correlaciones existentes entre el AB_{local} de las parcelas y la temperatura y humedad del suelo a través del coeficiente de correlación de Pearson. El tratamiento estadístico de los datos se realizó con el programa estadístico SAS.

RESULTADOS

Fenología. El desfronde medio de acículas observado en los dos años de estudio en las parcelas de *P. halepensis* fue de 2.144 kg ha⁻¹ mientras que en *P. sylvestris* el desfronde medio de acículas durante el año estudiado fue de 2.357 kg ha⁻¹. En las masas de ambas especies el mes de mayor desfronde fue agosto (836 kg ha⁻¹ promedio en *P. sylvestris* y 635 kg ha⁻¹ en *P. halepensis*). El pico de mayor desfronde se extendió a los meses de julio a septiembre en *P. sylvestris* y de junio a agosto en *P. halepensis* (figura 2).

Relación desfronde-descomposición con variables dasométricas. El modelo lineal mixto de análisis de la varianza mostró que el efecto del AB_{local} sobre el desfronde de ambas especies es significativo ($P < 0,0001$; $\beta_{(P. halepensis)} = 0,0339$ y $\beta_{(P. sylvestris)} = 0,0197$) de manera que a mayor AB_{local} mayor es la tasa de desfronde. Esta tendencia se puede observar también en la figura 3. Asimismo, el efecto del AB_{local} sobre los parámetros relacionados con la descomposición de las acículas (k y $t_{0,5}$) en *P. halepensis* resultó significativo ($P < 0,0001$) de forma que a mayor AB_{local} ,

menor es la tasa de descomposición y mayor el tiempo de vida medio de la hojarasca (figura 4). No se encontró un efecto significativo del AB_{local} sobre ninguno de los parámetros relativos a la descomposición de las acículas en *P. sylvestris* (cuadro 2, figura 4).

Se hallaron correlaciones significativas y negativas entre los valores de AB_{local} y de humedad del suelo tanto para las parcelas de *P. sylvestris* ($r = -0,209$; $P = 0,0002$) como de *P. halepensis* ($r = -0,3415$; $P < 0,0001$). Sin embargo, no se observaron correlaciones significativas entre los valores de AB_{local} y de temperatura del suelo para ninguna de las dos especies.

DISCUSIÓN

El desfronde medio anual observado en los rodales de *P. sylvestris* es ligeramente inferior al observado por Santa-Regina y Tarazona (2001) en una repoblación de *P. sylvestris* en la Sierra de la Demanda (España), que fue de 2.907 kg ha⁻¹ y por Gallardo-Lancho y Santa-Regina (1991) en la Sierra de Béjar, que fue de 3.631 kg ha⁻¹. En el presente trabajo se ha observado que el pico de mayor desfronde en *P. sylvestris* se produce en los meses de julio a septiembre siendo agosto el mes de mayor desfronde. Estos resultados difieren ligeramente de los encontrados por autores como Pausas (1997) o Blanco *et al.* (2005) en masas de *P. sylvestris* de Pirineos (España), los cuales observaron el pico de mayor desfronde en los meses de agosto a

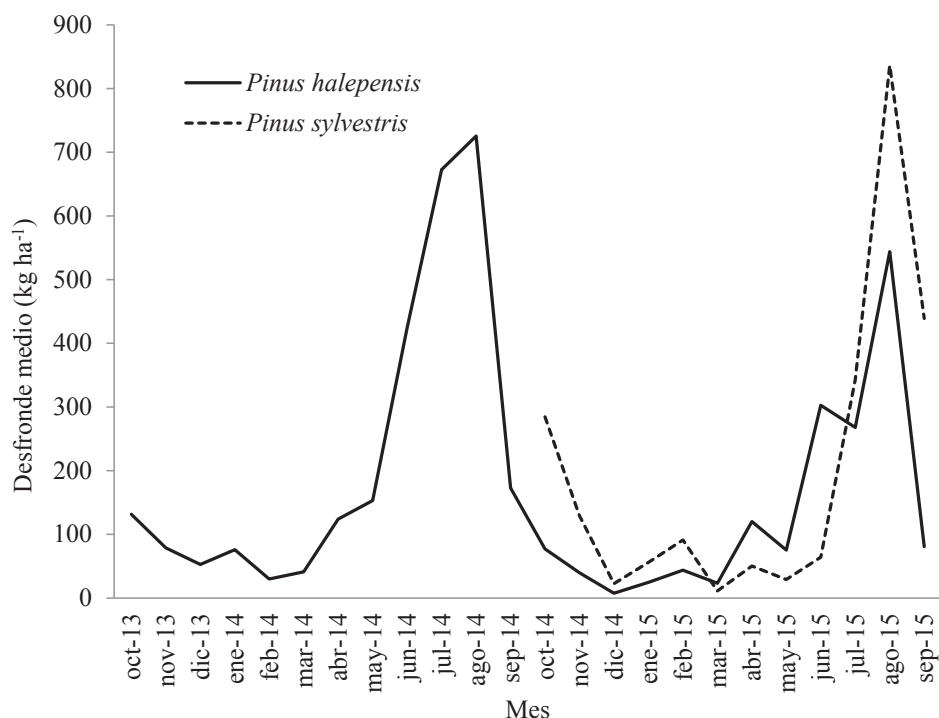


Figura 2. Producción media mensual de desfronde de acículas observada en los rodales de *Pinus sylvestris* y *Pinus halepensis* estudiados.

Mean monthly needle-fall productions in the studied *Pinus sylvestris* and *Pinus halepensis* stands.

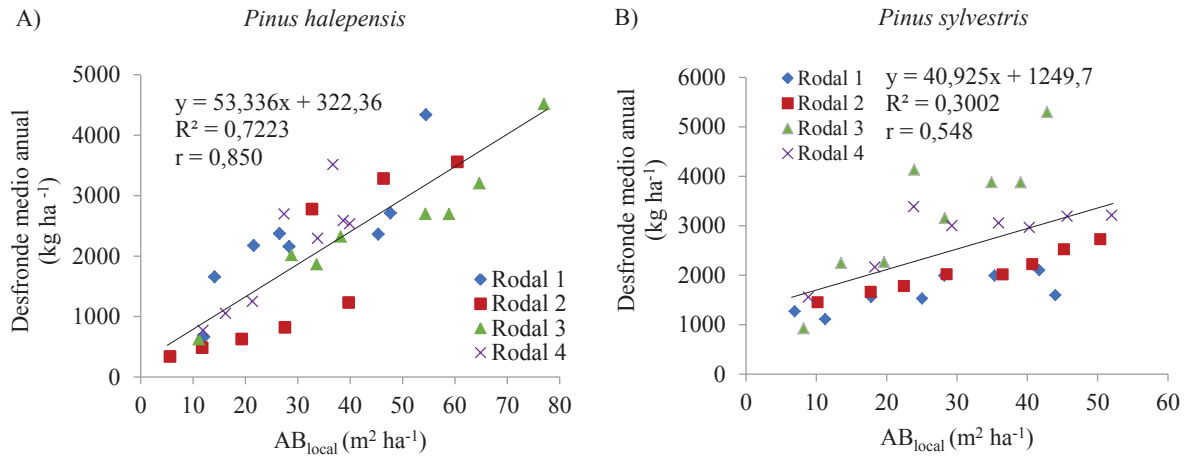


Figura 3. Relación entre el desfronde medio anual recogido y el AB_{local} de las parcelas estudiadas: A) *Pinus halepensis*, B) *Pinus sylvestris*.

Relationship between mean annual needle litterfall production and local basal area in the plots studied.

Cuadro 2. Estimadores de la tasa de descomposición (k ; meses^{-1}), tiempo de vida medio de las acículas ($t_{0,5}$; meses), tasas lineales de cambio de los mismos (β) por unidad de área basimétrica y valores P según el análisis de la varianza del modelo lineal mixto ajustado.

Decay rate coefficients (k), half-life for the decomposing litter ($t_{0,5}$), linear change rate (β) per unit of basal area and P values given by the analysis of variance of the linear mixed model.

Especie	Parámetro	Estimador	β	P
<i>Pinus halepensis</i>	k	0,0248	-0,00009	<0,0001
	$t_{0,5}$	29,3	0,12530	<0,0001
<i>Pinus sylvestris</i>	k	0,0306	-0,00002	ns
	$t_{0,5}$	22,8	0,01616	ns

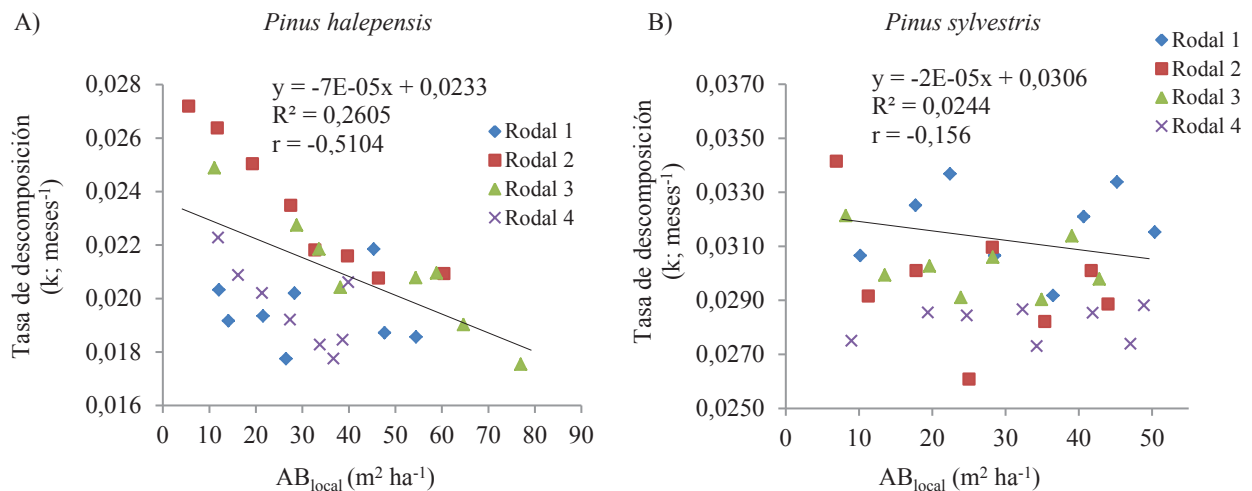


Figura 4. Relación entre la tasa de descomposición observada en las bolsas de descomposición y el AB_{local} de las parcelas estudiadas: A) *Pinus halepensis*, B) *Pinus sylvestris*.

Relationship between the decay rates and local basal area in the plots studied.

octubre. Las tasas de desfronde observadas en los rodales de *P. halepensis* en el presente trabajo son similares a las encontradas por Navarro *et al.* (2013) en el sur de España (entre 950 kg ha⁻¹ y 2.280 kg ha⁻¹), quienes observaron que los meses de mayor desfronde eran desde julio hasta octubre. En las parcelas de *P. halepensis* del presente estudio los meses de mayor desfronde son junio, julio y agosto. Los pequeños desfases observados en relación a los meses de máximo desfronde entre los distintos trabajos pueden deberse a la fenología de las especies y a las diferencias climáticas existentes entre las zonas de los distintos estudios ya que, como describieron Escudero y del Arco (1987), el momento en que se produce la abscisión foliar viene determinado por el estrés hídrico, directamente relacionado con las condiciones climáticas (Roig *et al.* 2005). Se trata de una adaptación de las especies forestales frente al déficit hídrico mediante la cual se disminuye la superficie de transpiración disminuyendo así las pérdidas de agua.

El efecto del AB_{local} sobre la producción de desfronde observado en las masas de ambas especies ha sido significativo y positivo y coincide con lo descrito previamente por diversos autores para distintas especies (Kunhamu *et al.* 2009, Navarro *et al.* 2013, Lado-Monserrat *et al.* 2015), lo cual indica que una mayor espesura (medida en términos de AB_{local}) conlleva una mayor biomasa de acículas por unidad de superficie en la masa forestal y, por tanto, una mayor cantidad de desfronde.

En cuanto a la descomposición de acículas en *P. sylvestris* no se han hallado diferencias significativas durante el primer año en función del AB_{local} de la parcela. Por otra parte, en las masas de *P. halepensis* sí se ha observado un efecto significativo del AB_{local} sobre la velocidad de descomposición de las acículas (k y $t_{0,5}$) en los dos años estudiados. Lado-Monserrat *et al.* (2015) observaron una disminución significativa de la tasa de descomposición de la hojarasca en las zonas sujetas a cortas a hecho respecto al tratamiento control (masa no aclarada) en masas de *P. halepensis* del este de España. Sin embargo, no hallaron diferencias significativas entre el tratamiento control y distintos niveles de clara. Asimismo, en dicho trabajo el material extraído de las bolsas presentaba mayor humedad en las parcelas control en los periodos secos. En el presente estudio se ha observado una tendencia contraria, es decir, una tasa de descomposición mayor en las parcelas con menor AB_{local} y una correlación significativa y negativa entre el AB_{local} y la humedad del suelo de manera que las zonas con menor AB_{local} se ha observado mayor humedad. Desanto *et al.* (1993) observaron también una relación entre la pérdida de peso de las acículas y un parámetro relacionado con la humedad del suelo, en este caso, la precipitación diaria en masas de *P. sylvestris*. Por tanto, parece que la disponibilidad de humedad es un factor decisivo para la descomposición pero la densidad de la masa no provoca los mismos efectos sobre el microclima a nivel de suelo en las distintas zonas climáticas. Parece evidente que el proceso que prevalece en la zona de estudio es la

interceptación de las precipitaciones por parte de las copas de los árboles, desde las cuales la humedad se evapora no llegando al suelo en las zonas de mayor densidad. En otros trabajos, el proceso predominante parece ser el incremento de la radiación que alcanza el suelo en las zonas con menos cobertura, incrementando por tanto la temperatura del suelo y disminuyendo la humedad (Lado-Monserrat *et al.* 2015). Por tanto, en las masas de *P. halepensis* estudiadas se observa una mayor velocidad de descomposición de las acículas en las parcelas con menor AB_{local}, donde a su vez se ha observado una mayor humedad, lo cual posibilita una mayor actividad de los microorganismos responsables de la descomposición de la materia orgánica. Sin embargo, en las masas de *P. sylvestris* estudiadas dicho efecto no ha resultado significativo, posiblemente por el mayor régimen de precipitaciones existente, donde la humedad parece no ser un factor limitante para los microorganismos descomponedores, pudiendo producirse así un desempeño similar de los microorganismos descomponedores a distintos niveles de AB_{local}.

CONCLUSIONES

Las tasas de desfronde observadas en el presente trabajo difieren ligeramente de las obtenidas por otros autores para estas mismas especies en otras zonas de España, observándose un pequeño desfase en relación a los meses en los que se observan las mayores tasas de desfronde. Asimismo, el área basimétrica de las masas tiene una influencia significativa y positiva sobre el desfronde y negativa sobre la descomposición de la hojarasca, debido este último efecto principalmente a la disminución de la humedad en la superficie del suelo. Estos efectos deben ser tenidos en cuenta en la planificación de las prácticas selvícolas ya que determinan en buena medida la disponibilidad de nutrientes edáficos y por tanto, el estado nutricional de las masas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Elisa Mellado y Olga López su apoyo en el trabajo de campo y a Carmen Blanco y Juan Carlos Arranz su consejo en el trabajo de laboratorio. Este trabajo se ha financiado gracias a los proyectos AGL2011-29701-C02-02 y AGL2014-51964-C2-1-R del Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España y a la beca predoctoral concedida a T. Bueis por la Universidad de Valladolid y el Banco Santander.

REFERENCIAS

- Aceñolaza PG, JF Gallardo-Lancho. 1995. Influencia de la edad del bosque en la evolución de la pérdida de peso seco en hojarasca de *Alnus acuminata* en alisedas de la provincia de Tucumán (Argentina). *Investigación agraria. Sistemas y Recursos Forestales* 4(2): 177-188.

- Blanco JA, MA Zavala, JB Imbert, FJ Castillo. 2005. Sustainability of forest management practices: Evaluation through a simulation model of nutrient cycling. *Forest Ecology and Management* 213(1-3): 209-228. DOI: 10.1016/j.foreco.2005.03.042.
- Desanto AV, B Berg, FA Rutigliano, A Alfani, A Fioretto. 1993. Factors regulating early-stage decomposition of needle litters in 5 different coniferous forests. *Soil Biology & Biochemistry* 25(10): 1423-1433. DOI: 10.1016/0038-0717(93)90057-i.
- Escudero A, JM del Arco. 1987. Ecological significance of the phenology of leaf abscission. *Oikos* 49: 11-14. DOI: 10.2307/3565549.
- Gallardo-Lancho JF, I Santa-Regina, C San Miguel. 1989. Ciclos biogeoquímicos en bosques de la Sierra de Béjar: 1. Producción de la hojarasca. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol* 26(1): 35-46.
- Kunhamu TK, BM Kumar, S Viswanath. 2009. Does thinning affect litterfall, litter decomposition, and associated nutrient release in *Acacia mangium* stands of Kerala in peninsular India? *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere* 39(4): 792-801. DOI: 10.1139/x09-008.
- Lado-Monserrat L, A Lidon, I Bautista. 2015. Litterfall, litter decomposition and associated nutrient fluxes in *Pinus halepensis*: influence of tree removal intensity in a Mediterranean forest. *European Journal of Forest Research* 134(5): 833-844. DOI: 10.1007/s10342-015-0893-z.
- Martínez-Alonso C, F Valladares, JJ Camarero, M López Arias, M Serrano, JA Rodríguez. 2007. The uncoupling of secondary growth, cone and litter production by intradecadal climatic variability in a Mediterranean Scots pine forest. *Forest Ecology and Management* 253(1): 19-29.
- Navarro FB, A Romero-Freire, T Del Castillo, A Foronda, MN Jimenez, MA Ripoll, A Sanchez-Miranda, L Huntsinger, E Fernandez-Ondono. 2013. Effects of thinning on litterfall were found after years in a *Pinus halepensis* afforestation area at tree and stand levels. *Forest Ecology and Management* 289: 354-362. DOI: 10.1016/j.foreco.2012.09.026.
- Olson JS. 1963. Energy storage and balance of producers and decomposers in ecological systems. *Ecology* 44(2): 322-331. DOI: 10.2307/1932179.
- Pausas JG. 1997. Litter fall and litter decomposition in *Pinus sylvestris* forests of the eastern Pyrenees. *Journal of Vegetation Science* 8(5): 643-650. DOI: 10.2307/3237368.
- Roig S, M del Rio, I Canellas, G Montero. 2005. Litter fall in Mediterranean *Pinus pinaster* Ait. stands under different thinning regimes. *Forest Ecology and Management* 206(1-3): 179-190. DOI: 10.1016/j.foreco.2004.10.068.
- Santa-Regina I, T Tarazona. 2001. Nutrient cycling in a natural beech forest and adjacent planted pine in northern Spain. *Forestry* 74(1): 11-28. DOI: 10.1093/forestry/74.1.11.

Recibido: 13.09.16
Aceptado: 12.04.17

Interactive effects of water stress, container size and fertilizer on survival, gas exchange and morphological traits of *Quillaja saponaria* seedlings

Efectos combinados de la restricción hídrica, el tamaño de contenedor y la dosis de fertilizante en la supervivencia, intercambio gaseoso y atributos morfológicos en plantas de *Quillaja saponaria*

Sergio E Espinoza ^a, Rómulo E Santelices ^a, Antonio M Cabrera ^a, Carlos R Magni ^{b*}

^a Universidad Católica del Maule, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Avenida San Miguel 3605, Talca, Chile.

*Corresponding author: ^b Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza, Avenida Santa Rosa 11365, La Pintana, Santiago, Chile, phone: +56 2 9785874, crmagni@uchile.cl

SUMMARY

Quillaja saponaria is a valuable commercial and ecological Chilean native species that has suffered considerably degradation countrywide; however, the determination of the optimum characteristics of the planting stock, an important aspect in restoration projects, has received little attention. The aim of this study was to evaluate the effect of container size and dose of fertilizer on morphological and physiological responses of *Q. saponaria* seedlings cultivated in a nursery under well-watered and water restricted conditions. After 27 days growing under contrasting watering regimes, growth, biomass allocation, and gas exchange were measured in 6-month-old seedlings. We found that survival, height and diameter increment, and root dry weight were higher in the water stressed seedlings cultivated in large containers. The water stressed seedlings cultivated in large containers also had superior stomatal conductance, however when the fertilizer dose was decreased, this trait decreased considerably. Thus, a superior performance in a water-restricted environment could be expected in those seedlings cultivated in larger containers with low fertilizer.

Key words: biomass allocation, water stress, gas exchange, quillay, survival.

RESUMEN

Quillaja saponaria es una especie nativa del bosque nativo chileno valiosa por sus cualidades económicas y ecológicas y que ha sufrido una importante degradación a lo largo del país; sin embargo, la determinación de las características óptimas del material de plantación, un aspecto importante en proyectos de restauración, ha recibido poca atención. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del tamaño de contenedor y la dosis de fertilizante en la respuesta morfológica y fisiológica de plantas de *Q. saponaria* cultivadas bajo dos regímenes de riego en vivero (riego normal vs. restricción hídrica). Después de 27 días de crecimiento bajo condiciones de riego contrastantes, se evaluó el crecimiento, la asignación de biomasa y variables de intercambio gaseoso en plantas de seis meses de edad. Los resultados indican que en el tratamiento de restricción hídrica las plantas cultivadas en contenedores grandes mostraron la mayor supervivencia, incremento en diámetro y altura y biomasa radical. Las plantas del tratamiento de restricción hídrica cultivadas en contenedores grandes también mostraron tasas superiores de conductancia estomática, sin embargo, cuando se disminuyó la dosis de fertilizante, esta variable disminuyó considerablemente. Se podría esperar que, aquellas plantas cultivadas en contenedores de mayor volumen y con dosis baja de fertilizante, tuvieran un mejor desempeño en ambientes con restricción hídrica.

Palabras clave: asignación de biomasa, restricción hídrica, intercambio gaseoso, quillay, supervivencia.

INTRODUCTION

Quillaja saponaria Mol. is a sclerophyllous evergreen tree species widely distributed in Mediterranean central Chile, which has suffered substantial degradation due to harvesting and conversion of land to agricultural uses (INFOR 2000). In addition to its ecological importance (Cruz *et al.* 2013), *Q. saponaria* is valuable for its commercial bark saponin extract (Pelah *et al.* 2002). Although restoration activities have been developed in Chile, little is known about seedling quality and nursery cultivation in

containers, both key aspects for the success in the restoration of Mediterranean ecosystems (Chirino *et al.* 2008) as they modify characteristics of the planting stock, by affecting the availability of water and nutrients (McConnughay and Bazzar 1991) and influencing field performance (Villar-Salvador *et al.* 2004).

The container type determines the morphological characteristics of the root system (Landis *et al.* 1990, Domínguez-Lerena *et al.* 2006, Chirino *et al.* 2008). Larger containers usually result in larger root systems which are linked to the capacity of seedlings to avoid lethal water stress since

roots reach deeper moist soil horizons (Villar-Salvador *et al.* 2012a), while a small container physically limits root growth (Aphalo and Rikala 2003) due to the low quantity of soil and the reduction in water availability and nutrient content (Poorter *et al.* 2012). Fertilization also determines plant functional attributes, enhancing growth and outplanting survival in conifers from mesic environments (Luis *et al.* 2009) and in Mediterranean evergreen sclerophyllus trees (Villar-Salvador *et al.* 2004); however, fertilization can increase water uptake by a species in some cases or reduce its drought tolerance in others (Cortina *et al.* 2013). The intensity of drought, site conditions and species' response can explain these differences (Villar-Salvador *et al.* 2012b). Ovalle *et al.* (2016) found that high fertilized *Q. saponaria* seedlings established in Mediterranean field conditions (*i.e.*, dry period of seven months) did not show a superior performance when contrasted to unfertilized ones. In extremely harsh Mediterranean environments, low fertilized seedlings are considered more resistant to drought because they reduce leaf area and increase root biomass (Hernández *et al.* 2009), both characteristics of a drought tolerant genotype.

Seedling quality and nursery culture regimes for *Q. saponaria* seedlings have received little attention in Chile (*e.g.*, Ovalle *et al.* 2016). Thus, in an effort to contribute to the understanding of *Q. saponaria* nursery culture, we initiated a preliminary study aimed at determining the influence of watering, container size and fertilization level on the early growth, survival and physiological responses of the species. We hypothesized that seedlings cultivated in larger containers with low fertilizer will have a superior performance in water stress conditions.

METHODS

Nursery experiment. We applied two watering treatments (well-watered (WW) and water-stress (WS)), two container sizes (140 and 280 mL) and three fertilizer doses (2, 4 and 6 g L⁻¹ of substrate) to 1,620 seedlings in total (2 watering regimes (W) × 2 container sizes (C) × 3 fertilizer doses (F) × 3 replicates × 45 seedlings per replicate). The substrate consisted of a mixture of composted bark and perlite (7:3 v) combined with the slow release fertilizer Basacote 9 M® at the proposed doses. Seeds were sown on 09/15/2013 (day 1). Following germination, seedlings were arranged in a split-plot design, with watering regime as the whole plot and container size crossed with dose of fertilizer as the sub-plots. After 150 days of growth under watering to container capacity (*i.e.*, until 02/11/2014), seedlings were submitted to WW and WS treatments for 27 more days (*i.e.*, until 03/10/2014, totalizing 177 days growth). The severity of the watering regimes was based on predawn water potential (Ψ_{pd}). In the WW treatment seedlings maintained a Ψ_{pd} of -0.5 MPa, as measured with a pressure chamber (PMS Instruments Co., Corvallis, OR, USA). In the WS treatment, three 7-day cycles of withholding of water, plus two days of watering between each cycle, were applied. Ψ_{pd} was -2.0 MPa on average.

Morphological assessments. We measured height (H, cm) and root collar diameter (D, mm) in days 150 and 177. Increments in D and H (INC_{DH} , mm) were calculated as $INC_{DH} = 177_{DH} - 150_{DH}$. Seedlings were harvested on day 177 and oven-dried at 65 °C for 48 h. Three sections of each seedling (*i.e.*, roots, leaves and stems) were weighed (± 0.01 g), giving the root dry weight (RDW, mg), the leaves dry weight (LDW, mg) and the stem dry weight (SDW, mg). The root:shoot ratio was derived as $RSR = RDW / (SDW + LDW)$. Survival (SUR, %) was measured as a categorical trait (*i.e.*, 1 = alive seedling, 0 = dead seedling).

Gas exchange and xylem water potential measurements. After the water stress cycles had finished, net photosynthesis (A_n , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiration (E, $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) and stomatal conductance (g_s , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) were measured in five seedlings per treatment. Intrinsic water use efficiency (IWUE, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$) was calculated as the ratio between the net photosynthesis and the stomatal conductance. Measurements were taken between 11:00 and 15:00 (local time) with a portable photosynthesis system (Li-6400XT, LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA) under 1,300 $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. After that, stems were excised near the substrate surface and predawn water potential (Ψ_{pd}) was measured in five seedlings per treatment.

Statistical analyses. All traits were analyzed with the general linear model approach (GLM) to analysis of variance, with type III sum of squares, using SPSS software version 18 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA). Comparisons for the categorical trait survival were performed using a Chi-square test.

RESULTS

Morphological response of *Q. saponaria* seedlings. Interaction of watering and container size had a strong influence on most seedling attributes (table 1). Those water-stressed seedlings cultivated in larger containers showed the highest survival, height and diameter increment, and root dry weight, while those water-stressed seedlings cultivated in small containers showed the opposite tendency as they were larger and with slightly more biomass allocated to leaves (figure 1). Interactions between watering and fertilizer, and container with fertilizer also affected plant development; well-watered and high fertilized seedlings were larger but with less shoot biomass (figure 2A, 2B), while larger container and medium fertilized seedlings showed a superior height increment (figure 2C). Triple interaction of fertilizer dose with watering and container were only significant for root collar diameter ($P < 0.05$).

Physiological performance of *Q. saponaria* seedlings. Interactions between watering and container affected gaseous interchange traits (table 2). The water-stress seedlings cultivated in larger containers had a superior transpi-

Table 1. Significance level for factors and morphological traits under study. *Statistically significant values ($P < 0.05$).
 Nivel de significancia para los factores y variables morfológicas analizadas. *Valores estadísticamente significativos ($P < 0,05$).

Traits	Significance level					
	W	C	F	W×C	W×F	C×F
D	0.309	0.119	0.064	0.056	0.166	0.061
H	0.001*	0.002*	0.081	0.001*	0.000*	0.146
INC _D	0.000*	0.283	0.097	0.005*	0.414	0.914
INC _H	0.394	0.000*	0.005*	0.000*	0.073	0.022*
RDW	0.632	0.162	0.832	0.000*	0.056	0.259
LDW	0.298	0.005	0.466	0.001*	0.059	0.596
SDW	0.519	0.003	0.449	0.000*	0.013*	0.737
RSR	0.146	0.124	0.764	0.222	0.714	0.880
SUR	0.000*	0.000*	0.153	0.000*	0.263	0.161

D = root collar diameter, H = height, INC_D = diameter increment, INC_H = height increment, RDW = roots dry weight, LDW = leaves dry weight, SDW = shoot dry weight, RSR = root:shoot ratio, SUR = survival. No significant effect for W × C × F interaction was found in most traits, so for simplicity, data are not shown.

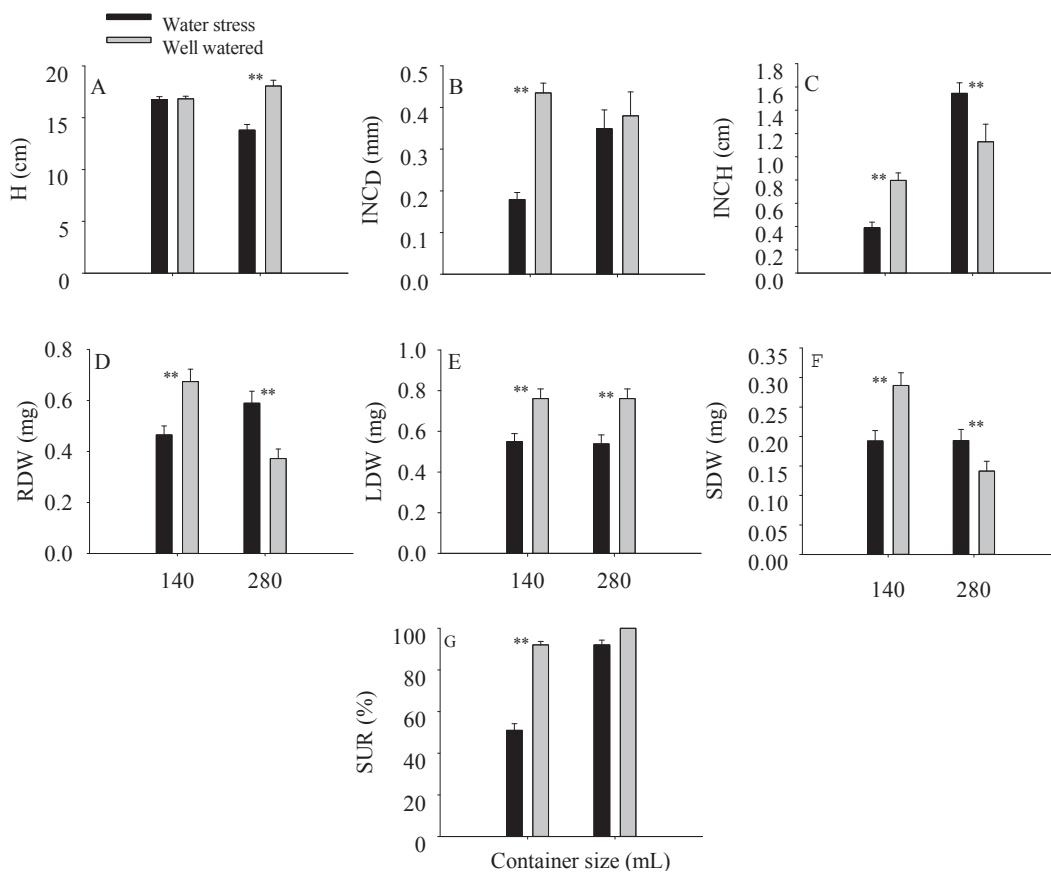


Figure 1. Interactive effect of the watering (WW vs WS) and container (140 vs 280 mL) treatments on growth, biomass and survival of *Q. saponaria* seedlings. H = height, INC_D = diameter increment, INC_H = height increment, RDW = roots dry weight, LDW = leaves dry weight, SDW = shoot dry weight, SUR = survival. ** indicate significant differences within water treatments at the 0.01 level. The error bars indicate the standard error.

Efecto de los tratamientos de riego (WW vs WS) y contenedor (140 vs 280 mL) en el crecimiento, biomasa y supervivencia de *Q. saponaria*. H = altura, INC_D = incremento en diámetro, INC_H = incremento en altura, RDW = peso seco raíces, LDW = peso seco hojas, SDW = peso seco tallo, SUR = supervivencia. ** indica diferencias significativas al interior de los tratamientos de riego al nivel del 0,01. Las barras representan el error estándar.

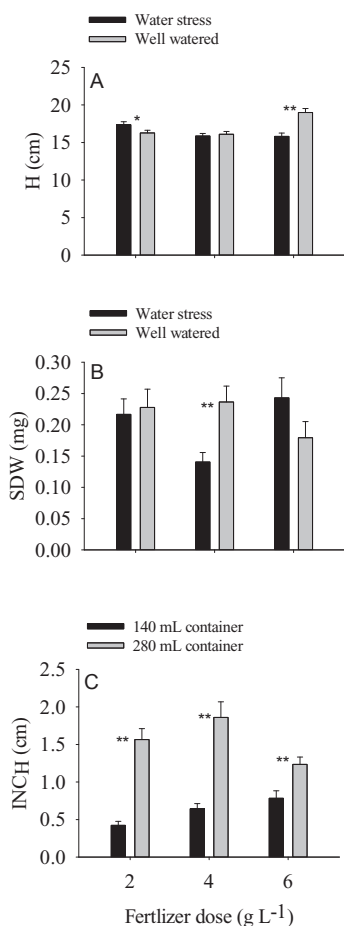


Figure 2. Interactive effect of the watering (WW vs WS) and fertilizer (2, 4 and 6 g L⁻¹) treatments (A, B), and between container (140 vs 280 mL) and fertilizer (C) on growth and biomass of *Q. saponaria* seedlings. H = height, SDW = shoots dry weight, INC_H = height increment. * and ** indicate significant differences within water and container treatments at the 0.05 and 0.01 levels, respectively. The error bars indicate the standard error.

Efecto de los tratamientos de riego (WW vs WS) y fertilizante (2, 4 y 6 g L⁻¹) (A, B), y entre el contenedor (140 vs 280 mL) y fertilizante (C) en el crecimiento y biomasa de plantas de *Q. saponaria*. H = altura, SDW = peso seco tallo, INC_D = incremento en diámetro. * y ** indican diferencias significativas al interior de los tratamientos de riego y contenedor al nivel del 0,05 y 0,01 respectivamente. Las barras representan el error estándar.

ration and stomatal conductance (figure 3A, 3B), although they were less water use efficient (figure 3C) contrasted to small container seedlings. The interaction of watering and fertilizer also affected seedlings physiological status. In the water-stressed treatment photosynthesis and stomatal conductance were higher for seedlings cultivated with higher fertilizer (figure 3D, 3E). Container and fertilizer also had significant effects; low fertilized seedlings, indistinctly of container, were more water use efficient (figure 3F); however, a high variability for small seedlings was observed, thus, these results must be interpreted with caution.

DISCUSSION

Growth, biomass and survival. The higher survival of the water stressed seedlings cultivated in large containers is explained by their small size with the consequent more water per gram of plant. Donoso *et al.* (2011) found that water stressed *Q. saponaria* saplings reduced 55 % of leaf biomass, which in turn decreased the transpiration rate. In contrast, small container seedlings were taller and probably depleted the pot water more quickly as they had slightly more leaf biomass. According to Poorter *et al.* (2012), water is depleted quickly when large plants are cultivated in small containers. Another explanation for the higher survival of water stressed seedlings cultivated in large containers is their higher root biomass which suggests that increased root biomass may have enlarged *Q. saponaria* root capacity to supply water per unit of leaf area and to maintain higher water potential in a water restricted environment (*i.e.*, -1.6 MPa). By contrast, the small water-stressed container seedlings had a water potential of -2.4 MPa.

Physiological performance. The lowest gas exchange values for water stressed seedlings reflect the extent that low water potential, as that experienced by the stressed seedlings, can reduce stomatal conductance. This effect tended to be more pronounced in low fertilized seedlings, which indicates that fertilization improves gaseous interchange variables during the drydown of *Q. saponaria*. Trubat *et*

Table 2. Significance level for factors and physiological traits under study. *Statistically significant values ($P < 0.05$).

Nivel de significancia para los factores y variables fisiológicas analizadas. *Valores estadísticamente significativos ($P < 0,05$).

Traits	Significance level					
	W	C	F	W × C	W × F	C × F
A _n	0.000*	0.587	0.000*	0.540	0.005*	0.225
E	0.000*	0.009*	0.001*	0.000*	0.292	0.067
g _s	0.000*	0.090	0.058	0.019*	0.042*	0.065
IWUE	0.000*	0.228	0.013*	0.002*	0.186	0.026*

A_n = net photosynthesis, E = transpiration, g_s = stomatal conductance, IWUE = intrinsic water use efficiency. No significant effect for W × C × F interaction was found in all traits, hence for simplicity, data are not shown.

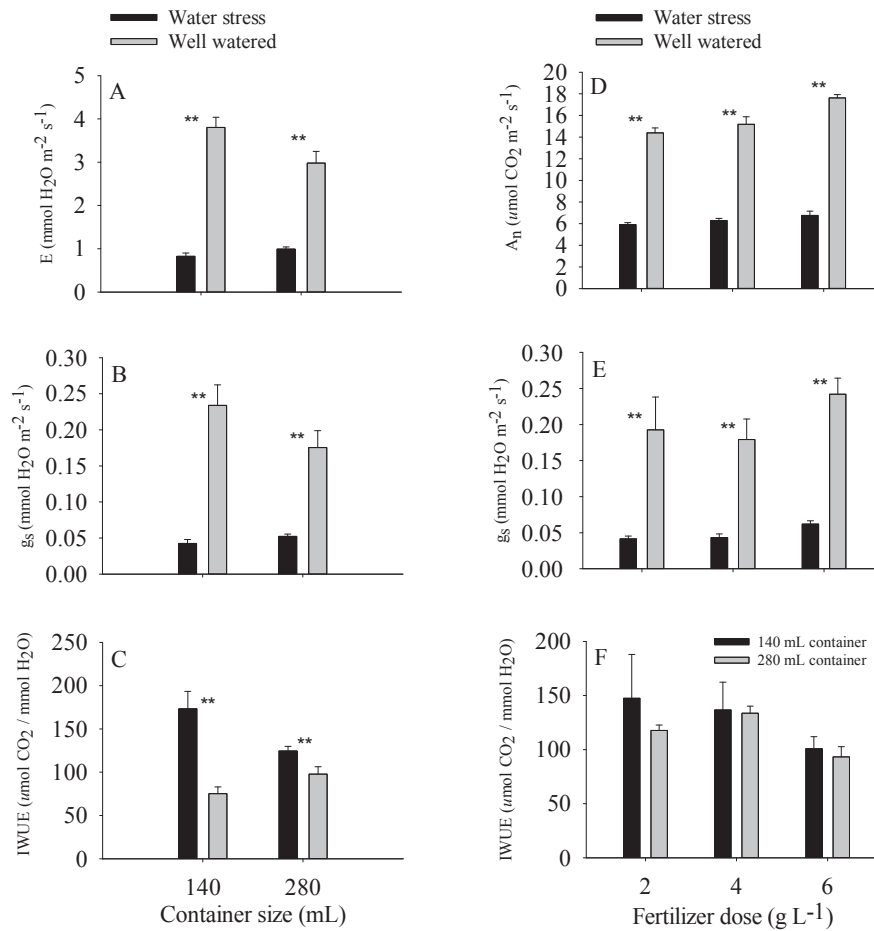


Figure 3. Interactive effect of the watering (WW vs WS) and container (140 vs 280 mL) treatments (A, B, C); between watering and fertilizer (2, 4 and 6 g L⁻¹) treatments (D, E), and between container and fertilizer (F), on gas exchange of *Q. saponaria* seedlings. A_n = net photosynthesis, E = transpiration, g_s = stomatal conductance, IWUE = intrinsic water use efficiency. ** indicate significant differences within water and container treatments at the 0.01 level. The error bars indicate the standard error.

Efecto de los tratamientos de riego (WW vs WS) y contenedor (140 vs 280 mL) (A, B, C); del riego y fertilizante (2, 4 y 6 g L⁻¹) (D, E), y entre el contenedor y fertilizante (F) en el intercambio gaseoso de plantas de *Q. saponaria*. A_n = fotosíntesis neta, E = transpiración, g_s = conductancia estomática, IWUE = eficiencia intrínseca del uso del agua. ** indica diferencias significativas al interior de los tratamientos de riego y contenedor al nivel del 0,01. Las barras representan el error estándar.

al. (2008) pointed out that the suppression of nitrogen inputs has shown promising results in semi-arid areas. A low nutrient availability reduces transpiration (Evans 1996) and increases water use efficiency (Hernández *et al.* 2009). Our results corroborate those findings because higher intrinsic water use efficiency was found in the water stressed seedlings cultivated with low fertilizing. Negative effects of high fertilization on the drought tolerance of *Quercus ilex* L. were observed by Villar-Salvador *et al.* (2004). This is because increased nitrogen nutrition produces bigger plants that can deplete water more rapidly (due to a higher leaf biomass and rate of transpiration) compared to plants with lower nitrogen nutrition (Lloret *et al.* 1999).

Seedlings cultivated in larger containers with low fertilizer had a superior growth and survival, and low stomatal conductance in the water-stress condition. These prelimi-

nary results allow us to speculate that those type of seedlings could have more probability of surviving outplanting in Mediterranean ecosystems; however, this hypothesis needs further research.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was funded by CONICYT, Grant N° 79150013. We thank project N° 067-2012 from CONAF.

REFERENCES

- Aphalo P, R Rikala. 2003. Field performance of silver-birch planting-stock grown at different spacing and in containers of different volume. *New Forests* 25(2):93-108.
- Cruz P, C Schulz, P Honeyman, A Cabello. 2013. *Quillaja sapo-*

- naria* Mol. Quillay Familia: Quillajaceae. In Donoso C ed. Las Especies Arbóreas de los Bosques Templados de Chile y Argentina. Autoecología. Valdivia, Chile. Marisa Cuneo Ediciones. p. 546-556.
- Cortina J, A Vilagrosa, R Trubat. 2013. The role of nutrients for improving seedling quality in drylands. *New Forests* 44(5): 719-732.
- Chirino E, A Vilagrosa, EI Hernández, A Matos, VR Vallejo. 2008. Effects of a deep container on morpho-functional characteristics and root colonization in *Quercus suber* L. seedlings for reforestation in Mediterranean climate. *Forest Ecology and Management* 256(4): 779-785.
- Donoso S, K Peña, C Pacheco, G Luna, A Aguirre. 2011. Respuesta fisiológica y de crecimiento en plantas de *Quillaja saponaria* y *Cryptocarya alba* sometidas a restricción hídrica. *Bosque* 32(2): 187-195.
- Domínguez-Lerena S, N Herrero, I Carrasco, L Ocaña, JL Peñuelas, JG Mexal. 2006. Container characteristics influence *Pinus pinea* seedlings development in the nursery and field. *Forest Ecology and Management* 221(1): 63-71.
- Evans JR. 1996. Developmental constraints on photosynthesis: effects of light and nutrition. In Baker NR ed. Photosynthesis and the environment. Kluwer, Dordrecht. p. 281-304.
- Hernández EI, A Vilagrosa, VC Luis, M Llorca, E Chirino, RV Vallejo. 2009. Root hydraulic conductance, gas exchange and water potential in seedlings of *Pistacia lentiscus* L. and *Quercus suber* L. under different conditions of fertilization and light radiation. *Environmental and Experimental Botany* 67(1): 267-276.
- INFOR (Instituto Forestal, CL). 2000. Quillay: Una alternativa multipropósito para la zona central. Santiago, Chile. INFOR. 12 p.
- Landis TD, RW Tinus, SE McDonald, JP Barnett. 1990. Containers and growing media, vol. 2. The container Tree Nursery Manual. Agric. Handbook, 674. Washington, DC, USA. U.S. Department of Agriculture Forest Service. 88 p.
- Lloret F, C Casanovas, J Peñuelas. 1999. Seedling survival of Mediterranean shrubland species in relation to root:shoot ratio, seed size and water and nitrogen use. *Functional Ecology* 13(2): 210-216.
- Luis VC, J Puértolas, J Climent, J Peters, AM González-Rodríguez, D Morales, MS Jiménez. 2009. Nursery fertilization enhances survival and physiological status in Canary Island pine (*Pinus canariensis*) seedlings planted in a semiarid environment. *European Journal of Forest Research* 128(3): 221-229.
- McConnughay KDM, FA Bazzar. 1991. Is physical space a soil resource? *Ecology* 72 (1): 94-103.
- Ovalle JF, EC Arellano, JA Oliet, P Becerra, R Ginocchio. 2016. Linking nursery nutritional status and water availability post-planting under intense summer drought: the case of a South American Mediterranean tree species. *iForest Biogeosciences and Forestry* 9(5):758-765.
- Pelah D, Z Abramovich, A Markus, Z Wiesman. 2002. The use of commercial saponin from *Quillaja saponaria* bark as a natural larvicidal agent against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. *Journal of Ethnopharmacology* 81(3):407-409.
- Poorter H, J Bühler, J van Dusschoten, J Climent, JA Postma. 2012. Pot size matters: a meta-analysis of the effects of rooting volume on plant growth. *Functional Plant Biology* 39(11): 839-850.
- Trubat R, J Cortina, A Vilagrosa. 2008. Short-term nitrogen deprivation increases field performance in nursery seedlings of Mediterranean woody species. *Journal of Arid Environments* 72(6):879-890.
- Villar-Salvador P, R Planelles, E Enríquez, J Peñuelas-Rubira. 2004. Nursery cultivation regimes, plant functional attributes, and field performance relationships in the Mediterranean oak *Quercus ilex* L. *Forest Ecology and Management* 196(2): 257-266.
- Villar-Salvador P, J Puértolas, B Cuesta, J Peñuelas, M Uscola, N Heredia-Guerrero, JM Benayas. 2012a. Increase in size and nitrogen concentration enhances seedling survival in Mediterranean plantations. Insights from an ecophysiological conceptual model of plant survival. *New Forests* 43(5-6): 755-770.
- Villar-Salvador P, JL Peñuelas, DF Jacobs. 2012b. Nitrogen nutrition and drought hardening exert opposite effects on the stress tolerance of *Pinus pinea* L. seedlings. *Tree Physiology* 33:221-232.

Recibido: 07.09.16
Aceptado: 18.04.17

Descortezado en forestales producido por la ardilla introducida *Callosciurus erythraeus* (Sciuridae) en Argentina

Bark stripping caused by the introduced squirrel
Callosciurus erythraeus (Sciuridae) in Argentina

Paula A Pedreira ^{a,b*}, Eduardo Penon ^c, Mariela Borgnia ^{a,b}

^a Universidad Nacional de Luján, Departamento de Cs. Básicas, Buenos Aires, Argentina.

*Autor de correspondencia: ^b Universidad Nacional de Luján, Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (INEDES), Grupo Ecología de Mamíferos Introducidos, CONICET, Buenos Aires, Argentina, tel.: 011-15-61683730, anabelpedreira@gmail.com

^c Universidad Nacional de Luján, Departamento de Tecnología y Dasonomía, Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (INEDES), Universidad Nacional de Luján-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

SUMMARY

An assessment of bark stripping damage caused by the introduced red-bellied squirrel (*Callosciurus erythraeus*) was carried out in the area where this rodent is currently established in Argentina. The study was carried out in four forested areas, on 38 plots of 150 and 250 m², where damaged species, type and intensity of the damage were recorded. Squirrel severely debarked 12 forest species and 57 % of sampled trees showed wounds below 5 m. Results showed that the red-bellied squirrel can be considered a harmful species for forests in the study area and could be a potential problem to other regions of Argentina if it continues its invading dispersal. The implications to forest production were discussed.

Key words: red-bellied squirrel, invasive species, tree damage, forest pest.

RESUMEN

En este trabajo se describe el daño ocasionado en diferentes árboles por un mamífero exótico introducido en Argentina, la ardilla de vientre rojo (*Callosciurus erythraeus*), en el principal foco de invasión del país. Se trabajó en cuatro lugares forestados, donde se registraron las especies dañadas, el tipo e intensidad del daño, en 38 parcelas de entre 150 y 250 m². Las ardillas afectaron una gran cantidad de individuos y especies forestales, varias de ellas de importancia comercial. En 12 especies se registraron árboles con elevados niveles de daño observándose que en promedio el 57 % de los individuos presentó heridas por debajo de los 5 m. Los resultados revelaron que la ardilla de vientre rojo resulta una especie perjudicial en su área de influencia para muchas especies forestales y puede ser una amenaza para otras regiones forestales del país si continúa expandiéndose; se discuten las implicancias de su impacto en términos de la producción forestal.

Palabras clave: ardilla de vientre rojo, especies invasoras, descortezamiento, plaga forestal.

INTRODUCCIÓN

La ardilla de vientre rojo *Callosciurus erythraeus* (Pallas) es de origen asiático y por sus hábitos de consumo y su actividad de descortezado se ha convertido en un serio problema, para la producción de frutales y madera, al igual que otras especies de ardillas (Mora-Ascencio *et al.* 2010, Yin *et al.* 2010, Bertolino y Lurz 2013).

Luego de 40 años de introducida en el partido de Luján (Buenos Aires, Argentina), la ardilla de vientre rojo es considerada una especie invasora que se expande por causas naturales y antrópicas y ocasiona diversos impactos en el ecosistema (Aprile y Chicco 1999, Gozzi *et al.* 2013, Guichón *et al.* 2015, Messetta *et al.* 2015). Hay evidencias de que estas ardillas descortezan diversos árboles (Guichón

et al. 2005, Zúbelzu *et al.* 2015), pero en Argentina, su impacto, no ha sido cuantificado. Las políticas gubernamentales actuales incentivan la producción forestal, siendo *Eucalyptus*, *Pinus*, *Populus* y *Salix* los géneros más implantados (Núñez 2007). Es importante poder conocer y cuantificar los daños que ocasiona esta ardilla, para predecir y prevenir su dispersión hacia nuevas áreas, o mitigar dichos daños (Smallwood y Salmon 1992).

Bajo la hipótesis de que la ardilla *C. erythraeus* se comporta como una nueva especie perjudicial en Argentina, el objetivo de este trabajo es caracterizar y cuantificar el daño por descortezamiento que produce este mamífero exótico en diferentes especies forestales dentro del principal foco de invasión en el país.

MÉTODOS

El estudio fue realizado durante el invierno de 2014 en cuatro áreas forestales con vegetación natural o implantada en su mayoría de especies exóticas dentro del partido de Luján: 1) Club “El Timón”: 34° 35'35,68" S, 59° 11'13,43" O, con vegetación de ribera mixta, predominando casuarina (*Casuarina* sp.), acacia negra (*Gleditsia triacanthos*), ligustro (*Ligustrum lucidum*), sauce (*Salix* sp.), álamo (*Populus* spp.) y olmo (*Ulmus* spp.); 2) Establecimiento forestal “Liebres Fue” : 34° 36'12,1" S, 59° 11'32,1" O, con rodales de eucalipto blanco (*Eucalyptus dunnii*) de 5 y 18 años de edad, pino elliotti (*Pinus elliottii*), de 20 años de edad, y roble europeo (*Quercus robur* de 30 años de edad); 3) Predio Hospital Cabred: 34° 30'11" S, 59° 04'18" O, con lotes de *Q. robur*, cedro (*Cedrus deodara*), lotes mixtos de eucaliptos tereticornis (*Eucalyptus tereticornis*)/*G. triacanthos* y de ciprés (*Cupressus* sp.)/*Casuarina* sp. y, 4) “Arboretum” de la Universidad Nacional de Luján: 34° 35'39,61" S, 59° 04'31,01" O: implantado hace 31 años, con álamos (*Populus* spp.), *Eucalyptus* spp., roble europeo y castaños (*Castanea sativa*) (figura 1).

Se evaluaron 38 parcelas circulares en cuatro (4) áreas forestales: 1) siete parcelas de 150 m² con 12 – 33 árboles por parcela; 2) 12 parcelas de 150-250 m² con 2-18 árboles por parcela; 3) seis parcelas de 150 m² con 9-31 árboles por parcela y 4) 13 parcelas de 150 m² con 5-23 árboles por parcela) distribuidas aleatoriamente y separadas entre sí con un mínimo de 100 m, cubriendo un área efectiva de 6.300 m².

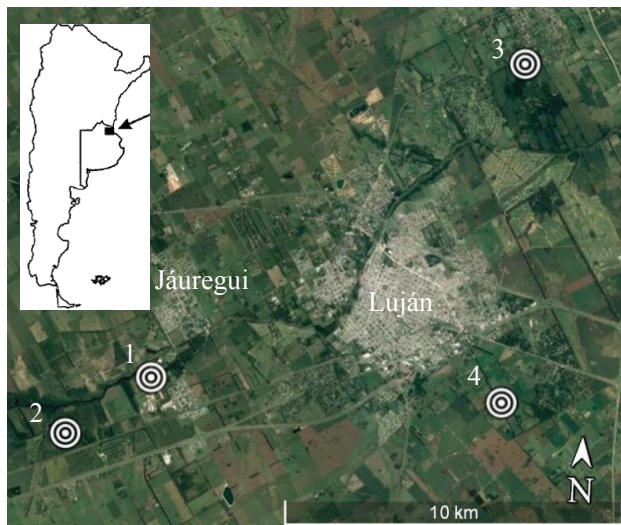


Figura 1. Área de estudio dentro del Partido de Luján (Buenos Aires, Argentina): 1) Club “El Timón”, 2) Establecimiento “Liebres Fue”, 3) Predio forestal “Hospital Cabred” y 4) “Arboretum” de la Universidad Nacional de Luján.

Study area in Lujan District (Buenos Aires, Argentina): 1) ‘El Timón’ recreational club, 2) ‘Liebres Fue’ productive land, 3) ‘Hospital Cabred’ forest land and 4) ‘Arboretum’ of National University of Luján.

En cada parcela se registró: especie arbórea, altura del árbol, diámetro a la altura del pecho (DAP), presencia y ubicación del daño (tronco o rama), altura e intensidad del daño (proporción de la longitud total del tronco afectada o proporción de la totalidad de las ramas afectadas) según seis categorías (1 - 5 %, 6 - 10 %, 11 - 25 %, 26 - 50 %, 51 - 75 %, 76 - 100 %), y forma de las heridas. Se realizó un análisis estadístico descriptivo de los datos considerando todos los árboles, se analizaron las frecuencias para evaluar la intensidad y altura mínima de daño, y se comparó con la prueba t de Student posibles diferencias en la altura y DAP de individuos descortezados y no descortezados.

RESULTADOS

Las ardillas descortezaron el 40,6 % del total de árboles (n = 542), y el 88 % de las especies registradas (n = 24) (cuadro 1). Las especies con más del 50 % de sus individuos dañados fueron *P. elliottii*, *C. sativa*, *Casuarina* sp., *Ulmus* spp., *C. deodara*, *Fraxinus* sp., *Salix babylonica*, *Morus nigra* y *Eucalyptus* spp. (*E. cinerea*, *E. dunnii*, *E. camaldulensis*) siendo variable el número de individuos de cada especie.

Las heridas se localizaron en el tronco, ramas o ambos, según la especie considerada. Se registraron dos tipos principales de heridas, pudiendo ambas estar presentes en los mismos árboles: 1) las longitudinales (con área variable, en sentido paralelo a la rama o tronco), presentes en todas las especies dañadas, y 2) heridas transversales (perpendiculares a la rama o tronco, que pueden en algunos casos anillarlos), registradas en siete especies arbóreas, siendo más frecuentes que las longitudinales en *E. camaldulensis* y *Casuarina* sp. En las heridas longitudinales recientes pudo observarse la corteza deshilachada (figura 2).

La intensidad del daño entre los individuos de una misma especie fue variable (cuadro 1). En 12 especies se registraron individuos con intensidades altas (categoría 5 o 6) en tronco o rama. Dentro de las especies de importancia comercial, por ejemplo, en robles, en más del 50 % de los individuos alcanzó una intensidad de 4 y 5 en tronco y rama (figura 3A). En pino, el 50 % de los árboles estuvo afectado a nivel de tronco, con una intensidad entre 3 y 4 (figura 3B). En salicáceas, la intensidad de daño fue mayor a nivel de tronco, alcanzando la categoría 3 en el 70 % de los individuos (figura 3C). En eucaliptos, casi un 5 % de los árboles fue dañado con categoría 5 (figura 3D).

En cuanto a la altura del daño, en el 57 % de los árboles se registró en troncos por debajo de los 5 m (figura 4A) y para *E. dunnii* el 64 % de los descortezados presentaron heridas por debajo de los 3 m de altura (figura 4B). En esta especie se observaron daños que originaron quebraduras con el consiguiente descope del individuo y posterior rebrote en la zona dañada.

Al comparar los árboles dañados (n = 220) y no dañados (n = 321), los individuos descortezados presentaron un DAP significativamente mayor ($\bar{x} = 0,254$ m) que los no

Cuadro 1. Porcentaje de individuos descortezados, ubicación del daño, forma de la herida, y rango de la intensidad del daño por especie.
 Percentage of debarked trees, location, shape and severity of wounds by species.

Especies de árboles	N° total de individuos	% de individuos dañados	Ubicación del daño (% de individuos)			Forma de la herida (% de individuos)		Rango de la intensidad de daño (%)	
			Tronco	Rama	Tronco y rama	Longitudinal	Transversal	Tronco	Ramas
<i>Araucaria bidwillii</i> Hook.	1	0	-	-	-	-	-	-	-
<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehn.	21	57	92	0	8	25	75	(1-75)	(51-75)
<i>Eucalyptus cinerea</i> Mueller	5	80	100	0	0	100	0	(1-25)	-
<i>Eucalyptus dunnii</i> Maiden	63	62	49	33	18	100	0	(1-50)	(1-50)
<i>Eucalyptus globulus</i> Labillardière	15	0	-	-	-	-	-	-	-
<i>Eucalyptus maidenii</i> F.Muell.	36	8	0	100	0	100	0	-	(6-10)
<i>Eucalyptus tereticornis</i> Sm.	12	17	0	100	0	50	50	-	(11-50)
<i>Eucalyptus viminalis</i> Hook.	3	0	-	-	-	-	-	-	-
Total <i>Eucalyptus</i> spp.	155	38	57	30	13	83	17	(1-75)	(1-75)
<i>Castanea sativa</i> Mill.	12	83	0	90	10	100	0	(11-25)	(1-75)
<i>Casuarina</i> sp. Miquel	33	70	30	13	57	22	78	(1-50)	(1-75)
<i>Cedrus deodara</i> Loudon	11	55	0	83	17	100	0	(1-5)	(1-50)
<i>Celtis tala</i> Gillies ex Planch.	13	8	0	100	0	100	0	-	(1-5)
<i>Cinnamomum glanduliferum</i> (Wall.) Meisn.	8	0	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cupressus</i> sp. L.	12	33	100	0	0	100	0	(6-50)	-
<i>Fraxinus</i> sp. L.	19	63	50	0	50	92	8	(11-75)	(51-100)
<i>Gleditsia triacanthos</i> L.	37	24	56	22	22	100	0	(1-50)	(1-75)
<i>Ligustrum lucidum</i> Buch.-Ham. ex Wall.	38	16	33	33	34	100	0	(6-50)	(6-75)
<i>Morus nigra</i> Trunb.	1	100	0	0	100	100	0	(11-25)	(51-75)
<i>Pinus elliottii</i> Engelm.	13	85	91	0	9	100	0	(1-50)	(51-75)
<i>Populus</i> spp. L.	43	28	8	84	8	92	8	(11-75)	(1-100)
<i>Quercus robur</i> Asso.	62	44	26	37	37	81	19	(1-75)	(1-75)
<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	18	22	0	100	0	100	0	-	(1-25)
<i>Salix babylonica</i> L.	39	59	22	65	13	61	39	(1-25)	(1-50)
<i>Salix</i> sp. L.	11	9	0	100	0	100	0	-	(26-50)
Total <i>Salix</i> spp.	50	48	21	67	12	62	38	(1-25)	(1-50)
<i>Ulmus</i> spp. L.	16	69	0	46	54	100	0	(6-100)	(6-75)

descortezados ($\bar{x} = 0,1950$ m) ($P < 0,001$), sin diferencias significativas respecto a la altura (descortezados: $\bar{x} = 17,7$ m; no descortezados: $\bar{x} = 17,8$ m) ($P = 0,923$).

DISCUSIÓN

Actividad de descortezado. *Callosciurus erythraeus* se comporta como una especie generalista en cuanto a las especies que daña, afectando un amplio espectro de árboles, además de otras plantas registradas en Argentina (Zubelzu *et al.* 2015). Las heridas fueron longitudinales o transversales en tronco y/o ramas, como fue descrito para esta y otras especies de ardillas (Hori *et al.* 2006, Mori *et al.* 2015), dependiendo de la especie arbórea considerada y de los motivos del descortezamiento, como ser obtener

material para la confección del interior de los nidos o la obtención de savia (Tamura y Ohara 2005).

Los árboles dañados presentaron un mayor DAP que los no dañados, por lo cual *C. erythraeus* podría representar una mayor amenaza con respecto a otros pequeños mamíferos, como fue postulado por Sullivan *et al.* (1993). En otros estudios se ha encontrado que las ardillas suelen descortezar árboles con edades intermedias, quizás relacionado a los grandes diámetros de los árboles muy añejos (Mayle *et al.* 2009). Son necesarios análisis complementarios para evaluar la selección de tamaños o cortezas arbóreas determinadas por parte de las ardillas.

Implicancias de la altura e intensidad de daño. Varias de las especies dañadas son de interés productivo forestal (eucaliptos, sauces, álamos y coníferas) y de uso agronómico u ornamental (robles y casuarinas). En este sentido, la altura del daño en los troncos, la proporción del tronco afectado (intensidad de daño) y la profundidad de las heridas, son factores importantes debido al potencial deterioro de la calidad de la madera de las especies forestales, pudiendo ser más graves las consecuencias cuando la madera se destina a usos sólidos (aserrío, debobinado).

Eucalyptus dunnii, una de las especies de eucaliptos más utilizada en la Argentina para uso de molienda, presenta daño en el fuste, con un 64 % de individuos con heridas por debajo de los 3 m de altura; se observaron además rebrotes y quebraduras, daño que podría tener graves consecuencias para el aprovechamiento de la madera, si bien esto no ha sido cuantificado en este trabajo. El daño ocasionado por las ardillas podría generar un debilitamiento inicial que deja a los árboles más susceptibles a roturas ocasionadas por el viento y a infecciones secundarias causadas por hongos u otros patógenos (Zhu *et al.* 1990).

En *E. tereticornis* y *E. camaldulensis*, en salicáceas y en *P. elliotii* se encuentran individuos con altas intensidades de daño (entre 50 % y 75 % del tronco o rama afectado); también se observa anillado y descope de individuos lo que podría tener un impacto negativo potencial en la sobrevida y calidad de esos individuos u obligar al productor a dirigir el producto sólo a molienda (Sullivan *et al.* 1993, Richter 2015), si bien es preciso cuantificar las pérdidas económicas. En el caso de *Q. robur*, en Argentina es una especie de importancia ornamental, siendo escasos los rodales dedicados a la producción; sin embargo, una de las áreas evaluadas pertenece a un rodal productivo por lo que el daño ocasionado podría afectar su calidad limitando su uso para aserrío.

Papel de la ardilla como potencial plaga forestal. Los resultados del presente trabajo indican que puede considerarse a la ardilla de vientre rojo como una especie dañina o perjudicial en su área de influencia, ya que ocasiona daños puntuales en plantaciones forestales. Teniendo en cuenta que estudios previos en Argentina muestran que presenta altas densidades (Benítez *et al.* 2013), que continúa dispersándose por causas naturales y antrópicas, y que carece de



Figura 2. Heridas ocasionadas por la ardilla de vientre rojo. (A) Herida longitudinal en tronco de *Pinus elliotii*, (B) heridas transversales en tronco de *Casuarina* sp., (C) heridas longitudinales en tronco de *Populus* spp., (D) herida longitudinal en rama de *Eucalyptus* sp., (E) herida longitudinal con deshilachado en rama de *Quercus robur*. Las flechas señalan la ubicación de las heridas.

Wounds caused by red-bellied squirrel. (A) Longitudinal wound in trunk of *Pinus elliotii*, (B) cross wounds in trunk of *Casuarina* sp., (C) longitudinal wounds in trunk of *Populus* spp., (D) longitudinal wound in branch of *Eucalyptus* sp., (E) longitudinal frayed wound in branches of *Quercus robur*. Arrows indicate location of damage.

depredadores naturales que puedan mitigar sus poblaciones, podría en algún momento alcanzar la “condición de plaga” (Monge 2007) y ser una amenaza para otras regiones forestales del país si continúa expandiéndose.

Este trabajo brinda información preliminar sobre aspectos cuantificables del daño ocasionado por *C. erythraeus* en las especies forestales presentes en el principal foco de invasión en Argentina. Futuros estudios que analicen los tejidos afectados y las pérdidas de volumen de madera permitirán evaluar la magnitud y consecuencias

del daño en términos económicos y su implicancia para las producciones comerciales.

AGRADECIMIENTOS

A las instituciones que permitieron el ingreso a sus establecimientos, Pamela Zobelzu, Borja Baguette Pereiro, Verónica Benitez y Cecilia Gozzi. Este trabajo fue financiado con un subsidio y Beca de Investigación otorgado por la Universidad Nacional de Luján.

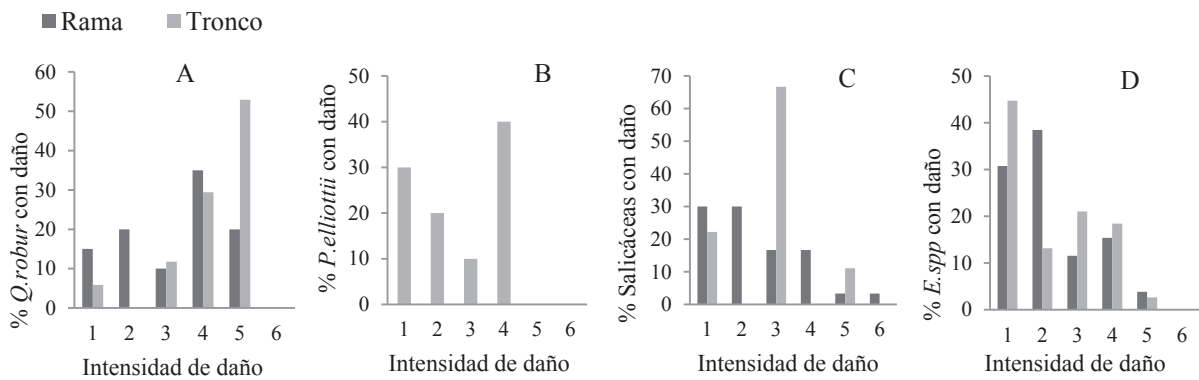


Figura 3. Porcentaje de árboles dañados en tronco y rama de (A) *Quercus robur*, (B) *Pinus elliottii*, (C) Salicaceae y (D) *Eucalyptus* spp., según las siguientes categorías: 1: (1-5 %), 2: (6-10 %), 3: (11-25 %), 4: (26-50 %), 5: (51-75 %), 6 (76-100 %).

Percentage of debarked poles and/or branches on (A) *Quercus robur*, (B) *Pinus elliottii*, (C) Salicaceae, and *Eucalyptus* spp. trees, according to different categories: (1: (1-5 %), 2 (6-10 %), 3: (11-25 %), 4: (26-50 %), 5 (51-75 %), 6 (76-100 %)).

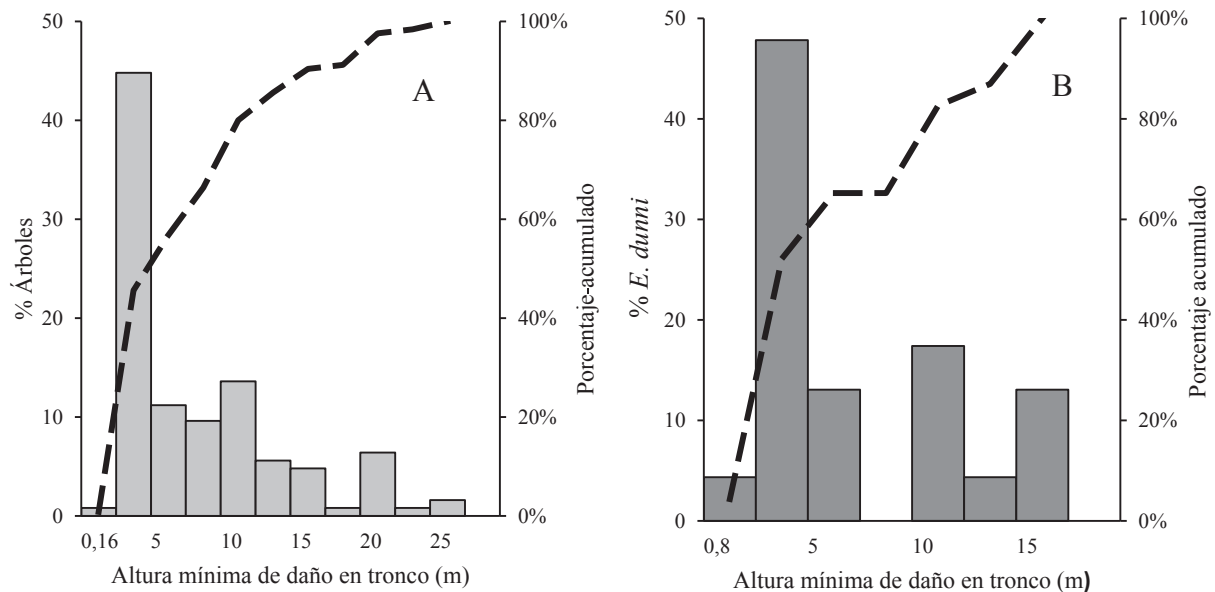


Figura 4. Porcentaje de individuos con tronco descortezado a distintas clases de altura mínima, considerando (A) todos los árboles muestreados y (B) *Eucalyptus dunnii*. La línea punteada indica el porcentaje acumulado.

Percentage of debarked trees at minimum height classes considering (A) all individuals and (B) *Eucalyptus dunnii*. The dotted lines indicate the cumulative percentage.

REFERENCIAS

- Aprile G, D Chicco. 1999. Nueva especie exótica de mamífero en la Argentina: la ardilla de vientre rojo (*Callosciurus erythraeus*). *Mastozoología Neotropical* 6(1): 7-14.
- Benítez VV, S Almada Chavez, AC Gozzi, ML Messetta, ML Guichón. 2013. Invasion status of Asiatic red-bellied squirrels in Argentina. *Mammalian Biology* 78: 164-170.
- Bertolino S, P Lurz. 2013. *Callosciurus* squirrels: worldwide introductions, ecological impacts and recommendations to prevent the establishment of new invasive populations. *Mammalian review* 43: 22-33.
- Gozzi AC, ML Guichón, VV Benítez, GN Romero, C Auteri, B Brihuega. 2013. First isolation of *Leptospira interrogans* from the introduced arboreal squirrel *Callosciurus erythraeus* (Rodentia: Sciuridae) introduced in Argentina. *Wildlife Biology* 19(4): 483-489.
- Guichón ML, M Bello, L Fasola. 2005. Expansión poblacional de una especie introducida en la Argentina: la ardilla de vientre rojo *Callosciurus erythraeus*. *Mastozoología Neotropical* 12: 189-197.
- Guichón ML, VV Benítez, AC Gozzi, M Hertzriken, M Borgnia. 2015. From a lag in vector activity to a constant increase of translocations: invasion of *Callosciurus* squirrels in Argentina. *Biological Invasions* 17(9): 2597-2604.
- Hori M, M Yamada, N Tsunoda. 2006. Line census and gnawing damage of introduced Formosan squirrels (*Callosciurus erythraeus taiwanensis*) in urban forests of Kamakura, Kanagawa, Japan. In Koike F, MN Clout, M Kawamichi, M de Poorter, K Iwatsuki eds. *Assessment and Control of Biological Invasion Risks*. Kyoto, Japan. Shoukadoh. p. 204-209.
- Mayle B, Proudfoot J, Poole J. 2009. Influence of tree size and dominance on incidence of bark stripping by grey squirrels to oak and impact on tree growth. *Forestry* 82 (4): 431-444.
- Messetta ML, FA Milesi, ML Guichón. 2015. Impacto de la ardilla de vientre rojo sobre la comunidad de aves en la Región Pampeana, Argentina. *Ecología Austral* 25: 37-45.
- Monge J. 2007. ¿Qué son las plagas vertebradas? *Agronomía Costarricense* 31(2): 111-121.
- Mora-Ascencio P, A Mendoza-Durán, C Chávez. 2010. Densidad poblacional y daños ocasionados por la ardilla *Sciurus aureogaster*: implicaciones para la conservación de los viveros de Coyoacán, México. *Revista Mexicana de Mastozoología* 14: 7-22.
- Mori E, PJ Mazzoglio, PC Rima, G Aloise, S Bertolino. 2015. Bark-stripping damage by *Callosciurus finlaysonii* introduced into Italy. *Mammalia* 80(5): 507-514.8 p. DOI: 10.1515/mammalia-2015-0107.
- Núñez CE. 2007. Morfología Fibrosa de la Madera del Eucalyptus Grandis Implantado en La Mesopotamia Argentina. 1. Atributos biométricos. *Revista Ciencia y Tecnología* 9(9): 36-43.
- Richter C. 2015. Vertebrates: Browsing, fraying, and stripping damage. In Richter C ed. *Wood Characteristics. Description, Causes, Prevention, Impact on Use and Technological Adaptation*. Cham, Switzerland. Springer. p. 139-147. DOI 10.1007/978-3-319-07422-1.
- Smallwood KS, TP Salmon. 1992. A rating system for potential exotic vertebrate pests. *Biological Conservation* 62: 149-159.
- Sullivan TD, H Coates, LA Jozsa, PK Diggle. 1993. Influence of feeding damage by small mammals on tree growth and wood quality in young lodgepole pine. *Canadian Journal of Forest Research* 23 (5): 799-809.
- Tamura N, Ohara S. 2005. Chemical components of hardwood barks stripped by the alien squirrel *Callosciurus erythraeus* in Japan. *Journal of Forestry Research* 10: 429-433.
- Yin S, Z Wen, J Ran, K Tang. 2010. Damage of *Callosciurus erythraeus* in Planted Forests. *Sichuan Journal of Zoology* 3: 69-76.
- Zhu Y, W Zhang, X Zhu. 1990. Bark-stripping damage to forest trees by red-bellied tree squirrel (*Callosciurus erythraeus*) in Zhejiang Province. *Acta Theriologica* 10: 276-281.
- Zubelzu P, M Hertzriken, V Benítez y M Borgnia. 2015. Ardillas de vientre rojo: descortezado de la comunidad arbórea ocasionado por esta especie introducida. In II Jornadas Patagónicas de Ciencias Ambientales. Trelew, Chubut, Argentina. 23-25 septiembre. s/p.

Recibido: 03.11.16
Aceptado: 18.04.17

Roosting records in tree cavities by a forest-dwelling bat species (*Histiotus magellanicus*) in Andean temperate ecosystems of southern Chile

Registro de utilización de cavidades de árboles como refugios por un murciélago de bosque
(*Histiotus magellanicus*) en ecosistemas templados andinos del sur de Chile

Tomás A Altamirano ^{a,b,*}, José Tomás Ibarra ^{a,b,c}, Fernando Novoa ^a,
Alejandra Vermehren ^a, Kathy Martin ^{b,d}, Cristián Bonacic ^a

*Corresponding author: ^aPontificia Universidad Católica de Chile, School of Agriculture and Forest Sciences, Department of Ecosystems and Environment, Fauna Australis Wildlife Laboratory, Vicuña Mackenna 4860 PC 7820436, Santiago, Metropolitan Region, Chile, tel.: 562 23544169, taaltami@uc.cl

^bUniversity of British Columbia, Department of Forest and Conservation Sciences, Centre for Applied Conservation Research, 2424 Main Mall, V6T 1Z4 Vancouver, British Columbia, Canada.

^cPontificia Universidad Católica de Chile, Villarrica Campus, Centre for Local Development, Education and Interculturality (CEDEL), Bernardo O'Higgins 501, Villarrica, La Araucanía Region, Chile.

^dEnvironment and Climate Change Canada, Pacific Wildlife Research Centre, 5421 Robertson Road, V4K 3N2 Delta, British Columbia, Canada.

SUMMARY

Tree cavities can provide critical roosting sites for cavity-using vertebrates. These sites can directly affect productivity and survival of bats. *Histiotus magellanicus*, one of the bat species with the southernmost distribution in the world, is suspected to use tree cavities, under bark, caves and human buildings for roosting. We document the first records of this bat roosting in tree cavities created by both cavity-facilitators (*i.e.*, excavators) and tree-decay processes on standing dead and large decaying trees in Andean temperate forests, southern Chile. Our records contribute to improve current knowledge of roosting habitat of *H. magellanicus*. We discuss these natural history records on roosting site selection and the potential importance of tree cavities for this species in southern temperate ecosystems.

Key words: cavity-facilitator, *Histiotus magellanicus*, *Pygarrhichas albogularis*, snags, Southern Big-eared Brown Bat.

RESUMEN

Las cavidades en árboles pueden proveer importantes sitios de refugio para vertebrados que utilizan cavidades. Estos sitios pueden afectar directamente la productividad y sobrevivencia de murciélagos. *Histiotus magellanicus*, una de las especies de murciélago con la distribución más austral en el mundo, supuestamente se refugia en cavidades de árboles, bajo la corteza, en cuevas y en construcciones humanas. En este trabajo documentamos los primeros registros de esta especie refugiándose en cavidades de árboles, que fueron creadas por excavación y por procesos de descomposición, en árboles muertos en pie y vivos en estado de descomposición avanzado en los bosques templados andinos, sur de Chile. Nuestros registros contribuyen a ampliar el actual conocimiento de refugios utilizados por *H. magellanicus*. Discutimos estos registros de historia natural sobre selección de sitios de refugio y el potencial rol de cavidades de árboles para esta especie en los ecosistemas templados del sur de Sud América.

Palabras clave: árboles muertos, facilitador de cavidades, *Histiotus magellanicus*, murciélago café orejudo del sur, *Pygarrhichas albogularis*.

INTRODUCTION

Most of the 1300 bat species in the world use tree cavities, caves and human buildings for roosting (Iriarte 2008, Voigt and Kingston 2016). Roosting sites are critical habitat structures because most bat species spend at least 50 % of their time inside these sites (Kunz 1982). Bat productivity and survival can depend directly on the

quantity and quality of roosting sites (O'Donnell and Sedgely 2006). Bat populations may be limited by shortage of suitable sites for roosting in degraded and deforested ecosystems (Mickleburgh *et al.* 2002, Evelyn and Stiles 2003). Indeed, land use change has been reported as the most important threat for bat species; specifically, forest loss has the highest relative importance (50 %) among threats for bat conservation (Voigt and Kingston

2016). Bats are secondary cavity-users that roost either in excavated cavities (*i.e.*, created by cavity-facilitators) or in those produced by tree decay processes (Martin and Eadie 1999). For example, 73 % of the cavities used for roosting by *Eptesicus fuscus* Palisot de Beauvois 1796 were facilitated by sapsuckers and woodpeckers in Saskatchewan, Canada (Kalcounis and Brigham 1998). On the other hand, in New Zealand, 100 % of the cavities used for roosting by *Chalinolobus tuberculatus* Forster 1844 were located in decay-formed cavities (Sedgeley and O'Donnell 1999). These cavity creation processes could play an important role on roosting site facilitation for bat species.

Histiotus magellanicus Philippi 1866, one of the 13 bat species present in Chile, has the southernmost distribution in the world (Mann 1978, Ossa *et al.* 2014, Sierra-Cisternas and Rodriguez-Serrano 2015). This insectivorous bat is endemic to temperate forests of South America, inhabiting Chile and Argentina from 36° to 55° south latitude (Mann 1978, Massoia and Chebez 1993, Ossa and Díaz 2014). It has been suggested that *H. magellanicus* uses tree cavities, under bark, caves and human buildings for roosting (Muñoz-Pedrerros and Yañez 2000, Galaz and Yañez 2006). However, confirmed roosting records for this austral bat are still lacking (Giménez *et al.* 2012, Ossa and Díaz 2014). This species has a distinctive tolerance to low temperatures in austral regions, entering into winter torpor inside roosting sites to survive adverse conditions (Massoia and Chebez 1993, Galaz and Yañez 2006). Tree-cavities provide protection against fluctuations in ambient temperature, humidity and predators (Kunz 1982). Thus, the availability of suitable cavities for roosting in areas undergoing rapid degradation and deforestation could play an important role in the ecology and persistence of this species. Here, we document the first confirmed records of *H. magellanicus* roosting in tree cavities. Specifically, this study provides a detailed characterization of roosting site selection at three scales (*i.e.*, cavity, tree and stand) in Andean temperate forests.

METHODS

We searched for nests and/or roosting sites at 15 forest stands (each with an area of at least 20 ha) in Andean temperate forests of La Araucanía Region, Chile (39°16'28" S, 51°53'23" W). During two breeding seasons (2015–2016 and 2016–2017), we spent about six hours daily, six days per week, from November to January looking for nests or roosting sites of cavity-using vertebrate species.

When we found a cavity being used by a bat, we monitored this cavity every 3–4 days utilizing a video camera cavity-monitoring system. By the end of the field season, we quantified roosting site characteristics at three scales: (a) cavity-scale: origin (excavated or decay-formed processes), height, entrance orientation, cavity entrance width and height, vertical and horizontal depth; (b) tree-scale:

tree species, diameter at breast height (DBH), diameter at cavity height (DCH), vine and epiphyte cover, decay stage of roosting tree (decay classes: 1: live and healthy tree; 2: live and unhealthy tree; 3: standing dead tree in progressive states of decay; adapted from Thomas *et al.* 1979); (c) stand-scale: forest successional stage (early = 4–35 years old; mid = 36–100 years old; late = >100 years old), slope, canopy cover, understory cover, density of trees with DBH > 12.5 cm, signs of recent human activity (grazing, fire and logging).

RESULTS

On 25 November 2015, we found an individual of *H. magellanicus* roosting in a tree cavity previously excavated by *Pygarrhichas albogularis* (King, 1831: Furnariidae) for nesting. The bat species was identified based on its body size, dark color, the length of the ears (< 25 mm) and the distinct “ventral decubitus” rest position (Galaz and Yañez 2006, Díaz *et al.* 2011; figure 1A). The tree cavity was located in a standing dead *Lophozonia obliqua* (Mirb.) Heenan *et* Smissen tree (= *Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst.). The tree was in an advanced stage of decay (*i.e.*, broken top, no branches, < 75 % of bark and rotten soft wood; figure 1A) (table 1, roost 1). We did not record a bat roosting in this cavity during subsequent cavity checks: eight checks between 29 November 2015 and 18 January 2016, and four checks between 25 November 2016 and 26 December 2016.

On 05 November 2016, we registered six *H. magellanicus* roosting in a decay-formed tree cavity available in a *Nothofagus dombeyi* tree (Mirb.) Oerst. (figure 1B) (table 1, roost 2). In contrast to the previous excavated cavity, the interior chamber was facing up from the entrance in the decay-formed one. Four days later (09 November), four individuals were roosting in the cavity. On 12 November, we did not record any individual inside the cavity; on 16 November was the last time we recorded individuals (four) roosting in this cavity. During the following cavity checks (21, 24 and 28 November, and 01, 05, 09, 14, 16, 19, 23, and 28 December) we did not record any bat inside the cavity.

On 26 December 2016, we recorded three individuals of *H. magellanicus* roosting in a decay-formed cavity in a *L. obliqua* tree (figure 1C) (table 1, roost 3). On 28 December 2016, we found 10 adults and five pups of *H. magellanicus* roosting in a decay-formed cavity in a standing dead *N. dombeyi* tree (figure 1D) (table 1, roost 4). We never recorded bats inside this cavity in 2015–2016 and 2016–2017, despite there were 28 and 11 previous visits to this tree cavity respectively.

DISCUSSION

Our records contribute to improve current knowledge of roosting habitat of *H. magellanicus* in southern tem-

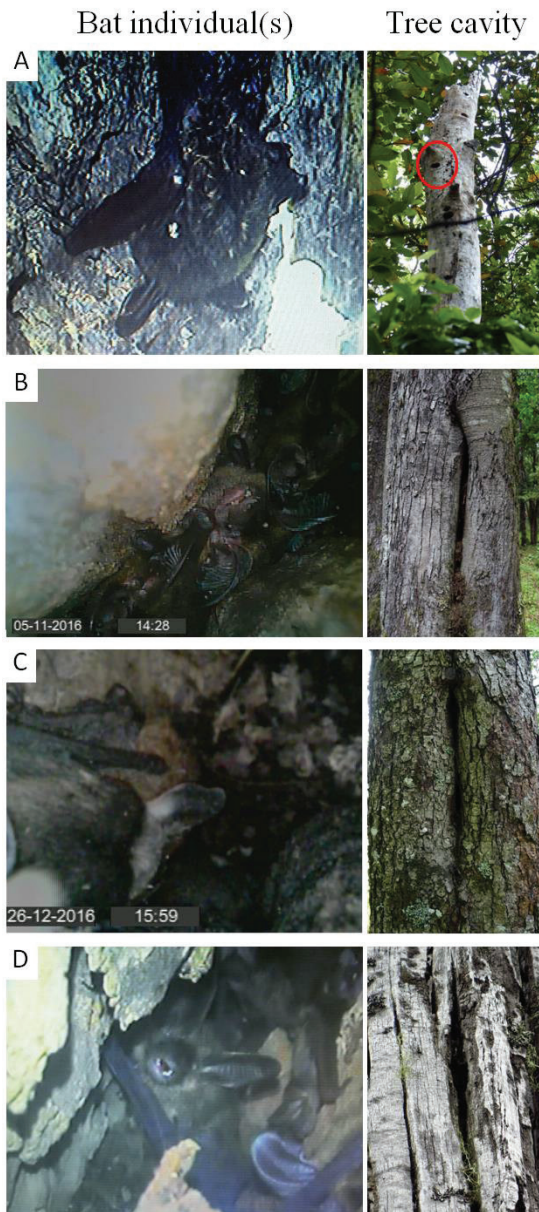


Figure 1. *Histiotus magellanicus* roosting in tree cavities in Andean temperate forests, southern Chile. Bat individual roosting in an excavated tree cavity in a standing dead *Lophozonia obliqua* tree (A). Bat individuals roosting in a decay-formed cavity in a live decaying *Nothofagus dombeyi* tree (B). Bat individuals roosting in a decay-formed cavity in a live decaying *Lophozonia obliqua* tree (C). Bat individuals roosting in a decay-formed cavity in a dead standing *Nothofagus dombeyi* tree (D).

Histiotus magellanicus refugiándose en cavidades de árboles en los bosques templados andinos, sur de Chile. Murciélago refugiándose en una cavidad excavada en un *Lophozonia obliqua* muerto en pie (A). Murciélagos refugiándose en una cavidad formada por descomposición en un *Nothofagus dombeyi* vivo no sano (B). Murciélagos refugiándose en una cavidad formada por descomposición en un *Lophozonia obliqua* vivo no sano (C). Murciélagos refugiándose en una cavidad formada por descomposición en un *Nothofagus dombeyi* muerto en pie (D).

perate forests (Sierra-Cisternas and Rodríguez-Serrano 2015). Roosting bats used cavities formed by excavation and tree decay. The use of cavities formed by these two processes is similar to the one reported for four forest-dwelling bats (*E. fuscus*, *Lasionycteris noctivagans* Le Conte 1831, *Myotis evotis* H. Allen 1864 and *Myotis volans* H. Allen 1866) in northern temperate forests, where 76 % were decay-formed cavities and 24 % were cavities excavated by woodpeckers (Vonhof and Barclay 1996). Most tree-cavities (73 %) used for roosting by *E. fuscus* were excavated by sapsuckers and woodpeckers in Saskatchewan, Canada (Kalcounis and Brigham 1998). In southern temperate forests, *P. albogularis*, an endemic relatively small body-sized bird species (25.6 g) (Ibarra and Martin 2015), could play an important role as cavity facilitator in secondary and disturbed forest-stands, where the density of tree-cavities is 2.5 times lower than in old-growth forests (Altamirano 2014).

The fact that *H. magellanicus* was recorded roosting in standing dead and large decaying trees, coincides with the pattern documented for other forest-dwelling bat species, which used the largest trees available in their stands as roosting sites (Lewis 1995). For example, all trees used for roosting by *H. magellanicus* were larger than the average tree-size available in their stands (average DBH = 22.2 cm, Altamirano 2014). Furthermore, bats were found roosting in standing dead trees in 50 % of our roosting records; despite trees in this decay stage represent only 12 % of total trees available in their stands (Altamirano 2014). These structural components may be essential “habitat legacies” (Perry and Amaranth 1997), for forest-dwelling bats inhabiting southern temperate forests. With forest loss as the main threat for many bat species (Voigt and Kingston 2016), and with only 30 % of the original vegetation cover remaining in temperate forests of South America (Myers *et al.* 2000), our few records could be suggesting an important role of standing dead and large decaying trees for *H. magellanicus* populations.

Histiotus magellanicus inhabits the whole distribution of temperate forests of South America (Mann 1978, Massoia and Chebez 1993, Ossa and Díaz 2014). These forests include the seasonally irruptive and topographically complex Andean ecosystems located at the southern cone of the continent. In these locations, roosting in tree cavities may provide a reliable protection to deal with adverse climatic conditions (*e.g.*, low temperatures, snow and storms). However, further research is needed to better understand the patterns of tree cavity-roosting of *H. magellanicus* and other sympatric forest-dwelling bats in southern temperate ecosystems (*e.g.*, *Lasiurus varius* Poeppig 1835, *Myotis chilensis* Waterhouse 1840, *Tadarida brasiliensis* I. Geoffroy 1824; Mann 1978). The costs and benefits of roosting, and likely breeding, in excavated or decay-formed tree cavities by bats also provide fruitful avenues for further studies.

Table 1. Characteristics of roosting sites (at three scales: cavity, tree and stand) used by *Histiotus magellanicus* in Andean temperate forests, Chile.

Características de los sitios de refugio (a tres escalas: cavidad, árbol y rodal) usados por *Histiotus magellanicus* en los bosques templados Andinos, Chile.

VARIABLE	Roost 1	Roost 2	Roost 3	Roost 4
Cavity				
Origin	Excavated*	Decay-formed	Decay-formed	Decay-formed
Cavity height (m)	8.3	1.6	1.4	6.9
Entrance orientation (°)	180	257	188	260
Entrance width (cm)	5.0	3.0	2.5	2.0
Entrance height (cm)	4.0	18.0	43.0	8.0
Horizontal cavity depth (cm)	7.0	11.0	11.0	11.0
Vertical cavity depth (cm)	15.0	51.0	13.0	15.0
Tree				
Species	<i>L. obliqua</i>	<i>N. dombeyi</i>	<i>L. obliqua</i>	<i>N. dombeyi</i>
Diameter at cavity height (cm)	28.0	41.4	58.9	70.0
Diameter at breast height (cm)	28.6	43.2	59	77.6
Decay class	3	2	2	3
Vine and epiphyte cover (%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Stand				
Type	Mid-successional	Mid-successional	Mid-successional	Mid-successional
Slope (%)	23	23	0	0
Canopy cover (%)	80	55	80	10
Understory cover (%)	65	20	35	10
Tree density (#/Ha)	1,473	609	102	279
Signs of human impact ^Δ	G, F	G, F, L	G	G, F, L

* Cavity excavated by *Pygarrhichas albogularis*. ^ΔG: Grazing, F: Fire, and L: Logging.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by Rufford Small Grants for Nature Conservation (14397-2), Vicerrectoría de Investigación from the Pontificia Universidad Católica de Chile (Internationalization Grant Agreement PUC1566-MINEDUC), and “NETBIOAMERICAS” CONICYT/Apoyo a la Formación de Redes Internacionales entre Centros de Investigación (REDES150047), and CONICYT/FONDECYT de Inicio (11160932). We thank H. Jaillard, J. Lee, R. Godoy, C. Rivas, F. Villalobos, L. Iturra, P. Aspillaga, G. Gómez, V. Salinas, A. Contador for valuable assistance in the field during the 2015-2016 and 2016-2017 breeding seasons. TAA is supported by Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT, award number 74160073).

REFERENCES

Altamirano TA. 2014. Breeding ecology of cavity-nesting birds in the Andean temperate forest of southern Chile. PhD Dis-

sertation. Santiago. Chile. Department of Ecosystems and Environment, School of Agriculture and Forest Sciences, Pontificia Universidad Católica de Chile. 145 p.
 Díaz MM, LF Aguirre, RM Barquez. 2011. Clave de identificación de los murciélagos del cono sur de Sudamérica. Cochabamba, Bolivia. Imprenta ETREUS. 94 p.
 Evelyn MJ, DA Stiles. 2003. Roosting requirements of two frugivorous bats (*Sturnira lilium* and *Arbeteus intermedius*) in fragmented Neotropical forest. *Biotropica* 35(3): 405-418.
 Galaz JL, Yañez J. 2006. Los murciélagos de Chile: Guía para su reconocimiento. Santiago, Chile. Ediciones del Centro de Ecología Aplicada. 80 p.
 Giménez AL, NP Giannini, MI Schiaffini, GM Martin. 2012. New records of the rare *Histiotus magellanicus* (Chiroptera, Vespertilionidae) and other bats from central Patagonia, Argentina. *Mastozoología Neotropical* 19(2): 213-224.
 Ibarra JT, K Martin. 2015. Biotic homogenization: Loss of avian functional richness and habitat specialists in disturbed Andean temperate forests. *Biological Conservation* 192: 418-427.
 Iriarte A. 2008. Mamíferos de Chile. Barcelona, España. Lynx Edicions. 420 p.

- Kalcounis MC, RM Brigham. 1998. Secondary use of aspen cavities by tree-roosting big brown bats. *Journal of Wildlife Management* 62: 603-611.
- Kunz TH. 1982. Roosting Ecology of Bats. In Kunz TH ed. *Ecology of Bats*. New York, USA. Plenum Publishing Corporation. p. 1-55.
- Lewis SE. 1995. Roost fidelity of bats: a review. *Journal of Mammalogy* 76: 481-496.
- Mann G. 1978. Los pequeños mamíferos de Chile: marsupiales, quirópteros, edentados y roedores. Santiago, Chile. Editorial Universitaria. 342 p.
- Martin K, JM Eadie. 1999. Nest webs: a community-wide approach to the management and conservation of cavity-nesting forest birds. *Forest Ecology and Management* 115(2): 243-257.
- Massoia E, JC Chebez. 1993. Mamíferos silvestres del archipiélago fueguino. Buenos Aires, Argentina. L.O.L.A. 261 p.
- Mickleburgh SP, AM Hutson, PA Racey. 2002. A review of the global conservation status of bats. *Oryx* 36(1): 18-34.
- Muñoz-Pedreras A, J Yañez. 2000. Mamíferos de Chile. Temuco, Chile. Ediciones Centro de Estudios Agrarios. 464 p.
- Myers N, Mittermeier RA, CG Mittermeier, GA da Fonseca, J Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403(6772): 853-858.
- O'Donnell CF, JA Sedgeley. 2006. Causes and consequences of tree-cavity roosting in a temperate bat, *Chalinolobus tuberculatus*, from New Zealand. In Zubaid A, McCracken GF, Kunz TH eds. *Functional and Evolutionary Ecology of Bats*. Oxford, UK. Oxford University Press. p. 308-328.
- Ossa G, C Bonacic, RM Barquez. 2014. First record of *Histiotus laeophotis* (Thomas, 1916) from Chile and new distributional information for *Histiotus montanus* (Philippi and Landbeck, 1861) (Chiroptera, Vespertilionidae). *Mammalia* 79(4): 457-461.
- Ossa G, F Díaz. 2014. *Histiotus magellanicus* (Philippi 1866), un ignorado dentro de la mastofauna chilena. *La Chiricoca* 17: 4-6.
- Perry DA, MP Amaranth. 1997. Disturbance, recovery, and stability. In Kohm KA, Franklin JF eds. *Creating a forestry for the 21st century, the science of ecosystem management*. Washington DC, USA. Island Press. p. 31-56.
- Sedgeley JA, CF O'Donnell. 1999. Roost selection by the long-tailed bat, *Chalinolobus tuberculatus*, in temperate New Zealand rainforest and its implications for the conservation of bats in managed forests. *Biological Conservation* 88(2): 261-276.
- Sierra-Cisternas C, E Rodriguez-Serrano. 2015. Los quirópteros de Chile: avances en el conocimiento, aportes para la conservación y proyecciones futuras. *Gayana* 79(1): 57-67.
- Thomas JW, RG Anderson, C Maser, EL Bull. 1979. Snags. In Thomas JW ed. *Wildlife habitats in managed forests: the Blue Mountains of Oregon and Washington*. Washington DC, USA. U.S.D.A. Forest Service Agriculture Handbook No. 553. p. 66-77.
- Voigt CC, T Kingston. 2016. Bats in the anthropocene: conservation of bats in a changing world. New York, USA. Springer Open. 606 p.
- Vonhof MJ, RMR Barclay. 1996. Roost-site selection and roosting ecology of forest-dwelling bats in southern British Columbia. *Canadian Journal of Zoology* 74(10): 1797-1805.

Recibido: 23.01.17
Aceptado: 27.04.17

Instrucciones para los autores de la revista Bosque, proceso de publicación y políticas para los árbitros

Actualización de fecha: agosto 2011

Instrucciones para los autores

Bosque es una revista científica que publica trabajos originales relacionados con el manejo y producción de recursos forestales, ciencias y tecnología de la madera, silvicultura, ecología forestal, conservación de recursos naturales y desarrollo rural asociados con los ecosistemas forestales. Las fechas de publicación son en abril, agosto y diciembre de cada año. Las contribuciones podrán ser en las modalidades de artículos, revisiones, notas u opiniones, en castellano o inglés.

- *Artículos.* Informan acerca de investigaciones inéditas de carácter científico que proyectan el conocimiento actualizado en un campo particular contemplado en los ámbitos de la revista y están sustentados en datos procedimentales propios o generados a partir de otros estudios publicados. La extensión máxima de los manuscritos será de 8.000 palabras, considerando todo su contenido (incluye todos los archivos del manuscrito con sus contenidos completos).
- *Revisiones.* Síntesis y discusión de la información científica más actual con respecto a un tema relevante en el ámbito de la revista. La extensión máxima de los manuscritos será de 8.000 palabras, considerando todo su contenido.
- *Opiniones.* Analizan, desde un punto de vista personal o con apoyo bibliográfico, un tema de actualidad relacionado con el carácter de la revista. La extensión máxima de los manuscritos será de 3.000 palabras, considerando todo su contenido.
- *Notas.* Describen metodologías o técnicas nuevas en el ámbito de la revista, o bien informan acerca de investigaciones en desarrollo, con resultados preliminares. La extensión máxima de los manuscritos será de 3.000 palabras, considerando todo su contenido.

Estructura de los manuscritos

La organización de artículos y notas debe seguir la siguiente estructura:

- *Título.* El título debe ser preciso y conciso. Elegir con mucho cuidado todas las palabras del título; su asociación con otras palabras debería ser cuidadosamente revisada. Debido al acceso internacional de la revista, se recomienda incluir en el título información relevante sobre la localización geográfica del estudio cuando corresponda.

- *Autores.* Indicar el nombre y apellido de todos los autores con letras minúsculas, con las letras iniciales en mayúscula. Separar los autores con coma. Ordene cada dirección mencionando los datos necesarios, primero la institución matriz (por ejemplo, la universidad) y luego las dependencias dentro de aquella en orden decreciente (por ejemplo, facultad, departamento, laboratorio); a continuación indique la ciudad y el país de residencia del autor. Aplique el formato del siguiente ejemplo:

Nombre1 Apellido1^a, Nombre2 Apellido2^{b*}, Nombre3 Apellido3^{a,b}

^aUniversidad Uuu, Facultad Ffff, Departamento de Dddd, Ciudad, País.

*Autor de correspondencia: ^bInstituto de Iiiii, Departamento de Dddddd, Nombre de calle y número, Ciudad, País, tel.: 56-63-2221056, correo@electronico.cl

- *Resumen.* Debe contener el planteamiento del problema, el objetivo, fundamentos metodológicos, resultados y conclusiones más relevantes, con un máximo de 250 palabras. Evite descripciones largas de métodos y no incluya citas bibliográficas ni los niveles de significancia estadística.
- *Palabras clave.* Como máximo cinco palabras (puede incluir una o dos frases breves de un máximo de tres palabras) que identifiquen claramente el tema del trabajo. Se sugiere usar nuevas palabras no incluidas en el título del manuscrito.
- *Introducción.* Comprende planteamiento del problema, importancia del tema, hipótesis si compete, objetivos, alcances del trabajo y limitaciones para su desarrollo, si es que las hubo. En este capítulo se realizará una síntesis e interpretación de la literatura relacionada directamente con el título y objetivos del trabajo.
- *Métodos.* Proveerá información suficiente y concisa de manera que el problema o experimento pueda ser reproducido o fácilmente entendido por especialistas en la materia. Deberán señalarse claramente las especificaciones técnicas y procedencia de los materiales usados, sin describir materiales triviales. Los organismos bióticos deberán ser convenientemente identificados de acuerdo con las normas internacionales que correspondan. En los métodos empleados se deberá señalar claramente el procedimiento experimental o de captación de datos y los métodos estadísticos, así

como los programas computacionales. Si el método no fuese original, se indicará bibliográficamente; si fuera original o modificado se describirá convenientemente. En cualquier caso, la presentación de varios métodos será cronológica.

- **Resultados.** Incluye la presentación sintética, ordenada y elaborada de la información obtenida. Entrega resultados en forma de texto escrito con apoyo de cuadros y figuras, si corresponde, conjuntamente con análisis e interpretación de los datos. Se deberá evitar tanto la repetición de detalles dados en otros capítulos como la descripción de aquello que sea evidente al examinar los cuadros o figuras que se presenten.
- **Discusión.** Incluye la interpretación integrada de los resultados y, cuando corresponda, la comparación de ellos con los de publicaciones previas. Es un análisis crítico de los resultados de acuerdo con los objetivos y la hipótesis, si fuera el caso. Debe comentarse el significado y la validez de los resultados, de acuerdo con los alcances definidos para el trabajo y los métodos aplicados. En este capítulo no deberán repetirse los resultados obtenidos.
- **Conclusiones.** Podrán ser incluidas en un capítulo único de conclusiones o bien integradas en la discusión. En caso de presentarlas como un capítulo, se incluirán allí en forma precisa y concisa aquellas ideas más relevantes que se deriven directamente de lo aportado por el trabajo. Deben dar respuesta a las hipótesis o a los objetivos planteados en la introducción. Deben redactarse en forma clara y objetiva sin incluir citas bibliográficas. Pueden incluir recomendaciones para trabajos futuros.
- **Agradecimientos.** En este acápite se deberán mencionar brevemente a personas e instituciones que contribuyeron con financiamiento u otro tipo de colaboración para la realización del trabajo.
- **Referencias.** Se indicarán las referencias de todas las citas bibliográficas señaladas en el texto, ordenadas alfabéticamente. La precisión y la veracidad de los datos entregados en las referencias bibliográficas son responsabilidad del o los autores de las contribuciones y deben corresponder a publicaciones originales. El número máximo de referencias será de 25 para artículos, notas y opiniones, y de 40 para revisiones. Utilice literatura moderna, relevante y directamente relacionada con su trabajo. Por lo menos 2/3 de las referencias deberán corresponder a revistas científicas de corriente principal.

Para las modalidades de revisión y opinión no se exige seguir la estructura indicada anteriormente. En todo caso, deben contener las secciones de título, autores, resumen, palabras clave, introducción, el desarrollo del trabajo adecuadamente dividido en capítulos, agradecimientos y referencias.

Estilo y formato

En general, el resumen, métodos y resultados del manuscrito deberán estar redactados en tiempo pasado, y la introducción, discusión y conclusiones en tiempo presente. Use tiempo presente cuando se refiera a resultados publicados previamente, esto ayuda a diferenciar entre los hallazgos de su estudio (tiempo pasado) y los hallazgos de otros estudios. En el texto no utilice acrónimos ni abreviaturas, escriba el nombre completo de las cosas; las excepciones que se pueden utilizar son aquellas de dominio global como, por ejemplo, ADN, pH, CO₂ y muy pocas otras. Tampoco utilice en el texto los símbolos de los elementos químicos. Acate las reglas gramaticales en todo el manuscrito, incluidos cuadros y figuras.

El trabajo debe estar escrito en hojas tamaño carta (279 x 216 mm), con márgenes de 2 cm por lado, interlineado a espacio y medio, letra Times New Roman, tamaño 12 puntos, con numeración de página en el extremo inferior derecho y número de línea correlativo para todo el trabajo, a la izquierda. Separar los párrafos a renglón seguido y con sangría de ocho caracteres a la izquierda de la primera línea. Debe presentarse en archivos electrónicos con procesador de texto Word o formato RTF.

El título principal se escribirá con letras minúsculas y negritas, centrado. En él deberá omitirse la mención de los autores de nombres científicos, los que, sin embargo, se presentarán la primera vez que se mencionen en el texto a partir de la introducción. En el encabezado superior derecho de cada página debe incluirse un título abreviado con un máximo de 60 caracteres y espacios.

Las ecuaciones se numerarán en el margen derecho con paréntesis cuadrados “[]”; en el texto se mencionarán de acuerdo con esta numeración.

Las unidades de medidas deberán circunscribirse al Sistema Internacional de unidades (SI). En la notación numérica, los decimales deberán ser separados por coma (,) y las unidades de miles por punto (.). En los textos en inglés, los decimales separados por punto y las unidades de miles por coma. Usar cero al comienzo de números menores a una unidad, incluyendo valores de probabilidad (por ejemplo, $P < 0,001$).

La descripción de los resultados de cada prueba estadística en el texto debe incluir el valor exacto de probabilidad asociado P . Para valores de P menores que 0,001, indique como $P < 0,001$. En cuadros y figuras usar asteriscos para señalar el nivel de significancia de las pruebas estadísticas: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Debe indicarse el nombre científico de todos los organismos biológicos que aparezcan en el texto, de acuerdo con la nomenclatura internacional respectiva. Si un nombre común es usado para una especie, la primera vez que cite en el texto, a partir de la introducción, se debe dar a continuación su nombre científico en cursiva entre paréntesis, por ejemplo, coihue (*Nothofagus dombeyi* (Mirb.))

Oerst.). Citas posteriores pueden aparecer con el nombre del género abreviado seguido del adjetivo del nombre científico (por ejemplo, *N. dombeyi*), siempre y cuando no produzca confusiones con otras especies citadas en el manuscrito. Al iniciar una oración con el nombre de una especie, escriba su género completo y no lo abrevie con su inicial. En el resumen y en el título no mencione los autores de nombres científicos.

En los cuadros se deben incluir los datos alfanuméricos ordenados en filas y columnas, escritos con fuente Times New Roman de 12 puntos (mínimo 9 puntos de tamaño), sin negritas. Sólo los encabezamientos de las columnas y los títulos generales se separan con líneas horizontales; las columnas de datos deben separarse por espacios y no por líneas verticales. En las figuras se incluyen otras formas de presentación de datos o información, como gráficos, dibujos, fotografías y mapas. En cuadros y figuras se deben incluir los títulos auto explicativos en castellano e inglés numerados en forma consecutiva (cuadro 1., cuadro 2., ...; figura 1., figura 2., ...). Las figuras llevan el título en el margen inferior y los cuadros en el margen superior. Los cuadros y figuras deben tener una resolución tal que permitan ser reducidos sin perder legibilidad. Sólo se trabaja en blanco, negro y tonos de grises. Sin embargo, podrán usarse colores en las figuras si ello es imprescindible para su comprensión. La inclusión de figuras con colores deberá acordarse previamente con el editor. El espacio que ocupen cuadros y figuras en el trabajo deberá ser menor al 50 % del total del impreso. Incluya en el archivo de texto principal los cuadros con sus respectivos títulos, ubicándolos lo más próximo posible después de haberlos citado por primera vez en el texto. Los cuadros deben estar en el formato de tablas (editables, no como imágenes). Las figuras deben ser entregadas en un archivo aparte, con un formato editable; su ubicación en el texto principal debe ser informada, incluyendo su título, al igual que los cuadros.

En las figuras todos los rótulos y leyendas deben estar escritos con letra Times New Roman de tamaño 9 a 12 puntos, sin negrita y respetando la gramática y normas de escritura de la revista. Las figuras pequeñas deberán estar diseñadas con un ancho máximo de 8 cm (una columna en la revista) y las grandes con un máximo de 16 cm de ancho (dos columnas en la revista). Excepcionalmente, una figura podrá tener 23 cm de ancho (y máximo 14 cm de alto) para presentarla en formato apaisado. Organice las figuras reuniendo en una sola aquellos objetos afines (por ejemplo, gráficos de un mismo tipo de información) e identifíquelos con una letra mayúscula (A, B, C...), la que se explicará en el título de la figura.

Los manuscritos en castellano deben incluir en un archivo separado las respectivas traducciones al inglés de:

- Título del manuscrito.
- Summary: debe ser equivalente en contenido al resumen en castellano.

- Key words: equivalentes a las palabras clave en castellano.
- Títulos de cuadros y de figuras.

En el caso de manuscritos en inglés, se debe incluir el respectivo texto en castellano.

Citas y referencias

Las citas bibliográficas se indicarán en el texto por el apellido del o los autores, seguido del año de publicación. Algunos ejemplos de citas bibliográficas más frecuentes son:

- Citas bibliográficas de uno y dos autores:

Santamaría (2010) constata que el crecimiento...
... están influidos por el sitio en cuestión (Santamaría 2010, López y Castro 2011).

- Citas bibliográficas de más de dos autores:

Barría *et al.* (2009) señalan como factor más importante...
... entre otros, el diámetro y la altura (Barría *et al.* 2009, Morán *et al.* 2010).

- Citas bibliográficas de un mismo autor, publicadas en un mismo año:

Rodríguez (2009abd) observa que en cada unidad de muestreo...
... lo que es coincidente con estudios anteriores (Rodríguez 2009ab, Morán *et al.* 2010acd).

- Citas de más de una publicación a la vez, se ordenan cronológicamente:

Cerón (2007), García y Villanueva (2009) y Suárez *et al.* (2010) analizan los componentes edafoclimáticos...

En el capítulo de referencias, las referencias bibliográficas deben incluir apellido paterno e inicial del o los nombres de todos los autores, el año de publicación, el título y la información complementaria que permita localizar la fuente del documento en cuestión; si cuentan con DOI, debe agregarlo al final de la respectiva referencia. Algunos ejemplos de los formatos de las referencias bibliográficas más frecuentes son:

- Referencias de artículos en revistas periódicas (escriba con cursiva los nombres completos de las revistas, sin abreviar):

Guddants S. 2008. Replicating sawmill sawing with top-saw using CT images of a full-length hardwood log. *Forest Products Journal* 48(1): 72-75.

Kogan M, C Alister. 2010. Glyphosate use in forest plantations. *Chilean Journal of Agricultural Research* 70(4):652-666. DOI: 10.4067/S0718-58392010000400017.

Karzulovic JT, MI Dinator, J Morales, V Gaete, A Barrios. 2009. Determinación del diámetro del cilindro central defectuoso en trozas podadas de pino radiata (*Pinus radiata*) mediante atenuación de radiación gamma. *Bosque* 26(1):109-122.

- Referencias de libros como un todo:

Morales EH. 2005. Diseño experimental a través del análisis de varianza y modelo de regresión lineal. Santiago, Chile. Andros. 248 p.

CONAF (Corporación Nacional Forestal, CL). 2007. Estadísticas de visitantes e ingresos propios de áreas silvestres protegidas de la Décima Región de Los Lagos. 52 p. (Informe Estadístico N° 47).

- Referencias a partes o capítulos de libros:

Gutiérrez B, R Ipinza. 2010. Evaluación de parámetros genéticos en *Nothofagus*. In Ipinza R, B Gutiérrez, V Emhart eds. Domesticación y mejora genética de raulí y roble. Valdivia, Chile. Exion. p. 371-390.

- Referencias a memorias, tesis, seminarios de titulación o trabajos de titulación:

Emhart V. 2006. Diseño y establecimiento de un huerto semillero clonal de *Eucalyptus nitens* (Deane et Maiden) con fines de producción, investigación y docencia. Tesis Ingeniero Forestal. Valdivia, Chile. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile. 79 p.

Aparicio J. 2008. Rendimiento y biomasa de *Eucalyptus nitens* con alternativas nutricionales para una silvicultura sustentable en suelo rojo arcilloso. Tesis Magister en Ciencias. Valdivia, Chile. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile. 234 p.

- Referencias a documentos en internet:

De Angelis JD. 2009. European pine shoot moth. Oregon State University Extension (Urban Entomology Notes). Consultado 10 jul. 2009. Disponible en <http://www.ent.orst.edu/urban/home.html>.

Para mayor información respecto de otros casos específicos relacionados con las citas bibliográficas y referencias bibliográficas, se pueden consultar los documentos que a continuación se señalan. No obstante, el orden y la tipografía de los elementos constituyentes de las citas y referencias bibliográficas deberán ajustarse a la reglamentación de la revista Bosque.

Biblioteca Conmemorativa Orton (IICA/CATIE). 2011. Normas para citar referencias bibliográficas en artículos científicos 4 ed. Consultado 13 abr. 2011. Disponible en http://biblioteca.catie.ac.cr/index.php?option=com_content&task=view&id=18&Itemid=50

The Council of Biology Editors (CBE). 1994. Scientific style and format: The CBE manual for authors, editors, and publishers. 6 ed. Cambridge, New York. Cambridge University Press. 704 p.

Carta de envío

Los autores deberán acompañar su manuscrito con una carta de envío que indique que el trabajo es original, no ha sido publicado previamente y no está siendo considerado para publicación en otro medio de difusión. También deberán declarar cualquier posible conflicto de intereses que pudiesen tener. Se deberá señalar el tipo de contribución del manuscrito (artículo, revisión, opinión, nota). La carta deberá ser firmada al menos por el autor líder del manuscrito.

Envío de documentos

Los archivos deberán ser nombrados según el tipo de información contenida en el archivo. Por ejemplo, los archivos digitales del manuscrito se etiquetarán de la siguiente forma:

Texto.doc: texto principal del trabajo (incluye cuadros).

Figuras.doc: figuras con sus títulos en castellano.

Ingles.doc: textos en inglés con el siguiente orden: título del trabajo, summary, key words, títulos de cuadros y de figuras.

Carta: carta de presentación y envío del manuscrito.

Los archivos digitales del manuscrito deben ser ingresados en la plataforma de edición *on line* de eQuipu (<http://www.equipu.cl/>): <http://www.revistabosque.equipu.cl/index.php/revistabosque>. Si presenta dificultades para el envío, puede remitirlo por correo electrónico a revistabosque@uach.cl. El autor de correspondencia recibirá una carta de acuse de recibo del Editor.

Proceso de publicación

El cabal cumplimiento de las instrucciones para los autores se refleja en menores tiempos del proceso editorial. El comité editor revisa el manuscrito para verificar la pertenencia al ámbito de la revista y el cumplimiento de las instrucciones para los autores. Cuando no se cumplen tales condiciones, el manuscrito es devuelto al autor de correspondencia, informándole su situación. Cuando se ha verificado el cumplimiento de dichas condiciones, se registra esa fecha como recepción del manuscrito y el comité editor envía el manuscrito a un mínimo de dos árbitros o revisores externos, en un sistema de doble ciego.

A los árbitros se les solicita declinar la revisión de un manuscrito cuando sientan que presentan conflictos de interés o que no podrán realizar una revisión justa y objetiva. Los árbitros evalúan el manuscrito de acuerdo con la pauta que proporciona la revista. Si los árbitros o el comité editor lo estiman pertinente, podrán solicitar a los autores, a través del editor, información adicional sobre el manuscrito (datos, procedimientos, etc.) para su mejor evaluación. La respuesta de los árbitros puede ser: publicar con modificaciones menores, publicar con modificaciones mayores o no publicar. Las observaciones de los árbitros son evaluadas por el comité editor, el cual informa por escrito al autor de correspondencia la decisión de continuar o no en el proceso de publicación y si su manuscrito deberá ser nuevamente evaluado por árbitros. Cuando el manuscrito es aceptado, el comité editor envía al autor de correspondencia una carta de aceptación de su manuscrito, indicando el tipo de modificación necesaria. En no más de ocho semanas el autor de correspondencia debe devolver una versión modificada a la revista, para que el comité editor analice el manuscrito corregido. El comité editor decide el orden en que aparecerán los trabajos publicados en cada número. Una contribución puede ser rechazada por el comité editor en cualquiera de las instancias del proceso de publicación, ya sea por cuestiones de fondo o de forma que no cumplan con las instrucciones para los autores. Ante sospecha de conducta poco ética o deshonesto por parte de los autores que han sometido su manuscrito al proceso de edición, el editor se reserva el derecho de informar a las instituciones patrocinadoras u otras autoridades pertinentes para que realicen la investigación que corresponda.

Los trabajos publicados en Bosque están bajo licencia Creative Commons Chile 2.0.

Ante cualquier duda se sugiere contactarse con el editor (revistabosque@uach.cl) o revisar la información adicional de nuestra página web www.revistabosque.cl

La versión electrónica de libre acceso de los trabajos completos publicados por Bosque se encuentran en: <http://mingaonline.uach.cl/scielo.php>, <http://www.scielo.cl>, www.equipu.cl y <http://redalyc.uaemex.mx/>.

Políticas para los árbitros

Los árbitros o revisores de los manuscritos son integrantes clave del proceso editorial de la revista. Tienen la misión de contribuir a que la ciencia avance a través de su aporte en garantizar la alta calidad de los trabajos antes

que estos se publiquen. Su trabajo es altruista y anónimo con respecto a los autores de los manuscritos.

El editor envía cada manuscrito a por lo menos dos árbitros que considera idóneos para el tema y así el comité editor puede considerar diversas opiniones de especialistas para decidir sobre el proceso editorial.

La responsabilidad de los árbitros es la de evaluar rigurosamente los manuscritos dentro del plazo propuesto por la revista.

Los árbitros deberán declinar la revisión del manuscrito cuando sientan que presentan conflictos de interés o que no podrán realizar una revisión justa y objetiva, los árbitros deberán declinar la revisión del manuscrito. Un arbitraje apropiado incluye virtudes y debilidades del manuscrito, sugerencias para su mejoramiento, preguntas precisas para que los autores puedan responderlas y orientaciones para que el trabajo sea de mejor calidad y mayor aceptación por los futuros lectores. Los árbitros deben mantener la confidencialidad de los manuscritos que reciben para revisión y nunca utilizar o difundir datos o información de ellos; el hacerlo es una conducta reñida con la ética. Los árbitros deberán abstenerse de solicitar la inclusión de aspectos que el manuscrito no busca responder, como también de insinuar que sean citados sus propios trabajos.

Frente a la revista, los árbitros deberán velar por la calidad y rapidez de sus revisiones y evitar los conflictos de intereses. Los árbitros deben cumplir los plazos y formatos solicitados por la revista. Cuando ello no sea posible, deberán declinar oportunamente el arbitraje. Cuando requieran de un tiempo adicional para la revisión de un manuscrito, deberán informar al editor. Si un árbitro presenta conflicto de intereses con respecto a un manuscrito, deberá abstenerse de realizar la revisión, informando al editor. Cuando un árbitro propone no publicar un manuscrito o hacerlo sólo después de cambios mayores, podrá recibir una nueva versión corregida por los autores que haya acogido las sugerencias de mejoramiento. El arbitraje es una herramienta eficaz para mejorar la calidad de los trabajos.

El editor podrá difundir informes de arbitrajes entre los revisores (conservando el anonimato) para promover el buen desempeño, resolver controversias y mejorar el proceso de edición.

Los árbitros serán informados del destino del manuscrito que revisaron. Como una forma de retribuir sus valiosos aportes, el editor les enviará una carta de agradecimiento por cada arbitraje y publicará sus nombres a inicios del año siguiente a su colaboración.



**UNIVERSIDAD AUSTRAL
DE CHILE FACULTAD DE
CIENCIAS FORESTALES Y
RECURSOS NATURALES**